

Cilt Volume 43 Sayı Number 1 EISSN 2687-1904

CERRAHPAŞA MEDICAL JOURNAL

CERRAHPAŞA TIP DERGİSİ



İSTANBUL
ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA

Cerrahpaşa Tıp Dergisi

Cerrahpaşa Medical Journal

Cilt / Volume 43 Sayı / Number 1 Nisan / April 2019 Sayfa / Pages 1-39

Cerrahpaşa Tıp Dergisi

İ.Ü-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesinin Bilimsel Yayın Organıdır.

Dört Ayda Bir, Yılda Üç Sayı Yayınlanır.

(Nisan, Ağustos, Aralık)

Kısaltma: Cerrahpaşa Tıp Derg

Abbreviation: Cerrahpasa Med J

Kuruluşu

1970-1994 Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi

1995'ten itibaren Cerrahpaşa Tıp Dergisi

<http://cjm.istanbul.edu.tr/>

Cerrahpaşa Tıp Dergisi

Yıl 2019 / Cilt 43 / Sayı 1 Nisan

YAYIN SAHİBİ

İ.Ü-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Adına
Prof. Dr. Mustafa Sait Gönen
Dekan

YAYIN YÖNETİM MERKEZİ

Cerrahpaşa Tıp Dergisi Bürosu
E-posta: ctfdergi@istanbul.edu.tr
Web sayfası: cjm.istanbul.edu.tr

YAYIN TÜRÜ

Yerel Süreli Yayın

BASIM TARİHİ / YERİ

Nisan 2019 / İstanbul



Publisher / Yayıncı
İbrahim KARA

Publication Director / Yayın Yönetmeni
Ali ŞAHİN

Editorial Development / Editöryel Geliştirme
Gizem KAYAN

Finance and Administration / Mali ve İdari İşler
Zeynep YAKIŞIRER ÜREN

Deputy Publication Director / Yayın Yönetmeni Yardımcısı
Gökhan ÇİMEN

Publication Coordinators / Yayın Koordinatörleri
Betül ÇİMEN
Özlem ÇAKMAK
Okan AYDOĞAN
İrem DELİÇAY
Arzu YILDIRIM

Project Coordinators / Proje Koordinatörleri
Sinem KOZ
Doğan ORUÇ

Graphics Department / Grafik Departmanı
Ünal ÖZER
Deniz DURAN
Beyzanur KARABULUT

İletişim / Contact:
Adres / Address: Büyükdere Cad. 105/9
34394 Mecidiyeköy, Şişli, İstanbul
Telefon / Phone: +90 212 217 17 00
Faks / Fax: +90 212 217 22 92
E-posta / E-mail: info@avesyayincilik.com

Cerrahpaşa Tıp Dergisi

Cerrahpaşa Medical Journal

**Sahibi İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa,
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Adına Dekan**

Mustafa Sait GÖNEN

Baş Editör

Gökhan İPEK

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Cardiovascular Surgery, İstanbul University-
Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul,
Turkey*

İdari Editör-Yazı İşleri Müdürü

Deniz GÖKSEDEF

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Cardiovascular Surgery, İstanbul
University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine,
İstanbul, Turkey*

Yardımcı Editörler

Ali İbrahim HATEMİ

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Internal Medicine, İstanbul
University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine,
İstanbul, Turkey*

Sait SAĞER

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Nükleer Tıp Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Nuclear Medicine, İstanbul
University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine,
İstanbul, Turkey*

Ozan Onur BALKANAY

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Cardiovascular Surgery, İstanbul
University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine,
İstanbul, Turkey*

Cerrahpaşa Tıp Dergisi

Cerrahpaşa Medical Journal

Yayın Kurulu Üyeleri

Özgür KASAPÇOPUR

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul,
Türkiye
*Department of Pediatrics, İstanbul University-Cerrahpaşa,
Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey*

Feray KARAALİ SAVRUN

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Neurology, İstanbul University-Cerrahpaşa,
Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey*

Bülent ÖNAL

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Urology, İstanbul
University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine,
İstanbul, Turkey*

Altay GEZER

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Gynecology and Obstetrics, İstanbul
University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine,
İstanbul, Turkey*

Mehmet ELİÇEVİK

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Pediatric Surgery, İstanbul University-
Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey*

Hafize UZUN

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Biochemistry, İstanbul
University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine,
İstanbul, Turkey*

Ahmet Gökhan AKKAN

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Medical Pharmacology, İstanbul University-
Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey*

Akif TURNA

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Thoracic Surgery, İstanbul
University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine,
İstanbul, Turkey*

Suat Nail ÖMEROĞLU

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Cardiovascular Surgery, İstanbul University-
Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey*

Mehmet Can ÜNLÜ

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Orthopaedics and Traumatology, İstanbul
University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine,
İstanbul, Turkey*

Şeniz ÖNGÖREN AYDIN

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Internal Medicine, İstanbul
University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine,
İstanbul, Turkey*

Serkan TEKSÖZ

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Surgery, İstanbul University-Cerrahpaşa,
Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey*

Serdal UĞURLU

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*Department of Internal Medicine, İstanbul University-
Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul,
Turkey*

Cerrahpaşa Tıp Dergisi; bağımsız, tarafsız ve çift-kör hakem değerlendirme ilkelerine bağlı yayın yapan, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nin açık erişimli bilimsel yayın organıdır. Dergi Nisan, Ağustos ve Aralık aylarında olmak üzere yılda 3 sayı olarak yayınlanmaktadır. Yayın dili Türkçe ve İngilizce'dir.

Cerrahpaşa Tıp Dergisi, tıbbın tüm alanlarında yüksek bilimsel kaliteye ve klinik değere sahip özgün araştırma, olgu sunumu, derleme ve editöre mektup türündeki makalelerle literatüre katkı sunmayı amaçlamaktadır. Derginin hedef kitlesini tüm tıbbi disiplinlerde çalışan veya ilgi duyan araştırmacılar, hekimler ve profesyonel olarak sağlık çalışanı olarak görev yapan veya yapmış olan kişiler oluşturmaktadır.

Derginin editöryel ve yayın süreçleri International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), World Association of Medical Editors (WAME), Council of Science Editors (CSE), Committee on Publication Ethics (COPE), European Association of Science Editors (EASE) ve National Information Standards Organization (NISO) organizasyonlarının kılavuzlarına uygun olarak biçimlendirilir. Cerrahpaşa Tıp Dergisi, Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (doaj.org/bestpractice) ilkelerini benimsemiştir.

Derginin tüm masrafları İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa tarafından karşılanmaktadır. Makale değerlendirme ve yayın işlemleri için yazarlardan ücret talep edilmemektedir. Tüm makaleler <http://cjm.istanbulc.edu.tr/tr/> sayfasındaki online makale değerlendirme sistemi

kullanılarak dergiye gönderilmelidir. Derginin yazım kurallarına, gerekli formlara ve dergiyle ilgili diğer bilgilere web sayfasından erişilebilir.

Dergide yayınlanan makalelerde ifade edilen bilgi, fikir ve görüşler İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Baş Editör, Editörler, Yayın Kurulu ve Yayıncı'nın değil, yazar(lar)ın bilgi ve görüşlerini yansıtır. Baş Editör, Editörler, Yayın Kurulu ve Yayıncı, bu gibi yazarlara ait bilgi ve görüşler için hiçbir sorumluluk ya da yükümlülük kabul etmemektedir.

Cerrahpaşa Tıp Dergisi, yayınlanma modeli Budapeşte Açık Erişim Girişimi (BOAI) bildirgesine dayanan açık erişimli bilimsel bir dergidir. Derginin arşivine <http://cjm.istanbulc.edu.tr/tr/> adresinden ücretsiz olarak erişilebilir. Cerrahpaşa Tıp Dergisi'nin içeriği, Creative Commons Atıf-GayriTicari 4.0 Uluslararası Lisansı ile yayınlanmaktadır.

Baş Editör: Prof. Dr. Gökhan İpek

Adres: İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, 34098, Fatih İstanbul

Tel: 0212 4143000-22025

E-posta: gokhanipek@superonline.com

Yayıncı: AVES

Adres: Büyükdere Caddesi, 105/9 34394 Mecidiyeköy, Şişli, İstanbul, Türkiye

Tel: +90 212 217 17 00

Faks: +90 212 217 22 92

E-posta: info@avesyayincilik.com

Web sayfası: avesyayincilik.com

Cerrahpaşa Medical Journal is an international, scientific, open access periodical published in accordance with independent, unbiased, and double-blinded peer-review principles. The journal is the official publication of İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, and it is published triannually on April, August, and December. The publication languages of the journal are Turkish and English.

Cerrahpaşa Medical Journal aims to contribute to the literature by publishing manuscripts at the highest scientific level on all fields of medicine. The journal publishes original articles, case reports, reviews, and letters to the editor that are prepared in accordance with ethical guidelines.

The target audience of the journal includes researchers, physicians and healthcare professionals who are interested or working in in all medical disciplines.

The editorial and publication processes of the journal are shaped in accordance with the guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), World Association of Medical Editors (WAME), Council of Science Editors (CSE), Committee on Publication Ethics (COPE), European Association of Science Editors (EASE), and National Information Standards Organization (NISO). The journal is in conformity with the Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (doaj.org/bestpractice).

All expenses of the journal are covered by the İstanbul University-Cerrahpaşa.

Processing and publication are free of charge with the journal. No fees are requested from the authors at any point throughout the evaluation and publication pro-

cess. All manuscripts must be submitted via the online submission system, which is available at <http://cjm.istanbulc.edu.tr/en/>. The journal guidelines, technical information, and the required forms are available on the journal's web page.

Statements or opinions expressed in the manuscripts published in the journal reflect the views of the author(s) and not the opinions of the İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, editors, editorial board, and/or publisher; the editors, editorial board, and publisher disclaim any responsibility or liability for such materials.

Cerrahpaşa Medical Journal is an open access publication and the journal's publication model is based on Budapest Open Access Initiative (BOAI) declaration. Journal's archive is available online, free of charge at <http://cjm.istanbulc.edu.tr/en/>. Cerrahpaşa Medical Journal's content is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

Editor in Chief: Prof. Gökhan İpek

Address: İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty, 34098, Fatih İstanbul, Turkey

Phone: +90 212 217 17 00

Fax: +90 212 217 22 92

E-mail: gokhanipek@superonline.com

Publisher: AVES

Address: Büyükdere Cad, 105/9 34394 Mecidiyeköy, Şişli, İstanbul, Turkey

Phone: +90 212 217 17 00

Fax: +90 212 217 22 92

E-mail: info@avesyayincilik.com

Web page: www.avesyayincilik.com

İçerik

Cerrahpaşa Tıp Dergisi; bağımsız, tarafsız ve çift-kör hakem değerlendirme ilkelerine bağlı yayın yapan, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nin açık erişimli bilimsel yayın organıdır. Dergi Nisan, Ağustos ve Aralık aylarında olmak üzere yılda 3 sayı olarak yayınlanmaktadır. Yayın dili Türkçe ve İngilizce'dir.

Cerrahpaşa Tıp Dergisi (Cerrahpaşa Tıp Derg); tıbbın tüm alanlarında yüksek bilimsel kaliteye ve klinik değere sahip özgün araştırma, olgu sunumu, derleme ve editöre mektup türündeki makalelerle literatüre katkı sunmayı amaçlamaktadır. Derginin hedef kitlesini tüm tıbbi disiplinlerde çalışan veya ilgi duyan araştırmacılar, hekimler ve profesyonel olarak sağlık çalışanı olarak görev yapan veya yapmış olan kişiler oluşturmaktadır.

Değerlendirme ve Yayın Süreci

Derginin editöryel ve yayın süreçleri International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), World Association of Medical Editors (WAME), Council of Science Editors (CSE), Committee on Publication Ethics (COPE), European Association of Science Editors (EASE) ve National Information Standards Organization (NISO) kılavuzlarına uygun olarak biçimlendirilmiştir. Cerrahpaşa Tıp Dergisi'nin editöryel ve yayın süreçleri, Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (doaj.org/bestpractice) ilkelerine uygun olarak yürütülmektedir.

Özgünlük, yüksek bilimsel kalite ve atıf potansiyeli bir makalenin yayına kabulü için en önemli kriterlerdir. Gönderilen yazıların daha önce başka bir elektronik ya da basılı dergide, kitapta veya farklı bir mecrada sunulmamış ya da yayınlanmamış olması gerekir. Daha önce başka bir dergiye gönderilen ancak yayına kabul edilmeyen yazılar hakkında dergi önceden bilgilendirilmelidir. Bu yazıların eski hakem raporlarının Yayın Kuruluna gönderilmesi değerlendirme süresinin hızlanmasını sağlayacaktır. Toplantılarda sunulan çalışmalar için, sunum yapılan organizasyonun tam adı, tarihi, şehri ve ülkesi belirtilmelidir.

Cerrahpaşa Tıp Dergisi'ne gönderilen tüm makaleler çift-kör hakem değerlendirme sürecinden geçmektedir. Tarafsız değerlendirme sürecini sağlamak için her makale alanlarında uzman en az iki dış-bağımsız hakem tarafından değerlendirilir. Dergi Yayın Kurulu üyeleri tarafından gönderilecek makalelerin değerlendirme süreçleri, davet edilecek dış bağımsız editörler tarafından yönetilecektir. Bütün makalelerin karar verme süreçlerinde nihai karar yetkisi Baş Editördedir.

Etik İlkeler

Klinik ve deneysel çalışmalar, ilaç araştırmaları ve bazı olgu sunumları için World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects", (amended in October 2013, www.wma.net) çerçevesinde hazırlanmış Etik Komisyon raporu gerekmektedir. Gerekli görülmesi halinde Etik Komisyon raporu veya eşdeğeri olan resmi bir yazı yazarlardan talep edilebilir. İnsanlar üzerinde yapılmış deneysel çalışmaların sonuçlarını bildiren yazılarda, çalışmanın yapıldığı kişilere uygulanan prosedürlerin niteliği tümüyle açıklandıktan sonra, onaylarının alındığına ilişkin bir açıklamaya metin içinde yer verilmelidir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda ise ağrı, acı ve rahatsızlık verilmemesi için uygulanan yöntemler açık olarak makalede belirtilmelidir. Hasta onamları, Etik Kurul raporun alındığı kurumun adı, onay belgesinin numarası ve tarihi ana metin dosyasında yer alan Yöntemler başlığı altında yazılmalıdır. Hastaların kimliklerinin gizliliğini korumak yazarların sorumluluğundadır. Hastaların kimliğini açığa çıkarabilecek fotoğraflar için hastadan ya da yasal temsilcilerinden alınan imzalı izinlerin de gönderilmesi gereklidir.

İntihal

Cerrahpaşa Tıp Dergisi, intihal konusunda son derece hassastır. Dergiye gönderilen makaleler, hakem değerlendirme sürecinde ya da yayına hazırlık aşamasında herhangi bir noktada bir benzerlik tespit yazılımı (CrossCheck tarafından iThenticate) tarafından taranmaktadır. Cümleler ve ifadeler yazar olarak size ait olsa dahi, metnin daha önce yayınlanan verilerle kabul edilemez bir benzerliği olmalıdır.

Başkalarının önceki çalışmalarını (veya kendi çalışmalarınızı) tartışırken, lütfen materyali her durumda doğru bir şekilde alıntılıdığınızdan emin olun.

Yayın Kurulu, dergimize gönderilen çalışmalar hakkındaki intihal, atıf manipülasyonu ve veri sahteciliği iddia ve şüpheleri karşısında COPE kurallarına uygun olarak hareket edecektir.

Yazarlık

Yazar olarak listelenen herkesin ICMJE (www.icmje.org) tarafından önerilen yazarlık kriterlerini karşılaması gerekmektedir. ICMJE, yazarların aşağıdaki 4 kriteri karşılamasını önermektedir:

1. Çalışmanın konseptine/tasarımına; ya da çalışma için verilerin toplanmasına, analiz edilmesine ve yorumlanmasına önemli katkı sağlamış olmak; VE

2. Yazı taslağını hazırlamış ya da önemli fikirselle içeriğin eleştirel incelemelerini yapmış olmak; VE
3. Yazının yayından önceki son halini gözden geçirmiş ve onaylamış olmak; VE
4. Çalışmanın herhangi bir bölümünün geçerliliği ve doğruluğuna ilişkin soruların uygun şekilde soruşturulduğunun ve çözümlendiğinin garantisini vermek amacıyla çalışmanın her yönünden sorumlu olmayı kabul etmek.

Bir yazar, çalışmada katkı sağladığı kısımların sorumluluğunu almasına ek olarak, diğer yazarların çalışmanın hangi kısımlarından sorumlu olduğunu da teşhis edebilmelidir. Ayrıca, yazarlar birbirlerinin katkılarının bütünlüğüne güven duymalıdır.

Yazar olarak belirtilen her kişi yazarlığın dört kriterini karşılamalıdır ve bu dört kriteri karşılayan her kişi yazar olarak tanımlanmalıdır. Dört kriterin hepsini karşılamayan kişilere makalenin başlık sayfasında teşekkür edilmelidir.

Yazarlık haklarına uygun hareket etmek ve hayalet ya da lütuf yazarlığın önlenmesini sağlamak amacıyla sorumlu yazarlar makale yükleme sürecinde http://cjm.istanbulc.edu.tr/tr/_adresinden erişilebilen Yazar Katkı Formu'nu imzalamalı ve taranmış versiyonunu yazıyla birlikte göndermelidir. Yayın Kurulu'nun gönderilen bir makalede "lütuf yazarlık" olduğundan şüphelenmesi durumunda söz konusu makale değerlendirme yapılmaksızın reddedilecektir. Makale gönderimi kapsamında; sorumlu yazar makale gönderim ve değerlendirme süreçleri boyunca yazarlık ile ilgili tüm sorumluluğu kabul ettiğini bildiren kısa bir ön yazı göndermelidir.

Cerrahpaşa Tıp Dergisi; gönderilen makalelerin değerlendirme sürecine dahil olan yazarların ve bireylerin, potansiyel çıkar çatışmasına ya da önyargıya yol açabilecek finansal, kurumsal ve diğer ilişkiler dahil mevcut ya da potansiyel çıkar çatışmalarını beyan etmelerini talep ve teşvik eder.

Çıkar Çatışması

Bir çalışma için bir birey ya da kurumdan alınan her türlü finansal destek ya da diğer destekler Yayın Kurulu'na beyan edilmeli ve potansiyel çıkar çatışmalarını beyan etmek amacıyla, ICMJE Potansiyel Çıkar Çatışmaları Formu katkı sağlayan tüm yazarlar tarafından ayrı ayrı doldurulmalıdır. Editörler, yazarlar ve hakemler ile ilgili potansiyel çıkar çatışması vakaları derginin Yayın Kurulu tarafından COPE ve ICMJE rehberleri kapsamında çözülmektedir.

Derginin Yayın Kurulu, itiraz ve şikayet vakalarını, COPE rehberleri kapsamında işleme almaktadır. Yazarlar, itiraz ve şikayetleri için doğrudan Editöryel Ofis ile temasa geçebilirler. İhtiyaç duyulduğunda Yayın Kurulu'nun kendi içinde çözemediği konular için tarafsız bir temsilci atanmaktadır. İtiraz ve şikayetler için karar verme süreçlerinde nihai kararı Baş Editör verecektir.

Telif ve Lisanslama Modeli

Cerrahpaşa Tıp Dergisi, ilk gönderim sırasında http://cjm.istanbulc.edu.tr/tr/_adresinden indirilebilen Telif Hakkı Lisans Sözleşmesinin imzalanarak makale ile birlikte derginin çevrimiçi değerlendirme sistemine yüklenmesini zorunlu tutar. Yazarlar, Telif Hakkı Lisans Sözleşmesini imzalayarak, makalenin Cerrahpaşa Tıp Dergisi tarafından yayınlanmak üzere kabul edilmesi durumunda Creative Commons Atıf-GayriTicari 4.0 Uluslararası Lisansı (CC BY-NC) kapsamında lisanslanacağını kabul ederler.

Şekiller, tablolar veya hem basılı hem de elektronik formatlardaki diğer materyaller dahil olmak üzere önceden yayınlanmış içeriği kullanırken, yazarların telif hakkı sahibinden izin almaları gerekir. Bu husustaki hukuki, mali ve cezai sorumluluk yazarlara aittir.

Sorumluluk Reddi

Dergide yayınlanan makalelerde ifade edilen görüşler ve fikirler Cerrahpaşa Tıp Dergisi, Baş Editör, Editörler, Yayın Kurulu ve Yayıncı'nın değil, yazar(lar)ın bakış açılarını yansıtır. Baş Editör, Editörler, Yayın Kurulu ve Yayıncı bu gibi durumlar için hiçbir sorumluluk ya da yükümlülük kabul etmemektedir. Yayınlanan içerik ile ilgili tüm sorumluluk yazarlara aittir.

MAKALE HAZIRLAMA

Makaleler, ICMJE-Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals (updated in December 2018 - <http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>) ile uyumlu olarak hazırlanmalıdır. Randomize çalışmalar CONSORT, gözlemsel çalışmalar STROBE, tanısal değerlendirli çalışmalar STARD, sistematik derleme ve meta-analizler PRISMA, hayvan deneyli çalışmalar ARRIVE ve randomize olmayan davranış ve halk sağlığıyla ilgili çalışmalar TREND kılavuzlarına uyumlu olmalıdır.

Makaleler sadece http://cjm.istanbulc.edu.tr/tr/_adresinde yer alan derginin online makale yükleme ve değerlendirme sistemi üzerinden gönderilebilir. Diğer

mecralardan gönderilen makaleler değerlendirilmeye alınmayacaktır.

Gönderilen makalelerin dergi yazım kurallarına uygunluğu ilk olarak Editöryel Ofis tarafından kontrol edilecek, dergi yazım kurallarına uygun hazırlanmamış makaleler teknik düzeltme talepleri ile birlikte yazarlarına geri gönderilecektir.

Yazarların; Yayın Hakkı Devir Formu, Yazar Katkı Formu ve ICMJE Potansiyel Çıkar Çatışmaları Formu'nu (bu form, tüm yazarlar tarafından doldurulmalıdır) ilk gönderim sırasında online makale sistemine yüklemeleri gerekmektedir. Bu formlara <http://cjm.istanbulc.edu.tr/tr/> adresinden erişilebilmektedir.

Başlık sayfası: Gönderilen tüm makalelerle birlikte ayrı bir başlık sayfası da gönderilmelidir. Bu sayfa;

- Makalenin başlığını ve 50 karakteri geçmeyen kısa başlığını,
- Yazarların isimlerini, kurumlarını ve eğitim derecelerini,
- Finansal destek bilgisi ve diğer destek kaynakları hakkında detaylı bilgiyi,
- Sorumlu yazarın ismi, adresi, telefonu (cep telefonu dahil) ve e-posta adresini,
- Tüm yazarların ORCID numaralarını
- Makale hazırlama sürecine katkıda bulunan ama yazarlık kriterlerini karşılamayan bireylerle ilgili bilgileri içermelidir.

Özet: Editöre Mektup türündeki yazılar dışında kalan tüm makalelerin Türkçe ve İngilizce özetleri olmalıdır. Özgün Araştırma makalelerinin özetleri "Amaç", "Yöntem", "Bulgular" ve "Sonuç" alt başlıklarını içerecek biçimde hazırlanmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Tüm makaleler en az 3 en fazla 6 anahtar kelimeyle birlikte gönderilmeli, anahtar sözcükler özetin hemen altına yazılmalıdır. Kısaltmalar anahtar sözcük olarak kullanılmamalıdır. Anahtar sözcükler National Library of Medicine (NLM) tarafından hazırlanan Medical Subject Headings (MeSH) veritabanından seçilmelidir.

Makale Türleri

Özgün Araştırma: Ana metin "Giriş", "Gereç ve Yöntem", "Bulgular" ve "Tartışma" alt başlıklarını içermelidir. Özgün Araştırmalarla ilgili kısıtlamalar için lütfen Tablo 1'i inceleyiniz.

Sonucu desteklemek için istatistiksel analiz genellikle gereklidir. İstatistiksel analiz, tıbbi dergilerdeki istatistik verilerini bildirme kurallarına göre yapılmalıdır (Altman DG, Gore SM, Gardner MJ, Pocock SJ. Statistical guidelines for contributors to medical journals. Br Med J 1983; 7; 1489-93). İstatistiksel analiz ile ilgili bilgi, Gereç ve Yöntem bölümü içinde ayrı bir alt başlık olarak yazılmalı ve kullanılan yazılım kesinlikle tanımlanmalıdır.

Birimler, uluslararası birim sistemi olan International System of Units (SI)'a uygun olarak hazırlanmalıdır.

Editöryel Yorum: Dergide yayınlanan bir araştırmanın, o konunun uzmanı olan veya üst düzeyde değerlendirme yapan bir hakemi tarafından kısaca yorumlanması amacını taşımaktadır. Yazarları, dergi tarafından seçilip davet edilir. Özet, anahtar sözcük, tablo, şekil, resim ve diğer görseller kullanılmaz.

Derleme: Yazının konusunda birikimi olan ve bu birimleri uluslararası literatüre yayın ve atıf sayısı olarak yansımış uzmanlar tarafından hazırlanmış yazılar değerlendirmeye alınır. Yazarları dergi tarafından da davet edilebilir. Bir bilgi ya da konunun klinikte kullanılması için vardığı son düzeyi anlatan, tartışan, değerlendiren ve gelecekte yapılacak olan çalışmalara yön veren bir formatta hazırlanmalıdır. Ana metin "Giriş", "Klinik ve Araştırma Etkileri" ve "Sonuç" bölümlerini içermelidir. Derleme türündeki yazılarla ilgili kısıtlamalar için lütfen Tablo 1'i inceleyiniz.

Olgu Sunumu: Olgu sunumları için sınırlı sayıda yer ayrılmakta ve sadece ender görülen, tanı ve tedavisi güç olan hastalıklarla ilgili, yeni bir yöntem öneren, kitaplarda yer verilmeyen bilgileri yansıtan, ilgi çekici ve öğretici özelliği olan olgular yayına kabul edilmektedir. Ana metin; "Giriş", "Olgu Sunumu" ve "Tartışma" alt başlıklarını içermelidir. *Olgu Sunumlarıyla ilgili kısıtlamalar için lütfen Tablo 1'i inceleyiniz.*

Editöre Mektup: Dergide daha önce yayınlanan bir yazının önemini, gözden kaçan bir ayrıntısını ya da eksik kısımlarını tartışabilir. Ayrıca derginin kapsamına giren alanlarda okurların ilgisini çekebilecek konular ve özellikle eğitici olgular hakkında da Editöre Mektup formatında yazılar yayınlanabilir. Okuyucular da yayınlanan yazılar hakkında yorum içeren Editöre Mektup formatında yazılarını sunabilirler. Özet, anahtar sözcük, tablo, şekil, resim ve diğer görseller kullanılmaz. Ana metin alt başlıksız olmalıdır. Hakkında mek-

tup yazılan yayına ait cilt, yıl, sayı, sayfa numaraları, yazı başlığı ve yazarların adları açık bir şekilde belirtilmeli, kaynak listesinde yazılmalı ve metin içinde atıfta bulunulmalıdır.

Tablolar

Tablolar ana dosyaya eklenmeli, kaynak listesi sonrasında sunulmalı, ana metin içerisindeki geçiş sıralarına uygun olarak numaralandırılmamalıdır. Tabloların üzerinde tanımlayıcı bir başlık yer almalı ve tablo içerisinde geçen kısaltmaların açılımları tablo altına tanımlanmalıdır. Tablolar Microsoft Office Word dosyası içinde "Tablo Ekle" komutu kullanılarak hazırlanmalı ve kolay okunabilir şekilde düzenlenmelidir. Tablolarda sunulan veriler ana metinde sunulan verilerin tekrarı olmamalı; ana metindeki verileri destekleyici nitelikte olmalıdır.

Resim ve Resim Altyazıları

Resimler, grafikler ve fotoğraflar (TIFF ya da JPEG formatında) ayrı dosyalar halinde sisteme yüklenmelidir. Görseller bir Word dosyası dokümanı ya da ana doküman **içerisinde** sunulmamalıdır. Alt birimlere ayrılan görseller olduğunda, alt birimler tek bir görsel içerisinde verilmemelidir. Her bir alt birim sisteme ayrı bir dosya olarak yüklenmelidir. Resimler alt birimleri belli etme amacıyla etiketlenmemelidir (a, b, c vb.). Resimlerde altyazıları desteklemek için kalın ve ince oklar, ok başları, yıldızlar, asteriksler ve benzer işaretler kullanılabilir. Makalenin geri kalanında olduğu gibi resimler de kör olmalıdır. Bu sebeple, resimlerde yer alan kişi ve kurum bilgileri de körleştirilmelidir. Görsellerin minimum çözünürlüğü 300DPI olmalıdır. Değerlendirme sürecindeki aksaklıkları önlemek için gönderilen bütün görsellerin çözünürlüğü net ve boyutu büyük (minimum boyutlar 100x100 mm) olmalıdır. Resim altyazıları ana metnin sonunda yer almalıdır.

Makale içerisinde geçen tüm kısaltmalar, ana metin ve özetle ayrı ayrı olmak üzere ilk kez kullanıldıkları yerde tanımlanarak kısaltma tanımının ardından parantez içerisinde verilmelidir.

Ana metin içerisinde cihaz, yazılım, ilaç vb. ürünlerden bahsedildiğinde ürünün ismi, üreticisi, üretildiği şehir ve ülke bilgisini içeren ürün bilgisi parantez içinde verilmelidir; "Discovery St PET/CT scanner (General Electric, Milwaukee, WI, USA)".

Tüm kaynaklar, tablolar ve resimlere ana metin içinde uygun olan yerlerde sırayla numara verilerek atıf yapılmalıdır.

Özgün araştırmaların kısıtlamaları, engelleri ve yeterliliklerinden Sonuç paragrafı öncesi "Tartışma" bölümünde bahsedilmelidir.

Kaynaklar

Atıf yapılırken en son ve en güncel yayınlar tercih edilmelidir. Kaynakların doğruluğundan yazarlar sorumludur. Kaynaklar Vancouver referans biçimine uygun olarak hazırlanmalıdır. Atıf yapılan erken çevrimiçi makalelerin DOI numaraları mutlaka sağlanmalıdır. Dergi isimleri Index Medicus/Medline/PubMed'de yer alan dergi kısaltmaları ile uyumlu olarak kısaltılmalıdır. Altı ya da daha az yazar olduğunda tüm yazar isimleri listelenmelidir. Eğer 7 ya da daha fazla yazar varsa ilk 6 yazar yazıldıktan sonra "et al." konulmalıdır. Ana metinde kaynaklara atıf yapılırken parantez içinde Arabik numaralar kullanılmalıdır. Farklı yayın türleri için kaynak stilleri aşağıdaki örneklerde sunulmuştur:

Dergi makalesi: Blasco V, Colavolpe JC, Antonini F, Zieskiewicz L, Nafati C, Albanese J, et al. Long-term outcome in kidney recipients from donors treated with hydroxyethylstarch 130/0.4 and hydroxyethylstarch 200/0.6. *Br J Anaesth* 2015; 115: 797-8.

Kitap bölümü: Sherry S. Detection of thrombi. In: Strauss HE, Pitt B, James AE, editors. *Cardiovascular Medicine*. St Louis: Mosby; 1974.p.273-85.

Tek yazarlı kitap: Cohn PF. *Silent myocardial ischemia and infarction*. 3rd ed. New York: Marcel Dekker; 1993.

Tablo 1: Makale türleri için kısıtlamalar

Makale türü	Sözcük limiti	Özet sözcük limiti	Kaynak limiti	Tablo limiti	Resim limiti
Özgün Araştırma	3500	250 (Alt başlıklı)	30	6	7 ya da toplamda 15 resim
Derleme	5000	250	50	6	10 ya da toplamda 20 resim
Olgu Sunumu	1000	200	15	Tablo yok	10 ya da toplamda 20 resim
Editöre Mektup	500	Uygulanamaz	5	Tablo yok	Resim yok

Yazar olarak editör(ler): Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

Toplantıda sunulan yazı: Bengissson S. Sothemin BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sept 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992.p.1561-5.

Bilimsel veya teknik rapor: Smith P. Golladay K. Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report. Dallas (TX) Dept. of Health and Human Services (US). Office of Evaluation and Inspections; 1994 Oct. Report No: HHSIGOE 169200860.

Tez: Kaplan SI. Post-hospital home health care: the elderly access and utilization (dissertation). St. Louis (MO): Washington Univ. 1995.

Yayına kabul edilmiş ancak henüz basılmamış yazılar: Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Engl J Med In press 1997.

Erken Çevrimiçi Yayın: Aksu HU, Ertürk M, Gül M, Uslu N. Successful treatment of a patient with pulmonary embolism and biatrial thrombus. Anadolu Kardiyol Derg 2012 Dec 26. doi: 10.5152/akd.2013.062. [Epub ahead of print]

Elektronik formatta yayınlanan yazı: Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis (serial online) 1995 Jan-Mar (cited 1996 June 5): 1(1): (24 screens). Available from: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/cid.htm>.

REVİZYONLAR

Yazarlar makalelerinin revizyon dosyalarını gönderirken, ana metin üzerinde yaptıkları değişiklikleri işaretlemeli, ek olarak, hakemler tarafından öne sürülen önerilerle ilgili notlarını "Hakemlere Cevap" dosyasında göndermelidir. Hakemlere Cevap dosyasında her hakemin yorumunun ardından yazarın cevabı gelmeli ve değişikliklerin yapıldığı satır numaraları da ayrıca belirtilmelidir. Revize makaleler karar mektubunu takip eden 30 gün içerisinde dergiye gönderilmelidir. Makalenin revize versiyonu belirtilen süre içerisinde yüklenmezse, revizyon seçeneği iptal olabilir. Yazarların revizyon için ek süreye ihtiyaç duymaları durumunda uzatma taleplerini ilk 30 gün sona ermeden dergiye iletmeleri gerekmektedir.

Yayına kabul edilen makaleler dil bilgisi, noktalama ve biçim açısından kontrol edilir. Yayın süreci tamamlanan makaleler, yayın planına dahil edildikleri sayıyla birlikte yayınlanmadan önce erken çevrimiçi formatında dergi web sitesinde yayına alınır. Kabul edilen makalelerin baskıya hazır PDF dosyaları sorumlu yazarlara iletilir ve yayın onaylarının 2 gün içerisinde dergiye iletilmesi istenir.

Baş Editör: Prof. Dr. Gökhan İpek

Adres: İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, 34098, Fatih İstanbul

Tel: 0212 4143000-22025

E-posta: gokhanipek@superonline.com

Yayıncı: AVES

Adres: Büyükdere Caddesi, 105/9 34394 Mecidiyeköy, Şişli, İstanbul, Türkiye

Tel: +90 212 217 17 00

Faks: +90 212 217 22 92

E-posta: info@avesyayincilik.com

Web sayfası: avesyayincilik.com

Context

Cerrahpaşa Medical Journal is an international, scientific, open access periodical published in accordance with independent, unbiased, and double-blinded peer-review principles. The journal is the official publication of İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, and it is published triannually on April, August, and December. The publication languages of the journal are Turkish and English.

Cerrahpaşa Medical Journal (Cerrahpasa Med J) aims to contribute to the literature by publishing manuscripts at the highest scientific level on all fields of medicine. The journal publishes original articles, case reports, reviews, and letters to the editor that are prepared in accordance with ethical guidelines.

The target audience of the journal includes researchers, physicians and healthcare professionals who are interested or working in in all medical disciplines

Editorial and Publication Process

The editorial and publication processes of the journal are shaped in accordance with the guidelines of the International Council of Medical Journal Editors (ICMJE), the World Association of Medical Editors (WAME), the Council of Science Editors (CSE), the Committee on Publication Ethics (COPE), the European Association of Science Editors (EASE), and National Information Standards Organization (NISO). The journal conforms to the Principles of Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (doaj.org/bestpractice).

Originality, high scientific quality, and citation potential are the most important criteria for a manuscript to be accepted for publication. Manuscripts submitted for evaluation should not have been previously presented or already published in an electronic or printed medium. The journal should be informed of manuscripts that have been submitted to another journal for evaluation and rejected for publication. The submission of previous reviewer reports will expedite the evaluation process. Manuscripts that have been presented in a meeting should be submitted with detailed information on the organization, including the name, date, and location of the organization.

Peer-review Process

Manuscripts submitted to Cerrahpaşa Medical Journal will go through a double-blind peer-review process. Each submission will be reviewed by at least two external, independent peer reviewers who are experts in their fields in order to ensure an unbiased evaluation process. The

editorial board will invite an external and independent editor to manage the evaluation processes of manuscripts submitted by editors or by the editorial board members of the journal. The Editor in Chief is the final authority in the decision-making process for all submissions.

Ethical Procedures

An approval of research protocols by the Ethics Committee in accordance with international agreements (World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects," amended in October 2013, www.wma.net) is required for experimental, clinical, and drug studies and for some case reports. If required, ethics committee reports or an equivalent official document will be requested from the authors. For manuscripts concerning experimental research on humans, a statement should be included that shows that written informed consent of patients and volunteers was obtained following a detailed explanation of the procedures that they may undergo. For studies carried out on animals, the measures taken to prevent pain and suffering of the animals should be stated clearly. Information on patient consent, the name of the ethics committee, and the ethics committee approval number should also be stated in the Materials and Methods section of the manuscript. It is the authors' responsibility to carefully protect the patients' anonymity. For photographs that may reveal the identity of the patients, signed releases of the patient or of their legal representative should be enclosed.

Plagiarism

Cerrahpaşa Medical Journal is extremely sensitive about plagiarism. All submissions are screened by a similarity detection software (iThenticate by CrossCheck) at any point during the peer-review or production process. Even if you are the author of the phrases or sentences, the text should not have unacceptable similarity with the previously published data.

When you are discussing others' (or your own) previous work, please make sure that you cite the material correctly in every instance.

In the event of alleged or suspected research misconduct, e.g., plagiarism, citation manipulation, and data falsification/fabrication, the Editorial Board will follow and act in accordance with COPE guidelines.

Authorship

Each individual listed as an author should fulfill the authorship criteria recommended by the International Committee of Medical Journal Editors

(ICMJE - www.icmje.org). The ICMJE recommends that authorship be based on the following 4 criteria:

1. Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; AND
2. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content; AND
3. Final approval of the version to be published; AND
4. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

In addition to being accountable for the parts of the work he/she has done, an author should be able to identify which co-authors are responsible for specific other parts of the work. In addition, authors should have confidence in the integrity of the contributions of their co-authors.

All those designated as authors should meet all four criteria for authorship, and all who meet the four criteria should be identified as authors. Those who do not meet all four criteria should be acknowledged in the title page of the manuscript.

Cerrahpaşa Medical Journal requires corresponding authors to submit a signed and scanned version of the authorship contribution form (available for download through <http://ctf.dergisi.org>) during the initial submission process in order to act appropriately on authorship rights and to prevent ghost or honorary authorship. If the editorial board suspects a case of "gift authorship," the submission will be rejected without further review. As part of the submission of the manuscript, the corresponding author should also send a short statement declaring that he/she accepts to undertake all the responsibility for authorship during the submission and review stages of the manuscript.

Conflict of Interest Declarations

Cerrahpaşa Medical Journal requires and encourages the authors and the individuals involved in the evaluation process of submitted manuscripts to disclose any existing or potential conflicts of interests, including financial, consultant, and institutional, that might lead to potential bias or a conflict of interest. Any financial grants or other support received for a submitted study from individuals or institutions should be disclosed to the Editorial Board. To disclose a potential conflict of interest, the ICMJE Potential Conflict of Interest Disclo-

sure Form should be filled in and submitted by all contributing authors. Cases of a potential conflict of interest of the editors, authors, or reviewers are resolved by the journal's Editorial Board within the scope of COPE and ICMJE guidelines.

The Editorial Board of the journal handles all appeal and complaint cases within the scope of COPE guidelines. In such cases, authors should get in direct contact with the editorial office regarding their appeals and complaints. When needed, an ombudsperson may be assigned to resolve cases that cannot be resolved internally. The Editor in Chief is the final authority in the decision-making process for all appeals and complaints.

Copyright and Licensing

Cerrahpaşa Medical Journal requires each submission to be accompanied by a Copyright License Agreement (available for download at <http://cjm.istanbulc.edu.tr/en/>). When using previously published content, including figures, tables, or any other material in both print and electronic formats, authors must obtain permission from the copyright holder. Legal, financial and criminal liabilities in this regard belong to the author(s). By signing the Copyright License Agreement, authors agree that the article, if accepted for publication by the Cerrahpaşa Medical Journal, will be licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC-BY-NC).

By publishing their content in Cerrahpaşa Medical Journal, authors retain copyright of their work.

Disclaimer

Statements or opinions expressed in the manuscripts published in Cerrahpaşa Medical Journal reflect the views of the author(s) and not the opinions of the editors, the editorial board, or the publisher; the editors, the editorial board, and the publisher disclaim any responsibility or liability for such materials. The final responsibility in regard to the published content rests with the authors.

MANUSCRIPT PREPARATION

The manuscripts should be prepared in accordance with ICMJE-Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals (updated in December 2018 - <http://www.icmje.org/icmje-recommendations.pdf>). Authors are required to prepare manuscripts in accordance with the CONSORT guidelines for randomized re-

search studies, STROBE guidelines for observational original research studies, STARD guidelines for studies on diagnostic accuracy, PRISMA guidelines for systematic reviews and meta-analysis, ARRIVE guidelines for experimental animal studies, and TREND guidelines for non-randomized public behavior.

Manuscripts can only be submitted through the journal's online manuscript submission and evaluation system, available at http://cjm.istanbulc.edu.tr/en/_Manuscripts submitted via any other medium will not be evaluated.

Manuscripts submitted to the journal will first go through a technical evaluation process where the editorial office staff will ensure that the manuscript has been prepared and submitted in accordance with the journal's guidelines. Submissions that do not conform to the journal's guidelines will be returned to the submitting author with technical correction requests.

Authors are required to submit the following:

- Copyright Agreement Form,
- Author Contributions Form, and
- ICMJE Potential Conflict of Interest Disclosure Form (should be filled in by all contributing authors)

during the initial submission. These forms are available for download at http://cjm.istanbulc.edu.tr/en/_

Preparation of the Manuscript

Title page: A separate title page should be submitted with all submissions and this page should include:

- The full title of the manuscript as well as a short title (running head) of no more than 50 characters,
- Name(s), affiliations, highest academic degree(s), and ORCID IDs of the author(s),
- Grant information and detailed information on the other sources of support,
- Name, address, telephone (including the mobile phone number) and fax numbers, and email address of the corresponding author,
- Acknowledgment of the individuals who contributed to the preparation of the manuscript but who do not fulfill the authorship criteria.

Abstract: A Turkish and an English abstract should be submitted with all submissions except for Letters to the Editor. The abstract of Original Articles should be struc-

ured with subheadings (Objective, Methods, Results, and Conclusion). Please check Table 1 below for word count specifications.

Keywords: Each submission must be accompanied by a minimum of three to a maximum of six keywords for subject indexing at the end of the abstract. The keywords should be listed in full without abbreviations. The keywords should be selected from the National Library of Medicine, Medical Subject Headings database (<https://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>).

Manuscript Types

Original Articles: This is the most important type of article since it provides new information based on original research. The main text of original articles should be structured with Introduction, Material and Methods, Results, and Discussion subheadings. Please check Table 1 for the limitations for Original Articles.

Statistical analysis to support conclusions is usually necessary. Statistical analyses must be conducted in accordance with international statistical reporting standards (Altman DG, Gore SM, Gardner MJ, Pocock SJ. Statistical guidelines for contributors to medical journals. *Br Med J* 1983; 7; 1489-93). Information on statistical analyses should be provided with a separate subheading under the Materials and Methods section and the statistical software that was used during the process must be specified.

Units should be prepared in accordance with the International System of Units (SI).

Editorial Comments: Editorial comments aim to provide a brief critical commentary by reviewers with expertise or with high reputation in the topic of the research article published in the journal. Authors are selected and invited by the journal to provide such comments. Abstract, Keywords, and Tables, Figures, Images, and other media are not included.

Review Articles: Reviews prepared by authors who have extensive knowledge on a particular field and whose scientific background has been translated into a high volume of publications with a high citation potential are welcomed. These authors may even be invited by the journal. Reviews should describe, discuss, and evaluate the current level of knowledge of a topic in clinical practice and should guide future studies. The main text should contain Introduction, Clinical and Research Consequences, and Conclusion sections. Please check Table 1 for the limitations for Review Articles.

Case Reports: There is limited space for case reports in the journal and reports on rare cases or conditions that constitute challenges in diagnosis and treatment, those offering new therapies or revealing knowledge not included in the literature, and interesting and educative case reports are accepted for publication. The text should include Introduction, Case Presentation, Discussion, and Conclusion subheadings. Please check Table 1 for the limitations for Case Reports.

Letters to the Editor: This type of manuscript discusses important parts, overlooked aspects, or lacking parts of a previously published article. Articles on subjects within the scope of the journal that might attract the readers' attention, particularly educative cases, may also be submitted in the form of a "Letter to the Editor." Readers can also present their comments on the published manuscripts in the form of a "Letter to the Editor." Abstract, Keywords, and Tables, Figures, Images, and other media should not be included. The text should be unstructured. The manuscript that is being commented on must be properly cited within this manuscript.

Tables

Tables should be included in the main document, presented after the reference list, and they should be numbered consecutively in the order they are referred to within the main text. A descriptive title must be placed above the tables. Abbreviations used in the tables should be defined below the tables by footnotes (even if they are defined within the main text). Tables should be created using the "insert table" command of the word processing software and they should be arranged clearly to provide easy reading. Data presented in the tables should not be a repetition of the data presented within the main text but should be supporting the main text.

Figures and Figure Legends

Figures, graphics, and photographs should be submitted as separate files (in TIFF or JPEG format) through the submission system. The files should not be embedded in a Word document or the main document. When

there are figure subunits, the subunits should not be merged to form a single image. Each subunit should be submitted separately through the submission system. Images should not be labeled (a, b, c, etc.) to indicate figure subunits. Thick and thin arrows, arrowheads, stars, asterisks, and similar marks can be used on the images to support figure legends. Like the rest of the submission, the figures too should be blind. Any information within the images that may indicate an individual or institution should be blinded. The minimum resolution of each submitted figure should be 300 DPI. To prevent delays in the evaluation process, all submitted figures should be clear in resolution and large in size (minimum dimensions: 100 × 100 mm). Figure legends should be listed at the end of the main document.

All acronyms and abbreviations used in the manuscript should be defined at first use, both in the abstract and in the main text. The abbreviation should be provided in parentheses following the definition.

When a drug, product, hardware, or software program is mentioned within the main text, product information, including the name of the product, the producer of the product, and city and the country of the company (including the state if in USA), should be provided in parentheses in the following format: "Discovery St PET/CT scanner (General Electric, Milwaukee, WI, USA)"

All references, tables, and figures should be referred to within the main text, and they should be numbered consecutively in the order they are referred to within the main text.

Limitations, drawbacks, and the shortcomings of original articles should be mentioned in the Discussion section before the conclusion paragraph.

References

While citing publications, preference should be given to the latest, most up-to-date publications. Authors are responsible for the accuracy of references. References

Table 1: Limitations for each manuscript type

Type of manuscript	Word limit	Abstract word limit	Reference limit	Table limit	Figure limit
Original Article	3500	250 (Structured)	30	6	7 or total of 15 images
Review Article	5000	250	50	6	10 or total of 20 images
Case Report	1000	200	15	No tables	10 or total of 20 images
Letter to the Editor	500	No abstract	5	No tables	No media

must be prepared according to Vancouver Reference style. If an ahead-of-print publication is cited, the DOI number should be provided. Journal titles should be abbreviated in accordance with the journal abbreviations in Index Medicus/ MEDLINE/PubMed. When there are six or fewer authors, all authors should be listed. If there are seven or more authors, the first six authors should be listed followed by "et al." In the main text of the manuscript, references should be cited using Arabic numbers in parentheses. The reference styles for different types of publications are presented in the following examples.

Journal Article: Rankovic A, Rancic N, Jovanovic M, Ivanović M, Gajović O, Lazić Z, et al. Impact of imaging diagnostics on the budget – Are we spending too much? *Vojnosanit Pregl* 2013; 70: 709-11.

Book Section: Suh KN, Keystone JS. Malaria and babesiosis. Gorbach SL, Barlett JG, Blacklow NR, editors. *Infectious Diseases*. Philadelphia: Lippincott Williams; 2004.p.2290-308.

Books with a Single Author: Sweetman SC. *Martindale the Complete Drug Reference*. 34th ed. London: Pharmaceutical Press; 2005.

Editor(s) as Author: Huizing EH, de Groot JAM, editors. *Functional reconstructive nasal surgery*. Stuttgart-New York: Thieme; 2003.

Conference Proceedings: Bengisson S, Sothemin BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. *MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics*; 1992 Sept 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. pp.1561-5.

Scientific or Technical Report: Cusick M, Chew EY, Hoogwerf B, Agrón E, Wu L, Lindley A, et al. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Risk factors for renal replacement therapy in the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS), Early Treatment Diabetic Retinopathy Study *Kidney Int*: 2004. Report No: 26.

Thesis: Yılmaz B. *Ankara Üniversitesindeki Öğrencilerin Beslenme Durumları, Fiziksel Aktiviteleri ve Beden Kitle İndeksleri Kan Lipidleri Arasındaki İlişkiler*. H.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 2007.

Manuscripts Accepted for Publication, Not Published Yet: Slots J. The microflora of black stain on human primary teeth. *Scand J Dent Res*. 1974.

Epub Ahead of Print Articles: Cai L, Yeh BM, Westphalen AC, Roberts JP, Wang ZJ. Adult living donor liver imaging. *Diagn Interv Radiol*. 2016 Feb 24. doi: 10.5152/dir.2016.15323. [Epub ahead of print].

Manuscripts Published in Electronic Format: Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis (serial online)* 1995 Jan-Mar (cited 1996 June 5): 1(1): (24 screens). Available from: URL: [http:// www.cdc.gov/ncidod/EID/cid.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/EID/cid.htm).

REVISIONS

When submitting a revised version of a paper, the author must submit a detailed "Response to the reviewers" that states point by point how each issue raised by the reviewers has been covered and where it can be found (each reviewer's comment, followed by the author's reply and line numbers where the changes have been made) as well as an annotated copy of the main document. Revised manuscripts must be submitted within 30 days from the date of the decision letter. If the revised version of the manuscript is not submitted within the allocated time, the revision option may be cancelled. If the submitting author(s) believe that additional time is required, they should request this extension before the initial 30-day period is over.

Accepted manuscripts are copy-edited for grammar, punctuation, and format. Once the publication process of a manuscript is completed, it is published online on the journal's webpage as an ahead-of-print publication before it is included in its scheduled issue. A PDF proof of the accepted manuscript is sent to the corresponding author and their publication approval is requested within 2 days of their receipt of the proof.

Editor in Chief: Prof. Gökhan İpek

Address: Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty, 34098, Fatih Istanbul, Turkey

Phone: +90212 4143000-22050

E-mail: gokhanipek@superonline.com

Publisher: AVES

Address: Büyükdere Cad. 105/9 34394 Mecidiyeköy, Şişli, İstanbul, Turkey

Phone: +90 212 217 17 00

Fax: +90 212 217 22 92

E-mail: info@avesyayincilik.com

Web page: avesyayincilik.com

Cerrahpaşa Tıp Dergisi

Cerrahpaşa Medical Journal

Cilt / Volume 43 Sayı / Number 1 Nisan / April 2019 Sayfa / Pages 1-39

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

DERLEME / REVIEW

Asemptomatik Böbrek Taşlarında Aktif İzlem

Active surveillance for asymptomatic kidney stones

O. Özman, B. Önal..... 1

ÖZGÜN ARAŞTIRMALAR / ORIGINAL ARTICLES

DeneySEL Kronik Nefroz Modeli Sıçan Glomerüllerinde TGF-β1 Ekspresyonu ve Mezangiyal Değişiklikler

TGF-β1 expression and mesangial alterations in rat glomeruli of an experimental chronic nephrosis model

İ. Seçkin, M. Uzunalan, M. Ayaz Pekpak, S. Köktürk, H. A. Sönmez, Z. B. Güngör, E. Yaprak Saraç,

A. Emincik, S. D. Delipinar 6

A 16-Year Analysis of Antifungal Susceptibilities of Invasive *Candida* spp Tested in Our Daily Hospital Routine

Onaltı yıl boyunca hastanemizde rutin olarak test edilmiş olan invaziv Candida spp antifungal duyarlılıklarının analizi

A. S. Kantarcıoğlu, G. Aygün 13

Factors Affecting Mortality in Rapidly Progressive Diabetic Foot Ulcer Patients

Hızlı ilerleyici diyabetik ayak yarası hastalarında mortaliteyi etkileyen faktörler

A. Demiröz, H. Arslan 23

Assessing the Consistency of Clinical Diagnosis and Ancillary Tests for Brain Death

Beyin ölümü için klinik tanı ve yardımcı testlerin tutarlılığı

T. Utku, S. Bozbaş, S. Ürkmez, E. F. Akçıl, O. Demirkıran, Y. Dikmen..... 29

OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

Case of Rhabdomyolysis in a Patient Undergoing Hemodialysis: A Possible Association with Tramadol HCl

Hemodiyalize giren bir hastada tramadol sonrası gelişen rabdomiyoliz

S. Trabulus, M. Özbalak, E. Kaya, T. Apaydın, H. Mefkure Özkaya, Ö. Açbay, N. Seyahi 34

A Case of Everolimus Related Pneumonitis Occurred After Switching Treatment from Sirolimus in a Kidney Transplant Patient

Tedavinin Sirolimus'tan Everolimus'a değiştirilmesi sonucu Everolimus'a bağlı pnömonit gelişen bir böbrek transplantasyonu hastası olgusu

E. Kaya, A. Karakoç, M. Velidedeoğlu, S. Pekmezci, S. Trabulus, N. Seyahi 37

Asemptomatik Böbrek Taşlarında Aktif İzlem

Oktay Özman , Bülent Önal 

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Cite this article as: Özman O, Önal B. Active Surveillance for Asymptomatic Kidney Stones. *Cerrahpaşa Med J* 2019; 43(1): 1-5.

Öz

Üriner sistem taş hastalığı tedavi yönetimindeki ilerlemelere rağmen taşların doğal seyrine dair yeterince veri bulunmamaktadır. Bu derlemenin amacı asemptomatik böbrek taşlarının doğal seyri ve aktif izlemin sonuçlarını güncel çalışmalar ışığında sunmaktır. Mevcut bulgular ışığında asemptomatik böbrek taşlarının %3-30 spontan olarak düştüğü, %12-50 semptomatik hale geldiği, semptom ve bulgular ile %10-26 oranında girişim gerekliliği doğduğu, %21-66 oranında ise taşlarda büyüme gözlemlendiği söylenebilir. Profilaktik tedavi yöntemlerinin sonuçları ile karşılaştırıldığında uygun vakalarda aktif izlem önerilebilir.

Anahtar Sözcükler: Böbrek taşı, aktif izlem, takip, kalkül, asemptomatik

Cerrahpaşa Tıp Derg 2019; 43(1): 1-5

Active surveillance for asymptomatic kidney stones

Abstract

Despite the advances in the management of urinary tract stone disease, data on the natural history of stones are insufficient. Therefore, the aim of this review is to present the natural history of asymptomatic kidney stones and the results of their active surveillance in the light of the current studies. Taking into account the current findings, it can be said that asymptomatic kidney stones transit spontaneously in 3%–30% of patients, become symptomatic in 12%–50%, and necessitate active treatment in 10%–26%. Active surveillance may be recommended in appropriate cases considering the results of prophylactic treatments.

Keywords: Kidney stone, active surveillance, follow-up, calculi, asymptomatic

Cerrahpaşa Med J 2019; 43(1): 1-5

Üriner sistem taş hastalığı tedavi yönetimindeki ilerlemelere rağmen hangi taşın düşeceği hangi taşın büyüebileceğini öngörme konusunda yeterince kanıt bulunmamaktadır [1]. Öte yandan tanı testlerinin duyarlılığının artmasıyla asemptomatik böbrek taşlarının insidansı da artmaktadır [2, 3]. Literatürde yer alan retrospektif bir insidans çalışmasında herhangi bir endikasyon ile batin ve retroperitoneal ultrasonografik görüntüleme yapılan hastalarda %29-45 oranında asemptomatik böbrek taşı saptandığı bildirilmiştir [4]. Bu nedenle asemptomatik böbrek taşlarının doğal seyrine dair kanıt sunan çalışmaların ayrı bir önemi vardır. Böbrek taşlarında izlem taşın doğal seyrine bağlıdır. Avrupa Üroloji Derneği 6 aydan uzun süre klinik olarak stabil seyreden asemptomatik taşların takip edilebileceğini önermektedir [5]. Mevcut kanıtlar ışığında asemptomatik taşların aktif izlemi sıklıkla uygulanmaktadır.

Bu derlemenin amacı asemptomatik böbrek taşlarının doğal seyri ve aktif izlemin sonuçlarını güncel çalışmalar ışığında sunmaktır.

Kanıtların Toplanması

1990-2017 yılları arasında asemptomatik böbrek taşlarında aktif izleme yönelik yapılmış orijinal çalışmalar ve derlemeleri içeren bir Medline taraması yapıldı. Anahtar kelimeler olarak; 'asymptomatic renal calculi, natural history, asymptomatic renal stone, active surveillance' kullanıldı. Toplam 783 sonucun sırasıyla başlıkları ve özetleri incelenerek elemeye tabi tutuldu. Uygun bulunan 12 çalışma derlemeye dahil edildi.

Mevcut bulgular ışığında asemptomatik böbrek taşlarının %3-30 spontan olarak düştüğü, %12-50 semptomatik hale geldiği, semptom ve bulgular ile %10-26 oranında girişim gerekliliği doğduğu, %21-66 oranında ise taşlarda büyüme gözlemlendiği söylenebilir. Aktif izlem başarısızlığı ya da klinik progresyon faktörleri olarak taşın büyüklüğü, lokalizasyonu, daha önceden taş hikayesi ve birden çok taş varlığı sayılabilir.

Geliş Tarihi/Received: 5 Aralık 2011 **Kabul Tarihi/Accepted:** 8 Mayıs 2019

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Bülent Önal;

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

E-posta/E-mail: bulonal@hotmail.com

DOI: 10.26650/cjm.2019.43.3



Kanıtların Sentezi

Aktif izlem klinik sonuçları semptom gelişimi, girişim gerekliliği (taş cerrahisi, şok dalgası ile taş kırma (SWL) ya da nefrektomi), spontan pasaj ve taş büyümesi olarak gruplandı. Spontan pasaj dışındaki klinik sonuçlar hastalık progresyonu ya da aktif izlem başarısızlığı olarak da tanımlanabilir. Klinik sonuçların özeti de Tablo 1'de sunulmuştur.

Semptom gelişimi

Böbrek taşları genellikle yan ağrısı, bunun şiddetli bir şekli olan renal kolik ve makroskopik hematüri ile semptomatik hale gelir. Tabloya idrar yolu enfeksiyonunun eklenmesi halinde yan ağrısına ateş, bulantı, kusma ve disüri eşlik eder. Semptom gelişimi ile ilgili veri içeren 8 çalışma incelendi [6-13].

Dropkin ve ark. [6] 2015 yılında yaptığı, 110 hastadan oluşan prospektif bir kesitsel çalışmada hastalar 41±19 ay takip edilmiş. Bu sürede taşların %28'inde semptom geliştiği gözlenmiştir. Alt pol taşlarının böbreğin diğer lokalizasyonlarında yerleşen taşlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az semptoma neden olduğu saptanmıştır (%24,3'e karşı %40,6). Yapılan multivaryan analize göre alt pol lokalizasyonu semptom gelişimini öngörmede tek bağımsız risk faktörü olarak bulunmuştur. Semptom gelişen taşların çoğunda (%60) cerrahi tedaviye gerek görülmüştür.

2007 yılında yayımlanan Inci ve ark. [7] çalışmasında ise %13 oranında semptom gelişimi gözlenmiştir. Aynı şekilde prospektif kesitsel bir dizaynı olan bu çalışmada hastalar ortalama 52 ay takip edilmiştir. Ancak sadece tanı anında alt polde asemptomatik taşı olan 24 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Bu oranın ilk çalışmadaki alt pol taşları alt grubunun semptom oranlarından (%24,3) daha az olması hasta sayısının az olmasına bağlandı.

Burgher ve ark. [9] yaptığı bir başka çalışmada ise ortalama 3,26 yıllık takipte hastaların yarısından fazlasında ağrı geliştiği gözlenmiştir. Bu oran saptanan en yüksek semptom oranıydı. Fakat tam boyutu ortalaması diğer çalışmalara göre nispeten büyük idi (10,1 mm). 1992 yılında Glowacki ve ark. [8] yaptığı öncü çalışmada ise bu oran %32 saptanmıştır. Hastalar bu çalışmada ortalama 31,6 ay takip edilmiştir. Bu çalışmada ağrı gelişimi ile taş içeriği, idrar volümü ve solüt konsantrasyonu arasındaki ilişki incelenmiş ve istatistiksel anlamlı bir sonuca varılamamıştır. Bunun yanında taş hikayesi ve taş sayısı ile semptom gelişimi arasında lineer bir ilişki saptanmıştır. Burgher ve ark. [9] çalışmasında ise bu ilişki doğrulanamamıştır.

En çok hasta içeren çalışma 2013 yılında Kang ve ark. [13] tarafından yayımlanmıştır. Bu retrospektif çalışma 347 hastadan oluşmuş olup, hastaların %24,5'inde semptom gelişimi gözlenmiştir. Hastaların

yaklaşık olarak 2 yıl takip edildiği diğer üç çalışmada ise %12 ile %26 arasında semptom gelişim oranı bildirilmiştir [10-12].

Taşa yönelik girişim gerekliliği

Asemptomatik taşlara ne zaman girişim yapılması gerektiği hala tartışmalı bir konudur. Yuruk ve ark. [14] yaptığı randomize klinik çalışmada ise asemptomatik alt pol taşlarında PCNL, SWL ve aktif izlemin sonuçları karşılaştırılmıştır. Yaklaşık 2 yıllık bir takip sonunda girişim uygulanan grupların yarısı taşsız hale gelirken aktif izlem hastalarının yaklaşık %20'sinde girişime gerek görülmüştür. Keeley ve ark. [11] yaptığı profilaktik SWL ve aktif izlemin karşılaştırıldığı randomize klinik bir çalışmada ortalama 2,2 yıllık izlem sonucunda %10 oranında girişim gerekliliği doğmuştur. Profilaktik SWL'nin hastalarda taşsızlık, hayat kalitesi ya da semptom gelişimi açısından herhangi bir avantaj sağlamadığı saptanmıştır.

Spontan pasaj

Böbrek taşları yerçekiminin etkisi, pelvikalisial ve üreterik peristaltizm ile spontan olarak düşebilmektedir. Spontan pasajın hızlanması için hastalara hareket etmeleri ve bol sıvı tüketmeleri tavsiye edilir.

10 çalışma spontan pasaj oranları açısından incelendi [6-8, 10, 11, 13-17]. Koh ve ark. [15] 2012 yılında yaptığı retrospektif çalışmada 50 hastanın ortalama 46 aylık takibi sonucunda spontan pasaj oranı %20 saptanmıştır. Boyutu 5 mm ve daha küçük olan taşların düşüş oranları istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek tespit edilmiştir. Fakat tanı anındaki taş lokalizasyonu ile spontan pasajları arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Takip boyunca alt pol taşlarında %16 oranında pasaj gözlenmiştir.

Hastaların en uzun süre takip edildiği çalışma ise 2007 yılında Inci ve ark. [7] tarafından yapılmıştır. Ortalama 52 ay boyunca izlenen hastalarda aynı şekilde %20 spontan pasaj bildirilmiştir. Fakat bu çalışmada sadece alt kaliks taşları incelenmiştir. Yapılan bir başka çalışmada alt kaliks taşlarında en düşük spontan pasaj oranı bildirildi (%3,1). Hastaların iki yıldan daha kısa bir süre takip edildiği bu çalışmada sadece bir hastada pasaj gözlenmiştir [14]. Her ne kadar 347 hastanın incelendiği bir çalışma olsa da diğer çalışmalara göre Kang ve ark. [13] çok daha küçük taşları gözlemlemiştir (ortalama 4 mm). Bu çalışmada %29 ile en yüksek spontan pasaj oranı bildirilmiştir. Bunlardan Dropkin ve ark. [6] alt kaliks taşlarını ayrıca değerlendirdiği çalışmada diğer lokalizasyonlara göre belirgin derecede düşük pasaj saptanmıştır (%2,9). Son yıllarda yayımlanan sadece alt kalikte asemptomatik taşı olan çocukların dahil edildiği iki çalışmada benzer takip sürelerine rağmen oldukça farklı spontan pasaj oranları

Tablo 1. Çalışmaların Özeti

	Çalışma	Hasta sayısı	Ortalama taş boyutu (mm)	Ortalama takip süresi (ay)	Alt pol %	Toplam oran % n/N
Spontan pasaj	Koh ve ark. (2012) [15]	50	5,7	46	16,2 (6/37)	20 (10/50)
	Inci ve ark. (2007) [7]	24	8,8	52,3	20 (5/24)	20 (5/24)
	Yuruk ve ark. (2010) [14]	32	N/A	19,4	3,1 (1/32)	3,1 (1/32)
	Keeley ve ark. (2001) [11]	99	N/A	26,4	N/A	16 (9/99)
	Glowacki ve ark.(1992) [8]	107	N/A	32	N/A	15 (16/107)
	Dropkin ve ark. (2015) [6]	110	7±4,2	41±19	2,9 (2/70)*	9 (12/193)*
	Sener ve ark. (2015) [10]	50	7,9±0,7	21±3,6	10 (5/50)	10 (5/50)
	Kang ve ark. (2013) [13]	347	4	31	N/A	29,1 (101/347)
	Telli ve ark. (2017) [16]	110 (çocuk)	>7	40,8±20,8	9,1	9,1
	Dos S. ve ark.(2016) [17]	224 (çocuk)	5	35	53,6 (120/224)	53,6 (120/224)
Semptom gelişimi	Dropkin ve ark. (2015) [6]	110	7±4,2	41±19	24,3*	28*
	Inci ve ark. (2007) [7]	24	8,8	52,3	13	13
	Glowacki ve ark.(1992) [8]	107	N/A	32	N/A	32
	Burgher ve ark. (2004) [9]	300	10,8	39	N/A	50
	Sener ve ark. (2015) [10]	50	7,9±0,7	21±3,6	12 (6/50)	12 (6/50)
	Keeley ve ark. (2001) [11]	99	N/A	26,4	N/A	17 (17/99)
	Seseke ve ark. (2011) [12]	104	N/A	25	N/A	26 (27/104)
Taşın Büyümesi	Kang ve ark. (2013) [13]	347	N/A	19	N/A	24,5 (85/347)
	Hubner ve ark. (1990) [18]	N/A	N/A	N/A	N/A	45
	Burgher ve ark. (2004) [9]	300	10,8	39	61	51
	Inci ve ark. (2007) [7]	24	8,8	52,3	33,3 (9/27)**	33,3 (9/27)**
	Dropkin ve ark. (2015) [6]	110	7±4,2	41±19	18,6 (13/70)*	21*
	Seseke ve ark. (2011) [12]	104	N/A	25	N/A	37,5 (39/104)
	Sener ve ark. (2015) [10]	50	7,9±0,7	21±3,6	66 (33/50)	66 (33/50)
Girişim gerekliliği	Dropkin ve ark. (2015) [6]	110	7±4,2	41±19	18,6 (13/70)*	19 (27/139)*
	Inci ve ark. (2007) [7]	24	8,8	52,3	12 (3/24)	12 (3/24)
	Yuruk ve ark. (2010) [14]	32	N/A	19,4	18,7 (7/32)	18,7 (7/32)
	Burgher ve ark. (2004) [9]	300	10,8	39	N/A	26
	Dos S. ve ark.(2016) [17]	224 (çocuk)	5	35	21,4 (48/224)	21,4 (48/224)
	Keeley ve ark. (2001) [11]	99	N/A	26,4	N/A	10 (10/99)

*Hasta sayısı yerine taş sayısı

**Hasta sayısı yerine renal ünite sayısı kullanılmış

rapor edilmiştir. Farklılığın ortalama taş boyutlarından kaynaklandığı düşünülmüştür [16, 17].

Taşın büyümesi

Dropkin ve ark. [6] tarafından 110 hasta ve 160 asemptomatik böbrek taşının dahil edildiği güncel bir çalışmada taşların %21'inde tanı anındaki boyutlarına göre %50 ve üzerinde büyüme gözlenmiştir. Bu çalışmada hastalar çoğunlukla ultrasonografik görüntülemeler ile değerlendirilmiştir. Ancak unutulmamalıdır ki, farklı kişiler tarafından ya da farklı zamanlarda yapılan ultrasonografik değerlendirmelerinde özellikle küçük taşların boyutlarında yüksek oranda tutarsızlık olduğu bilinmektedir.

Alt kaliks taşlarını inceleyen bir başka çalışmada ise %33 büyüme gözlenmiştir. Fakat ilk çalışmadan farklı olarak taşların çapındaki herhangi bir artış anlamlı kabul edilerek orana dahil edilmiştir [7]. Sener ve ark. [10] tarafından alt kaliks taşlarına yönelik yapılan çalışmada ise %66 taş büyümesi saptanmıştır. Oranların bu kadar farklı olması taş büyümesi tanımının çalışmaları arasında farklılık göstermesine bağlanmıştır.

Burgher ve ark. [9] yaptığı 300 erkek hastadan oluşan retrospektif çalışmaya göre tanı anında büyük olan taşlar küçüklere göre daha az büyüme göstermiştir. Aynı çalışmada alt pol taşlarında büyüme oranları diğer lokalizasyona göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Nefrektomi gerekliliği

Asemptomatik böbrek taşlarının takibinde en çekini len sonuç asemptomatik bir obstrüksiyon süreci sonucunda böbreğin tüm fonksiyonlarını geri dönüşümsüz olarak kaybetmesidir. Çalışmaların hiçbirinde nefrektomi gerektirecek kalıcı bir böbrek hasarı gelişimi bildirilmemiştir.

Sonuç

Mevcut bulgular ışığında asemptomatik böbrek taşlarının %3-30 spontan olarak düştüğü, %12-50 asemptomatik hale geldiği, semptom ve bulgular ile %10-26 oranında girişim gerekliliği doğduğu, %21-66 oranında ise taşlarda büyüme gözlemlendiği söylenebilir. Aktif izlem başarısızlığı ya da klinik progresyon faktörleri olarak taşın büyüklüğü, lokalizasyonu, daha önceden taş hikayesi ve birden çok taş varlığı sayılabilir. Profilaktik tedavi yöntemlerinin sonuçları ile karşılaştırıldığında uygun vakalarda aktif izlem önerilebilir.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - O.Ö., B.Ö.; Tasarım - O.Ö., B.Ö.; Denetleme - O.Ö., B.Ö.; Kaynaklar - O.Ö., B.Ö.; Malzemeler - O.Ö., B.Ö.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - O.Ö., B.Ö.;

Analiz ve/veya Yorum - O.Ö., B.Ö.; Literatür Taraması - O.Ö., B.Ö.; Yazıyı Yazan - O.Ö., B.Ö.; Eleştirel İnceleme - O.Ö., B.Ö.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadığını belirtmiştir.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - O.Ö., B.Ö.; Design - O.Ö., B.Ö.; Supervision - O.Ö., B.Ö.; Resources - O.Ö., B.Ö.; Materials - O.Ö., B.Ö.; Data Collection and/or Processing - O.Ö., B.Ö.; Analysis and/or Interpretation - O.Ö., B.Ö.; Literature Search - O.Ö., B.Ö.; Writing Manuscript - O.Ö., B.Ö.; Critical Review - O.Ö., B.Ö.

Conflict of Interest: The authors have no conflicts of interest to declare.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

Kaynaklar

1. Mazzuchi E. Opinion: Difference of opinion - Asymptomatic lower pole stone < 1 cm: to treat or not to treat? *Opinion: Treat. Int Braz J Urol* 2016; 42: 183-4. [\[CrossRef\]](#)
2. Stamatelou KK, Francis ME, Jones CA, Nyberg LM, Curhan GC. Time trends in reported prevalence of kidney stones in the United States: 1976-1994. *Kidney Int* 2003; 63: 1817-23. [\[CrossRef\]](#)
3. Boyce CJ, Pickhardt PJ, Lawrence EM, Kim DH, Bruce RJ. Prevalence of Urolithiasis in Asymptomatic Adults: Objective Determination Using Low Dose Noncontrast Computerized Tomography. *J Urol* 2010; 183: 1017-21. [\[CrossRef\]](#)
4. Bansal AD, Hui J, Goldfarb DS. Asymptomatic Nephrolithiasis Detected by Ultrasound. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 680-4. [\[CrossRef\]](#)
5. Türk C, Petřík A, Sarica K, Seitz C, Skolarikos A, Straub M, et al. EAU Guidelines on Diagnosis and Conservative Management of Urolithiasis. *Eur Urol* 2016; 69: 468-74. [\[CrossRef\]](#)
6. Dropkin BM, Moses RA, Sharma D, Pais VM Jr. The Natural History of Nonobstructing Asymptomatic Renal Stones Managed with Active Surveillance. *J Urol* 2015; 193: 1265-9. [\[CrossRef\]](#)
7. Inci K, Sahin A, Islamoglu E, Eren MT, Bakkaloglu M, Ozen H. Prospective Long-Term Followup of Patients With Asymptomatic Lower Pole Caliceal Stones. *J Urol* 2007; 177: 2189-92. [\[CrossRef\]](#)
8. Glowacki LS, Beecroft ML, Cook RJ, Pahl D, Churchill DN. The Natural History of Asymptomatic Urolithiasis. *J Urol* 1992; 147: 319-21. [\[CrossRef\]](#)
9. Burgher A, Beman M, Holtzman JL, Monga M. Progression of Nephrolithiasis: Long-Term Outcomes with Observation of Asymptomatic Calculi. *J Endourol* 2004; 18: 534-9. [\[CrossRef\]](#)
10. Sener NC, Bas O, Sener E, Zengin K, Ozturk U, Altunkol A, et al. Asymptomatic Lower Pole Small Renal Stones:

- Shock Wave Lithotripsy, Flexible Ureteroscopy, or Observation? A Prospective Randomized Trial. *Urology* 85: 33-7. [\[CrossRef\]](#)
11. Keeley FX Jr, Tilling K, Elves A, Menezes P, Wills M, Rao N, et al. Preliminary results of a randomized controlled trial of prophylactic shock wave lithotripsy for small asymptomatic renal calyceal stones. *BJU Int* 2001; 87: 1-8. [\[CrossRef\]](#)
 12. Seseke S, Rudolph R, Rebmann U. Gibt es den symptomlosen Nierenstein? *Aktuelle Urol* 2011; 42: 374-7. [\[CrossRef\]](#)
 13. Kang HW, Lee SK, Kim WT, Kim YJ, Yun SJ, Lee SC, et al. Natural History of Asymptomatic Renal Stones and Prediction of Stone Related Events. *J Urol* 2013; 189: 1740-6. [\[CrossRef\]](#)
 14. Yuruk E, Binbay M, Sari E, Akman T, Altinyay E, Baykal M, A Prospective, Randomized Trial of Management for Asymptomatic Lower Pole Calculi. *J Urol* 2010; 183: 1424-8. [\[CrossRef\]](#)
 15. Koh LT, Ng FC, Ng KK. Outcomes of long-term follow-up of patients with conservative management of asymptomatic renal calculi. *BJU Int* 2012; 109: 622-5. [\[CrossRef\]](#)
 16. Telli O, Hamidi N, Bagci U, Demirbas A, Hascicek AM, Soygur T, et al. What happens to asymptomatic lower pole kidney stones smaller than 10 mm in children during watchful waiting? *Pediatr Nephrol* 2017; 32: 853-7. [\[CrossRef\]](#)
 17. Dos Santos J, Lopes RI, Veloso AO, Harvey E, Farhat WA, Papanikolaou F. Outcome Analysis of Asymptomatic Lower Pole Stones in Children. *J Urol* 2016; 195: 1289-93. [\[CrossRef\]](#)
 18. Hübner W, Porpaczy P. Porpaczy, Treatment of Caliceal Calculi. *Br J Urol* 1990; 66: 9-11. [\[CrossRef\]](#)

DeneySEL Kronik Nefroz Modeli Sıçan Glomerüllerinde TGF-β1 Ekspresyonu ve Mezangiyal Değişiklikler

Ismail Seçkin¹ , Mümin Uzunalan¹ , Meltem Ayaz Pekpak² , Sibel Köktürk³ , Hüseyin Avni Sönmez⁴ , Zeynep Banu Güngör⁴ , Elif Yaprak Saraç⁵ , Aslı Emincik¹ , Sibel Demirci Delipınar¹ 

¹İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Nefroloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ordu, Türkiye

⁴İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁵İstanbul Üniversitesi Çapa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Cite this article as: Seçkin İ, Uzunalan M, Ayaz Pekpak M, Köktürk S, Sönmez HA, Güngör ZB. TGF-β1 expression and mesangial alterations in rat glomeruli of an experimental chronic nephrosis model. *Cerrahpaşa Med J* 2019; 43(1): 6-12.

Öz

Amaç: Puromisin aminonükleozid nefroz (PAN), proteinüri ile seyreden podosit yaralanması modeli olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. DeneySEL olarak uyarılmış PAN hayvan modellerinde, minimal değişikliklere sahip insan nefrotik sendromu ve fokal segmental glomerulosklerozdakine benzer histolojik değişiklikler gösterilmiş, ancak etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Yapılan çalışmalar, çoğu kronik böbrek hasarlarında, ekstrasellüler matriks (ESM) birikiminin görüldüğü ve bu süreçte transforming büyüme faktörü-β1 (TGF-β1)'in anahtar bir rol oynadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada biz, kronik PAN uyarılı sıçan böbrek glomerüllerinde, TGF-β1 ekspresyonu ve mezangial matriks (MM) birikimi arasındaki ilişkiyi, böbrek fonksiyonu ve ultrastrüktürel değişikliklerle incelemeyi amaçladık.

Yöntemler: Bu çalışma için 12 erkek Wistar albino sıçan iki gruba ayrıldı: kontrol grubu ve kronik grup (n=6). Bütün veriler istatistiksel olarak One-way ANOVA testi ile analiz edildi.

Bulgular: Proteinüri seviyeleri kronik nefroz grubunda kontrolden yüksek (p<0,0025), serum albümin ve kreatinin klirens değerleri ise oldukça düşüktü (p<0,05). PAN nefrozlu sıçanların glomerüllerinde, hem TGF-β1 ekspresyonu hem de MM birikimi belirgin şekilde artmıştı. Kronik PAN grubunun glomerüllerinin ultrastrüktürel görüntülerinde artmış MM içerisinde apoptotik endotel ve mezangial hücrelere, interstisyel kollajene ve makrofajlara rastladık.

Sonuç: Bulgularımız, kronik PAN uygulamasının böbrek fonksiyonlarında bozulma ile birlikte, glomerülde TGF-β1 ekspresyonu, MM artışına, interstisyel kollajen oluşumuna ve makrofajların göçüne neden olan bir nefrotik sendromu indüklediğini düşündürmektedir. Bu çalışma, ikili işaretlemelerle TGF-β1'in ana kaynağının ve TGF-β1 sinyal yollarının belirlenmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duymaktadır.

Anahtar Sözcükler: Mezangial matriks, puromisin aminonükleozid nefroz, TGF-β1, ultrastrüktür

Cerrahpaşa Tıp Derg 2019; 43(1): 6-12

TGF-β1 expression and mesangial alterations in rat glomeruli of an experimental chronic nephrosis model

Abstract

Objective: Puromycine aminonucleoside nephrosis (PAN) is extensively used as an experimental model of proteinuria following podocyte injury. In PAN animal models, nephrotic syndrome with minimal change disease and focal segmental sclerosis-like nephritis is demonstrated to be similar to that in human; however, the real mechanism of PAN is not yet elucidated. Evidence shows that transforming growth factor-β1 (TGF-β1) plays a key via stimulating matrix protein synthesis of both glomerular epithelial and mesangial cells. In this study, we aimed to examine the relationship between TGF-β expression and accumulation in mesangial matrix (MM) by the changes in renal function and ultrastructure alterations in renal glomeruli of the chronic PAN induced rats.

Methods: Twelve male Wistar albino rats were divided into two groups: control group (n=6), chronic group (n=6). All data was statistically analyzed by One-way ANOVA Test.

Results: Proteinuria levels in the chronic nephrosis groups were greater than the control (p<0.0025) whereas the levels of serum albumin and creatinine clearances were progressively decreased (p<0.05). TGF-β1 expression and MM were both significantly increased in PAN

Geliş Tarihi/Received: 28 Kasım 2017 **Kabul Tarihi/Accepted:** 17 Mayıs 2019

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: İsmail Seçkin;

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

E-posta/E-mail: isseckin@istanbul.edu.tr

DOI: 10.26650/cjm.2019.43.11



group. Ultrastructural images of glomeruli of PAN showed apoptotic endothelium and mesangial cells, interstitial collagen and macrophages in increased MM.

Conclusion: Our findings suggest that chronic PAN application induces a nephrotic syndrome, leading to renal impairment by TGF- β 1 expression in glomeruli, increase in MM, formation of abundant interstitial collagen, and migration of macrophages. We suggest that chronic PAN progressively increases TGF- β 1 expression and apoptosis following expansion of mesangial matrix in the affected glomeruli. This study needs further researches to determine the main source and signal pathway of TGF- β 1 expression by double staining methods.

Keywords: Mesangial matrix, puromycine aminonucleoside nephritis, TGF- β 1, ultrastructure

Cerrahpaşa Med J 2019; 43(1): 6-12

Deneysel olarak uyarılmış Puromisin aminonükleozid nefroz (PAN) hayvan modellerinde, masif proteinüri ile seyreden ve glomerüllerde, minimal değişikliklere sahip insan nefrotik sendromu ile daha ileri dönemlerde, süreye bağlı olarak gelişen fokal segmental glomerülosklerozdakine benzer histolojik değişiklikler gösterilmiş, ancak PAN'ın etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır [1, 2].

In vivo [3] ve *in vitro* [4] çalışmalarda da podositlerin glomeruler kapillerlerin selektif permeabilitesini sağlamak ile alakalı olduğu ve podosit ayaklarının kaynaşması/çekilmesi neticesi slitpore sayısındaki azalmanın ve onun haraplanması neticesi oluşmuş soyulmuş glomeruler bazal membran (GBM) bölgelerinin artan proteinüriden sorumlu olduğu desteklenmiştir [5-7].

Yapılan çalışmalar çoğu kronik böbrek hasarlarında, glomerüler hücreler ve makrofajların mezangiyal hücrelerin (MH) çoğalmasını ve ekstrasellüler matriksin (ESM) birikmesini tetikleyen MH büyüme faktörlerini salgıladığını göstermiştir [8, 9]. Bu süreçte etkili olan faktörlerden biri, renal hastalıkların ana profibrogenik büyüme faktörü olan transforming büyüme faktörü- β 1'dir (TGF- β 1) [3, 10]. TGF- β 1 ayrıca hücre göçü, proliferasyonu, farklılaşması, hipertrofi ve apoptoz gibi olaylarla da ilişkilidir [4]. Hem glomerüler epitelial hem de mezangiyal hücrelerde TGF- β 1'in matriks proteinlerinin sentezini uyarması, glomerülosklerozda anahtar bir rol oynadığının göstergesidir.

Biz de bu çalışmada, kronik PAN uyarılı sıçan böbrek glomerüllerinde, glomerüler fonksiyon, morfoloji ve TGF- β 1 ekspresyonu arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntemler

Hayvan çalışmaları

Çalışmada 90-120 gr ağırlığında 12 adet erkek Wistar Albino sıçan (İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma laboratuvarı) ayrı kafeslerde ısı ve nem kontrollü odalarda 12 saatlik gündüz/gece siklusunda tutuldu. Standart sıçan besiniyle ve serbest şekilde ulaşabildikleri çeşme suyu ile beslendi.

Deney hayvanları kontrol ve kronik PAN olarak iki gruba ayrıldı (n=6). Kronik gruba, Marinides ve ark.'nın

[5] kronik PAN modeline uygun olarak, %0,09'luk izotonik sodyum klorürde çözündürülmüş 1,67 mg puromisin aminonükleozid (PA)/100 g (Sigma Chemical Co St. Louis, MO, USA) subkutanöz olarak ilk üç hafta, haftada bir enjeksiyon; sonraki haftalarda iki haftada bir enjeksiyon olmak üzere 12 hafta uygulandı. Hayvanların 1., 3., 5., 6. ve 7. enjeksiyonları sonrasında 24 saatlik idrarları günlük olarak toplandı. Deney sonunda da eter anestezisi altında kan örnekleri alınan sıçanlar İstanbul Üniversitesi hayvan etik kurulunun kurallarına göre sakrifiye edildi ve sol böbrek dış korteks parçaları çıkarıldı.

Biyokimyasal analizler

Her sıçanın günlük idrar örneklerinden TCA yöntemi ile proteinüri ölçümü yapıldı [11]. Alınan kan örneklerinde serum albumin [BCG metodu [12]] ve kreatinin klirensi [Jaffe metodu [12]] ölçümü yapıldı. Serum albumin seviyeleri klinik kimya analizi ve kiti kullanılarak ölçüldü (Architect C8000, Abbott, Illinois, USA). Bütün hayvanlar deney başlangıcında ve deney sonunda tartıldı.

Işık mikroskopik analizler

Nekropsiden sonra sol böbrek korteksi dokularının yarısı %10 nötral formol ile fikse edildi ve ışık mikroskopi (IM) için 5 μ m kalınlığında parafin kesitler şeklinde hazırlandı. Rutin IM takibinden sonra, PAS + Hemalum uygulandı ve glomerül mezangiyal matriks oranları semi-kuantitatif olarak değerlendirildi [6]. Ayrıca immünohistokimyasal incelemeler için kesitlere TGF- β 1 antikorunu içeren ImmunoCruz TM Boyama Sistemi (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz CA, USA), 3,3'-Diaminobenzidine (DAB) kromojen-substrat, hematoksilin zıt boyamaları uygulandı ve semi-kuantitatif olarak değerlendirildi. Negatif kontrol için primer antikor uygulaması dışındaki tüm prosedürler aynı şekilde birer preparata uygulandı [7].

Mezangiyal matriks değerlendirmesi Raji ve ark.'nın yöntemine göre yapıldı [6]. PAS+Hemalum kesitleri mikroskop altında (Olympus BX 61 mikroskobu, Olympus DP 72 kamera sistemi ataçmanlı) 100x büyütmede her kesitte rastgele 20 glomerulus sayılarak değerlendirildi. Skorlar iki araştırmacı tarafından kör olarak mesangial matrix sahaları "0 ile +4" değerlendirildi.

Tablo 1. Kontrol ve Kronik Faz Gruplarında PAN enjeksiyonları (enj) öncesi ve sonrası protein değerleri (mg / 24 saat)

Proteinüri	Kontrol	1. enj	3. enj	5. enj*	6. enj	7. enj
Ortalama±Standart Sapma	4,87±3	5,18±2,2	34,39±7,6	40,96±12,7	184,23±81,5	247,5±90

*Proteinüri 5. enjeksiyonundan sonra arttı

Tablo 2. Kontrol ve Kronik Faz Gruplarının deneyin başlangıcında (Baş.) ve sonundaki biyokimyasal verileri

		Proteinüri (mg/24 sa)	Serum Albumin (g/dL)	Kreatinin Klirens (mL/dak)	Ağırlık (g)	İdrar Hacmi (cc/24 sa)
Kontrol	Baş.	3,12±2,4	3,23±0,1	0,55±0,8	105±13,78	7,2±2,1
	Son	4,87±3			140±15,49	11,5±2,3
Kronik	Baş.	5,18±2,2	2,35±0,38**	0,29±0,1**	100±8,94	7±3,2
	Son	247,50±90*			210±24,49**	9±4,8**

Tüm veriler ortalama±SS (medyan) olarak verildi

*p<0,0025

**p<0,05

ri arasında derecelendirildi. Daha sonra [(skor x aynı skordaki glomerül sayısı/20)+ (skor x aynı skordaki glomerül sayısı/20)+(......)]x100=1 sıçandaki MM oranı] formülü ile deney gruplarındaki mezangiyal matris oranları hesaplandı.

İmmunohistokimyasal değerlendirmeler de değiştirilmiş H-SCORE analizi ile her kesit için iki gözlemci ile kör olarak rastgele seçilen yirmi glomerulide semi-kantitatif olarak yapıldı. Reaktivite skorları 0-300 arasında olmak üzere yoğunluk kategorilerine ayrıldı: 0: Yok, 0-75: Zayıf reaksiyon fakat kontrole kıyasla kaydedilebilir, 75-150 (belirgin), 150-225: yoğun ve 225-300: çok yoğun. Her hayvan için ortalama bir skor belirlendi [12].

Elektron mikroskopik analizler

Korteksin ikinci yarısından alınan dokular transmisyon elektron mikroskopi (TEM) incelemeleri için uygun tekniklerle hazırlandı [12]. Zeiss EM 9 S2 elektron mikroskobunda incelenen parçaların ayrıca x6000 büyütmede morfometrik değerlendirilmeleri yapıldı. Morfometrik incelemeler için Powell metodu [13] biraz değiştirilerek periferik bölgelerden x6000 büyütmede çekilen elektron mikrograflarda 6 cm'lik perikapiller GBM sahasında slit-pore sayımı yapıldı.

İstatistiksel analizler

İki grubun proteinüri, serum albümin, kreatin klirens ve ağırlıkları ve immunohistokimyasal değerleri the Kolmogorov-Smirnov testine göre normal dağılımda oldukları için One-Way ANOVA testleri ve post hoc Holm-Sidak testi ile değerlendirildi. PAS boyanmasının H-SCORE değerleri ise Kruskal-Wallis One-Way ANOVA

VA ve takibinde Student-Newman-Keuls testleri ile değerlendirildi. İstatistiksel analizler GraphPad InStat statistic programında yapıldı. p<0.05 değerleri anlamlı kabul edildi.

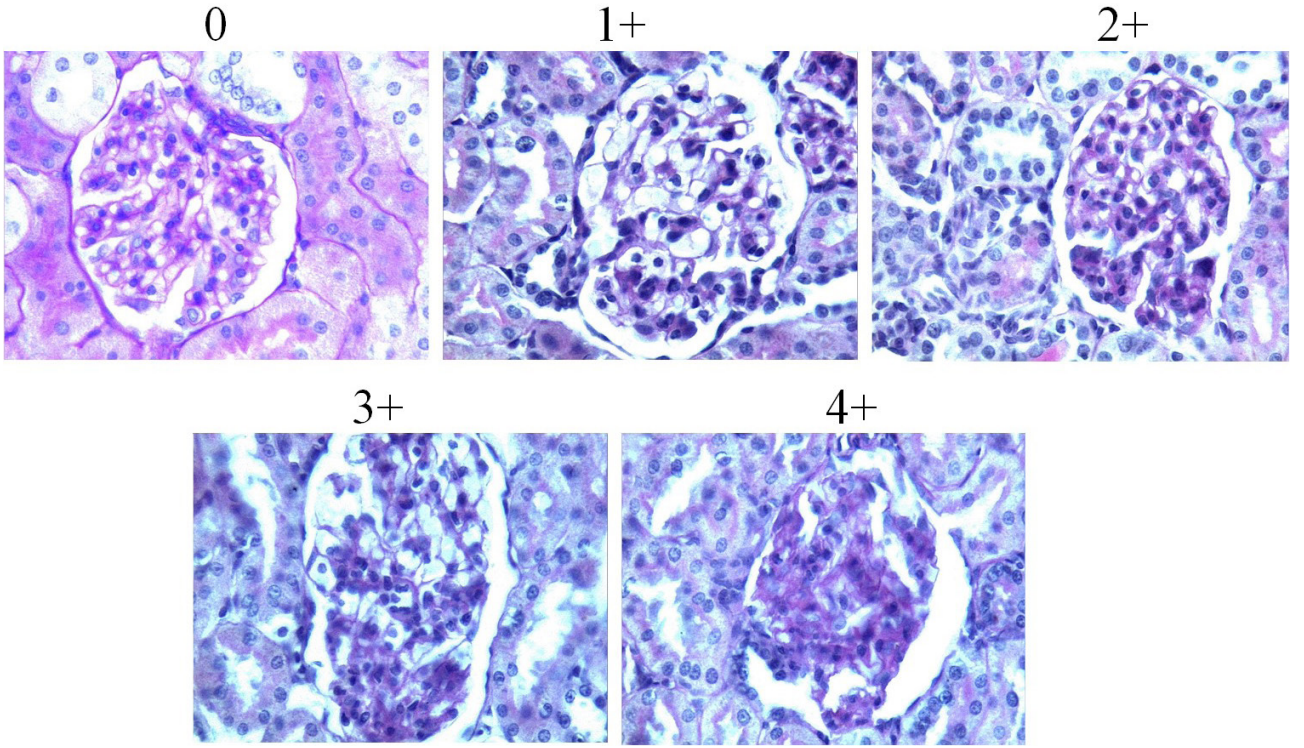
Bulgular

Biyokimyasal bulgular

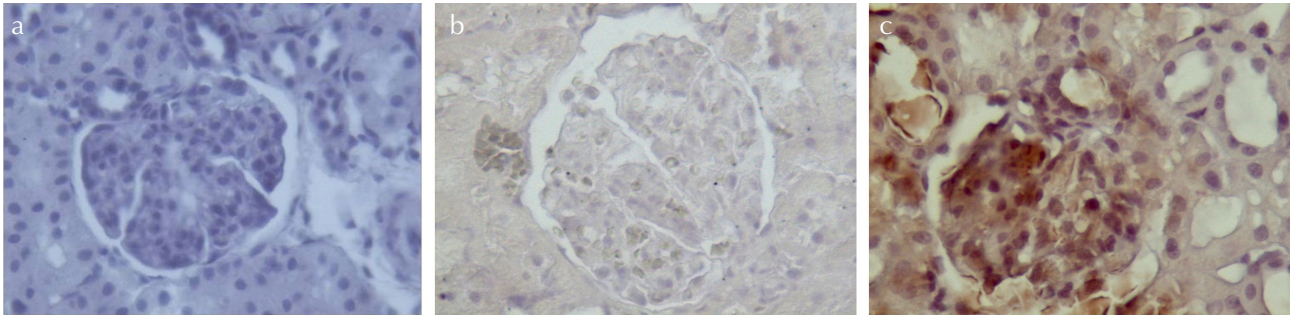
Kontrol grubu sıçanlarda ortalama proteinüri değerinin 4,87±3 mg/24 saat olduğunu ve kronik PAN sıçanlarında enjeksiyon öncesinde ortalama proteinüri değerinin kontrol grubuna yakın olarak 5,18±2,2 olduğunu gösterdi. Kronik PAN grubunda 12. haftada 7. PAN enjeksiyonu sonrasında proteinüri değerleri ortalaması başlangıç değerlerine kıyasla anlamlı olarak yaklaşık 50 kat artarak 247,5±90 mg/24 saate yükselmişti (Tablo 1). Kronik sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla proteinüri değerleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yükselmiş (p<0,0025) (Tablo 1), buna karşın serum albumin ve kreatinin klirensi azalmıştı. (p<0,05) (Tablo 2). Kontrol grubunun serum albumin değerleri ortalaması 3,23±0,1 g/dL iken kronik grubun değerleri 2,35±0,38 g/dL olarak hesaplandı. Kreatinin klirensi ortalaması ise kontrol grubunda 0,55±0,8 mL/dak iken kronik grupta 0,29±0,1 mL/dak. ya düşmüştü (Tablo 2).

Kontrol grubundaki hayvanların ortalama ağırlıkları, başlangıçta 100±17,8 g iken deney süresinin sonunda 140±15,49 g'a yükselirken; kronik grubun ortalaması, başlangıçta 100±8,94 iken anlamlı derecede artarak 210±24,49 g'a yükselmişti (p<0,05) (Tablo 2).

24 saatlik ortalama idrar volümleri karşılaştırıldığında kontrol grubunda başlangıçta 7,2±2,1 cc iken de-



Şekil 1. Kronik PAN grubunun böbrek cisimciğindeki semi-kuantitatif değerlendirmeleri (0 ila +4 arasında) gösteren ışık mikroskobik fotoğraflar, PAS+Hemalum, X40



Şekil 2. a-c. Kontrol ve deney gruplarının glomerüllerinde TGF-β1 antikorunun immünoreaktivitesi. Negatif kontrol (a), Kontrol grubu (b), Kronik PAN grubu, X40 (c)

Tablo 3. Kontrol ve kronik faz gruplarının semi-kantitatif mezangiyal matriks oranları ve TGF-β1 immünoreaktivitesi

	Mezangiyal Matriks Oranı	TGF-β1 Reaktivitesi
Kontrol	13,33±4,08	0
Kronik	154,66±44,21*	250,6±25,7
Tüm veriler ortalama±SS (medyan) olarak verildi *p<0,05		

ney süresi sonunda $11,5 \pm 2,3$ cc'e yükselirken, deney grubunun ortalaması başlangıçta $7 \pm 3,2$ cc iken deney süresi sonunda $9 \pm 4,8$ cc 'e anlamlı derecede yükselmişti ($p < 0,05$) (Tablo 2).

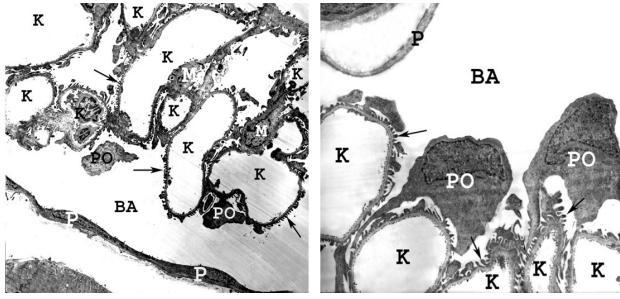
Işık mikroskopik bulgular

Deney gruplarının PAS+Hemalum ile boyanan preparatlarında semi-kuantitatif olarak hesaplanan böbrek cisimciğindeki ortalama MM oranı, kronik grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükselmişti ($p < 0,05$) (Tablo 3) (Şekil 1).

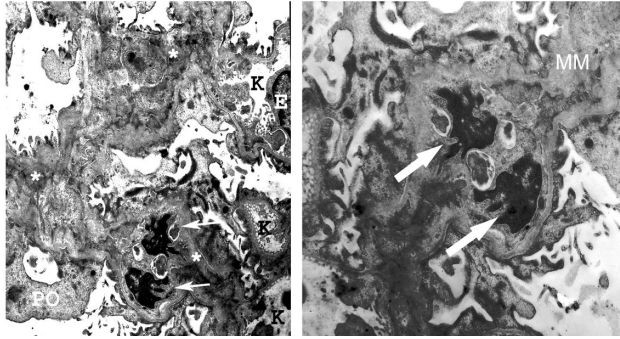
Immunohistokimyasal analiz sonucu TGF-β1 immünoreaktivitesi kontrol sıçanlarında görülmez iken kronik sıçanlarda H-SCORE ortalaması $250,6 \pm 25,7$ olarak hesaplandı (Tablo 3) (Şekil 2).

Elektron mikroskopik bulgular

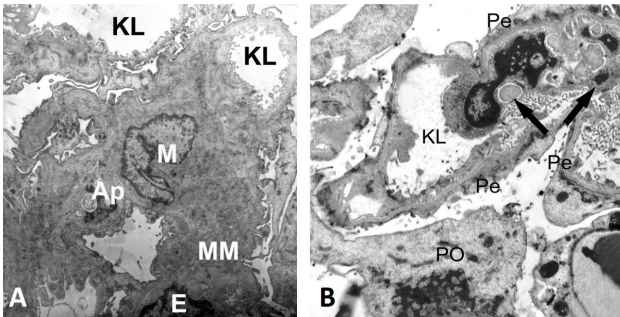
Kontrol grubu sıçanların böbrek cisimciklerinin ultrastruktürü normal izlendi (Şekil 3). Kronik PAN sıçanlarının elektron mikrograflarında kontrol grubuna nazaran



Şekil 3. Kontrol grubunda böbrek cisimciğinden bir bölgenin TEM görüntüsü. Bowman Aralığı (BA), Paryetal Yaprak (P), Podosit (PO), Kapiller lümeni (K), Mezangiyal Hücre (M), X1450 (A), X3500 (B)

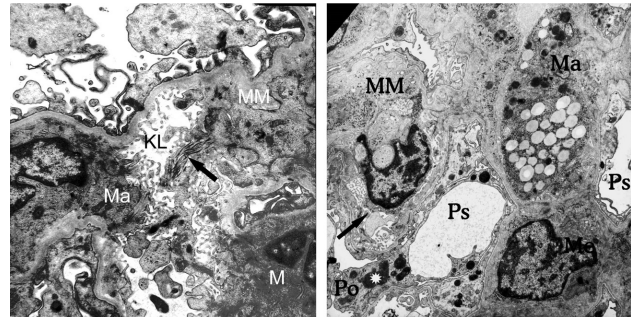


Şekil 4. Kronik PAN grubunda böbrek cisimciğinden bir bölgenin TEM görüntüsü. Kronik grupta böbrek cisimciğinde mezangiyal matriks artışı (*), bu sahaya yerleşmiş apoptotik mezangiyal hücreler (ok) ve elektron yoğun depozitleri (kırmızı yıldız) gösteren bir bölge. Kapiller lümeni (K), Dejeneratif podosit (PO), Endotel (E), X3500 (A) ve X14500 (B)



Şekil 5. Kronik PAN grubunda böbrek cisimciğinde mezangiyal matriks artışı (MM) ve bu sahaya yerleşmiş apoptotik mezangiyal hücreyi (Ap) gösteren bir bölge X3500 (A) ile böbrek cisimciğinde apoptotik endotel hücresi (ok) X14500 (B) Kapiller lümeni (KL), Apoptotik mezangiyal hücre (M), Endotel (E), Pedisel (Pe), Podosit (PO)

artmış MM alanları (Şekil 4, Şekil 5A) ve bunların içinde apoptotik görüntüler gösteren mezangiyal (Şekil 4, Şekil 5A) ve endotel hücreleri (Şekil 5B) ile yer yer interstisyel kollajen birikimlerine (Şekil 6A) ve bu sahalarla yakın bazıları 'foam cell' tipindeki (Şekil 6A) makrofajlara (Şekil 6B) sıklıkla rastlandı. Genellikle paramezangiyal sahalarda da elektron yoğun depozitler gözlemlendi (Şekil 4B).



Şekil 6. Kronik PAN grupta mezangiyal matrix (MM) içinde interstisyel kollajen (ok) içeren bir bölge X14500 (A) ile böbrek cisimciğinde fazlaca mezangiyal matriks artışı (MM) ve bu sahaya yerleşmiş 'foam-cell' tipindeki makrofaj (Ma) X14500 (B)

Makrofaj (Ma), Mezangiyal hücre (M), Kapiller Lümeni (KL), Podosit (Po), Protein absorpsiyon granülleri (*)

Tartışma

Önceki deneysel olarak uyarılmış PAN hayvan modeli çalışmamızda, akut ve kronik gruplarımızın podosit dejenerasyonlarını yayınlamıştık [12]. Bu çalışmamızda ise kronik PAN nefrozda glomerülde TGF- β 1 ekspresyonunu ve mezangiyumu inceledik. Yapılan yakın çalışmalarda, çoğu kronik böbrek hasarlarında, glomerüler hücrelerin (podositler, MH, endotel) ve makrofajların aktivasyonunun, MH çoğalmasıyla birlikte MM birikmesini tetikleyen MH büyüme faktörlerini salgıladığı [8, 9] ve böylelikle özellikle kollajen sentezini tetikleyerek glomerüloskleroz işlemine direkt katkıda bulunabileceği gösterilmiştir [14]. Bu süreçte etkili olan faktörlerden biri, renal hastalıkların ana profibrogenik büyüme faktörü olan TGF- β 1'dir [3, 10]. Böbrekte MH ve makrofajların TGF- β 1'i salgıladığı bilinmektedir [15]. TGF- β 1, renal interstisyel fibrozisde birincil sitokindir [16]. TGF- β 1'in aşırı üretimi; kollajenler, fibronektin ve proteoglikanlar gibi matriks proteinlerinin, proteaz inhibitörlerinin ve lokal matriks depozisyonunu arttıran integrin denem hücre matriks reseptörlerinin sentezinin artmasını etkileyerek matriks birikimine ve doku fibrozuna yol açar [17]. TGF- β 1'in matriksteki mezangiyal hücreleri ile makrofajların profibrotik etkilerini düzenlediği ve makrofajlardan türemiş faktörlerin proskleratik cevaplarının bir kısmını arttırdığı gösterilmiştir [18]. Yükselmiş TGF- β 1 seviyeleri ile glomerülofrit, glomerüloskleroz ve tübüler hipertrofi arasında sıkı bir ilişki saptanmıştır [19]. Bunlara paralel olarak TGF- β 1 inhibisyonunun da glomerülofritis olgularında matriks gelişmesini engellediği, deneysel modellerde gösterilmiştir [20].

Yaptığımız semi-kuantitatif çalışmada, kronik grupta TGF- β 1 ve MM oranının anlamlı artışı bize, yukarıdaki kaynakları destekler şekilde, glomerüler hücrelerin herhangi birinden salgılanan TGF- β 1'in

parakrin ya da otokrin bir etki ile bu hücrelerden bir kaçını etkileyerek, MM artışını tetikleyebileceğini düşündürdü.

Yapılan çalışmalarda da podositler tarafından TGF- β 1 uyarısıyla sekresyonu yapılan bağ dokusu ve vasküler endotelial büyüme faktörlerinin, glomerüloskleroz gelişimi süresince, MH üzerinde MM birikiminin parakrin düzenleyicileri olarak etki ettiği ve böylelikle kronik glomerüler hastalıklarda, TGF- β 1 uyarılı MM sentezinde MH'lerin rollerinin anlaşılmasında bu verilerin katkı sağlayacağı desteklenmiştir [21].

TGF- β 1; hücre göçü, proliferasyonu, farklılaşması, hipertrofisi yanında çeşitli sinyal yolları ile hücre apoptozu gibi olaylarla da ilişkilidir [4, 22]. Biz de çalışmamızda, kronik PAN grubunda, MM sahalarında sıklıkla apoptotik mezangiyal hücrelere ve bazıları "foam-cell" (köpüksü hücre) tipindeki makrofajlara rastladık. Yapılan çalışmalarda da hastalık ilerlemesiyle birlikte glomerülde artan MH apoptozu gözlenmiştir [9]. MH apoptozunun, glomerüler hücre proliferasyonunun büyüklüğünü kontrol eden fazlaca çoğalmış istenmeyen MH'leri temizleyen, hücre miktarının homeostazının sürdürülmesini sağlayan bir mekanizma olduğu ve normal MM'in, MH'ler için yaşamsal faktör olarak hizmet ederek MH apoptozunu önlediği belirtilmiştir [14]. Hastalık durumlarında, sadece artan MM bileşenlerinin değil, özellikle normal glomerülde bulunmayan interstisyel kollajenin de (Tip I, III) apoptotik indüksiyonda etkili olabileceği düşünülmüştür [4, 23].

Çalışmamızda interstisyel kollajen olarak değerlendirdiğimiz kollajen lif kesitlerini TEM'de gözledik. Bunu da glomerüler hasardan sonra MH'lerin, kendi fenotipik değişiklikleri ile çeşitli interstisyel kollajenleri üretebilmelerine bağlayabiliriz [4, 23].

Bir kısım araştırmacı MH apoptozunun moleküler mekanizmasındaki pro-apoptotik yaşamsal faktörler olan MH proliferasyonunun ve MM artışının düzenleyicisi olarak TGF- β 'ya bir rol yüklemişler [24] ve MH apoptozunun mezangiyoproliferatif glomerülonefrit'in çözümünde [7] ve glomerüloskleroz ilerlemesinde [25] önemli olduğunu rapor etmişlerdir. Bizim de gözlediğimiz TGF- β 1, MM ve MH apoptozu artışı bulgularımız bu düşünceleri desteklemektedir. Ancak bu olayda hangi sinyal yollarının kullanıldığı ile ilgili, daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Neticelerimiz kronik PAN uygulanmasının böbrek cisimciğinde bozulan renal fonksiyon ile ilişkili MM artışı, interstisyel kollajen belirginleşmesi, MH ve endotel hücre apoptozu, makrofajların göçü ve artmış TGF- β 1 ekspresyonu bulgularıyla birlikte seyreden bir nefrotik sendromu indüklediğini düşündürmektedir. Ancak ikili işaretlemelerle TGF- β 1'in ana kaynağının ve TGF- β 1 sinyal yollarının belirlenmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duymaktadır.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı İstanbul Üniversitesi Etik Kurulu'ndan alınmıştır.

Hasta Onamı: N/A.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - İ.S., M.A.P.; Tasarım - İ.S., M.U.; Denetleme - İ.S., M.A.P., S.K.; Kaynaklar - İ.S., M.U., S.K.; Malzemeler - İ.S., M.U., S.K.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - H.A.S., Z.B.G., E.Y.S., A.E., S.D.D.; Analiz ve/veya Yorum - İ.S., E.Y.S., A.E., S.D.D.; Literatür Taraması - İ.S., E.Y.S., A.E., S.D.D.; Yazıyı Yazan - İ.S., E.Y.S., A.E., S.D.D.; Eleştirel İnceleme - İ.S., M.A.P., H.A.S., Z.B.G.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 1707/15082001).

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from the Ethics Committee of İstanbul University.

Informed Consent: N/A.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - İ.S., M.A.P.; Design - İ.S., M.U.; Supervision - İ.S., M.A.P., S.K.; Resources - İ.S., M.U., S.K.; Materials - İ.S., M.U., S.K.; Data Collection and/or Processing - H.A.S., Z.B.G., E.Y.S., A.E., S.D.D.; Analysis and/or Interpretation - İ.S., E.Y.S., A.E., S.D.D.; Literature Search - İ.S., E.Y.S., A.E., S.D.D.; Writing Manuscript - İ.S., E.Y.S., A.E., S.D.D.; Critical Review - İ.S., M.A.P., H.A.S., Z.B.G.

Conflict of Interest: The authors have no conflicts of interest to declare.

Financial Disclosure: This work was supported by Scientific Research Project Coordination Unit of İstanbul University (Project Number: 1707/15082001).

Kaynaklar

1. Krishnamurti U, Zhou B, Fan WW, Tsilibary E, Wayner E, Kim Y, et al. Puromycin aminonucleoside suppresses integrin expression in cultured glomerular epithelial cells. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 758-66.
2. Sanwal V, Pandya M, Bhaskaran M, Franki N, Reddy K, et al. Puromycin aminonucleoside induces glomerular epithelial cell apoptosis. *Exp Mol Pathol* 2001; 70: 54-64. [CrossRef]
3. Savill J, Mooney A, Hughes J. Apoptosis and renal scarring. *Kidney Int Suppl* 1996; 54: S14-7.
4. Makino H, Shikata K, Wieslander J, Wada J, Kashihara N, Yoshioka K, et al. Localization of fibril/microfibril and basement membrane collagens in diabetic glomerulosclerosis in type 2 diabetes. *Diabet Med* 1994; 11: 304-11. [CrossRef]

5. Marinides GN, Groggel GC, Cohen AH, Border WA. Enalapril and low protein reverse chronic puromycin aminonucleoside nephropathy. *Kidney Int* 1990; 37: 749-57. [\[CrossRef\]](#)
6. Raij L, Azar S, Keane W. Mesangial immune injury, hypertension, and progressive glomerular damage in Dahl rats. *Kidney Int* 1984; 26: 137-43. [\[CrossRef\]](#)
7. Hill C, Flyvbjerg A, Grønbaek H, Petrik J, Hill DJ, Thomas CR, et al. The renal expression of transforming growth factor- β isoforms and their receptors in acute and chronic experimental diabetes in rats. *Endocrinology* 2000; 141: 1196-208. [\[CrossRef\]](#)
8. Kihara I, Yaoita E, Yamamoto T. Cellular processes of glomerular adhesion in aged rats. *Acta Medica et Biologica* 1990; 38: 69-80.
9. Shimizu A, Kitamura H, Masuda Y, Ishizaki M, Sugisaki Y, Yamanaka N. Apoptosis in the repair process of experimental proliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 1995; 47: 114-21. [\[CrossRef\]](#)
10. Morioka Y, Koike H, Ikezumi Y, Ito Y, Oyanagi A, Gejyo F, et al. Podocyte injuries exacerbate mesangial proliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 2001; 60: 2192-204. [\[CrossRef\]](#)
11. Kaplan L. *Pesce AI Clinical Chemistry Theory, Analysis and Correlation*. St. Louis, Mo: CV Mosby Co, 1984. 1231.
12. Seckin I, Uzunalan M, Pekpak M, Kokturk S, Sonmez H, Oztürk Z, et al. Experimentally induced puromycine aminonucleoside nephrosis (PAN) in rats: evaluation of angiogenic protein platelet-derived endothelial cell growth factor (PD-ECGF) expression in glomeruli. *J Biomed Sci* 2012; 19: 24. [\[CrossRef\]](#)
13. Powell H. Relationship between proteinuria and epithelial cell changes in minimal lesion glomerulopathy. *Nephron* 1976; 16: 310-7. [\[CrossRef\]](#)
14. Davies M, Shewring L, Thomas G, Jenner L. Stimulation of proteoglycan (pg) synthesis in rat mesangial cells (rnc) in response to tumor necrosis factor (tnf). In *kidney international* 1989. [\[CrossRef\]](#)
15. Okuda S, Languino LR, Ruoslahti E, Border WA. Elevated expression of transforming growth factor-beta and proteoglycan production in experimental glomerulonephritis. Possible role in expansion of the mesangial extracellular matrix. *J Clin Invest* 1990; 86: 453-62. [\[CrossRef\]](#)
16. Border WA, Noble NA. Transforming growth factor β in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 1994; 331: 1286-92. [\[CrossRef\]](#)
17. Lafayette RA, Mayer G, Park SK, Meyer TW. Angiotensin II receptor blockade limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. *J Clin Invest* 1992; 90: 766-71. [\[CrossRef\]](#)
18. Pawluczky IZ, Harris KP, Harris, Transforming growth factor- β suppresses macrophage-induced mesangial cell fibronectin expression. *Kidney Int* 2001; 60: 533-42. [\[CrossRef\]](#)
19. Sharma R1, Khanna A, Sharma M, Savin VJ. Transforming growth factor- β 1 increases albumin permeability of isolated rat glomeruli via hydroxyl radicals. *Kidney Int* 2000; 58: 131-6. [\[CrossRef\]](#)
20. Akagi Y, Isaka Y, Arai M, Kaneko T, Takenaka M, Moriyama T, et al. Inhibition of TGF- β 1 expression by antisense oligonucleotides suppressed extracellular matrix accumulation in experimental glomerulonephritis. *Kidney Int* 1996; 50: 148-55. [\[CrossRef\]](#)
21. Lee HS, Song CY. Differential role of mesangial cells and podocytes in TGF-beta-induced mesangial matrix synthesis in chronic glomerular disease. *Histol Histopathol* 2009; 24: 901-8.
22. Sandau K, Pfeilschifter J, Brüne B. Nitric oxide and superoxide induced p53 and Bax accumulation during mesangial cell apoptosis. *Kidney Int* 1997; 52: 378-86. [\[CrossRef\]](#)
23. Johnson R, Yamabe H, Chen YP, Campbell C, Gordon K, Baker P, et al. Glomerular epithelial cells secrete a glomerular basement membrane-degrading metalloproteinase. *J Am Soc Nephrol* 1992; 2: 1388-97.
24. Johnson RJ, Lovett D. In vivo gene transfer, Koch's postulates, and renal disease. *J Clin Invest* 1993; 92: 2568. [\[CrossRef\]](#)
25. Shimizu A, Masuda Y, Kitamura H, Ishizaki M, Sugisaki Y, Yamanaka N. Apoptosis in progressive crescentic glomerulonephritis. *Lab Invest* 1996; 74: 941-51.

A 16-Year Analysis of Antifungal Susceptibilities of Invasive *Candida* spp Tested in Our Daily Hospital Routine

A Serda Kantarcioğlu¹ , Gökhan Aygün² 

¹Mycology Laboratory, İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

²Department of Medical Microbiology, İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

Cite this article as: Kantarcioğlu AS, Aygün G. A 16-year analysis of antifungal susceptibilities of invasive *Candida* spp tested in our daily hospital routine. *Cerrahpasa Med J* 2019; 43(1): 13-22.

Abstract

Objective: Invasive *Candida* infections often cause high morbidity and mortality especially in the critically ill or immunosuppressive patients. We analyzed the species distribution and antifungal susceptibility data of 1371 invasive *Candida* strains isolated in Cerrahpasa Medical Faculty mycology laboratory over 16 years.

Methods: We performed susceptibility tests for the strains isolated from blood or deep sites and/or from patients unresponsive to the initial antifungal treatment, and all results were routinely reported to clinicians. The tests against amphotericin B (AMB) and azoles were performed using Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines from 1998 to 2012 and using Etest from 2012 to 2014. The Sensititre YeastOne (SYO) colorimetric method was used to test *Candida* echinocandin susceptibility between 2012 and 2014. In this retrospective analysis, resistance or non-wild type (non-WT) phenotypes to systemic antifungals were determined by the previous and recently revised CLSI breakpoints (BPs) and by method-dependent species-specific epidemiological cutoff values (ECVs), respectively.

Results: Overall, *Candida albicans* was the most commonly isolated species (48%) followed by *C. parapsilosis* (20%), *C. glabrata* (12%), and *C. tropicalis* (12%). The new epidemiological BPs provided by CLSI changed the percentage of resistant *C. albicans*, *C. parapsilosis*, and particularly *C. tropicalis* isolates to fluconazole (FLZ). Using the ECVs, reduced susceptibility to FLZ was higher among *C. albicans* isolates (33.4%), whereas itraconazole (ITZ) was higher in *C. glabrata* (58.1%) than in all other species.

Conclusion: Antifungal susceptibility tests are a key component of the care of patients with invasive candidiasis. Knowledge of local prevalence of antifungal resistance and susceptibility patterns might affect clinical decision-making.

Keywords: Invasive *Candida* species, antifungal susceptibility, new breakpoints, method-dependent epidemiological cutoff values

Cerrahpasa Med J 2019; 43(1): 13-22

Onaltı yıl boyunca hastanemizde rutin olarak test edilmiş olan invaziv *Candida* spp antifungal duyarlılıklarının analizi

Öz

Amaç: İnvaziv *Candida* infeksiyonları kritik veya bağışıklığı baskılanmış hastalarda sıklıkla yüksek morbidite ve mortaliteye sebep olurlar. Biz Cerrahpaşa Tıp Fakültesi mikoloji laboratuvarında 16 yıl boyunca hasta materyallerinden ayrılan 1371 invaziv *Candida* kökeninin tür dağılımı ve antifungal duyarlılık verilerini analiz ettik.

Yöntemler: Duyarlılık testleri kandan veya derin vücut bölgelerinden ve/veya başlangıç antifungal tedaviye yanıtız hastalardan ayrılan kökenlere yapıldı ve tüm sonuçlar rutin olarak klinisyenlere bildirildi. Amfoterisin B (AMB) ve azoller karşı testler 1998'den 2012'ye kadar Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) rehberlerine göre ve 2012'den 2014'e kadar Etest kullanılarak yapıldı. *Candida*'ların ekinokandinlere duyarlılık testleri için 2012'den 2014'e kadar Sensititre YeastOne (SYO) yöntemi kullanıldı. Bu retrospektif analizde, sistemik antifungallere direnç önceki ve yeni gözden geçirilmiş CLSI direnç sınırları ile ve doğal olmayan fenotipler yöntemine bağlı türe özgül epidemiyolojik eşik değerleri kullanılarak belirlendi.

Bulgular: En sıklıkla ayrılan tür *Candida albicans* (%48)'i *C. parapsilosis* (20%), *C. glabrata* ve *C. tropicalis* (ikisi de 12%) izledi. CLSI'nin yeni önerdiği sınır değerleri kullanıldığında *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve özellikle *C. tropicalis*'in (FLZ)'e direnç yüzdeleri değişti. Epidemiyolojik eşik değerleri kullanıldığında bütün türler içerisinde FLZ'e azalmış duyarlılık *C. albicans* kökenlerinde daha yüksek (%33.4) bulunurken *C. glabrata* için itraconazol (ITZ)'e azalmış duyarlılık daha yüksek (%58.1) olarak belirlendi.

Sonuç: Yerel antifungal direnç ve duyarlılık paternlerinin bilinmesi klinik karar vermeyi etkileyebilir.

Anahtar Sözcükler: İnvaziv *Candida* türleri, antifungal duyarlılık, yeni direnç sınır değerleri, yöntemle bağlı epidemiyolojik eşik değerleri

Cerrahpaşa Tıp Derg 2019; 43(1): 13-22

Received/Geliş Tarihi: 18 January 2019 Accepted/Kabul Tarihi: 18 May 2019

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: A Serda Kantarcioğlu;
Mycology Laboratory, İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of
Medicine, İstanbul, Turkey

E-mail/E-posta: mycologist1@yahoo.com

DOI: 10.26650/cjm.2019.43.37



C*andida* species are the main cause of opportunistic fungal invasive infections with considerably increasing incidence in patients with underlying conditions. Isolation of *Candida* sp *in vitro* less susceptible to antifungals and recovery of increasingly resistant isolates during antifungal therapy are also growing problems [1]. It is important to determine the species distribution and resistance rates of invasive *Candida* isolates to develop proper treatment strategies in the medical centers.

Since 1997, susceptibility tests of *Candida* spp. to antifungal agents have been in use due to the standardization developed by Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Susceptibility testing of isolated clinically significant fungi has been performed in our laboratory as a part of routine procedure over 16 years. We performed susceptibility tests for the strains isolated from blood or deep sites and/or from patients unresponsive to the initial antifungal treatment. All results were reported to clinicians. In the meantime, developments in CLSI reference methods (M27-A–M27-A3 and supplements S3, S4) [2-6] improved the ability to detect emerging resistance patterns. The biggest new changes were (i) the change in BPs for fluconazole (FLZ), voriconazole (VRZ), and echinocandins from those previously established for all *Candida* species to species-specific breakpoints (BPs) for the five most common species, and (ii) the establishment of species-specific epidemiological cut-off values (ECVs) for the systemically active antifungal agents and *Candida* species to assess MICs when no BPs were established (Table 1). This value does not provide a categorical placement of an MIC as susceptible or resistant but differentiate between WT and non-WT strains to identify those strains with acquired or mutational resistance mechanisms.

BPs have not been established for AMB and any species of *Candida* and reference broth microdilution methods of *Candida* echinocandin susceptibility testing were limited by significant interlaboratory variability in caspofungin (CAS) MICs. Recently CLSI proposed ECVs for *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, and *C. tropicalis* against AMB, anidulafungin (AND), ITZ, micafungin (MCF) [7]. Method-dependent ECVs for AMB and echinocandins by Etest and for echinocandins by SYO colorimetric assay were also proposed to identify *Candida* isolates with reduced susceptibility to these agents, but these ECVs will not categorize a *Candida* isolate as susceptible or resistant, as BS do [8-10].

This retrospective study aimed to analyze the species distribution and antifungal susceptibility of clinically significant *Candida* strains isolated and routinely test-

ed in the Deep Mycosis Laboratory of a large university hospital over a 16-year period, using the old and new CLSI clinical BPs and method-dependent ECVs.

Material and Methods

Isolates

The clinical samples were sent from different wards. Each isolate was obtained from a different patient and was checked to ensure purity. All isolates were identified to the species level by classical mycological tests including germ tube formation; blastoconidia, pseudohyphae, true hyphae, and chlamydoconidia formation; urease activity; growth at various temperatures; and carbohydrate assimilation patterns [11-15]. The API 20C AUX system (Biomérieux, Marcy, l'Etoile, France) was also used to identify the isolates if needed.

Antifungal susceptibility tests

AMB (Bristol-Meyers Squibb, Wallingford, Conn.), FLZ (Pfizer, Istanbul, Turkey), ITZ (Janssen Pharmaceuticals, Beerse, Belgium), VRZ (Pfizer, Istanbul, Turkey), and posaconazole (PSZ, Schering-Plough, Istanbul, Turkey) were obtained as standard powders. Tests for AMB, FLZ, and ITZ were performed since 1998, for VRZ since 2005, and for PSZ since 2006 up to December 2012 using CLSI broth dilution methods, then using the E test strips (Biomérieux, France) up to December 2014. Echinocandins were tested for *Candida* blood and urine isolates of symptomatic patients using SYO assay in between 2012 and 2014. Broth dilution testing was performed according to the approved documents of the CLSI [2-6]. Antibiotic Medium 3 (Oxford, England) was used to test AMB. Drug-free and yeast-free controls were included in the studies. *Candida krusei* ATCC 6258 (American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA), *C. parapsilosis* ATCC 22019 and reference strains, *C. albicans* ATCC 90028, and ATCC 90029, *C. glabrata* ATCC 90030, *C. parapsilosis* ATCC 90018 strains were included for quality control (QC) purposes in each testing run. Isolates were classified as resistant based on both the previous and the recently revised CLSI BPs. Differences in resistant rates between the previous and revised BPs were assessed for significance by Fisher's exact test, and a *P* value of ≤ 0.5 was considered significant. E test and SYO were used according to the manufacturers' instructions. Both tests were validated using CLSI QC and reference isolates.

Results

Species distribution

A total of 1371 *Candida* strains were isolated. Distribution of isolated *Candida* spp. by clinical specimens

Table 1. *In vitro* susceptibilities of 1173 invasive *Candida* spp isolates to five systemically active antifungal agents and interpretive breakpoints according to the CLSI documents

Species (No. of tested isolates)	Antifungal agent	MIC (µg/mL)			Previous MIC breakpoints			Revised breakpoints			ECV (CLSI)	No. of isolates according to ECVs (%)			
		Range	50%	90%	BP	No. R/NS (%)	No. S-DD or I* (%)	No. S (%)	BP	No. R (%)			No. S-DD or I* (%)	No. S (%)	
<i>C. albicans</i> (545)	AMB	≤0.03–4	0.125	0.25								2 (0.4) (99.6)			
	FLZ	≤0.125–≥64	0.25	2	≥64	13(2.4)	9 (1,7)	523 (96,0)	≥8	24 (4.4)	7 (1.3)	514 (94.3)	0.5	363 (66.6)	182 (33.4)
	ITZ	≤0.03–2	0.06	1	≥1	55 (10.0)	61 (11.2)	429 (78.7)	-	-	-	-	-	-	-
	VRZ	≤0.015–2	0.015	0.06	≥1	0 (0)	8 (1.5)	537 (98.5)	≥4	15 (2.8)	18 (3.3)	512 (93.9)	0.03	477 (87.5)	68 (12.5)
	PSZ	≤0.015–0.25	0.003	0.06									0.03	510 (93.6)	35 (6.4)
<i>C. glabrata</i> (148)	AMB	0.06–1	0.25	1								2 (1.4) (98.6)			
	FLZ	1–≥64	7(4.8)	7 (4.8)	≥64	134 (90.4)	88 (60.7)	46 (31.0)	≥64	14 (9.5)	134 (90.5)	8	134 (90.5)	14 (9.5)	
	ITZ	≤0.03–4	0.25	1	≥1	23 (15.5)	65 (43.9)	60 (40.5)	-	-	-	4	62 (41.9)	86 (58.1)	
	VRZ	0.03–2	0.125	0.25	≥4	0 (0)	3 (2.0)	145 (97.9)	≥4			0.5	142 (96.0)	6 (4.0)	
<i>C. guilliermondii</i> (17)	PSZ	≤0.015–1	0.06	0.125								1 (100.0)	148 (100.0)	0 (0)	
	AMB	0.125–2	0.25	1								2 (100.0)	17 (100.0)	0 (0)	
	FLZ	0.06–16	1	4	≥64	0	1	16	-	-	-	8	16	1	
ITZ	0.06–2	0.5	2	≥1	7	7	3	-	-	-	-	-	-	-	

Table 1. *In vitro* susceptibilities of 1173 invasive *Candida* spp isolates to five systemically active antifungal agents and interpretive breakpoints according to the CLSI documents (Continue)

Species (No. of tested isolates)	Antifungal agent	MIC ($\mu\text{g/mL}$)					Previous MIC breakpoints					Revised breakpoints					ECV (CLSI)	No. of isolates according to ECVs (%)	
		Range	50%	90%	BP	No. R/ NS (%)	No. S-DD or I* (%)	No. S (%)	BP	No. R (%)	No. S-DD or I* (%)	No. S (%)	No. R (%)	No. S-DD or I* (%)	No. S (%)	$\leq\text{ECV}$		$>\text{ECV}$	
<i>C. kefyr</i> (10)	VRZ	$\leq 0.015-1$	0.03	0.25	-	0	0	17	≥ 4	-	-	-	-	-	-	15	2		
	PSZ	$\leq 0.015-0.5$	0.015	0.25	-	0	0	17	≥ 4	-	-	-	-	-	1	17	0		
	AMB	0.25-4	0.5	1	-	0	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	FLZ	0.125-2	0.125	1	≥ 64	0	0	10	-	-	-	-	-	-	1	-	-		
	ITZ	0.06-1	0.125	0.5	≥ 1	6	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	VRZ	$\leq 0.015-0.03$	< 0.015	0.03	≥ 2	0	0	10	≥ 4	-	-	-	-	-	-	-	-		
<i>C. krusei</i> (79)	PSZ	$\leq 0.015-0.125$	< 0.015	0.03	-	0	0	10	-	-	-	-	-	-	0.03	7	0		
	AMB	0.125- ≥ 16	0.5	2	-	0	0	10	-	-	-	-	-	-	2	72	7 (8.9)		
	FLZ	8- ≥ 64	16	32	-	0	0	10	-	-	-	-	-	-	32	75	4 (5.0)		
	ITZ	0.125-2	0.25	1	-	0	0	10	-	-	-	-	-	-	1	75	4 (5.0)		
	VRZ	0.03-0.5	0.03	0.25	-	79	0 (0)	0 (0)	≥ 4	79	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0.5	79	0 (0)		
	PSZ	$< 0.015-0.5$	0.06	0.5	-	79	0 (0)	0 (0)	≥ 4	79	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	79	0 (0)		
<i>C. lusitanae</i> (7)	AMB	$\leq 0.03-2$	0.125	0.5	-	0	0	7	-	-	-	-	-	2	7	0			
	FLZ	0.125-2	0.25	1	≥ 64	0	0	7	-	-	-	-	-	1	6	1			
	ITZ	$\leq 0.03-0.5$	0.06	0.25	≥ 1	0	0	7	-	-	-	-	-	1	6	1			
	VRZ	$\leq 0.015-0.06$	0.03	0.06	-	0	0	7	≥ 4	-	-	-	-	0.03	7	0			
	PSZ	$\leq 0.015-0.06$	0.03	0.06	-	0	0	7	≥ 4	-	-	-	-	0.06	5	2			
	AMB	$\leq 0.015-0.06$	0.03	0.06	-	0	0	7	≥ 4	-	-	-	-	0.06	5	2			

Table 1. *In vitro* susceptibilities of 1173 invasive *Candida* spp isolates to five systemically active antifungal agents and interpretive breakpoints according to the CLSI documents (Continue)

Species (No. of tested isolates)	Antifungal agent	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			Previous MIC breakpoints				Revised breakpoints				ECV (CLSI)	No. of isolates according to ECVs (%)	
		Range	50%	90%	BP	No. R/NS (%)	No. S-DD or I* (%)	No. S (%)	BP	No. R (%)	No. S-DD or I* (%)	No. S (%)		$\leq\text{ECV}$	$>\text{ECV}$
<i>C. parapsilosis</i> (223)	AMB	$\leq 0.03-1$	0.125	0.5									2	223 (100)	0 (0)
	FLZ	0.06-16	0.25	1	≥ 64	2 (1.0)	2 (1.0)	194 (98.0)	≥ 8	4 (2.0)	1 (0.5)	193 (97.5)	1	204 (91.5)	19 (8.5)
	ITZ	0.03-1	0.125	0.5	≥ 1	3 (1.5)	96 (48.5)	99 (50)							
	VRZ	$\leq 0.015-0.25$	0.06	0.125	≥ 1	0 (0)	0 (0)	223 (100)	≥ 4	0 (0)	10 (4.5)	213 (95.5)	0.03	198 (88.8)	25 (11.2)
	PSZ	$\leq 0.015-0.5$	0.03	0.125									0.06	213 (100)	0 (0)
<i>C. tropicalis</i> (144)	AMB	$\leq 0.03-1$	0.125	0.5									2	144 (100)	0 (0)
	FLZ	0.125- ≥ 64	0.25	8	≥ 64	0 (0)	4 (2.8)	140 (97.2)	≥ 8	16 (11.1)	0 (0)	128 (88.9)	1	131 (91.0)	13 (9.0)
	ITZ	$\leq 0.03-1$	0.125	0.5	≥ 1	7 (4.9)	60 (41.7)	77 (53.4)					0.5	137 (95.1)	7 (4.9)
	VRZ	$\leq 0.015-0.25$	0.03	0.125	≥ 1	0 (0)	0 (0)	144 (100)	≥ 4	0 (0)	12 (8.3)	132 (91.7)	0.06	129 (89.6)	15 (10.4)
	PSZ	$\leq 0.015-0.5$	0.06	0.125									0.12	137 (95.1)	7 (4.9)

* : 50% and 90%; BP: breakpoint; ECV: epidemiologic cutoff value; MIC encompassing 50% and 90% of isolates tested, respectively; R and S-DD: resistant and susceptible-dose dependent

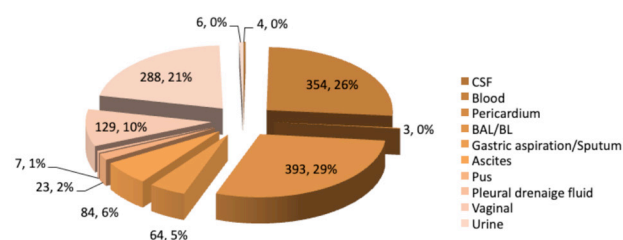


Figure 1. Totally 1371 clinically significant *Candida* strains isolated in between December 1998 and December 2014 by body site

CSF: cerebrospinal fluid; BAL: bronchoalveolar lavage fluid; BL: bronchial lavage fluid

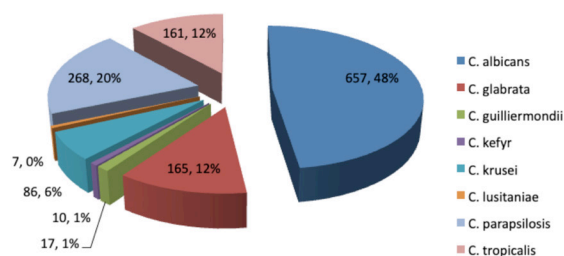


Figure 2. Distribution of *Candida* spp. isolated (between December 1998 and December 2014)

is shown in Figure 1. Overall, the leading species was *C. albicans* (48%), followed by *C. parapsilosis* (20%), *C. glabrata* (12%), *C. tropicalis* (12%), *C. krusei* (6%), *C. guilliermondii* (1%), *C. kefyr* (1%), and *C. lusitanae* (0%), (Figure 2). Overall, the fraction of non-*albicans* species was near to *C. albicans* (52%). Of the significant non-*albicans* species, of 165 *C. glabrata* isolates, 51 were from blood; 44 from urine; 21 from vagina; 19 from lower respiratory tract; 11 from ascites; 9 from gastric aspirates; 4 from pleural drainage fluid; and 2 from each of cerebrospinal fluid, pus, and pericardium cultures, and of the 243 *C. parapsilosis* isolates, 142 were from blood; 78 from urine; 21 from each of lower respiratory tract and vagina; and 2 of each from ascites, articular fluid, and pus cultures. Among 354 (25.8%) blood isolates, *C. parapsilosis* (34%) was the leading species, followed by *C. albicans* (31%), *C. tropicalis* (15%), and *C. glabrata* (14.4%). Only seven isolates of *C. krusei* (1.1%) were from blood over the 16 years.

Antifungal susceptibilities

All the data for susceptibility testing using CLSI guidelines 1998–2012 are shown in Table 1. We found statistically significant differences when comparing the susceptibility of *C. albicans* and *C. tropicalis* to FLZ ($P < 0.05$). *Candida tropicalis* demonstrated the major percentage of resistant isolates to FLZ followed by *C. albicans* (11.1% and 4.4%, respectively) using the new BPs. Five (20.8%) of the FLZ resistant *C. albicans* iso-

lates showed cross resistance to VRZ. The new BPs increased the absolute number of *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, and *C. tropicalis* isolates that were resistant to FLZ. Regarding the new ECVs, 33.4% of *C. albicans* isolates were found non-WT against FLZ, and 12.5% of them were found non-WT against VRZ. All *C. lusitanae*, *C. parapsilosis*, and *C. tropicalis* isolates studied showed WT phenotype to AMB, and *C. albicans* isolates showed very low non-WT phenotype (0.4%) to this agent. The MIC₅₀ values of AMB for all the species were below or equal to 0.25 µg/mL except those of *C. krusei* isolates that were 0.5 µg/mL.

All the data for susceptibility testing of 198 *Candida* spp strains isolated from blood and urine cultures using Etest against AMB, FLZ, ITZ, VRZ, and PSZ and using SYO colorimetric test against echinocandins are summarized in Table 2 and 3, respectively. This group of *C. albicans* strains showed lower WT phenotypes (3.6%) against AMB and a lower percentage of WT phenotype (84.8%) against MCF than AND and CAS (92.9%). However, the MIC₅₀ and MIC₉₀ values of all were relatively low. Although the number of strains was small, all non-*albicans* *Candida* stains tested showed high number of WT phenotypes to echinocandin antifungals.

Discussion

Although *Candida albicans* was the most frequently isolated species as the causative agent of *Candida* infections, some variations in the species distribution and the susceptibility to antifungals have been shown to occur among institutions, localities, or countries. Knowledge of local susceptibility patterns is essential for clinical decision-making [1]. In our study, *C. albicans* was the most frequently isolated species followed by *C. parapsilosis*, but the overall percentage of non-*albicans* species (52%) was near to *C. albicans*.

The main role of species-specific BPs is to predict the clinical outcome of treatment with a given antifungal agent. The ECVs were established to differentiate WT (those without mutational or acquired resistance mechanisms) from non-WT strains (those having mutational or acquired resistance mechanisms) [16]. To date, *Candida* antifungal ECVs were reported largely from research or reference laboratories but long-term data on clinical isolates obtained by hospital laboratories were limited [17–19]. Herewith we present the long-term data about the susceptibility of invasive *Candida* isolates that were generated as part of routine patient care and reported to clinicians in a large university hospital. Using new CLSI BPs, some previously susceptible MICs were then classified as resistant (Table 1). It seemed that the new BSs are probably more sensitive in the detection of resistant isolates. Our ex-

Table 2. *In vitro* susceptibilities of 198 clinical *Candida* spp strains isolated from hemoculture (n=110) and urine (n=88) cultures of symptomatic patients against AMB and azole antifungals by the Etest method (December 2012–December 2014)

Species (No. of tested isolates)	Antifungal agent	MIC (µg/mL)			No. of isolates according to ECVs (%)	
		Range	50%	90%	≤ECV	>ECV
<i>C. albicans</i> (112)	AMB	≤0.03–2	0.06	0.5	108 (94.4)	4 (3.6)
	FLZ	0.125–≥64	0.25	1		
	ITZ	≤0.03–2	0.06	1		
	VRZ	≤0.015–1	0.03	0.125		
	PSZ	≤0.015–1	0.003	0.125		
<i>C. glabrata</i> (17)	AMB	0.06–2	0.5	1	17	0
	FLZ	4–≥64	16	32		
	ITZ	≤0.03–4	0.5	1		
	VRZ	0.03–8	0.03	0.25		
	PSZ	≤0.015–1	0.03	0.25		
<i>C. krusei</i> (7)	AMB	0.125–2	0.25	0.5	7	0
	FLZ	8–≥64	32	64		
	ITZ	0.25–2	0.25	1		
	VRZ	0.015–0.5	0.015	0.25		
	PSZ	<0.015–0.25	0.03	0.25		
<i>C. parapsilosis</i> (45)	AMB	≤0.03–1	0.06	0.5	45	0
	FLZ	0.125–8	0.25	1		
	ITZ	0.03–2	0.125	0.5		
	VRZ	≤0.015–0.125	0.06	0.125		
	PSZ	≤0.015–0.5	0.03	0.125		
<i>C. tropicalis</i> (17)	AMB	≤0.03–1	0.06	0.5	17	0
	FLZ	0.125–8	0.25	2		
	ITZ	≤0.03–2	0.125	0.5		
	VRZ	≤0.015–0.5	0.03	0.25		
	PSZ	≤0.015–0.125	0.03	0.06		

*: 50% and 90%; MIC: encompassing 50% and 90% of isolates tested, respectively

perience showed higher percentages of non-WT phenotypes among clinical *Candida* isolates, especially for *C. glabrata* strains, probably due to the strains obtained from patients who failed to respond to the initial empirical antifungal treatment. *Candida glabrata* isolates are intrinsically less susceptible to all antifungal agents. Acquired resistance to azoles was most often seen for FLZ. In comparison with *C. albicans*, *C. glabrata* develops FLZ resistance more easily following prolonged

therapy due to its haploid state [20]. In our study, ITZ non-WT phenotype percentage was surprisingly higher (58.1%) among *C. glabrata* than that of FLZ (9.5%). AMB ECVs showed far fewer (1.4%) non-WT isolates, whereas PSZ had none. Because we analyzed retrospective data, unfortunately we have no chance to investigate the main mechanisms of resistance including alterations in the *C. glabrata ERG11* (*CgERG11*) gene that encodes the azole target enzyme or upregulation

Table 3. *In vitro* susceptibilities of 198 clinical *Candida* spp strains isolated from hemoculture (n=110) and urine (n=88) cultures of symptomatic patients against echinocandins by Sensititre YeastOne broth microdilution method and method-dependent ECVs (December 2012–December 2014)

Species (No. of tested isolates)	Antifungal agent	BP	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			ECV (SYO)	No. of isolates according to ECVs (%)	
			Range	50%	90%		\leq ECV	$>$ ECV
<i>C. albicans</i> (112)	ANF	≥ 1	0.015–0.25	0.06	0.25	0.12	104 (92.9)	8 (7.1)
	CSF		0.125–1	0.25	0.25	0.25	104 (92.9)	8 (7.1)
	MCF		0.015–2	0.03	0.5		95 (84.8)	17 (15.2)
<i>C. glabrata</i> (17)	ANF	≥ 0.5	0.015–0.125			0.12	17	0
	CSF		0.125–0.5			0.25	14	3
	MCF		0.015–0.06				16	1
<i>C. krusei</i> (7)	ANF	≥ 1	0.03–0.25			0.25	7	0
	CSF		0.25–1			1	7	0
	MCF		0.25–0.5				7	0
<i>C. parapsilosis</i> (45)	ANF	≥ 8	0.5–8			4	41	4
	CSF		1–8			2	40	5
	MCF		1–4				45	0
<i>C. tropicalis</i> (17)	ANF	≥ 1	0.125–0.5			0.5	17	0
	CSF		0.03–0.25			0.25	17	0
	MCF		0.03–0.5				16	1

*: 50% and 90%; BP: breakpoint; ECV: epidemiological cutoff value; MIC encompassing 50% and 90% of isolates tested, respectively

of the *CgCDR1* and *CgCDR2* genes, which encode efflux pumps to explain this phenomenon [20].

The echinocandins CAS and MCF were well-established first-line agents for the treatment of invasive candidiasis including candidemia [21–23]. The CLSI and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) have developed reference broth microdilution methods to test *Candida* spp and echinocandins, and *Candida* species-specific echinocandin BPs were designed to identify *fks* mutant isolates that were less likely to respond to treatment [9, 24]. However, both reference methods were limited by interlaboratory variability in CAS MICs against *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, and *C. krusei* [25]; and AND or MCF MICs were suggested as a surrogate marker to predict susceptibility and resistance to CAS [26, 27]. Agar diffusion based Etest assay has widely been used for determination of MIC to antifungal drugs of *Candida* species, particularly in clinical microbiology laboratories. Etest gave reliable MICs and excellent categorical agreement when compared with the results by CLSI and EUCAST methods with the exception of

C. krusei and CAS [28]. Etest AMB ECVs were able to identify *Candida* isolates with reduced susceptibility to this agent; however, these ECVs would not categorize an isolate as susceptible or resistant, as BPs do. The SYO colorimetric method for susceptibility testing of *Candida* spp. and echinocandins did not pose a problem; and species-specific SYO ECVs for AND, CAS, and MCF correctly classified *Candida* isolates with *fks* mutations to identify non-WT isolates with reduced susceptibility to AND, MCF and especially to CAS [8]. Both commercial methods recommend the use of CLSI interpretive criteria of MIC results for *Candida* spp. [8, 29]. Method-dependent ECVs could aid the clinician and laboratory staff in identifying echinocandin and AMB potential resistance (non-WT isolates) instead of relying on CLSI interpretive BPs [8–10]. In our study, we used the species-specific BPs and method-dependent ECVs for the interpretation of Etest AMB and SYO echinocandin MICs.

To our knowledge, reported long-term hospital laboratory experiences with *Candida* polyene, azole, and echinocandin susceptibilities and comparison with the

old and new BPs and the percentage of WT phenotypes was limited [17, 18]. In this retrospective study, using previous and new criteria, we analyzed long-term data generated as part of routine patient care and reported to clinicians by a large university hospital mycology laboratory. This review could provide a useful insight into the real-world patterns of *Candida* susceptibility for clinical decision-making and the future research.

Ethics Committee Approval: N/A.

Informed Consent: N/A.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - A.S.K.; Design - A.S.K.; Supervision - A.S.K.; Resources - A.S.K.; Materials - A.S.K.; Data Collection and/or Processing - A.S.K.; Analysis and/or Interpretation - A.S.K.; Literature Search - A.S.K.; Writing Manuscript - A.S.K.; Critical Review - G.A.

Conflict of Interest: The authors have no conflicts of interest to declare.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

Etik Komite Onayı: N/A.

Hasta Onamı: N/A.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - A.S.K.; Tasarım - A.S.K.; Denetleme - A.S.K.; Kaynaklar - A.S.K.; Malzemeler - A.S.K.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - A.S.K.; Analiz ve/veya Yorum - A.S.K.; Literatür Taraması - A.S.K.; Yazıyı Yazan - A.S.K.; Eleştirel İnceleme - G.A.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadığını belirtmiştir.

References

1. Beardsley J, Halliday CL, Chen S C-A, Sorrel TC. Responding to the emergence of antifungal drug resistance: perspectives from the bench and the bedside. *Future Microbiol* 2018; 13: 1175-91. [\[CrossRef\]](#)
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard, 2nd ed. M27-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard, 2nd ed. M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
4. Clinical Laboratory Standards Institute. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard, 3rd ed. CLSI document M27-A3. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
5. Clinical Laboratory Standards Institute. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; third informational supplement. CLSI M27-S3. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
6. Clinical Laboratory Standards Institute. 2012. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; fourth informational supplement. CLSI M27-S4. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
7. Clinical Laboratory Standards Institute. 2016. Epidemiological cutoff values for antifungal susceptibility testing. CLSI M59. 1st ed. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
8. Espinel-Ingroff A, Alvarez-Fernandez M, Cantón E, Carver PL, Chen SC, Eschenauer G, et al. A multicenter study of epidemiological cutoff values and detection of resistance in *Candida* spp. to anidulafungin, caspofungin, and micafungin using the Sensitire YeastOne Colorimetric method. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59: 6725-32. [\[CrossRef\]](#)
9. Espinel-Ingroff A, Turnidge J. The role of epidemiological cutoff values (ECVs/ECOFFs) in antifungal susceptibility testing and interpretation for uncommon yeasts and molds. *Rev Iberoam Micol* 2016; 33: 63-75. [\[CrossRef\]](#)
10. Espinel-Ingroff A, Arendrup M, Cantón E, Cordoba S, Dannaoui E, García-Rodríguez J, et al. Multicenter study of method-dependent epidemiological cutoff values for detection of resistance in *Candida* spp. and *Aspergillus* spp. to amphotericin B and echinocandins for the Etest agar diffusion method. *Antimicrob Agents Chemother* 2017; 61: 1-10. [\[CrossRef\]](#)
11. Lodder J. *The Yeasts. A Taxonomic Study*. 1st ed. American Elsevier Publishing Company, New York, 1970.
12. Hazen KC. New and emerging yeast pathogens. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 462-78. [\[CrossRef\]](#)
13. Yarrow D. Methods for the isolation, maintenance and identification of yeasts. In *The Yeasts. A Taxonomic study*, 4th edn (Kutzman CP & Fell JW Eds). Amsterdam, The Netherlands. Elsevier Science 1998: 77-100. [\[CrossRef\]](#)
14. Kutzman CP, Fell JW. *The Yeasts. A Taxonomic Study*. Amsterdam, The Netherlands. Elsevier, 1998.
15. Warren NG, Hazen KC. *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (Eds.). *Manual of Clinical Microbiology* 7th edn (ASM Press, Washington, DC, USA) 2012: 1184-99.
16. Pfaller MA, Espinel-Ingroff A, Canton E, Castanheira M, Cuenca-Estrella M, Diekema DJ, et al. Wild-type MIC distributions and epidemiological cutoff values for am-

- phothericin B, flucytosine, and itraconazole and *Candida* spp. as determined by CLSI broth microdilution. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 2040-45. [\[CrossRef\]](#)
17. Eschenauer GA, Nguyen MH, Shoham S, Vazquez JA, Morris AJ, Pasculle WA, et al. Real-world experience with echinocandin MICs against *Candida* species in a multicenter study of hospitals that routinely perform susceptibility testing of bloodstream isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58: 1897-1906. [\[CrossRef\]](#)
 18. De Francesco MA, Piccinelli G, Gelmi M, Gargiulo F, Ravizzola G, Pinsi G, et al. Invasive candidiasis in Brescia Italy: Analysis of species distribution and antifungal susceptibilities over seven years. *Mycopathologia* 2017; 182: 897-905. [\[CrossRef\]](#)
 19. Li W, Hu YA, Li FQ, Shi LN, Shao HF, Huang M, et al. Distribution of yeast isolates from invasive infections and their in vitro susceptibility to antifungal agents: evidence from 299 cases in a 3-year (2010 to 2012) surveillance study. *Mycopathologia* 2015; 179: 397-405. [\[CrossRef\]](#)
 20. Sanguinetti M, Posteraro B, Fiori B, Ranno S, Torelli R, Fadda G. Mechanisms of azole resistance in clinical isolates of *Candida glabrata* collected during a hospital survey of antifungal resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 668-79. [\[CrossRef\]](#)
 21. Cornely OA, Bassetti M, Calandra T, Garbino J, Kullberg BJ, Lortholary O, et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: non-neutropenic adult patients. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 19-37. [\[CrossRef\]](#)
 22. Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK Jr, Calandra TF, Edwards JE Jr, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Disease Society of America. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 503-35. [\[CrossRef\]](#)
 23. Ullmann AJ, Akova M, Herbrecht R, Viscoli C, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, et al. ESCMID guideline for the diagnosis and management of candidiasis: adults with haematological malignancies and after haematopoietic stem cell transplantation (HCT). *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 53-67. [\[CrossRef\]](#)
 24. Pfaller MA, Diekema DJ, Andes D, Arendrup MC, Brown SD, Lockhart SR, et al. Clinical breakpoints for the echinocandins and *Candida* revisited: integration of molecular, clinical and microbiological data to arrive at species specific interpretive criteria. *Drug Resist Updat* 2011; 164-76. [\[CrossRef\]](#)
 25. Espinel-Ingroff A, Arendrup MC, Pfaller MA, Bonfietti LX, Bustamante B, Canton E, et al. Interlaboratory variability of caspofungin MICs for *Candida* spp. using CLSI and EUCAST methods: should the clinical laboratory be testing this agent? *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57: 5836-42. [\[CrossRef\]](#)
 26. Pfaller MA, Messer SA, Diekema DJ, Jones RN, Castanheira M. Use of micafungin as a surrogate marker to predict susceptibility and resistance to caspofungin among 3764 clinical isolates of *Candida* by use of CLSI methods and interpretive criteria. *J Clin Microbiol* 2014; 52: 108-14. [\[CrossRef\]](#)
 27. Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Castanheira M. Use of anidulafungin as a surrogate marker to predict susceptibility and resistance to caspofungin among 4290 clinical isolates of *Candida* by use of CLSI methods and interpretive criteria. *J Clin Microbiol* 2014; 52: 3223-9. [\[CrossRef\]](#)
 28. Pfaller MA, Castanheira M, Diekema DJ, Messer SA, Moet GJ, Jones RN. Comparison of European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and Etest methods with the CLSI broth microdilution method for echinocandin susceptibility testing of *Candida* species. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 1592-9. [\[CrossRef\]](#)

Factors Affecting Mortality in Rapidly Progressive Diabetic Foot Ulcer Patients

Anıl Demiröz , Hakan Arslan 

Department of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery, İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

Cite this article as: Demiröz A, Arslan H. Factors Affecting Mortality in Rapidly Progressive Diabetic Foot Ulcer Patients. Cerrahpasa Med J 2019; 43(1): 23-28.

Abstract

Objective: A diabetic foot ulcer with progressive infection is a life-threatening condition that requires urgent surgical intervention. Because of the severity of this condition, it is important to understand its epidemiological and prognostic background. This study aims to evaluate the epidemiology of the diabetic foot ulcer and describe the etiology and the surgical procedures performed to treat it.

Methods: A retrospective review of 35 diabetic patients with foot ulcers was performed. These individuals were admitted to the emergency department and were subsequently hospitalized between April 2006 and April 2011. Factors affecting their mortality were statistically assessed.

Results: The long duration of ulcer treatment and need for intensive care were found significantly related to mortality ($p < 0.05$). There was a trend toward higher mortality in the patient group with cardiac comorbidity (24% versus 20%), but this was not found to be statistically significant.

Conclusion: Infective diabetic foot ulcers may have a highly mortal course. Having knowledge of how to discriminate between the acute infection and the factors affecting patient mortality may lead us to making better prognoses and delivering more effective treatment.

Keywords: Diabetic foot wound, infection, mortality, sepsis

Cerrahpasa Med J 2019; 43(1): 23-28

Hızlı ilerleyici diyabetik ayak yarası hastalarında mortaliteyi etkileyen faktörler

Öz

Amaç: Hızlı ilerleyici septik enfeksiyonla seyreden diyabetik ayak yaraları son derece ölümcül durumlardır. Bu nedenle hızlı bir cerrahi müdahale gerektirirler. Bu durumların ciddiyetinden ötürü hastalığın epidemiyolojik ve prognostik altyapısının bilinmesi önemlidir. Bu çalışmanın amacı; bu hasta grubunda epidemiyoloji, etiyoloji ve uygulanan cerrahi prosedürlerin mortalite üzerine etkisini araştırmaktır.

Yöntemler: Nisan 2006 ile Nisan 2011 arasında acil polikliniğine başvuran ve acil yatış gerektiren 35 diyabetik ayak yarası hastasının kayıtları retrospektif olarak tarandı. Hastaların yaş, cinsiyet, eşlik eden hastalık, diyabet süresi, yara süresi, yara etiyolojisi, mikrobiyolojik inceleme sonuçları, uygulanan cerrahi girişimler, operasyon sonrası yoğun bakım ihtiyacı ve mortaliteleri incelendi. İstatistiksel olarak diğer tüm parametrelerin mortalite ile korelasyonu araştırıldı.

Bulgular: Yara süresinin uzun olması ve postoperatif yoğun bakım ihtiyacı istatistiksel olarak anlamlı şekilde mortalite ile korele bulundu ($p < 0,05$). Kardiyak ek hastalık öyküsü bulunan hasta grubunda mortalitenin daha yüksek olduğu görüldü ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (%24'e %20).

Sonuç: Enfekte diyabetik ayak yaraları son derece ölümcül bir seyir sahip olabilir. Akut enfeksiyon ayırımı yapabilmek ve mortalite üzerine etki eden faktörleri bilmek daha iyi bir prognoza ulaşmak için yol gösterici olacaktır.

Anahtar Sözcükler: Diyabetik ayak yarası, enfeksiyon, mortalite, sepsis

Cerrahpaşa Tıp Derg 2019; 43(1): 23-28

D diabetes mellitus is a metabolic disease that is characterized by its tendency to harbor concomitant infections. Foot ulcers are one of the most important complications of diabetes mellitus occurring

in a chronic phase as a consequence of neuropathy and angiopathy [1]. But the tendency to infection turns this chronic condition into a progressive acute disease that requires urgent surgical intervention. Limb- and life-threatening foot infections in diabetic patients are caused by necrotizing fasciitis, any type of gangrene, or infections with systemic toxicity or metabolic instability [2]. Therefore, the mortality rates in this patient group and the factors affecting mortality

Received/Geliş Tarihi: 5 February 2019 **Accepted/Kabul Tarihi:** 8 May 2019

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Anıl Demiröz;
Department of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery, İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

E-mail/E-posta: anil.demiroz@istanbul.edu.tr

DOI: 10.26650/cjm.2019.43.39



should be well defined. The current studies about diabetic foot wounds mainly focus on the management of mild-to-moderate diabetic foot infections, whereas information related to severe foot infections, namely, limb and life-threatening infections, is conspicuously less. For this reason, we aimed to explore the effect of variables on mortality in patients with life-threatening septic diabetic foot ulcers requiring urgent surgical intervention, by assessing the epidemiology, etiology and the surgical procedures performed.

Material and Methods

Patients hospitalized in the emergency department because of life-threatening septic diabetic foot wound between April 2006 and April 2011 were assessed retrospectively. The study was approved by the Local Ethics Committee and conducted in accordance with the 2008 Declaration of Helsinki.

All patients were classified as suffering from severe diabetic foot infection according to the Infectious Disease Society of America (IDSA) [3] and the International Working Group on Diabetic Foot [4]. In addition, a foot that required immediate and emergent surgery was considered life-threatening septic foot in our clinic when the following clinical signs were evident: gaseous or wet gangrene (acutely purulent without gas observed in the subcutaneous tissues); necrotizing fasciitis; necrotizing cellulitis; acute extensive osteomyelitis with either a clinical or a biological marker of systemic toxicity, such as an oral temperature higher than 38.5°C, chills, tachycardia (heart rate > 100 beats per minute), systolic hypotension (<100 mmHg), mental confusion, leukocytosis (>15.000 white blood cells/mL). We excluded normoglycemic patients with skin infections, necrosis or gangrene of the foot, and diabetic patients with superficial or local (present in the toes) infection without systemic involvement. Surgery was performed in all patients within 6 hours of hospitalization. In all cases, a purulent or necrotic tissue specimen was taken during surgery and tested for bacteria and antibiotic sensitivity. Patient records were reviewed for information about sex, age, duration of diabetes, duration of the wound, etiology of the wound, microbiological examination results, operations performed, need for postoperative intensive care, and mortality rate.

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed with Statistical Package for the Social Sciences Windows software version 21.0 (IBM Corp.; Armonk, NY, USA). Qualitative variables were analyzed by the χ^2 test and non-normally distributed quantitative variables by using the non-parametric Mann-Whitney U test. The patients

were successively divided into groups consisting of survivors and fatalities. Univariate analysis was performed between both the groups. Variables with a p value <0.05 in the univariate analysis were subsequently included in a multivariate analysis to identify independent predictors of mortality using a Cox regression analysis.

Results

Out of a total of 35 patients, 22 were male (62.9%) and 13 were female (37.1%). The mean age of the patients was 58.5 years (range: 42–72 years). The mean duration of diabetes mellitus was 14.4 years (range: 3–35 years). The mean duration of foot wound was 2 months (range: 1–6 months). Thirteen patients (37.1%) did not know the reason for the wound. Out of the remaining 22 patients, 9 (25.7%) had ischemic ulcers, 7 (20%) had an acute infection along with the chronic neurotrophic ulcer base, 3 (8.5%) wounds were due to a burn, 2 (5.7%) were posttraumatic, and 1 (2.8%) was due to a dog bite.

Microbiological investigation revealed that 19 patients (54.2%) had bacterial isolation. About 63.1% of the positive samples ($n=12$) were polymicrobial. *Pseudomonas* was the most frequently isolated agent ($n=8$), followed by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ($n=6$), *Enterococcus* spp. ($n=5$), and *Acinetobacter* ($n=4$).

A total of 26 patients (74.3%) suffered from a combined infection: osteomyelitis as well as necrotizing fasciitis and 9 patients (25.7%) from necrotizing cellulitis.

Twenty-six patients (74.2%) had one or more comorbid diseases, with 25 patients having cardiac comorbidity and 8 patients having chronic kidney disease, 6 of whom were hemodialysis-dependent.

A history of previous revascularization was found in 19 patients. All patients were examined by a vascular surgeon but did not meet the criteria for vascular surgery bypass during our study. Thirty-five patients underwent 59 surgical operations (bedside debridements were not included). Two-staged major amputation (tibiotalar joint disarticulation and drainage through vertical incisions in the first stage; transtibial amputation and closure of the stump in the second stage) was planned for 23 patients (65.7%) but 2 patients were lost after the first stage operation and the second stage operation could not be applied for them. In 3 of the 21 patients who underwent both stages, transfemoral amputation was needed because of wound healing problems. Figure 1, 2, and 3 reveal case examples for two-staged major amputations.

Transmetatarsal amputation was performed in 9 patients (25%). During the follow-up of these 9 pa-



Figure 1. a-c. A 50-year-old female, 14-year history of diabetes, admitted to our hospital with an ischemic ulcer of 3 months and subsequent progressive, severe infection of the right foot (a). At the 1st day of hospitalization, we have performed tibiotalar disarticulation and adequate vertical incisions. 21 days after the first operation (b) we performed transtibial amputation and closed the stump. Postoperative surgical site 4 days after a successful secondary transtibial amputation (c)



Figure 2. a-c. A 52-year-old male, 10-year history of diabetes, admitted to our hospital with an ischemic ulcer of 2 months (a). Tibiotalar disarticulation and appropriate vertical incisions along the pathway of infection were performed for drainage. After 20 days second stage transtibial amputation was performed (b). Postoperative surgical site 10 days after transtibial amputation (c)



Figure 3. a-c. A 54-year-old male, 18-year history of diabetes, admitted to our hospital with an acute progressive infection spreading to the dorsum and ankle region of the right foot and distal crus occurred within 10 days (a). Tibiotalar disarticulation and appropriate vertical incisions along the pathway of infection were performed for drainage. After 39 days (b) second stage transtibial amputation was performed. Postoperative surgical site 9 days after transtibial amputation (c)

tients, one transtibial, and one transfemoral amputation was performed because of persistent infection and wound healing problems. Two patients underwent single-staged transtibial amputation, 1 patient underwent transfemoral amputation.

Need for postoperative intensive care was identified in 13 patients (37.1%), 7 of whom are now deceased (%20).

Statistical analysis showed no significant effect of sex, age, duration of diabetes, wound etiology, and the operation performed on mortality. The long duration of the wound had a significant effect on mortality ($p=0.025$). The need for intensive care was also significantly relevant to mortality ($p=0.0002$). There was a trend toward higher mortality in the patient group with cardiac comorbidity, but this was not found to be sta-

tistically significant ($p=0.06$). Considering the previous studies supporting the effect of cardiac comorbidity on mortality, the reason for the statistical insignificance was thought to be the low patient count.

Discussion

Although amputation for diabetic foot ulcers is not a favored type of treatment by the patients, it might be life-saving, especially in cases of rapidly progressive foot infections. Therefore, it is crucial to diagnose such patients and to be able to differentiate the diabetic ulcer from other frequently seen chronic ulcers.

Certain infection types and necrosis depths should be considered as criteria for severity of foot infections as well as gangrene [3, 4]. Although gangrene is mostly associated with arterial insufficiency, it may also occur due to serious infection even in a completely vascularized foot [5]. The reason for gangrene in such cases is mainly the necrosis of vessels. With the spread of infection to deeper layers of the foot, the compartmental pressure increases and further necrosis takes place when the compartmental pressure exceeds the perfusion pressure [6]. Early diagnosis and precise treatment of necrotizing soft tissue infections are crucial since these ulcers may easily become not only limb-threatening but also life-threatening in diabetic patients [7, 8]. The aim of this study was to evaluate the epidemiological factors and surgical results of necrotizing foot infections and to detect a correlation of these criteria with mortality.

The diabetic foot ulcer is one of the most important reasons for hospitalization in diabetic patients, as it is a common complication seen in 15% of diabetic patients, 14%–24% of whom eventually require amputations [9, 10]. Diabetic foot ulcer has slow chronic progress along with neuropathy, angiopathy, and tendency to infection. In acute infection cases, late or inadequate treatment may result in necrotizing soft tissue infections, extremity amputations, and even death [2, 7]. About 21%–64% of patients presenting with multiple-site necrotizing soft tissue infections are diagnosed as diabetic [2]. However, there are only a few reports that have evaluated the impact of necrotizing soft tissue infections exclusively in cases involving the feet of diabetic patients. Many authors agree with the concept that urgent major amputation is an appropriate course of action for the treatment of life- and limb-threatening septic diabetic foot characterized by deep necrotic infections with bone and joint involvement [6, 8].

All of the patients in our cohort study had a septic diabetic foot with either a clinical or a biological marker of systemic toxicity. In 25 patients, the entire foot up to the ankle was involved with deep tissue infections and necrosis. Therefore, the two-staged amputa-

tion method was decided in 23 patients [8]. Tibiotalar disarticulation was performed in the first stage. It is a reasonably fast procedure and provides quick disposal of the septic and necrotic tissue while keeping the patient away from the systemic disadvantages of extensive surgery, such as major amputation. The septic state disappears rapidly and dramatically even on the same day after the removal of the infected foot. After managing the wound with daily wet-absorbing dressings and serial debridements, transtibial amputation and closure of stump were performed at the second stage. By this method, the transmission of infection proximally to the stump closure site and potential wound healing problems were prevented. One-staged major amputation was the initial procedure in 3 patients (2 transtibial, 1 transfemoral). Overall major amputation was performed for 28 patients (80%). Transmetatarsal amputation was performed in 9 patients in whom only the forefoot and midfoot were involved.

In our study, 35 patients who admitted to the emergency department with life-threatening septic diabetic foot requiring urgent surgical intervention were assessed. Major amputation was performed for 28 patients (80%). Compared to the major amputation rates in previous studies (8%–29%), our rate of major amputation was excessively high [5, 6, 11]. The reason for this result was due to the life-threatening condition of our patients, which required urgent surgical intervention. For most of the patients who admitted in septic condition (66%), tibiotalar disarticulation to remove the source of infection and vertical incisions for purulent material drainage were performed. After managing the wound with daily wet-absorbing dressings and serial debridements, transtibial amputation and closure of the stump were performed at the second stage. By this method, the transmission of infection proximally to stump closure site and potential wound healing problems were prevented [8].

High rates of need for intensive care (40%) and mortality (20%) are thought to be associated with retarded admission and presence of systemic disorders at the time of admission. Both the major amputation rate (80%) and the mortality rate (20%) are high compared to the previous studies. However, the information is recorded from an overall group of diabetic foot ulcer patients in these studies. Thus, the high mortality rate and the high number of major amputations are an expected consequence in our patient group.

The long duration of the ulcer is surprisingly has a significant effect on mortality. Although chronic ulcers were thought to be more benign than acute ulcers, patients with chronic ulcers had a higher mortality rate. This is thought to be because the patients become familiar with and tend to live with their ulcers in the

chronic phase and can neglect the new onset of acute infection. These patients usually present the at emergency rooms with general disorders, such as sepsis.

Although all the patients had infectious wounds on admission, only 54% of the microbiological samples revealed bacterial isolation. This was due to the previous antibiotic therapy supporting the inappropriate or insufficient treatment that may have led to late admission. The most frequently isolated agents also support the deduction of previous antibiotic therapy application. Usual agents such as *S. aureus* or *Streptococci*, which are susceptible to common antibiotic agents, were not isolated [12].

Although a statistically significant effect on mortality could not be determined, cardiac comorbidity and accompanying chronic kidney disease are found high in the patients who needed intensive care and in deceased patients. Previous studies support the observation that accompanying cardiac and renal disease has an effect on mortality [10, 13-16].

The small sample size was an important limitation of the study. Although our institution has been an important reference center for diabetic wound care, the number of such progressive septic wound patients remains low. This low patient count might be the reason for the insignificant correlation between cardiac and renal diseases and mortality. The retrospective nature of the study is also a limitation as parameters might be enhanced with more variables in a prospective study.

In conclusion, invasive necrotizing foot infection in the diabetic population is a life-threatening condition that requires urgent surgical intervention. Removing the source of infection as soon as possible is vital. The mortality rate was high in this patient group even though major surgery was performed. Low major amputation rates and low mortality rates in overall diabetic foot ulcer patient groups in the previous studies may mislead the inexperienced surgeon to act conservatively. It is important to discriminate between the chronic wound and the signs of progressive acute infection in diabetic patients. Our study may lead to a better understanding of the epidemiology and prognosis of diabetic foot ulcer in patients requiring urgent surgical intervention.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from the Local Ethics Committee.

Informed Consent: N/A.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - A.D., H.A.; Design - A.D., H.A.; Supervision - A.D., H.A.; Resources - A.D., H.A.; Ma-

terials - A.D., H.A.; Data Collection and/or Processing - A.D., H.A.; Analysis and/or Interpretation - A.D., H.A.; Literature Search - A.D., H.A.; Writing Manuscript - A.D., H.A.; Critical Review - A.D., H.A.

Conflict of Interest: The authors have no conflicts of interest to declare.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır.

Hasta Onamı: N/A.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - A.D., H.A.; Tasarım - A.D., H.A.; Denetleme - A.D., H.A.; Kaynaklar - A.D., H.A.; Malzemeler - A.D., H.A.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - A.D., H.A.; Analiz ve/veya Yorum - A.D., H.A.; Literatür Taraması - A.D., H.A.; Yazıyı Yazan - A.D., H.A.; Eleştirel İnceleme - A.D., H.A.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadığını belirtmiştir.

References

1. American Diabetes Association. Foot wound care consensus conference. *Diabetes Care* 1999; 22: 1354-60. [\[CrossRef\]](#)
2. Wallace GF. Debridement of invasive diabetic foot infections. *Clin Plastic Surg* 2007; 34: 731-4. [\[CrossRef\]](#)
3. Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, Pile JC, Peters EJ, Armstrong DG, et al. 2012 Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. *Clin Infect Dis* 2012; 54: e132-73. [\[CrossRef\]](#)
4. Peters EJ, Lipsky BA, Aragón-Sánchez J, Boyko EJ, Diggle M, Embil JM, et al. Interventions in the management of infection in the foot in diabetes: a systematic review. *Diabetes Metab Res Rev* 2016; 32 (Suppl 1): 145-53. [\[CrossRef\]](#)
5. Moulik PK, Mtonga R, Gill GV. Amputation and Mortality in New-Onset Diabetic Foot Ulcers Stratified by Etiology. *Diabetes Care* 2003; 26: 491-4. [\[CrossRef\]](#)
6. Taylor LM Jr, Porter JM. The clinical course of diabetics who require emergent foot surgery because of infection or ischemia. *J Vasc Surg* 1987; 6: 454-9. [\[CrossRef\]](#)
7. Capobianco CM, Stapleton JJ, Zgonis T. Surgical management of diabetic foot and ankle infections. *Foot Ankle Spec* 2010; 3: 223-30. [\[CrossRef\]](#)
8. Altındaş M, Kılıç A, Çınar C. A reliable surgical approach for the two-staged amputation in unsalvageable limb and life threatening acute progressive diabetic foot infections: Tibiotalar disarticulation with vertical crural incisions and secondary transtibial amputation. *Foot Ankle Surg* 2011; 17: 13-8. [\[CrossRef\]](#)

9. Lipsky BA. A report from the international consensus on diagnosing and treating the infected diabetic foot. *Diabetes Metab Res Rev* 2004; 20 (Suppl 1): S68-77. [\[CrossRef\]](#)
10. Robbins JM, Strauss G, Aron D, Long J, Kuba J, Kaplan Y. Mortality Rates and Diabetic Foot Ulcers: Is it Time to Communicate Mortality Risk to Patients with Diabetic Foot Ulceration?. *J Am Podiatr Med Assoc* 2008; 98: 489-93. [\[CrossRef\]](#)
11. Altindas M, Kilic A, Cinar C, Bingol UA, Ozturk G. The epidemiology of foot wounds in patients with diabetes: a description of 600 consecutive patients in Turkey. *J Foot Ankle Surg* 2011; 50: 146-52. [\[CrossRef\]](#)
12. Tascini C, Piaggese A, Tagliaferri E, Iacopi E, Fondelli S, Tedeschi A, et al. Microbiology at first visit of moderate-to-severe diabetic foot infection with antimicrobial activity and a survey of quinolone monotherapy. *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 94: 133-9. [\[CrossRef\]](#)
13. Aragón-Sánchez J, Hernández-Herrero M, Lázaro-Martínez JL, Quintana-Marrero Y, Maynar-Moliner M, Rabellino M, et al. In-hospital complications and mortality following major lower extremity amputations in a series of predominantly diabetic patients. *Int J Low Extrem Wounds* 2010; 9: 16-23. [\[CrossRef\]](#)
14. Hambleton IR, Jonnalagadda R, Davis CR, Fraser HS, Chaturvedi N, Hennis AJ. All-cause mortality after diabetes-related amputation in Barbados: a prospective case-control study. *Diabetes Care* 2009; 32: 306-307. [\[CrossRef\]](#)
15. Izumi Y, Satterfield K, Lee S, Harkless LB, Lavery LA. Mortality of first-time amputees in diabetics: a 10-year observation. *Diabetes Res Clin Pract* 2009; 83: 126-31. [\[CrossRef\]](#)
16. Faglia E, Clerici G, Clerissi J, Gabrielli L, Losa S, Mantero M, et al. Early and five-year amputation and survival rate of diabetic patients with critical limb ischemia: data of a cohort study of 564 patients. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2006; 32: 484-90. [\[CrossRef\]](#)

Assessing the Consistency of Clinical Diagnosis and Ancillary Tests For Brain Death

Tuğhan Utku , Süha Bozbay , Seval Ürkmez , Eren Fatma Akçıl , Oktay Demirkıran , Yalım Dikmen 

Department of Anaesthesiology and Reanimation, İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

Cite this article as: Utku T, Bozbay S, Ürkmez S, Akçıl EF, Demirkıran O, Dikmen Y. Assessing the consistency of clinical diagnosis and ancillary tests for brain death. *Cerrahpaşa Med J* 2019; 43(1): 29-33.

Abstract

Objective: Brain death (BD) implies the permanent absence of cerebral and brainstem functions. It should be shown that there is no blood flow in all brain regions even besides the brainstem by using the confirmatory tests. We aimed to evaluate the incompatibility to diagnosis of BD by clinical and ancillary tests (computed tomographic angiography (CTA), magnetic resonance imaging angiography (MRIA), transcranial Doppler ultrasonography (TCD-USG), electroencephalography (EEG)).

Methods: The patients admitted to our intensive care unit between 2012-2018 have been evaluated retrospectively. Twenty two patients who were assessed as BD, and additionally 12 of them had ancillary tests for BD for certain diagnosis investigated. Demographic data, causes of BD, and the follow ups were recorded for all patients.

Results: Twelve patients were diagnosed as BD. The reasons leading to BD were intracranial hemorrhage, cardiac arrest, intracranial tumours, pulmonary embolism, aneurysmal hemorrhage, meningitis, subarachnoid hemorrhage. The mean age was 40.86 ± 15.62 years, the mean APACHE II score was 28.23 ± 16.33 . Brain death was diagnosed by clinically in 10 patients, and 12 patients evaluated by ancillary tests.

Conclusion: Brain death can be diagnosed based on clinical criteria, but in somehow confirmative tests may be necessary. Clinically diagnosing of BD is not always consistent with CTA, and procedure is needed to be repeated or other further techniques have to be used for confirmation.

Keywords: Brain death, ancillary tests, computed tomographic angiography

Cerrahpaşa Med J 2019; 43(1): 29-33

Beyin ölümü için klinik tanı ve yardımcı testlerin tutarlılığı

Öz

Amaç: Beyin ölümü (BÖ), beyin ve beyin sapı işlevlerinin kalıcı yokluğunu ifade eder. Doğrulamaya testler kullanılarak beyin sapı dışında bile tüm beyin bölgelerinde kan akışı olmadığı gösterilmelidir. BÖ tanısının uyumsuzluğunu klinik ve yardımcı testler (bilgisayarlı tomografik anjiyografi (BTA), manyetik rezonans görüntüleme anjiyografisi (MRIA), transkraniyal Doppler ultrasonografisi (TKD-USG), elektroensefalografisi (EEG)) ile değerlendirmeye amaçladık.

Yöntemler: 2012-2018 yılları arasında yoğun bakım ünitemize başvuran hastalar retrospektif olarak değerlendirildi. BÖ için 22 hasta değerlendirildi ve ayrıca 12 tanesinde, BÖ tanısında kesin tanı için yardımcı testler yapıldı. Tüm hastalar için demografik veriler, BÖ'nün nedenleri ve takipleri kaydedildi.

Bulgular: On iki hastaya BÖ tanısı kondu. BÖ'ye neden olan nedenler intrakraniyal kanama, kardiyak arrest, intrakraniyal tümörler, pulmoner emboli, anevrizmal kanama, menenjit, subaraknoid kanama idi. Yaş ortalaması $40,86 \pm 15,62$, ortalama APACHE II skoru $28,23 \pm 16,33$ idi. Beyin ölümü 10 hastada klinik olarak teşhis edildi ve 12 hasta yardımcı testlerle değerlendirildi.

Sonuç: Beyin ölümü klinik kriterlere göre teşhis edilebilir, ancak bir şekilde doğrulamaya testler gerekli olabilir. BÖ'nün klinik olarak tanısı her zaman BTA ile tutarlı değildir ve tekrarlanması için prosedür gereklidir veya başka ileri teknikler kullanılmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Beyin ölümü, yardımcı tanı testleri, bilgisayarlı tomografik anjiyografi

Cerrahpaşa Tıp Derg 2019; 43(1): 29-33

Brain death (BD) is commonly defined as the irreversible cessation of consciousness (irreversible coma), all motor responses (excluding spinal reflexes), and all brainstem functions (including respiration) as a

consequence of a catastrophic brain injury [1-5]. This results from prolonged cerebral circulatory arrest and leads to hypoxia, fatigue, and eventually cellular necrosis. In 1959, Mollaret and Goulon first described this state as "coma deepassé" or irretrievable coma [6].

The diagnosis of BD is predominantly made clinically [7]. However, in the absence of a reliable examination, ancillary tests may be necessary for a timely diagnosis [8-11]. Most countries have laws regulating the diagnosis of BD and organ of organs from donors.

Received/Geliş Tarihi: 5 February 2019 **Accepted/Kabul Tarihi:** 22 April 2019

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Süha Bozbay;

Department of Anaesthesiology and Reanimation, İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

E-mail/E-posta: drshbzby@gmail.com

DOI: 10.26650/cjm.2019.43.42



However, the criteria and guidelines for the same differ from country to country [6].

Confirmatory ancillary tests demonstrate the absence of cerebral electrical activity or depict cerebral circulatory arrest. Four-vessel cerebral angiography has traditionally been considered the standard criterion for diagnoses of BD. However, its invasive nature, need for specially trained physicians, technical complexity, specialized equipment, high cost, and inconsistent availability across hospitals make it of limited use today [9, 10, 12, 13].

As a result, a number of surrogate cerebral circulatory tests have been introduced, such as nuclear medicine perfusion test, transcranial Doppler ultrasonography (TCD-USG), computed tomographic angiography (CTA), magnetic resonance imaging angiography (MRIA), perfusion computed tomography (CT), xenon CT, MR perfusion, diffusion-weighted MR imaging, and functional MR imaging [10].

Perceptions and practices regarding BD vary worldwide. Ancillary tests are not mandatory but can be used in cases of apnea, inconclusive clinical examination, or to shorten the duration of the observation period [14].

We aimed to evaluate the incompatibility of the diagnosis of BD with clinical examination and ancillary tests such as CTA, MRIA, TCD-USG, and electroencephalography (EEG).

Material and methods

After obtaining approval from the local ethics committee, 22 patients who were admitted to our intensive care unit with findings of BD between 2012 and 2018 were evaluated retrospectively. Confirmatory tests were recorded to assess the demographic data, underlying causes of BD, APACHE II scores, apnea test time, the time from the first suspicion of BD with neurological findings to time of declaration of BD.

Results

In this study, 22 patients (12 male and 10 female) were diagnosed with BD and evaluated retrospectively. The mean age was 40.86 ± 15.62 years, and the mean APACHE II was 28.23 ± 16.33 . The reasons leading to BD in the study group were intracranial hemorrhage in 10 patients (45.45%), cardiac arrest in 3 patients (13.63%), intracranial tumor in 3 patients (13.63%), pulmonary embolism in 2 patients (9.09%), aneurysmal hemorrhage in 2 patients (9.09%), meningitis in 1 patient (4.54%), and subarachnoid hemorrhage in 1 patient (4.54%).

The apnea test time was 8.68 ± 5.19 minutes. The time from the first suspicion of BD with neurological findings to the time of declaration of BD was 70.9 ± 32.66 hours.

Table 1. Causes of brain death (BD)

Causes	n (%)
Intracranial hemorrhage	10 (45.45)
Cardiac arrest	3 (13.63)
Intracranial tumour	3 (13.63)
Pulmonary embolism	2 (9.09)
Aneurysmal hemorrhage	2 (9.09)
Menengitis	1 (4.54)
Subarachnoid hemorrhage	1 (4.54)

Ancillary tests (CTA, EEG, MRIA, TCD-USG) were performed on 12 patients. CTA was performed in 8 patients, and it was positively correlated with clinical examination in only 6 patients (75%). After clinical progress, 2 cases that showed negative CTA results were accepted as BD based on further CTA or on subsequent EEG. MRIA was performed in 2 patients and was found to be positive in 1 patient, while the other negative result was accepted as being compatible with BD after being reevaluated by CTA. EEG and TCD-USG were both positive in 1 patient each. BD was diagnosed clinically in 10 patients.

Discussion

According to the law in Turkey, BD is defined as the irreversible cessation of all functions of the entire brain, including the cerebrum and brainstem. Keeping in line with the recent medical achievements in organ transplantation, the diagnosis of BD is particularly important [10]. In our protocol, the clinical diagnosis of BD was made by two independent physicians (an anesthesiologist/intensivist and a neurologist/neurosurgeon) depending on the presence of deep unresponsive coma, the absence of all brainstem reflexes (dilated pupils that were non-reactive to light and trigeminal pain stimuli and absence of gag, corneal, oculocephalic and oculovestibular reflexes) and a positive apnea test. In some protocols, repeating the clinical evaluation after a 12–72 hour duration has been suggested [15]. In our study, we repeated the neurological examination twice in a 12–24 hour period after the first neurological examination.

In most countries, the apnea test is performed because it is legally required or recommended in the guidelines. Although there are many arguments about the apnea test, it is considered safe as long as adequate oxygen is provided to the patient [16]. In our study, the apnea test was performed for all suspicious BD patients as a rule.

After completing the clinical diagnosis of BD, the lack of brain function or cerebral circulation can be demonstrated using ancillary methods such as EEG, TCD-USG, and conventional angiography [17]. In Europe, there are different approaches defined for the use of ancillary tests in the diagnosis of BD [18]. Most series have shown that CTA has demonstrated high sensitivity, specificity, and validity in detecting intracranial circulatory arrest [19]. This method was described for use in BD diagnosis in 1978 and has since benefited from advances in imaging techniques that make it quick and easy to perform [20, 21]. On the other hand, some studies have suggested that CTA is not a valid confirmatory test for cerebral circulatory arrest in BD, as it may be associated with false-positive results and lower sensitivity compared to EEG [22, 23]. In Turkey, the most frequently used ancillary test was CTA (46.5%), followed by TCD-USG (24.4%) [24]. Similarly, in our study, the most frequently used test was CTA.

Other ancillary tests used for BD diagnosis have some pitfalls. EEG is routinely used for BD diagnosis in 54% of hospitals. It was one of the first ancillary tests described to confirm the diagnosis of BD [25]. But this test has many limitations [26] such as the fact that EEG cannot be performed or is difficult to interpret in patients with hypothermia, severe metabolic disorders, drug intoxications, or hemodynamic instability. Further, TCD-USG is operator-dependent and deficient for posterior circulation [27-29].

In the literature, the most common cause of BD is intracranial hemorrhage [30]. In our study, the most common cause was intracranial hemorrhage (45.45%), and the other causes were cardiac arrest (13.63%), intracranial tumor (13.63%), pulmonary embolism (9.09%), aneurysmal hemorrhage (9.09%), meningitis (4.54%), and subarachnoid hemorrhage (4.54%).

There are different opinions in previous literature about the duration of the apnea test. In a study by Saritas et al. [24], 37.4% of the participants stated that a duration of 8–10 minutes was needed to obtain an increase of >20 mmHg in the arterial partial pressure of CO₂ from baseline till a value of >60 mmHg at the end of the test. In our study, the apnea test time was 8.68±5.19 minutes.

After the apnea test, 10 of the 22 patients were accepted as having BD by clinical examination. Ancillary tests (CTA, EEG, MRIA, TCD-USG) were performed on 12 patients. CTA was performed in 8 patients, and it was positively correlated with clinical examination in only 6 patients (75%). After clinical progress, 2 cases that showed negative CTA results were accepted as BD based on further CTA or on subsequent EEG. MRIA was performed in 2 patients and was found to be positive in 1 patient, while the other negative result was accepted as being compatible with BD after being reevaluated

by CTA. EEG and TCD-USG were both positive in 1 patient each.

In nine patients, the duration between the apnea test and the ancillary test was 18.66±20.80 hours. Three patients who had negative results in the first screening (MRIA and CTA) needed a second screening to confirm the lack of cerebral circulation. In these three patients, the duration between the apnea test and the second ancillary (CTA-EEG) test was 267.33±296.42 hours.

All the 22 patients showed a positive result on the apnea test but 12 patients required ancillary tests (CTA, EEG, MRIA, TCD-USG) to confirm the diagnosis of BD. Finally, all 22 patients were confirmed as having BD.

Negative results of three ancillary tests delayed the time of declaration of BD, which further delayed organ transplantation. Moreover, the exact time of CTA in the diagnosis of BD should also be elucidated in further studies.

Our study has some limitations in that the sample size was less and that it was a single-center study.

In conclusion, any condition that causes permanent widespread brain injury can lead to BD. BD can be diagnosed based on clinical criteria, but some confirmatory tests may be necessary. Verification of the absence of cerebral circulation is crucial in the confirmation of BD diagnosis. Confirmatory tests that can be conducted radiologically are intracranial blood flow examinations which include CTA, MRIA, cerebral angiography and venography, ophthalmic artery flow examinations, and TCD-USG examinations. Legal definitions of BD vary from country to country.

Compared to other ancillary tests for BD, CTA is the most reliable, standardized, and widely accessible one and can examine the whole body, making it particularly useful in cases in which there is potential for organ harvesting.

When clinical examination for diagnosis of BD is not consistent with CTA, either the method of diagnosis should be repeated or other techniques should be employed for confirmation.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from the Local Ethics Committee.

Informed Consent: N/A.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - T.U., S.B.; Design - S.B., T.U.; Supervision - O.D., S.B.; Resources - S.B., E.F.A.; Materials - S.B., S.U.; Data Collection and/or Processing - S.B., S.U.; Analysis and/or Interpretation - S.B., Y.D.; Literature Search - S.B., O.D.; Writing Manuscript - T.U., S.B.; Critical Review - Y.D., O.D.

Conflict of Interest: The authors have no conflicts of interest to declare.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı Yerel Etik Kurulu'ndan alınmıştır.

Hasta Onamı: N/A.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - T.U., S.B.; Tasarım - S.B., T.U.; Denetleme - O.D., S.B.; Kaynaklar - S.B.,E.F.A.; Malzemeler - S.B., S.U.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - S.B., S.U.; Analiz ve/veya Yorum - S.B., Y.D.; Literatür Taraması - S.B., O.D.; Yazıyı Yazan - T.U., S.B.; Eleştirel İnceleme - Y.D., O.D.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadığını belirtmiştir.

References

1. The Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. Practice parameters for determining brain death in adults (summary statement). *Neurology* 1995; 45: 1012-4. [CrossRef]
2. Wijdicks EF, Varelas PN, Gronseth GS, Greer DM. Evidence-based guideline update: determining brain death in adults: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2010; 74: 1911-8. [CrossRef]
3. Shemie SD, Doig C, Dickens B, Byrne P, Wheelock B, Rocker G, et al. Severe brain injury to neurological determination of death: Canadian forum recommendations. *CMAJ* 2006; 174: S1-13. [CrossRef]
4. Australian and New Zealand Intensive Care Society. The ANZICS Statement on Death and Organ Donation. Edition 3.2. VIC Australia: New Zealand Intensive Care Society; 2013.
5. Academy of Medical Royal Colleges. A code of practice for the diagnosis and confirmation of death. London: Academy of Medical Royal Colleges; 2008.
6. Wijdicks EF. Brain death worldwide: accepted fact but no global consensus in diagnostic criteria. *Neurology* 2002; 58: 20-5. [CrossRef]
7. Heran MKS, Heran NS, Shemie SD. A review of ancillary tests in evaluating brain death. *Can J Neurol Sci* 2008; 35: 409-19. [CrossRef]
8. Memorial Health University Medical Center. Patient Care Policy: Death Determination-Adult. Savannah, GA: Memorial Health University Medical Center; 2013.
9. Berenguer C, Davis F, Howington J. Brain death confirmation: Comparison of computed tomographic angiography with nuclear medicine perfusion scan. *J Trauma* 2010; 68: 553-9. [CrossRef]
10. Sawicki M, Bohatyrewicz R, Walecka A, Solek-Pastuszka J, Rowinski O, Walecki J. CT angiography in the diagnosis of brain death. *Pol J Radiol* 2014; 79: 417-21. [CrossRef]
11. Wijdicks EF. The diagnosis of brain death. *N Engl J Med* 2001; 344: 1215-21. [CrossRef]
12. Welschehold S, Kerz T, Boor S, Reuland K, Thomke F, Reuland A, et al. Computed tomographic angiography as a useful adjunct in the diagnosis of brain death. *J Trauma Acute Care Surg* 2013; 74: 1279-85. [CrossRef]
13. Escudero D, Otero J, Marques L, Parra D, Gonzalo JA, Albaiceta GM, et al. Diagnosing brain death by CT perfusion and multislice CT angiography. *Neurocrit Care* 2009; 11: 261-71. [CrossRef]
14. Young GB, Shemie SD, Doig CJ, Teitelbaum J. Brief review: the role of ancillary tests in the neurological determination of death. *Can J Anaesth* 2006; 53: 620-7. [CrossRef]
15. Welschehold S, Boor S, Reuland K, Thömke F, Kerz T, Reuland A, et al. Technical aids in the diagnosis of brain death: a comparison of SEP, AEP, EEG, TCD and CT angiography. *Dtsch Arztebl Int* 2012; 109: 624-30. [CrossRef]
16. Machado C, Perez J, Scherle C, Areu A, Pando A. Brain death diagnosis and apnea test safety. *Ann Indian Acad Neurol* 2009; 12: 197-200. [CrossRef]
17. Frampas E, Videcoq M, de Kerviler E, Ricolfi F, Kuoch V, Mourey F, et al. CT angiography for brain death diagnosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2009; 30: 1566-70. [CrossRef]
18. Citerio G, Crippa IA, Bronco A, Vargiolu A, Smith M. Variability in brain death determination in Europe: looking for a solution. *Neurocrit Care* 2014; 21: 376-82. [CrossRef]
19. Welschehold S, Kerz T, Boor S, Reuland K, Thömke F, Reuland A, et al. Detection of intracranial circulatory arrest in brain death using cranial CT-angiography. *Eur J Neurol* 2013; 20: 173-9. [CrossRef]
20. Rappaport ZH, Brinker RA, Rovit RL. Evaluation of brain death by contrast-enhanced computerized cranial tomography. *Neurosurgery* 1978; 2: 230-2. [CrossRef]
21. Rangel RA. Computerized axial tomography in brain death. *Stroke* 1978; 9: 597-8. [CrossRef]
22. Greer DM, Strozyk D, Schwamm LH. False positive CT angiography in brain death. *Neurocrit Care* 2009; 11: 272-5. [CrossRef]
23. Quesnel C, Fulgencio JP, Adrie C, Marro B, Payen L, Lember N, et al. Limitations of computed tomographic angiography in the diagnosis of brain death. *Intensive Care Med* 2007; 33: 2129-35. [CrossRef]
24. Saritas A, Acar CB, Zinciroglu C, Uzun U, Kose I, Senoglu N. Brain death in intensive care units: problems, differences in methods of diagnosis, and donor care. *Exp Clin Transplant* 2018; doi: 10.6002/ect.2017.0293. [Epub ahead of print] [CrossRef]
25. Alderete JF, Jeri FR, Richardson Jr EP, Sament S, Schwab RS, Young RR. Irreversible coma: a clinical, electroencephalographic and neuropathological study. *Trans Am Neurol Assoc* 1968; 93: 16-20.
26. Guerit JM. Electroencephalography: the worst traditionally recommended tool for brain death confirmation. *Intensive Care Med* 2007; 33: 9-10. [CrossRef]
27. American Clinical Neurophysiology Society: Guideline 3: minimum technical standards for EEG recording in suspected cerebral death. *J Clin Neurophysiol* 2006; 23: 97-104. [CrossRef]

28. Ducrocq X, Braun M, Debouverie M, Junges C, Hummer M, Vespignani H. Brain death and transcranial Doppler: experience in 130 cases of brain dead patients. *J Neurol Sci* 1998; 160: 41-6. [\[CrossRef\]](#)
29. de Freitas GR, André C. Sensitivity of transcranial Doppler for confirming brain death: a prospective study of 270 cases. *Acta Neurol Scand* 2006; 113: 426-32. [\[CrossRef\]](#)
30. Ding ZY, Zhang Q, Wu JW, Yang ZH, Zhao XQ. A Comparison of Brain Death Criteria between China and the United States. *Chin Med J (Engl)* 2015; 128: 2896-901. [\[CrossRef\]](#)

Case of Rhabdomyolysis in a Patient Undergoing Hemodialysis: A Possible Association with Tramadol HCl

Sinan Trabulus¹ , Murat Özbalak² , Eda Kaya³ , Tuğçe Apaydın² , Hande Mefkure Özkaya⁴ ,
Özer Açıbay⁴ , Nurhan Seyahi¹ 

¹Department of Internal Medicine, Division of Nephrology, İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

²Department of Internal Medicine, İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

³İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

⁴Department of Internal Medicine, Division of Endocrinology, İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

Cite this article as: Trabulus S, Özbalak M, Kaya E, Apaydın T, Özkaya HM, Açıbay Ö, et al. Case of rhabdomyolysis in a patient undergoing hemodialysis: a possible association with tramadol HCl. *Cerrahpaşa Med J* 2019; 43(1): 34-36.

Abstract

Tramadol hydrochloride (HCl) is a synthetic analgesic agent, which is generally safe at a low dose. Its adverse effects are reported in cases of intoxication. Here we present a 59-year-old male patient with multiple relapsing parathyroid carcinoma-related refractory hypercalcemia and generalized pain. Being prescribed tramadol HCl, he consumed an increased dosage following increased pain, resulting in rhabdomyolysis, which improved after cessation of the drug. Nevertheless, the patient died owing to pulmonary embolism. Rhabdomyolysis owing to tramadol HCl consumption is very rarely reported. Rhabdomyolysis should be considered in patients consuming tramadol HCl and having generalized muscle weakness.

Keywords: Hypercalcemia, Parathyroid carcinoma, Rhabdomyolysis, Tramadol hydrochloride

Cerrahpaşa Med J 2019; 43(1): 34-36

Hemodiyalize giren bir hastada tramadol sonrası gelişen rabdomiyoliz

Öz

Tramadol Hidroklorit (HCl) düşük dozlarda genellikle güvenli olan sentetik bir analjeziktir. Yan etkiler intoksikasyon vakalarında bildirilmiştir. Biz, burada nöks paratiroid kanseri tanısı bulunan 59 yaşındaki erkek hastada medikal tedaviye dirençli ciddi hiperkalsemi ve generalize ağrı olgusunu sunuyoruz. Hasta, ağrıları için Tramadol HCl reçete edildikten sonra artan ağrılara paralel olarak ilaç dozunu artırdı ve sonunda rabdomiyoliz gelişti. Rabdomiyoliz ilacın kesilmesinden sonra tamamen geriledi, yine de hasta pulmoner emboli nedeniyle eks oldu. Tramadol HCl kullanımına bağlı rabdomiyoliz çok nadir olarak bildirilmiştir. Tramadol HCl kullanan ve generalize kas ağrısı ile prezente olan hastalarda rabdomiyoliz düşünülmelidir.

Anahtar Sözcükler: Hiperkalsemi, paratiroid karsinomu, rabdomiyoliz, tramadol hidroklorit

Cerrahpaşa Tıp Derg 2019; 43(1): 34-36

Tramadol hydrochloride (HCl) is a synthetic analgesic agent that acts on central nervous system and has opioid and non-opioid properties [1]. We present the case of a patient with metastatic parathyroid carcinoma treated with hemodialysis because of refractory hypercalcemia, and he developed rhabdomyolysis possibly owing to increased consumption of tramadol HCl.

Case Presentation

A 59-year-old male patient was admitted to our outpatient clinic in April 2015 with fatigue and generalized pain. He had a history of right total lobectomy and left subtotal lobectomy of the thyroid gland and right lower parathyroidectomy in 2010. The pathological evaluation was consistent with thyroid papillary microcarcinoma in the left lobe and parathyroid carcinoma. Parathyroid carcinoma relapsed in 2013. Since 2014, the patient was on low-calcium intermittent hemodialysis 3 days a week owing to refractory hypercalcemia (21.3 mg/dL). His analgesic need increased gradually. Consequently, he used a fentanyl transdermal patch (25 mcg) every 72 hours and tramadol HCl (100 mg) two times daily.

Received/Geliş Tarihi: 8 January 2019 **Accepted/Kabul Tarihi:** 8 May 2019

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Nurhan Seyahi;

Department of Internal Medicine, Division of Nephrology, İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

E-mail/E-posta: nseyahi@yahoo.com

DOI: 10.26650/cjm.2019.43.31



Table 1. Serum biochemical analysis of the patient between 2012 and 2015

Analysis	January 2012 (Initial presentation)	January 2013	January 2014 (Hemodialysis started owing to refractory hypercalcemia)	April 2015 (Time of presentation with rhabdomyolysis)	Normal range
Creatinine (mg/dL)	1.1	1.38	1.9	1.73	0.5–0.9
Uric acid (mg/dL)	7.7	6.0	8.2	7.7	3.4–7.0
AST (U/l)	21	21	44	244	<32
ALT (U/l)	11	9	8	87	<33
ALP (U/l)	192	106	329	265	35–105
LDH (IU/l)	318	505	266	1208	<250
CK (U/l)	NA	NA	NA	8892	<190
Albumin (g/dL)	3.47	3.8	2.8	3.2	3.5–5
Sodium (mmol/l)	138	140	136	133	136–145
Potassium (mmol/l)	3.4	4.23	4.3	3.5	3.5–5.1
Calcium (mg/dL)	16.5	12.9	21.8	10.8	8.4–10.2
Phosphorus (mg/dL)	2.4	2.6	4,09	5.3	2.5–4.5
Parathormone (pg/mL)	1145	481.1	1350	1684	15–65

NA: not analyzed

At the time of admission, physical examination revealed cachexia, generalized muscle weakness in extremities, inability to walk, and large purple lesions over his trunk and thighs. Results of serum biochemical analysis revealed elevated creatinine, transaminases, alkaline phosphatase, and parathormone levels. Platelet count, prothrombin time, international normalized ratio, and activated partial thromboplastin time were within normal limits. Following a tramadol HCl consumption of 100 mg every 2-3 hours during the last 3 days owing to increased analgesic need, the serum creatinine kinase (CK) level elevated unexpectedly [8892 U/l, N<190 U/l] (Table 1). We discontinued the tramadol HCl treatment and initiated extensive intravenous hydration. On the following day, the CK level increased to 46360 U/l. However, it decreased to 1227 U/l on the second day, although we were unable to perform hemodialysis owing to the patient's hypotensive status. On the third day of hospitalization, he developed dyspnea. Computerized tomography of the thorax revealed pulmonary emboli in the lower segments of the right pulmonary artery. He was transferred to the intensive care unit; he died on the fourth day.

Discussion

According to a recent study conducted by Moulis F et al. [2], the most frequently reported adverse effects of tramadol HCl were neurological (29.4%), inclu-

ding change in consciousness and seizures; psychiatric (22.8%), including confusions and hallucinations; and gastrointestinal (17.0%), including nausea and vomiting. To the best of our knowledge, there are a couple of case reports describing rhabdomyolysis related to tramadol HCl consumption [3, 4]. According to the Naranjo algorithm [5], the patient reached 6 points. Unfortunately, we were unable to conduct additional research on the rest of the questionnaire because our patient died, the result of the interpretation being "probable."

Narcotics result in direct cell toxicity and may increase the risk of rhabdomyolysis in drug users owing to staying in a stationary position after opioid injections [6]. Our patient was also in a stationary position owing to his aggravating pain. Moreover, to a larger extent, tramadol HCl is excreted via kidneys. Therefore, in our case, decreased opioid clearance owing to renal failure may be considered as an additional factor for rhabdomyolysis development.

Informed Consent: Written informed consent was obtained from the patient who participated in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Design - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Supervision - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A.,

N.S.; Resources - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Materials - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Data Collection and/or Processing - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Analysis and/or Interpretation - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Literature Search - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Writing Manuscript - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Critical Review - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.

Conflict of Interest: The authors have no conflicts of interest to declare.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı çalışmaya katılan hastadan alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Tasarım - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Denetleme - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Kaynaklar - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Malzemeler - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Veri Toplanması ve/veya İşlenmesi - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Analiz ve/veya Yorum - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Literatür Taraması - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Yazıyı Yazan - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.; Eleştirel İnceleme - S.T., M.Ö., E.K., T.A., H.M.Ö., Ö.A., N.S.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadığını belirtmiştir.

References

1. Vazzana M, Andreani T, Fanguero J, Faggio C, Silva C, Santini A, et al. Tramadol hydrochloride: Pharmacokinetics, pharmacodynamics, adverse side effects, co-administration of drugs and new drug delivery systems. *Bio-med Pharmacother* 2015; 70: 234-8. [\[CrossRef\]](#)
2. Moulis F, Rousseau V, Abadie D, Masmoudi K, Micallef J, Vigier C, et al. Serious adverse drug reactions with tramadol reported to the French pharmacovigilance database between 2011 and 2015. *Therapie* 2017; 72: 615-24. [\[CrossRef\]](#)
3. Yousef Khan F, Yousef H, Errayes M. Tramadol toxicity-induced rhabdomyolysis. *J Emerg Trauma Shock* 2010; 3: 421-2. [\[CrossRef\]](#)
4. Garrett PM. Tramadol overdose and serotonin syndrome manifesting as acute right heart dysfunction. *Anaesth Intensive Care* 2004; 32: 575-7. [\[CrossRef\]](#)
5. Naranjo CA, Busto U, Sellers EM, Sandor P, Ruiz I, Roberts EA, et al. A method for estimating the probability of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol Ther* 1981; 30: 239-45. [\[CrossRef\]](#)
6. Richards JR. Rhabdomyolysis and drugs of abuse. *J Emerg Med* 2000; 19: 51-6. [\[CrossRef\]](#)

A Case of Everolimus Related Pneumonitis Occurred After Switching Treatment from Sirolimus in a Kidney Transplant Patient

Eda Kaya¹ , Alican Karakoç² , Mehmet Velidedeoğlu³ , Salih Pekmezci³ , Sinan Trabulus⁴ ,
Nurhan Seyahi⁴ 

¹Istanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

²Department of Internal Medicine, İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

³Department of General Surgery, İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

⁴Department of Internal Medicine, Division of Nephrology, İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

Cite this article as: Kaya E, Karakoç A, Velidedeoğlu M, Pekmezci S, Trabulus S, Seyahi N. A Case of Everolimus Related Pneumonitis Occurred After Switching Treatment from Sirolimus in a Kidney Transplant Patient. *Cerrahpasa Med J* 2019; 43(1): 37-39.

Abstract

Pneumonitis is a reported side effect of treatment with mammalian target of rapamycin inhibitors. In this report, we present a case of everolimus-related pneumonitis that occurred after treatment switching from sirolimus to everolimus. A 33-year-old female was admitted to our clinic with fatigue, cough, night sweats, and high fever after treatment switching from sirolimus to everolimus. Thorax CT revealed ground-glass densities and acinar nodules. After withdrawal of everolimus, complete remission was observed. Pneumonitis after treatment switching from sirolimus to everolimus has not been observed before. In patients with pulmonary symptoms during everolimus treatment, drug-related pneumonitis should be considered.

Keywords: Everolimus, sirolimus, mTOR inhibitors, drug-related pneumonitis, kidney transplantation

Cerrahpasa Med J 2019; 43(1): 37-39

Tedavinin Sirolimus'tan Everolimus'a değiştirilmesi sonucu Everolimus'a bağlı pnömonit gelişen bir böbrek transplantasyonu hastası olgusu

Öz

Pnömonit mammalian target of rapamycin inhibitörleri tedavisinde görülen bir yan etkidir. Biz bu olguda tedavinin sirolimustan everolimusa değiştirilmesi sonucu everolimusa bağlı pnömonit gelişen bir hastayı sunuyoruz. 33 yaşında kadın hasta tedavisinin sirolimustan everolimusa değiştirilmesinden sonra gelişen kliniğimize halsizlik, öksürük, gece terlemesi ve yüksek ateş şikayetleriyle başvurdu. Toraks BT'de buzlu cam görüntüsü ve asiner nodüller görüldü. Everolimus tedavisi kesildikten sonra hastanın şikayetleri tamamen geriledi. Sirolimustan everolimusa geçiş sonucu pnömonit daha önce gözlemlenmemiştir. Everolimus alan hastalarda pulmoner semptomlar gelişirse everolimusa bağlı pnömonit düşünülmelidir.

Anahtar Sözcükler: Everolimus, Sirolimus, m-TOR inhibitörleri, ilaca bağlı pnömonit, böbrek transplantasyonu

Cerrahpaşa Tıp Derg 2019; 43(1): 37-39

Drug-related pneumonitis is reported as a side effect of mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors. The incidence of pneumonitis during everolimus treatment has been reported to be between 13.5% and 48.7% in various studies [1-3]. It is commonly associated with sirolimus [4]. In this report,

we present an unusual case of drug-related interstitial pneumonitis following everolimus treatment initiated after the administration of sirolimus treatment to a kidney transplant patient for a long period.

Case Presentation

A 33-year-old female who underwent cadaveric kidney transplant 11 years ago was admitted to our outpatient clinic with fatigue, cough, night sweats, and high fever since 1 month. She had a history of left nephrectomy due to vesicoureteral reflux-related pyelonephritis. For end-stage kidney disease, she un-

Received/Geliş Tarihi: 28 December 2019 **Accepted/Kabul Tarihi:** 13 May 2019

Address for Correspondence/Yazışma Adresi: Nurhan Seyahi;

Department of Internal Medicine, Division of Nephrology, İstanbul University-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa School of Medicine, İstanbul, Turkey

E-mail/E-posta: nseyahi@yahoo.com

DOI: 10.26650/cjm.2019.43.33



derwent hemodialysis for 4 years. After transplantation till 2015, she was administered mycophenolate, mofetil, sirolimus, and prednisolone. However, due to the inability to measure sirolimus level, the treatment was switched to everolimus. At the time of admission, rapid chest X-ray revealed reticulonodular pattern and sputum culture showed colonization with *Haemophilus influenzae*. Thereafter, the patient was prescribed moxifloxacin for 14 days. However, the complaints persisted after the administration of treatment for pneumonia. The patient was internalized to differentiate infection, tuberculosis, malignancies, and adverse drug effects. A blood sample was collected from the patient, and the laboratory findings were as follows: White blood cell, $5.5 \times 10^3/\text{mm}^3$; hemoglobin, 9.1 g/dl; hematocrit, 26.7%; urea, 98 mg/dL; creatinine, 2.62 mg/dL; sodium, 142 mmol/l; potassium, 4.72 mmol/l; calcium, 9.03 mmol/l; and C-reactive protein, 4.45 mg/l. Positron emission tomography (PET)/Computerized tomography (CT) showed multiple cystic lesions in the ovaries, which were found to be benign by gynecological examinations. On thorax CT, ground-glass densities and acinar nodules were observed. To differentiate between miliary tuberculosis and atypical viral infections, bronchoscopic lavage was performed. Purified Protein Derivative (PPD) test was 1 mm and interpreted to be anergic. Regarding sputum direct fluorescent antibody, negative results were obtained for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia and acid-resistant bacteria. Urine sample revealed negative results for legionella antigen, cytomegalovirus deoxyribonucleic acid, and galactomannan antigen. BK virus was not detected in urine and blood. A blood sample showed normal angiotensin-converting enzyme value and negative antinuclear antigen and anti-double-stranded antigen results. There was no bacterial colonization in blood and urine cultures. No urinary system pathologies were detected on renal Doppler ultrasonography. Echocardiographic examination performed to exclude infective endocarditis showed the following: ejection fraction of 55%, mild mitral and tricuspid valve regurgitation, pericardial effusion of 5 mm, and grade 2 diastolic dysfunction. Everolimus level was within the normal range (6.65 ng/mL). During daily rounds, the patient presented a decreased hemoglobin level. However, the results of direct and indirect Coombs test, hemolysis parameters, peripheral blood smear, and fecal occult blood tests repeated thrice were insignificant. Meanwhile, bronchoscopic lavage showed negative results for acid-resistant bacteria. In bronchoscopic lavage fluid cytology, less frequently polymorphic leukocytes, more frequently hyperplastic basal and metaplastic cell clusters, and basement membrane

thickening were reported. Respiratory function test demonstrated restrictive lung disease. These findings increased the suspicion of everolimus-related pneumonitis. Treatment switching from everolimus to cyclosporine resulted in alleviation of the clinical picture. A regression in ground-glass densities on thorax CT performed 3 weeks later supported this diagnosis.

Discussion

The novel mTOR inhibitor everolimus is an immunosuppressive agent used in solid-organ transplants in combination with cyclosporine. Because of its low nephrotoxicity and antiproliferative effect, everolimus is also used for cancer patients. Its important side effect is drug-related pneumonitis. This side effect has been reported by many centers after solid-organ transplant for sirolimus, another mTOR inhibitor [4-6]. Similar to sirolimus, the frequency of pneumonitis during everolimus treatment varies between 1.3% and 12.7% in kidney transplant patients [7, 8]. However, an alleviation in the clinical picture has been observed following treatment switching from sirolimus to everolimus [9]. In our report, we present a patient who was receiving sirolimus treatment for 11 years without any complaints. After treatment switching to everolimus for 1 month, she developed drug-related pneumonitis. The occurrence of pneumonitis has not been observed after treatment switching from sirolimus to everolimus to date.

The exact mechanism underlying drug-related pneumonitis remains to be established. A combination of direct toxicity and immunological toxicity is considered to have a role in its pathophysiology. The observed lymphocytic alveolitis on lung biopsies performed for affected patients provides a proof of the immune-mediated toxicity hypothesis. On the other hand, a rapid resolution of the clinical picture favors the direct toxicity hypothesis [10]. In our case, we observed normal everolimus blood levels. This finding supports the immunological hypothesis rather than direct toxicity.

Conclusion

Everolimus-related pneumonitis in kidney transplant patients should always be included in differential diagnosis. The present case states that everolimus can also induce pneumonitis despite therapeutic blood value. In such cases, immediate discontinuation of everolimus should be considered.

Informed Consent: Written informed consent was obtained from the patients who participated in this study.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - E.K., A.K., S.T., N.S.; Design - E.K., A.K., N.S.; Supervision - M.V., S.P., S.T., N.S.; Resources - E.K., A.K., S.T., N.S.; Materials - E.K., A.K., M.V., S.P., S.T., N.S.; Data Collection and/or Processing - E.K., A.K.; Analysis and/or Interpretation - E.K., A.K., M.V., S.P., S.T., N.S.; Literature Search - E.K., A.K., M.V., S.P., S.T., N.S.; Writing Manuscript - E.K., A.K., M.V., S.P., S.T., N.S.; Critical Review - E.K., A.K., M.V., S.P., S.T., N.S.; Other - E.K., A.K., M.V., S.P., S.T., N.S.

Conflict of Interest: The authors have no conflicts of interest to declare.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

Hasta Onamı: Yazılı hasta onamı çalışmaya katılan hastalardan alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - E.K., A.K., S.T., N.S.; Tasarım - E.K., A.K., N.S.; Denetleme - M.V., S.P., S.T., N.S.; Kaynaklar - E.K., A.K., S.T., N.S.; Malzemeler - E.K., A.K., M.V., S.P., S.T., N.S.; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - E.K., A.K.; Analiz ve/veya Yorum - E.K., A.K., M.V., S.P., S.T., N.S.; Literatür Taraması - E.K., A.K., M.V., S.P., S.T., N.S.; Yazıyı Yazan - E.K., A.K., M.V., S.P., S.T., N.S.; Eleştirel İnceleme - E.K., A.K., M.V., S.P., S.T., N.S.; Diğer - E.K., A.K., M.V., S.P., S.T., N.S.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadığını belirtmiştir.

References

1. White DA, Camus P, Endo M, Escudier B, Calvo E, Akaza H, et al. Noninfectious pneumonitis after everolimus

therapy for advanced renal cell carcinoma. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182: 396e403. [\[CrossRef\]](#)

2. Amato RJ, Jac J, Giessinger S, Saxena S, Willis JP. A phase 2 study with a daily regimen of the oral mTOR inhibitor RAD001 (everolimus) in patients with metastatic clear cell renal cell cancer. *Cancer* 2009; 115: 2438e46. [\[CrossRef\]](#)
3. Soria JC, Shepherd FA, Douillard JY, Wolf J, Giaccone G, Crino L, et al. Efficacy of everolimus (RAD001) in patients with advanced NSCLC previously treated with chemotherapy alone or with chemotherapy and EGFR inhibitors. *Ann Oncol* 2009; 20: 1674e81. [\[CrossRef\]](#)
4. Lee HS, Huh KH, Kim YS, Kim MS, Kim HJ, Kim SI, et al. Sirolimus-induced pneumonitis after renal transplantation: a single-center experience. *Transplant Proc* 2012; 44: 161e3. [\[CrossRef\]](#)
5. Morelon E, Stern M, Israël-Biet D, Correas JM, Danel C, Mamzer-Bruneel MF, et al. Characteristics of sirolimus-associated interstitial pneumonitis in renal transplant patient. *Transplantation* 2001; 72: 787-90. [\[CrossRef\]](#)
6. Haydar AA, Denton M, West A, Rees J, Goldsmith DJ. Sirolimus-induced pneumonitis: three cases and a review of the literature. *Am J Transplant* 2004; 4: 137-9. [\[CrossRef\]](#)
7. Champion L, Stern M, Israël-Biet D, Mamzer-Bruneel MF, Peraldi MN, Kreis H, et al. Brief communication: sirolimus-associated pneumonitis: 24 cases in renal transplant recipients. *Ann Intern Med* 2006; 144: 505-9. [\[CrossRef\]](#)
8. Cotovio P, Neves M, Santos L, Macário F, Alves R, Mota A. Conversion to everolimus in kidney transplant recipients: to believe or not believe? *Transplant Proc* 2012; 44: 2966-70. [\[CrossRef\]](#)
9. Baas MC, Struijk GH, Moes DJ, van den Berk IA, Jonkers RE, de Fijter JW, et al. Interstitial pneumonitis caused by everolimus: a case-cohort study in renal transplant recipients. *Transpl Int* 2014; 27: 428-36. [\[CrossRef\]](#)
10. Rehm B, Keller F, Mayer J, Stracke S. Resolution of sirolimus-induced pneumonitis after conversion to everolimus. *Transplant Proc* 2006; 38: 711-3. [\[CrossRef\]](#)
11. Singh U, Gupta A, Jasuja S. Sirolimus-induced pneumonitis. *Indian J nephrol* 2009; 19: 80-1. [\[CrossRef\]](#)