

YU ISSN 0042-8450

ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД



Часопис лекара и фармацеутика Војске Србије

Military Medical and Pharmaceutical Journal of Serbia

Vojnosanitetski pregled

Vojnosanit Pregl 2009; February vol. 66 (No. 2): pp. 103-178.



ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

Први број *Војносанинетског прегледа* изашао је септембра месеца 1944. године

Часопис наставља традицију *Војно-санинетског гласника*, који је излазио од 1930. до 1941. године

ИЗДАВАЧ

Управа за здравство Сектора за материјалне ресурсе МО Србије

ИЗДАВАЧКИ САВЕТ

Савет за издавачку делатност УЗ СМР МО
Доц. др **Вељко Тодоровић**, бригадни генерал (председник)

УРЕЂИВАЧКИ САВЕТ

проф. др sc. med. **Бранко Глигић**, пук.
проф. др sc. med. **Миодраг Јевтић**, генерал-мајор
др **Мирослав Радовановић**, пук.
проф. др sc. med. **Небојша Станковић**, пук.
доц. др sc. med. **Вељко Тодоровић**, бригадни генерал
Prof. др sc. med. **Никола Филиповић**, пук.

МЕЂУНАРОДНИ УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР

Prof. **Andrej Aleksandrov** (Russia)
Assoc. Prof. **Kiyoshi Ameno** (Japan)
Prof. **Rocco Bellantone** (Italy)
Prof. **Hanoch Hod** (Israel)
Prof. **Abu-Elmagd Kareem** (USA)
Prof. **Hiroshi Kinoshita** (Japan)
Prof. **Celestino Pio Lombardi** (Italy)
Prof. **Philippe Morel** (Switzerland)
Prof. **Kiyotaka Okuno** (Japan)
Assoc. Prof. **Branislav Radovančević** (USA)
Prof. **Stane Repše** (Slovenia)
Prof. **Mitchell B. Sheinkop** (USA)
Prof. **Hitoshi Shiozaki** (Japan)
Prof. **H. Ralph Schumacher** (USA)
Prof. **Miodrag Stojković** (UK)
Assist. Prof. **Tibor Tot** (Sweden)

УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР

Главни и одговорни уредник
проф. др sc. pharm. **Силва Добрић**

Уредници:

проф. др sc. med. **Бела Балинт**
проф. др sc. med. **Дубравко Боковић**
доц. др sc. med. **Драган Динчић**, пук.
доц. др sc. med. **Бранка Ђуровић**
проф. др sc. med. **Мирјана Животић-Вановић**
проф. др sc. med. **Небојша Јовић**, пук.
академик **Владимир Кањух**
академик **Владимир Костић**
проф. др sc. med. **Ђоко Максић**, пук.
доц. др sc. med. **Гордана Мандић-Гајић**
проф. др sc. stom. **Марјан Марјановић**, пук. у пензији
академик **Миодраг Остојић**
проф. др sc. med. **Љиљана Павлица**
академик **Сава Перовић**
проф. др sc. med. **Предраг Пешко**, FACS
проф. др sc. med. **Ранко Ранчевић**, пук.
проф. др sc. med. **Зоран Рогановић**, пук.
проф. др sc. med. **Војкан Станић**, пук.
доц. др sc. med. **Дара Стефановић**
проф. др sc. stom. **Љубомир Тодоровић**
доц. др sc. med. **Снежана Церовић**
проф. др sc. psych. **Миланко Чабаркапа**
академик **Миодраг Чолић**, пук.
академик **Радоје Чоловић**
проф. др sc. med. **Владимир Тук**
доц. др sc. med. **Весна Шуљагић**

Технички секретар уређивачког одбора
др Маја Марковић

РЕДАКЦИЈА

mg sc. med. др Соња Андрић-Кривокућа, др Снежана
Јанковић, др Маја Марковић, mg sc. Александра Гогић

Технички уредник: Милан Перовановић

Редактор за српски и енглески језик:

Драгана Мучибабић, проф.

Коректор: Љиљана Николић

Компјутерско-графичка обрада:

Светлана Стајић, Весна Тотић, Јелена Васил



Адреса редакције: Војномедицинска академија, Институт за научне информације, Црнотравска 17, поштански фах 33–55, 11040 Београд, Србија. Телефони: главни и одговорни уредник 3609 311, технички секретар 3608 943, редакција 3609 902 и 3609 179, претплата 3608 997. Факс 2669 689. E-mail: vmainil@EUnet.yu (главни и одговорни уредник) и vmaini2@EUnet.yu (редакција).

Радове објављене у „Војносанинетском прегледу“ индексирају: Science Citation Index Expanded (SCIE), Journal Citation Reports/Science Edition, Index Medicus (Medline), Excerpta Medica (EMBASE), EBSCO, Biomedicina Serbica. Садржаје објављују Giornale di Medicina Militare и Revista de Medicina Militara. Приказе оригиналних радова и извода из садржаја објављује International Review of the Armed Forces Medical Services.

Часопис излази дванаест пута годишње. Претплате: жиро рачун код Управе за јавна плаћања у Београду бр. 840-941621-02 – ВМА (за Војносанинетски преглед), ПИБ 102116082, или на девизни рачун код Народне банке број: 54104-ознака валуте-549. Годишња претплата: 4 000 динара за грађане Србије, 8 000 динара за установе из Србије и 150 € (у динарској противвредности на дан уплате) за претплатнике из иностранства. Копију уплатнице доставити на горњу адресу.

VOJNOSANITETSKI PREGLED

The first issue of *Vojnosanitetski pregled* was published in September 1944
The Journal continues the tradition of *Vojno-sanitetski glasnik* which was published between 1930 and 1941

PUBLISHER

Health Department, Sector for Material Resources, Ministry of Defence, Serbia

PUBLISHER'S ADVISORY BOARD

Brigadier General Assist. Prof. **Veljko Todorović**, MD.
(Chairman)

EDITOR'S ADVISORY BOARD

Col. Assoc. Prof. **Nikola Filipović**, MD, PhD
Col. Assoc. Prof. **Branko Gligić**, MD, PhD
Major-general, Assoc. Prof. **Miodrag Jevtić**, MD, PhD
Col. **Miroslav Radovanović**, MD
Col. Prof. **Nebojša Stanković**, MD, PhD
Brigadier General Assist. Prof. **Veljko Todorović**, MD, PhD

INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

Prof. **Andrej Aleksandrov** (Russia)
Assoc. Prof. **Kiyoshi Ameno** (Japan)
Prof. **Rocco Bellantone** (Italy)
Prof. **Hanoch Hod** (Israel)
Prof. **Abu-Elmagd Kareem** (USA)
Prof. **Hiroshi Kinoshita** (Japan)
Prof. **Celestino Pio Lombardi** (Italy)
Prof. **Philippe Morel** (Switzerland)
Prof. **Kiyotaka Okuno** (Japan)
Assoc. Prof. **Branislav Radovančević** (USA)
Prof. **Stane Repše** (Slovenia)
Prof. **Mitchell B. Sheinkop** (USA)
Prof. **Hitoshi Shiozaki** (Japan)
Prof. **H. Ralph Schumacher** (USA)
Prof. **Miodrag Stojković** (UK)
Assist. Prof. **Tibor Tot** (Sweden)

EDITORIAL BOARD

Editor-in-chief

Prof. **Silva Dobrić**, BPharm, PhD

Co-editors:

Prof. **Bela Balint**, MD, PhD
Prof. **Dubravko Bokonjić**, MD, PhD
Assist. Prof. **Snežana Cerović**, MD, PhD
Assoc. Prof. **Milanko Čabarkapa**, BPs, PhD
Col. Prof. **Miodrag Čolić**, MD, PhD, MSAAS
Prof. **Radoje Čolović**, MD, PhD, MSAAS
Assoc. Prof. **Vladimir Ćuk**, MD, PhD
Col. Assist. Prof. **Dragan Dinčić**, MD, PhD
Assist. Prof. **Branka Đurović**, MD, PhD
Col. Prof. **Nebojša Jović**, MD, PhD
Prof. **Vladimir Kanjuh**, MD, PhD, MSAAS
Prof. **Vladimir Kostić**, MD, PhD, MSAAS
Col. Prof. **Đoko Maksić**, MD, PhD
Assist. Prof. **Gordana Mandić-Gajić**, MD, PhD
Ret. col. Assoc. Prof. **Marjan Marjanović**, MD, PhD
Prof. **Miodrag Ostojić**, MD, PhD, MSAAS
Assoc. Prof. **Ljiljana Pavlica**, MD, PhD
Prof. **Sava Perović**, MD, PhD, MSAAS
Prof. **Predrag Peško**, MD, PhD, FACS
Col. Assoc. Prof. **Ranko Raičević**, MD, PhD
Col. Prof. **Zoran Roganović**, MD, PhD
Col. Assoc. Prof. **Vojkan Stanić**, MD, PhD
Assist. Prof. **Dara Stefanović**, MD, Ph.D
Assist. Prof. **Vesna Šuljagić**, MD, PhD
Prof. **Ljubomir Todorović**, DDM, PhD
Prof. **Mirjana Životić-Vanović**, MD, PhD

Editorial staff

Sonja Andrić-Krivokuća, MD, MSc; Snežana Janković, MD;
Maja Marković, MD; Dragana Mučibabić, BA,
Aleksandra Gogić, MSc

Technical editor

Milan Perovanović

Proofreading

Ljiljana Nikolić

Technical editing

Svetlana Stajić, Vesna Totić, Jelena Vasilj



Editorial Office: Military Medical Academy, INI; Crnotravska 17, PO Box 33–55, 11040 Belgrade, Serbia. Tel: +381–11–3609–179; +381–11–3609–902, subscription 3608–997; Fax: +381–11–2669–689; E-mail: vmaini1@EUnet.yu and vmaini2@EUnet.yu

Papers published in the *Vojnosanitetski pregled* are indexed in: Science Citation Index Expanded (SCIE) Journal Citation Reports/Science Edition, Index Medicus (Medline), Excerpta Medica (EMBASE), EBSCO, Biomedicina Serbica. Contents are published in *Giornale di Medicina Militare* and *Revista de Medicina Militara*. Reviews of original papers and abstracts of contents are published in *International Review of the Armed Forces Medical Services*.

The Journal is published monthly. Subscription: account with Uprava za javna plaćanja in Belgrade. Giro Account No. 840-941621-02 – VMA (za Vojnosanitetski pregled), PIB 102116082 to the foreign currency account with Narodna banka No: 54104-currency-549. Subscription prices per year: individuals 4 000.00 Din, and institutions 8 000,00 Din in Serbia, and foreign subscribers 150€.



SADRŽAJ / CONTENTS

ORIGINALNI ČLANCI / ORIGINAL ARTICLES

Jefta Kozarski, Svetlana Vesanović, Zoran Bogdanović

Anatomsko-histološke karakteristike vagine rekonstruisane metodom McIndoe

Anatomic and histological characteristics of vagina reconstructed by McIndoe method..... 107

Vesna Ljubić, Nebojša Radunović, Aleksandar Stefanović, Jasna Opalić

Kvantitativna analiza lamelarnih tela u plodovoj vodi kao pokazatelj zrelosti pluća fetusa

Quantitative analysis of lamellar bodies in amniotic fluid as fetal pulmonary maturity indicator..... 113

Ljiljana Ignjatović, Zoran Kovačević, Dragan Jovanović, Neven Vavić, Zoran Paunić, Milorad Radojević, Violeta Rabrenović, Katarina Obrenčević, Mirjana Mijušković, Biljana Drašković-Pavlović, Gordana Ostojić, Bela Balint, Dubravko Bokonjić

Our first experiences in applying an original method for removal of ABO-isoagglutinins in ABO-incompatible kidney recipients

Naša prva iskustva u primeni originalne metode za snižavanje titra ABO izoaglutinina kod ABO inkompatibilnih transplantacija bubrega 117

Stevo Matijević, Zoran Lazić, Zorka Nonković

Klinička efikasnost ampicilina u lečenju akutnih dentogenih apscesa

Clinical efficacy of ampicillin in treatment of acute odontogenic abscess..... 123

Slobodan Radulović, Aleksandra Vuksanović, Dragica Milenković-Petronić, Božo Vavić

Do stone size and impaction influence therapeutic approach to proximal ureteral stones?

Da li veličina i inklavisanost kamena utiču na terapijski pristup kamenu u proksimalnom delu uretera? 129

Darko Zdravković, Dragoljub Bilanović, Tomislav Randelović, Marija Zdravković, Borislav Tošković

Uticaj kašnjenja u postavljanju dijagnoze na preživljavanje kod bolesnika sa kolorektalnim karcinomom

Implication of late diagnosis for survival of patients with colorectal carcinoma 135

Zoran Šegrt, Snežana Đorđević, Vesna Jačević, Vesna Kilibarda, Slavica Vučinić, Jasmina Jović-Stošić, Olivera Potrebić, Nataša Vukčević-Perković

Farmakodinamski i farmakokinetički efekti primene flumazenila i teofilina kod pacova akutno trovanih diazepamom

Pharmacodynamic and pharmacokinetic effects of flumazenil and theophylline application in rats acutely intoxicated by diazepam..... 141

Gordana Cvetković, Goran Plavec, Ilija Tomić, Vesna Ilić, Zvonko Magić, Željka Tatomirović, Dobrivoje Novković, Rade Milić, Vukojica Karličić

Prediktivni značaj mutacija u K-ras onkogenu za hemioterapijske protokole na bazi platine kod bolesnika sa uznapredovalim nesitnoćelijskim karcinomom pluća

K-ras mutation predictive significance in platinum based chemotherapeutic protocols in patients with advanced non-small cell lung cancer 149

Dragana Milutinović, Verica Milovanović, Miroslava Pjević,

Mirjana Martinov-Cvejin, Tomislav Cigić

Assessment of quality of care in acute postoperative pain management

Procena kvaliteta zdravstvene nege u tretmanu akutnog postoperativnog bola 156

KAZUISTIKA / CASE REPORTS

Slađana Živković, Svetlana Pavlović, Slobodan Ćirić

Multiple džinovske ciste bubrega

Multiple gigantic renal cysts 163

Dragan Jovanović, Zoran Kovačević, Tamara Dragović, Marijana Petrović, Jelena Tadić

Atrofija prednjeg režnja hipofize kao kasna komplikacija hemoragijske groznice sa renalnim sindromom

Anterior pituitary lobe atrophy as late complication of hemorrhagic fever with renal syndrome 166

ISTORIJA MEDICINE / HISTORY OF MEDICINE

Milan B. Potić, Ivan M. Ignjatović

Dva veka urološke endoskopije

Two centuries of urologic endoscopy 169

PRIKAZ KNJIGE / BOOK REVIEW 173

UPUTSTVO AUTORIMA / INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS 175



Maksimilijan Nice (Maximilian Carl-Friedrich Nitze, 18.09.1848–23.01.1906), poznati nemački urolog, jedan od utemeljivača urološke endoskopije. U njegovu čast Nemačko udruženje za urologiju dodeljuje medalju sa njegovim likom kao nagradu za poseban doprinos na polju urologije (vidi str. 169–172)

Maximilian Nitze (Maximilian Carl-Friedrich Nitze, September 18, 1848 - February 23, 1906), a known German urologist, one of the founders of urologic endoscopy. Today, in his honor, the Maximilian Nitze Medal is awarded by the German Society of Urology for special contributions in the field of urology (see pages 169–172)



Anatomsko-histološke karakteristike vagine rekonstruisane metodom McIndoe

Anatomic and histological characteristics of vagina reconstructed by McIndoe method

Jefta Kozarski *, Svetlana Vesanović[†], Zoran Bogdanović[‡]

Vojnomedicinska akademija, *Klinika za plastičnu hirurgiju i opekotine, Beograd;

[†]Specijalistička ordinacija plastične i rekonstruktivne hirurgije „Vesanović dr Svetlana“,

Beograd; [‡]Laboratorija za patohistološku i citološku dijagnostiku "Histolab", Beograd

Apstrakt

Uvod/Cilj. Kongenitalna anomalija *aplasia vaginae* poznata je još iz doba stare Grčke. Prema podacima iz literature incidencija ove anomalije je od 1/4 000 do 1/20 000. Lečenje se izvodi neoperativnim i operativnim tehnikama. McIndoe metoda koristi autotransplantat kože tipa Thiersch za rekonstrukciju. Cilj ovog rada bio je da se utvrde anatomsko-histološke karakteristike vagine rekonstruisane metodom McIndoe u okviru sindroma Mayer Küster-Rokitansky Hauser (MKRH) i uporede sa karakteristikama normalne vagine. **Metode.** Studijom je obuhvaćena 21 bolesnica, starosti 18 god. i više sa kongenitalnom anomalijom *aplasia vaginae* u okviru sindroma Mayer Küster-Rokitansky Hauser kod kojih je učinjena rekonstrukcija vagine metodom McIndoe od strane plastičnog hirurga (grupa R). Ispitivanje je obuhvatilo retrospektivni pregled podataka iz istorija bolesti, objektivni i ginekološki pregled uz merenje dubine i širine vagine, histološki pregled i citološku analizu nativnih preparata vaginalnog brisa (Papanicolaou). Uporedo je ispitivana i 21 osoba ženskog pola starosti 18 godina i više sa normalnom vaginom (grupa K). Sve ispitanice, osim u grupe R i K, svrstane su prema starosti u podgrupe do 30 godina (1R i 1K), od 30 do 50 godina (2R i 2K) i preko 50 godina (3R i 3K). Za statističku obradu podataka korišćeni su Studentov *t* test i Mann-Witney *U* test. Vrednost $p < 0,05$ smatrana je statistički značajnom. **Rezultati.** Pokazano je da postoje razlike u dubini i širini rekonstruisane vagine, ali se one nalaze u opsegu normalnih vrednosti. Utvrđene su citološke razlike između rekonstruisane i normalne vagine. **Zaključak.** Rekonstruisana vagina je u pogledu dubine i širine manja od normalne, ali se nalazi u opsegu normalnih vrednosti. Autotransplantat kože koji je korišćen za rekonstrukciju zadržava svoje citološke tj. histološke, a time i biološke karakteristike.

Ključne reči:

anomalije, multiple; vagina; amenoreja; hirurgija, rekonstruktivna, procedure; lečenje, ishod.

Abstract

Background/Aim. Congenital absence of vagina is known from ancient times of Greek. According to the literature data, incidence is 1/4 000 to 1/20 000. Treatment of this anomaly includes non-operative and operative procedures. McIndoe procedure uses split skin graft by Thiersch. The aim of this study was to establish anatomic and histological characteristics of vagina reconstructed by McIndoe method in Mayer Küster-Rokitansky Hauser (MKRH) syndrome and compare them with normal vagina. **Methods.** The study included 21 patients of 18 and more years with congenital anomaly known as *aplasia vaginae* within the Mayer Küster-Rokitansky Hauser syndrome. The patients were operated on by the plastic surgeon using the McIndoe method. The study was a retrospective review of the data from the history of the disease, objective and gynecological examination and cytological analysis of native preparations of vaginal stain (Papanicolaou). Comparatively, 21 females of 18 and more years with normal vaginas were also studied. All the subjects were divided into the groups R (reconstructed) and C (control) and the subgroups according to age up to 30 years (1 R, 1C), from 30 to 50 (2R, 2C), and over 50 (3R, 3C). Statistical data processing was performed by using the Student's *t*-test and Mann-Witney *U*-test. A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant. **Results.** The results show that there are differences in the depth and the width of reconstructed vagina, but the obtained values are still in the range of normal ones. Cytological differences between a reconstructed and the normal vagina were found. **Conclusion.** A reconstructed vagina is smaller than the normal one regarding depth and width, but within the range of normal values. A split skin graft used in the reconstruction, keeps its own cytological, i.e. histological and, so, biological characteristics.

Key words:

abnormalities, multiple; vagina; amenorrhea; reconstructive surgical procedures; treatment outcome.

Uvod

Sindrom Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) predstavlja malformaciju ženskog genitalnog trakta koja je poznata još od doba Hipokrata¹. Prvi put opisao ga je Realdu Columbus 1572.² Incidencija ove anomalije u SAD je 1 na 4 000 ili učestalost od 1/5 000 do 1/20 000 novorođenčadi ženskog pola u Indiji³. Sindrom MRKH tretira se kao primarna genitalna malformacija, a kod 32% bolesnica kao kompleksan sindrom u kome su prisutne i malformacije drugih grupa organa^{4,5}. Etiologija nastanka ovog sindroma nije poznata. Sindrom se razvija tokom embriogeneze, između četvrte i dvanaeste nedelje trudnoće i nastaje kao rezultat poremećaja razvoja Milerovih kanala. Sindrom obuhvata aplaziju vagine sa normalnom vulvom i sekundarnim seksualnim karakteristikama, aplaziju ili hipoplaziju uterusa, hipoplaziju Falopijevih tuba, normalne ovarijume i kariotip 46XX. Može biti udružen sa anomalijom urogenitalnog trakta i/ili skeletnog sistema. Fuzioni poremećaj Milerovih kanala i malformacije urogenitalnog sinusa učestvuju u nastanku ovog složenog sindroma⁶. Pored navedenih anomalija, postoji mogućnost prisustva anomalija kardiovaskularnog sistema i malformacija slušnog aparata⁷⁻¹¹. Najčešće su ovarijumi anatomski i funkcionalno normalni, te su moguća oboljenja zavisna od estrogena kao endometrijoza, a opisani su slučajevi i ovarijalnih neoplazmi^{4,12}. Sindrom MRKH najčešći je razlog primarne amenoreje (90%)⁴.

Opisane su mnogobrojne neoperativne i operativne procedure za rekonstrukciju vagine (tehnike spontane reepitelizacije područja u predelu rektovezikalnog septuma nakon tuge preparacije, autotransplantati kože – parcijalne ili pune debljine, lokalni režnjevi i delovi creva)^{1,13}. I pored toga, još uvek ne postoji idealna hirurška procedura za rešavanje ovog problema¹⁴.

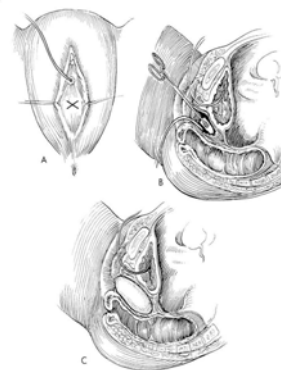
Rekonstrukciju vagine upotrebom autotransplantata kože parcijalne debljine, prvi put izveo je Abbe 1898. McIndoe tokom prve polovine XX veka, prikazao je seriju od 63 operacije za 12 godina. Danas mnogi smatraju da operaciju treba nazivati Abbe-McIndoe, jer Abbe je prvi uočio mogućnost upotrebe autotransplantata parcijalne debljine kože za rekonstrukciju vagine, dok je McIndoe unapredio i popularizovao ovu tehniku¹. Buss i Lee objavili su 1989. seriju od 50 bolesnica kod kojih su rekonstruisali vaginu McIndoe procedurom koje su pratili tokom perioda od 6,5 godina i zaključili da je ova rekonstrukcija vagine kod bolesnica sa MKHR sindromom metoda izbora, jer daje dobar funkcionalni rezultat sa malo postoperativnih komplikacija¹⁵. Ovu operativnu proceduru izvode plastični hirurzi, ginekolozi, dečiji hirurzi i urolozi.

Anatomski, vagina predstavlja sluzokožno-mišićnu cev dužine oko 8–10 cm, koja ima dva zida (prednji i zadnji), dve bočne ivice, gornji (forniks) i donji kraj (vestibulum). U fornixu gradi kružni špag oko intravaginalnog dela grlića materice, a donji kraj formira vestibulum vagine, koji pripada spoljnim polnim organima. Zid vagine ima tri sloja. Spoljašni omotač sastavljen je od elastičnih vlakana, veziva i pojedinačnih glatkih mišićnih vlakana. Tunika muskularis sačinjena je od longitudinalnog i cirkularnog sloja mišićnih vlakana, a tunika mukoza najvećim delom je naborana slu-

zokoža (*rugae vaginales*) pločasto slojevitog epitela bez orožavanja i lamine proprie koja pokazuje visoke papile i ima brojne limfne čvorove (*folliculi lymphatici vaginales*). Ne sadrži žlezde, a poreklo sluzi koja oblaže zidove vagine je od žlezda grlića materice i od transudata okolnog tkiva nakon nadražaja^{16,17}.

Bolesnice sa sindromom MKHR javljaju se lekaru zbog primarne amenoreje. Potrebno je učiniti dijagnostičku laparoskopiju, proveru pola bolesnice (genotip XX), magnetnu rezonanciju i standardne internističke analize za operaciju u opštoj anesteziji. Pored aplazije vagine može biti prisutna normalno razvijena materica koja zahteva prezervaciju¹⁸⁻²². Nekoliko dana pre operacije sprovodi se dijetetsko-higijenski režim ishrane i primena klizmi radi potpunog prežnjenja creva.

U opštoj anesteziji, bolesnici se pre operacije plasira Foley-ev urinarni kateter radi identifikacije uretre. Velike usne fiksiraju se pojedinačnim šavovima za okolni pudendalni region radi nesmetanog pristupa introitusu vagine. Učini se incizija sluzokože u obliku krstića (+), slova X ili H u regionu između uretralnog i analnog otvora na mestu nepostojeće vagine. Na taj način pristupi se prostoru između uretre i mokraćne bešike sa jedne strane i rektuma sa druge, gde se tupom preparacijom napravi kavum za buduću vaginu. Nakon pripreme kavuma neovagine, sa desne ili leve natkolennice uzima se kožni autotransplantat parcijalne debljine tipa Thiersch. Transplantat kože postavlja se na modlu obloženu poliuretanskim sunderom, ranjavom površinom prema spolja i plasira u već pripljumljen kavum (slika 1). Modla se fiksira kožnim pojedinačnim šavovima iznad i ispod vrata modle velikim usnama.



Sl. 1 – Shema McIndoe metode

Prvog dana posle operacije radi se prvi kontrolni zavoj davajućeg regiona, a sedmog postoperativnog dana prvi kontrolni zavoj recipijentnog regiona, odnosno rekonstruisane vagine. Nakon uklanjanja spoljašnjih šavova sa velikih usana oko vrata modle, pažljivom preparacijom odvaja se modla od poliuretanskog sundera. Poliuretanski sunder uklanja se uz stalno ispiranje rastvorom deterdženta (Savlon) i fiziološkim rastvorom. Zatim, utvrđuje se procenat prihvatnosti postavljenog transplantata i očišćena modla se vraća u novoformiranu neovaginu. Ukoliko je transplantat prihvaćen više od 85%, bolesnici se daju uputstva za ličnu higijenu kod

kuće i zakazuje prva kontrola za mesec dana. Naredne kontrole vrše se do potpune epitelizacije neovagine. Kada transplantat bude u potpunosti prihvaćen, dopušta se stupanje u seksualne odnose, što može biti već za mesec dana od operacije. Modla se nosi danju i noću tokom 3–6 meseci. Tokom ovog perioda bolesnica se kontroliše jednom mesečno radi uvida u izgled i adaptaciju kožnog transplantata (slika 2), kao i radi opservacije davajućeg regiona natkolenice. Uobičajeno postoperativno praćenje je od 1 do 2 godine. Postojeća saz-



Sl. 2 – Izgled vagine posle rekonstrukcije

nanja ukazuju da to nije adekvatan vremenski period zbog mogućnosti pojave tumoroznih tvorevina na rekonstruisanoj vagini, posle više godina, deceniju ili dve nakon izvođenja procedure²³⁻²⁸. Najgoru komplikaciju McIndoe metode, pojavu planocelularnog karcinoma, Hopkins i Morley²⁹ 1987. objavili su kao deveti slučaj planocelularnog karcinoma kod bolesnica sa MKHR kojima je rekonstruisana vagina sa autotransplantatom kože.

Ciljevi ovog istraživanja bili su: utvrđivanje anatomskih karakteristika (dubine i širine) rekonstruisane vagine, upoređivanje ustanovljenih anatomskih karakteristika rekonstruisane vagine sa anatomskim karakteristikama normalne vagine, utvrđivanje histoloških (citoloških) karakteristika rekonstruisane vagine, kao i upoređivanje ustanovljenih histoloških (citoloških) karakteristika rekonstruisane vagine sa istim karakteristikama normalne vagine.

Metode

Ova studija uključila je 21 osobu ženskog pola, starosti 18 godina i više, sa kongenitalnom anomalijom *aplasia vaginae* u okviru sindroma Mayer Küster-Rokitansky Hauser (grupa R), kod kojih je plastični hirurg učinio rekonstrukciju vagine metodom McIndoe (grupa R). Kod ove grupe ispitanica izvršena je rekonstrukcija vagine šest i više meseci meseci ranije.

Ispitivanje je obuhvatalo retrospektivni pregled podataka u istorijama bolesti ispitanica, objektivni i ginekološki pregled ispitanica, sa merenjem dubine i širine vagine i histološki pregled, tj. citološku analizu nativnih preparata vaginalnog brisa bojenog prema Papanikolau od strane patologa.

Uporedno ispitanica je 21 osoba ženskog pola starosti 18 godina i više sa normalnom vaginom (grupa K).

Sve ispitanice, pored grupa R i K, svrstane su prema starosti u podgrupe do 30 godina (1R i 1K), od 30 do 50 godina (2R i 2K), i preko 50 godina (3R i 3K).

Dubina vagine merena je graduisanom epruvetom, a dobijene vrednosti izražavane su u santimetrima (cm) (slika 3).



Sl. 3 – Graduisana epruveta

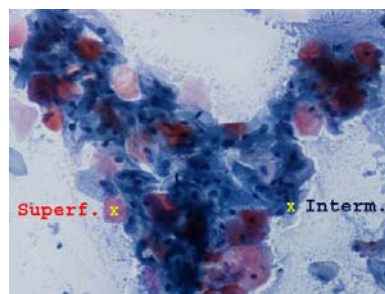
Širina vagine određivana je primenom modli različitog prečnika (slika 4). Merenje prečnika modli vršeno je nonijusom, a dobijene vrednosti izražavane su u cm.



Sl. 4 – Modle

Podaci o dužini nošenja modle dobijeni su iz anamneze. Rezultati su izražavani u mesecima.

Citološkom analizom nativnog preparata bojenom tehnikom prema Papanikolau utvrđen je odnos prisutnih ćelija superficijalnog i intermedijarnog sloja sluzokože vagine (slika 5). Rezultati su prikazani brojevima od 1 do 3. Brojem 1 označen je odnos superficijalnih/intermedijalnih ćelija 70/30, brojem 2 odnos 80/20 i brojem 3 odnos 90/10. Posmatranje je vršeno svetlosnim mikroskopom marke Leica DLS pod uvećanjem od 100 do 500 puta od strane istog patologa u Laboratoriji za patohistološku i citološku dijagnostiku "Histolab".



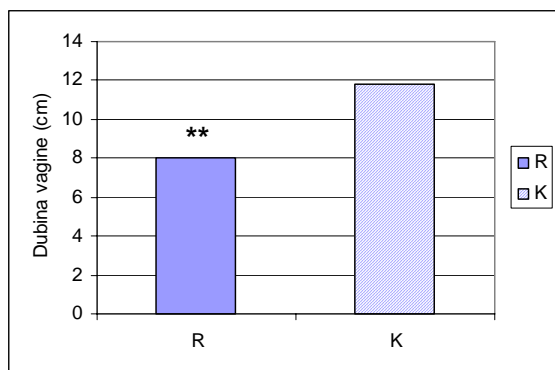
Sl. 5 – Odnos superficijalnih/intermedijalnih ćelija

U okviru statističke obrade podataka korišćeni su Studentov *t* test i Mann Whitney *u* test. Vrednost $p < 0,05$ smatrana je statistički značajnom.

Rezultati

Nije nađena statistički značajna razlika između starosti ispitanica sa rekonstruisanom vaginom (grupa R) i ispitanica sa normalnom vaginom (grupa K) ($p > 0,05$), kao i njihovih podgrupa ($p > 0,05$).

Dubina rekonstruisane vagine visoko je statistički značajno manja od normalne vagine ($p < 0,01$). Prosečna srednja vrednost (medijana) dubine rekonstruisane vagine iznosi 8 cm (minimalna vrednost je 6 cm, a maksimalna vrednost je 11 cm). Medijana dubine normalne vagine iznosi 11,8 cm (minimalna vrednost je 7,5 cm, a maksimalna vrednost je 14,2 cm) (slika 6).



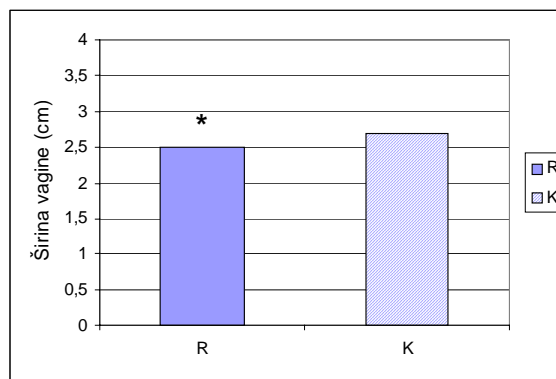
Sl. 6 – Dubina rekonstruisane (R) i normalne (K) vagine kod ispitanica svih starosnih grupa
** $p < 0,01$

Dubina rekonstruisane vagine statistički je značajno ($p < 0,05$) manja kod ispitanica uzrasta do 30 godina (1R vs 1K), a visoko statistički značajno ($p < 0,01$) manja kod ispitanica uzrasta između 30 i 50 godina (2R vs 2K), u odnosu na normalnu vaginu. Nema statistički značajne razlike ($p > 0,05$) između operisanih i kontrolnih ispitanica starijih od 50 godina (3R vs 3K) (tabela 1).

Širina rekonstruisane vagine statistički je značajno manja od normalne vagine ($p < 0,05$). Prosečna srednja vrednost (medijana) širine rekonstruisane vagine iznosi 2,5 cm (minimalna vrednost je 2,15 cm, a maksimalna vrednost je 3 cm). Medijana širine normalne vagine iznosi 2,7 cm (minimalna vrednost je 2,5 cm, a maksimalna vrednost je 3,5 cm) (slika 7).

Širina rekonstruisane vagine visoko je statistički značajno manja kod ispitanica uzrasta do 30 godina (1R vs 1K)

($p < 0,01$). Nije bilo statistički značajne razlike u širini vagine kod svih ispitanica starijih od 30 godina, (2R vs 2K) i (3R vs 3K) (tabela 1).



Sl. 7 – Širina rekonstruisane (R) i normalne (K) vagine kod ispitanica svih starosnih grupa
* $p < 0,05$

Ispitanice sa rekonstruisanom vaginom nosile su modlu najkraće četiri, a najduže 72 meseca. Kod ispitanica starosti do 30 godina srednja vrednost (medijana) nošenja modle iznosila je 24, minimalna šest, a maksimalna 72 meseca. Kod ispitanica starosti od 30 do 50 godina srednja vrednost (medijana) nošenja modle iznosila je šest, minimalna četiri, a maksimalna 12 meseci. Kod ispitanica starijih od 50 godina srednja vrednost (medijana) nošenja modle iznosila je šest, minimalna šest, a maksimalna 9 meseci.

Poređenjem starosnih podgrupa, ispitanice sa rekonstruisanom vaginom starosti do 30 godina statistički su značajno duže nosile modlu od ispitanica uzrasta od 30 do 50 godina ($p < 0,05$), kao i ispitanica starijih od 50 godina ($p < 0,05$). Poređenjem ispitanica druge i treće starosne podgrupe nije postojala statistički značajna razlika u dužini nošenja modle.

Kod ispitanica sa rekonstruisanom vaginom odnos superficijalnih i intermedijarnih ćelija u nativnom preparatu vaginalnog brisa bio je 70/30 kod 33,33 %, 80/20 kod 57,14% i 90/10 kod 9,53% slučajeva.

Kod ispitanica sa normalnom vaginom odnos superficijalnih i intermedijarnih ćelija u nativnom preparatu vaginalnog brisa bio je 70/30 kod 90,50%, 80/20 kod 9,50% i 90/10 kod 0% slučajeva.

Odnos superficijalnih i intermedijarnih ćelija statistički značajno je veći kod rekonstruisanih vagina u odnosu na normalne ($p < 0,01$).

Tabela 1

Dubina i širina vagine ispitanica sa rekonstruisanom (grupa R) i normalnom (grupa K) vaginom po starosnim podgrupama

Starost (god)	Ispitanice		Dubina vagine (cm)			Širina vagine (cm)		
	broj	podgrupa	$\bar{x} \pm SE$	MED (min-max)	p	$\bar{x} \pm SE$	MED (min-max)	p
<30	7	1R	9,143 \pm 0,713	9 (6,5-11)	0,016	2,557 \pm 0,092	2,5 (3,3-2,2)	0,004
	7	1K	11,314 \pm 0,340	11,1 (10-12,6)		3,186 \pm 0,112	2,7 (3,0-3,5)	
$\geq 30 - < 50$	9	2R	7,756 \pm 0,169	8 (6,6-8,3)	0,000	2,756 \pm 0,073	2,8 (2,7-2,5)	0,786
	9	2K	12,633 \pm 0,284	12,6 (11,4-14,3)		2,756 \pm 0,075	2,5 (3,0-3,3)	
> 50	5	3R	7,38 \pm 0,543	7,5 (6-9)	0,335	2,47 \pm 0,089	2,5 (2,5-2,2)	0,700
	5	3K	8,9 \pm 1,155	8 (7,5-13,5)		2,52 \pm 0,020	2,5 (2,7-2,6)	

MED = srednja vrednost po položaju (medijana)

MIN = minimalna vrednost

MAX = maksimalna vrednost

Diskusija

Rekonstrukcija vagine operativnom procedurom McIndoe primenjuje se više od sto godina u kliničkoj praksi. Određivanje karakteristika rekonstruisane vagine, međutim, ovom i drugim operativnim tehnikama, kao i poređenje sa karakteristikama normalne vagine, prema dostupnim podacima iz stručne literature nije ispitivano detaljno. Dosadašnja istraživanja bazirana su u najvećoj meri na prikazima bolesnica, kao i proučavanju anomalija vagine, pregledu upotrebe starih i novih metoda, istorijskim prikazima iskustva i razvoja rekonstruktivnih procedura u dugogodišnjem praćenju različitih metoda sa naglaskom na psihoseksualni status ispitanica, utvrđivanju postojanja drugih udruženih anomalija u okviru ovog sindroma, kao i utvrđivanju kasne pojave tumorskih formacija^{6-11, 13, 23-29, 30-37}.

U ovoj studiji pokazano je da je dubina rekonstruisane vagine značajno manja od dubine normalne vagine. Mobus i sar.⁶ ispitivali su dubinu vagine rekonstruisane primenom više različitih tehnika. Dobijene podatke poredili su sa anatomskim podacima iz literature. Iako nisu izdvajali McIndoe tehniku od ostalih, pokazali su da se može javiti značajna razlika u dubini rekonstruisane vagine u poređenju sa normalnom.

Ispitivanja u okviru ovog istraživanja pokazala su da je srednja vrednost (medijana) dubine rekonstruisane vagine 8 cm, dok je kod normalne vagine 11,8 cm, za ispitanice svih uzrasta. Postoji visoko statistički značajna razlika u dubini rekonstruisane i normalne vagine između ispitanica svih uzrasta. Dobijeni rezultati u saglasnosti su sa stavovima Mobusa i sar.⁶

Značajna razlika u dubini vagine postojala je kod svih ispitanica starosti do 50 godina (prva i druga starosna podgrupa). Nasuprot tome, kod ispitanica starijih od 50 godina (treća starosna podgrupa) gubi se razlika. Podatak da nema razlike u dubini rekonstruisane vagine i normalne vagine kod najstarijih ispitanica može se objasniti činjenicom da opada seksualna aktivnost sa godinama, a time i mogućnost postojanja razlika.

Prema podacima iz literature, dimenzije normalne vagine su od 8 do 10 cm, odnosno 4,08 do 9,5 cm^{16, 38}. Dobijene vrednosti dubine rekonstruisane vagine u ovoj studiji u opsegu su gore navedenih dimenzija normalne vagine.

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da kada se obuhvate sve ispitanice, vagina rekonstruisana McIndoe tehnikom značajno je manje širine u odnosu na normalnu. Slično ovom nalazu, i rezultati drugih autora pokazuju da širina introitusa rekonstruisane vagine može biti značajno manja u odnosu na normalnu⁶. Za razliku od naših, u tim istraživanjima prikazani rezultati dobijeni su primenom više različitih operativnih tehnika i bez posebnog izdvajanja McIndoe tehnike.

Značajna razlika u širini vagine postojala je kod najmlađih ispitanica. Razlike u širini vagine, međutim, nije bilo kod ispitanica srednje starosti (od 30 do 50 godina) i najsta-

rije starosne podgrupe (preko 50 godina). Ovo bi se moglo objasniti podatkom da ispitanice sa rekonstruisanom vaginom, neposredno posle operativnog zahvata, a i duže, odugovlače sa nalaženjem partnera i stupanjem u seksualne odnose, iako se to od njih zahteva. Kada period privikavanja na novonastalu situaciju prođe, njihova seksualna aktivnost je dobra i zbog toga kod ispitanica starijih od 30 godina nema razlike u širini vagine.

Potrebno je reći da na dimenzije (dubinu i širinu) rekonstruisane vagine utiče više faktora. Pored seksualne aktivnosti, jedan od važnih faktora u održanju adekvatnih dimenzija je i dužina nošenja modle. Važno je permanentno nositi modlu naročito u prvih 6 meseci posle operacije kada su bolesnice manje seksualno aktivne, a kada je retrakcija kožnog transplantata najveća. Iz dobijenih podataka vidi se da je svaka bolesnica poštovala preporuku nošenja modle 3 do 6 meseci posle operacije, odnosno do momenta pronalazanja partnera. One bolesnice koje nisu bile seksualno aktivne nosile su modlu i duže, čime je bilo omogućeno da se zadrže dimenzije vagine dobijene rekonstrukcijom.

Mikroskopski – citološki pregledi nativnih preparata vaginalnog brisa u ovom istraživanju, bili su usmereni na ispitivanje odnosa ćelija superficijalnog i intermedijarnog sloja, kod ispitanica sa rekonstruisanom vaginom i kod ispitanica sa normalnom vaginom svih starosnih grupa. Dobijeni rezultati pokazali su da su ćelije superficijalnog sloja značajno više prisustne kod ispitanica sa rekonstruisanom vaginom. Ovo govori da tkivo primenjeno u rekonstrukciji vagine (autotransplantat kože) i pored promene sredine (spoljašnja, zamenjena vlažnom i toplom unutrašnjom), zadržava citološke karakteristike kože. Rezultati dobijeni u ovom istraživanju u skladu su sa rezultatima Barberini i sar.³⁹. Oni su svetlosnom i elektronskom mikroskopijom ispitivali materijal biopsije uzet sa rekonstruisane vagine kod tri ispitanice (kožni transplantat uzet je sa glutealnog regiona). Svetlosnom mikroskopijom potvrdili su sličnost tkiva rekonstruisane vagine sa normalnim epidermisom i dermisom, a elektronskom mikroskopijom utvrdili su da nema statistički značajne razlike u stepenu keratinizacije izmeštenog tkiva kože u odnosu na normalnu kožu. Ovim je potvrđeno da autotransplantat kože korišćen u rekonstrukciji vagine zadržava svoje citološke, odnosno histološke, a time i biološke karakteristike.

Zaključak

Vrednosti dubine i širine vagine rekonstruisane metodom McIndoe nalaze se u opsegu dimenzija normalne vagine i pored toga što je u ovom istraživanju pokazano da je rekonstruisana vagina manje dubine i širine u odnosu na normalnu. Takođe, pokazane su citološke razlike između rekonstruisane i normalne vagine, a dobijeni rezultati potvrđuju da autotransplantat kože korišćen u rekonstrukciji vagine zadržava svoje citološke, odnosno histološke, a time i svoje biološke karakteristike.

L I T E R A T U R A

1. *Converse JM*. Reconstructive plastic surgery. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1977.
2. *McCarthy JG*. Plastic Surgery. 1st ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1990.

3. Kumar A, Manou SJ. Palmar dermatoglyphics as diagnostic tool: Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2003; 69(2): 95–6.
4. Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, Smets M, Donnez J. Pelvic mass in a woman with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81(1): 203–4.
5. Oppelt P, Renner SP, Kellermann A, Brucker S, Hauser GA, Ludwig KS, et al. Clinical aspects of Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome: recommendations for clinical diagnosis and staging. *Hum Reprod* 2006; 21(3): 792–7.
6. Möbus VJ, Kortenborn K, Kreienberg R, Friedberg V. Long-term results after operative correction of vaginal aplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175(3 Pt 1): 617–24.
7. Pittock ST, Babović-Vuksanović D, Lteif A. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser anomaly and its associated malformations. *Am J Med Genet A* 2005; 135(3): 314–6.
8. Kula S, Saygılı A, Tunaoglu FS, Olguntürk R. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome associated with pulmonary stenosis. *Acta Paediatr* 2004; 93(4): 570–2.
9. Linke F, Kraemer W, Ansoyge M, Brzeźńska R, Berger S. Right esophageal lung in a preterm child with VACTERL association and Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Pediatr Surg Int* 2005; 21(4): 285–8.
10. Ulrich U, Schrickel J, Dorn C, Richter O, Lewalter T, Lüderitz B. Mayer-von Rokitansky-Küster-Hauser syndrome in association with a hitherto undescribed variant of the Holt-Oram syndrome with an aorto-pulmonary window. *Hum Reprod* 2004; 19(5): 1201–3.
11. Morcel K, Camborieu L. Programme de Recherches sur les Aplasies Müllériennes. In *Guerrier D*. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2007; 2:13.
12. Galajdova L, Verbeken K, Dbont M. Recurrent multiple leiomyomata in a patient with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *J Obstet Gynaecol* 2003; 23(4): 448–9.
13. Dobroński P, Czapliski M, Borkowski A. History of vaginal reconstruction. *Ginekol Pol* 2004; 75(1): 65–75. (Polish)
14. Graziano K, Teitelbaum DH, Hirschl RB, Coran AG. Vaginal reconstruction for ambiguous genitalia and congenital absence of the vagina: a 27-year experience. *J Pediatr Surg* 2002; 37(7): 955–60.
15. Buss JG, Lee RA. McIndoe procedure for vaginal agenesis: results and complications. *Mayo Clin Proc* 1989; 64(7): 758–61.
16. Šjinić MB. Systemic and topographic anatomy, abdomen and pelvis. Belgrade: Zavod za izdavanje udžbenika; 1979. (Serbian)
17. Drobnjak P, Berić B, Šulović V. Gynecology. Belgrade-Zagreb: Medicinska knjiga; 1988. (Serbian)
18. Yollin E, Jonard S, Reyss AC, Cortet-Rudelli C, Devailly D. Delayed puberty with extreme uterine hypotrophy: do not conclude too early to the absence of the uterus. *Gynecol Obstet Fertil* 2006; 34(11): 1029–35. (French)
19. Sparac V, Stilimović K, Ilijaš M, Barcot Z, Kupesic S, Prka M, et al. Vaginal aplasia associated with anatomically and functionally normal uterus. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; 115(1): 110–2.
20. Khen-Dunlop N, Lortat-Jacob S, Thibaud E, Clément-Zizga M, Lyonnet S, Niboul-Fekete C. Rokitansky syndrome: clinical experience and results of sigmoid vaginoplasty in 23 young girls. *J Urol* 2007; 177(3): 1107–11.
21. Pellicano M, Penner I, Connola D, Cascone D, Sorrentino V, Gargano V, et al. Voluminous ectopic polycystic ovaries in Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Minerva Ginecol* 2005; 57(6): 655–8. (Italian)
22. Feng F, Liu ZF, Pan WD, Meng W, Jin Y, Jin ZY. Magnetic resonance imaging of congenital vaginal anomalies. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 2005; 27(1): 103–7. (Chinese)
23. Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, Smets M, Donnez J. Pelvic mass in a woman with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81(1): 203–4.
24. Liebrich C, Reinecke-Lüthge A, Kühnle H, Petry KU. Squamous cell carcinoma in neovagina at Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Zentralbl Gynakol* 2006; 128(5): 271–4. (German)
25. Steiner E, Woernle F, Kubn W, Beckmann K, Schmidt M, Pilch H, et al. Carcinoma of the neovagina: case report and review of the literature. *Gynecol Oncol* 2002; 84(1): 171–5.
26. Edmonds DK. Multiple fibroids in a postmenopausal woman with Mayer Rokitansky Küster Hauser syndrome. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2003; 16(2): 65–6.
27. Enatsu A, Harada T, Yoshida S, Inabe T, Terakawa N. Adenomyosis in a patient with the Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Fertil Steril* 2000; 73(4): 862–3.
28. Ursic-Vrscaj M, Lindtner J, Lamovec J, Novak J. Adenocarcinoma in a sigmoid neovagina 22 years after Wertheim-Meigs operation. Case report. *Eur J Gynaecol Oncol* 1994; 15(1): 24–8.
29. Hopkins MP, Morley GW. Squamous cell carcinoma of the neovagina. *Obstet Gynecol* 1987; 69(3 Pt 2): 525–7.
30. Powell DM, Newman KD, Randolph J. A proposed classification of vaginal anomalies and their surgical correction. *J Pediatr Surg* 1995; 30(2): 271–5.
31. Lappöhn RE. Congenital absence of the vagina-results of conservative treatment. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1995; 59(2): 183–6.
32. Urbanowicz W, Starzyk J, Sulislawski J. Laparoscopic vaginal reconstruction using a sigmoid colon segment: a preliminary report. *J Urol* 2004; 171(6 Pt 2): 2632–5.
33. O'Connor JL, DeMarco RT, Pope JC 4th, Adams MC, Brock JW 3rd. Bowel vaginoplasty in children: a retrospective review. *J Pediatr Surg* 2004; 39(8): 1205–8.
34. Motoyama S, Laoag-Fernandez JB, Mochizuki S, Yamabe S, Maruo T. Vaginoplasty with Interceed absorbable adhesion barrier for complete squamous epithelialization in vaginal agenesis. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188(5): 1260–4.
35. Wierrani F, Grünberger W. Vaginoplasty using deepithelialized vulvar transposition flaps: the Grünberger method. *J Am Coll Surg* 2003; 196(1): 159–62.
36. Creatsas G, Deligeoroglou E, Makrakis E, Kontoravdis A, Papadimitriou L. Creation of a neovagina following Williams vaginoplasty and the Creatsas modification in 111 patients with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Fertil Steril* 2001; 76(5): 1036–40.
37. Karim RB, Hage JJ, Dekker JJ, Schoot CM. Evolution of the methods of neovaginoplasty for vaginal aplasia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1995; 58(1): 19–27.
38. Barnhart KT, Izquierdo A, Pretorius ES, Sbera DM, Shabbout M, Shannik A. Baseline dimensions of the human vagina. *Hum Reprod* 2006; 21(6): 1618–22.
39. Barberini F, Viszga E, Montanino M, Marcoccia S, Montanino G. Vaginal reconstruction by skin grafts: a scanning electron microscopic evaluation. *Ann Anat* 1992; 174(6): 517–22.

Rad primljen 9. V 2008. god.



Kvantitativna analiza lamelarnih tela u plodovoj vodi kao pokazatelj zrelosti pluća fetusa

Quantitative analysis of lamellar bodies in amniotic fluid as fetal pulmonary maturity indicator

Vesna Ljubić, Nebojša Radunović, Aleksandar Stefanović, Jasna Opalić

Klinički centar Srbije, Institut za ginekologiju i akušerstvo, Beograd

Apstrakt

Uvod/Cilj. Mada su lamelarna tela tokom poslednjih godina u žiži interesovanja, publikovani rezultati utvrđivanja zrelosti pluća fetusa na osnovu njihove koncentracije u plodovoj vodi kontroverzni su. Cilj ispitivanja bio je da se utvrdi značaj lamelarnih tela i odnosa lecitin/sfingomijelin (L/S) u plodovoj vodi za procenu zrelosti pluća fetusa. **Metode.** Prospektivnom dvogodišnjom studijom obuhvaćene su 102 ispitanice, starosti 17. do 44. godine, kojima su, u cilju provere efikasnosti primenjene terapije za postizanje arteficialne maturacije pluća fetusa, u plodovoj vodi određivane koncentracije lamelarnih tela. Kao uporedni test, korišćen je *shake* test za određivanje kvantitativnog odnosa L/S. Za utvrđivanje stadijuma rasta i razvoja ploda praćeni su biparijetalni dijametar, obim abdomena, dužina femura, ponderalni indeks na rođenju i telesna masa. **Rezultati.** Od 102 urađene amniocenteze u periodu od 26. do 40. nedelje gestacije, zbog 32 nepoznata neonatalna ishoda analizirano je samo 70 rezultata. Biparijetalni dijametar iznosio je 224–362 mm, dužina femura 56–78 mm, ponderalni indeks 1,22–2,84, telesna masa ploda 1300–4350 g. Nađena je značajna povezanost starosti gestacija i koncentracije lamelarnih tela ($R = 0,396398$, $p < 0,01$), kao i starosti gestacije i odnosa L/S ($R = 0,691297$, $p < 0,01$). Takođe, utvrđena je i značajna korelacija između koncentracije lamelarnih tela i odnosa L/S ($R = 0,493609$, $p < 0,01$). **Zaključak.** Utvrđivanje vrednosti koncentracija lamelarnih tela pouzdan je metod za potvrdu zrelosti pluća fetusa.

Ključne reči:

trudnoća, razvoj fetusa; fetus, zrelost organa; pluća; amniocenteza; lecitini; studije, prospektivne.

Abstract

Background/Aim. Although lamellar bodies have been the center of interest over the last years, the published results of fetal pulmonary maturity determination according to their concentration in amniotic fluid are controversial. The aim of this study was to determine the significance of lamellar bodies, as well as the ratio lecithin/sphingomyelin (L/S) in amniotic fluid for the assessment of fetal pulmonary maturity. **Methods.** This prospective 2-year study included 102 female examinees, ranging from 17 to 44 years of age, in whom lamellar bodies concentrations in amniotic fluid were determined to check the efficacy of the applied therapy for obtaining artificial fetal pulmonary maturity. The shake test was applied as a comparative test for determining a quantitative L/S ratio. To determine a fetus maturity and development stage we followed up biparietal diameter, abdominal circumference, femur length, ponderal index at birth and body mass. **Results.** Out of a total of 102 amniocenteses within a period from 26th to 40th gestation week only 70 results were considered due to 32 unknown neonatal outcomes. Biparietal diameter was 224–362 mm, femur length 56–78 mm, ponderal index 1.22–2.84, fetus body mass 1300–4350 g. There was found a significant relation between gestation age and lamellar bodies concentration ($R = 0.396398$, $p < 0.01$), as well as between gestation age and the ratio L/S ($R = 0.691297$, $p < 0.01$). Also, there was a significant correlation of lamellar bodies concentration to the ratio L/S determined ($R = 0.493609$, $p < 0.01$). **Conclusion.** Determination of lamellar bodies concentration values is a reliable method to confirm fetal pulmonary maturity.

Key words:

gestational age; fetal organ maturity; lung; amniocentesis; lecithins; prospective studies.

Uvod

Nezrelost pluća sa pojavom respiratornog distress sindroma i prematuritet još uvek predstavljaju vodeći uzrok ranog perinatalnog morbiditeta i mortaliteta. Još krajem 70-tih

godina prošlog veka bilo je pokušaja da se problem nezrelosti fetalnih pluća uspešno predupredi davanjem kortikosteroidea antenatalno¹. Razumljivo je da tačno i brzo određivanje stepena maturacije fetalnih pluća u takvim pristupima ima izuzetan značaj. Kvalitativno i kvantitativno određivanje

fosfolipida u plodovoj vodi predstavlja dobro poznati test, mada poslednjih godina traga se i za drugim jednostavnijim i jeftinijim testovima po predlogu koji su dali Neerhof i sar.²⁻⁵, Lamelarna tela i njihove koncentracije u plodovoj vodi odskora su u žiži interesovanja brojnih istraživača. Kako su publikovani rezultati često kontroverzni, našim ispitivanjem želeli smo da taj problem sagledamo detaljnije^{6,7}.

Metode

Ova prospektivna dvogodišnja studija obuhvatila je 102 ispitanice kod kojih je rađena amniocenteza radi određivanja fetalne maturacije u intervalu od 26. do 40. nedelje gestacije, često i u nekoliko navrata, zbog provere efikasnosti primenjene terapije artefijelne maturacije pluća fetusa. U uzorcima plodove vode određivana je pored koncentracije fosfolipida (kvalitativno i kvantitativno) i koncentracija lamelarnih tela. Kod svake ispitanice je procenjivan stepen plućne zrelosti neonatusa nakon rođenja prema kliničkim i biohemijskim testovima. Za obradu dobijenih rezultata korišćen je statistički program Statgraf.

Lamelarna tela određivana su na automatskom, hematološkom brojaču (Coulter, Onyx). Analizirani su uzorci amniotske tečnosti bez krvi, mekonijuma i mukusa nakon centrifugiranja (5 minuta na 2000 obrtaja). Na osnovu veličine (2–20 femtolitara), lamelarna tela određivana su na kanalu za trombocite.

U uzorku amniotske tečnosti određivan je i kvantitativni odnos lecitina i sfingomijelina (L/S) metodom *shake* testa (metoda po Clements-u), koja je u rutinskoj upotrebi u našoj ustanovi.

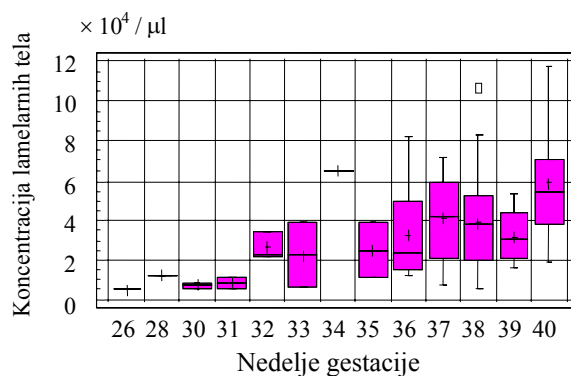
Rezultati

Tokom ispitivanja izvršene su 102 amniocenteze, a za analizu izdvojeno je 70 rezultata, jer je kod 32 ispitanice neonatalni ishod ostao nepoznat. Ispitanice su bile životne dobi od 17. do 44. godine. Vrednosti biometrije na osnovu kojih smo pratili stadijum rasta i razvoja ploda bile su: biparijetalni dijametar između 72 mm i 100 mm (prosečna vrednost 92,7 mm), obim abdomena od 224 mm do 362 mm, (prosečna vrednost 320 mm), dužina femura od 56 mm do 78 mm; koncentracija lamelarnih tela iznosila je od 5 000/μL do 117 000/μL, ponderalni indeks na rođenju od 1,22 do 2,84, a telesna masa od 1 300 g do 4 350 g. Odnos L/S kretao se u intervalu od 1:1 do 3:0. Nekoliko sati pred porodaj rezultati su često bili kontroverzni.

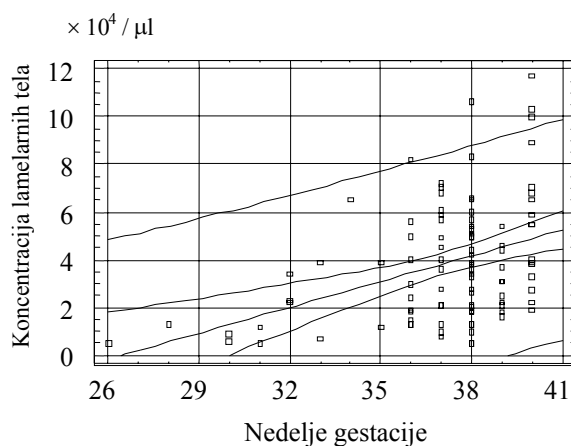
Povezanost koncentracije lamelarnih tela i starosti gestacije bila je značajna ($R = 0,396398$, $p < 0,01$) (slika 1 i 2), kao i povezanost odnosa L/S i starosti gestacije ($R = 0,691297$, $p < 0,01$). Veza između koncentracije lamelarnih tela i odnosa L/S takođe je bila značajna ($R = 0,493609$, $p < 0,01$).

Diskusija

Prve prikaze o određivanju lamelarnih tela *sephacryl* hromatografijom u 17, 31. i 40. nedelji gestacije, nalazimo



Sl. 1 – Broj lamelarnih tela u plodovoj vodi tokom gestacije



Sl. 2 – Korelacija koncentracije lamelarnih tela u plodovoj vodi sa nedeljama gestacije

sredinom osamdesetih godina, u radu Cavalierija i sar.⁶, ali i radu Gebhardt i sar.⁷ U njima se govori o potrebi standardizacije metode određivanja lamelarnih tela prilikom utvrđivanja zrelosti pluća fetusa.

O lamelarnim telima u plodovoj vodi govori se i u radovima Ivie i sar.⁸ Od drugih istraživanja koja se bave njihovom upotrebom u dijagnostičke svrhe izdvajamo radove Piazzea i sar.³ iz 1999. godine u kojima oni porede biohemijske i biofizičke parametre kod određivanja stepena zrelosti pluća fetusa. Neerhof i sar.^{4,5} referisali su 2001. godine novije poglede na prednosti koje ima metoda određivanja lamelarnih tela u odnosu na tradicionalne analize fosfolipida, zbog toga što je brža za određivanje, a koncentracija lamelarnih tela objektivnija je kao pokazatelj zrelosti pluća. Određivanje lamelarnih tela iziskuje jednostavnije tehničke uslove, jeftinije je i može se izvoditi u svakoj bolničkoj laboratoriji. Za granične vrednosti koncentracije lamelarnih tela predlažu se vrednosti između 15 000/μl i 50 000/μl. Kao o uporednoj metodi za lamelarna tela, za određivanje maturacije pluća u upotrebi je i *shake* test koji pokazuje odnos L/S u plodovoj vodi. U radovima Burkhart i sar.² iz 2000. godine govori se da je rizik od neonatalnog morbiditeta i mortaliteta veći za 7% kada odnos L/S iznosi 1,8, nego kada je on 1,9.

Ovo istraživanje odnosi se na situacije kada je odnos L/S bližu vrednosti 2,0. Piazzę i sar.³ u svojim studijama iz 1999. godine poredi upotrebu biohemijjskih (odnos L/S) i biofizičkih parametara (lamelarna tela) u dijagnostici zrelosti pluća fetusa. Oni, takođe navode podatak da vrednosti odnosa L/S 2,1 do 2,4:1 odgovaraju vrednostima za lamelarna tela od 15 000–19 000/μl, dok vrednosti odnosa L/S 2,5:1 odgovaraju vrednosti od 20 000/μl za lamelarna tela.

U našem ispitivanju kod jednog fetusa broj lamelarnih tela (34. nedelja trudnoće) bio je veoma veliki, znatno veći od gornje granične vrednosti (veći od 50 000/μl) i nije korelisao sa odnosom L/S, koji je bio nizak i precizniji pokazatelj stanja ploda *in utero*. Zatim, kod drugog fetusa, u 38. nedelji gestacije, kada je zrelost pluća bila dovoljna za *ex utero* funkcionisanje i bez rizika od respiratornog distresa sindroma, vrednost lamelarnih tela bila je znatno ispod donje granične vrednosti (niža od 10 000/μl). U konkretnom slučaju odnos

L/S bio je 2,0:1. I pored ovih ekstremnih vrednosti povezanost koncentracije broja lamelarnih tela i starosti trudnoće statistički je izuzetno visoka ($p < 0,01$), uz koeficijent korelacije $R = 0,396398$.

Zaključak

Izuzetno dobra korelacija broja lamelarnih tela sa gestacijskom starošću, kao i sa vrednostima odnosa L/S, opravdava primenu ovog metoda u procenjivanju zrelosti pluća fetusa. Ovaj metod posebno je koristan u situacijama u kojima gestaciona starost trudnoće prema datumu poslednje menstruacije nije pouzdano određena.

Određivanje lamelarnih tela u plodovoj vodi ima budućnost kao praktičan i ekonomičan metod za procenjivanje zrelosti pluća fetusa.

L I T E R A T U R A

1. *Osathanondh R, Tulchinsky D, Kamali H, Fencl M, Tausch HW Jr.* Dexamethasone levels in treated pregnant women and newborn infants. *J Pediatr* 1977; 90(4): 617–20.
2. *Burkhardt AE, Towers CV, Rummy PJ, Lewis DF.* Neonatal outcome when delivery follows a borderline immature lecithin to sphingomyelin ratio. *J Perinatol* 2000; 20(3): 157–60.
3. *Piazzę JJ, Anceschi MM, Marangbi L, Porpora MG, Cosmi EV.* The biophysical/biochemical test. A new marker of fetal lung maturity in borderline cases. *J Reprod Med* 1999; 44(7): 611–5.
4. *Neerhof MG, Haney EI, Silver RK, Ashwood ER, Lee IS, Piazzę JJ.* Lamellar body counts compared with traditional phospholipid analysis as an assay for evaluating fetal lung maturity. *Obstet Gynecol* 2001; 97 (2): 305–9.
5. *Neerhof MG, Dobnal JC, Ashwood ER, Lee IS, Anceschi MM.* Lamellar body counts: a consensus on protocol. *Obstet Gynecol* 2001; 97(2): 318–20.
6. *Cavalieri RL, Woodling S.* Purification of lamellar bodies from human amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 150(4): 409–14.
7. *Gebhardt DO, Soederhuizen W, Egberts J, Eskes TK.* A semi-automated and standardized method of determining the lamellar body content of amniotic fluid. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1985; 19(3): 145–50.
8. *Ivie WM, Swanson JR.* Effect of albumin and lamellar bodies on fluorescence polarization of amniotic fluid. *Clin Chem* 1987; 33(7): 1194–7.

Rad primljen 18. VI 2008.

Budućnost je stigla!

Eqralys

epoetin zeta

rastvor za injekciju

1000 i.j./0,3 ml

2000 i.j./0,6 ml

3000 i.j./0,9 ml

4000 i.j./0,4 ml

10.000 i.j./1,0 ml

20.000 i.j./0,5 ml

30.000 i.j./0,75 ml

40.000 i.j./1 ml





Our first experiences in applying an original method for removal of ABO-isoagglutinins in ABO-incompatible kidney recipients

Naša prva iskustva u primeni originalne metode za snižavanje titra ABO izoaglutinina kod ABO inkompatibilnih transplantacija bubrega

Ljiljana Ignjatović*, Zoran Kovačević*, Dragan Jovanović*, Neven Vavić*,
Zoran Paunić*, Milorad Radojević*, Violeta Rabrenović*,
Katarina Obrenčević*, Mirjana Mijušković*, Biljana Drašković-Pavlović†,
Gordana Ostojić‡, Bela Balint‡, Dubravko Bokonjić§

Military Medical Academy, *Clinic of Nephrology, †Institute of Medical Research,
‡Institute of Transfusiology, §Poison Control Center, Belgrade, Serbia

Abstract

Background/Aim. Due to improved methods for removal of ABO isoagglutinins and novel immunosuppressive protocols, short and long term outcome in blood group incompatible is similar to blood group compatible kidney transplantation. The aim of this study was to determine the efficacy of our original method for removal of ABO isoagglutinins from the blood in ABO-incompatible kidney allograft recipients. **Method.** Between 2006 and 2008 twelve patients were transplanted from ABO incompatible living donors. Titers of ABO isoagglutinins were 4–128 (IgG). Immunosuppressive therapy started 14 days before kidney transplantation with rituximab, followed by a triple therapy (prednisone + tacrolimus + mycophenolate mofetil) and the first plasma exchange (PE) procedure, in which one plasma volume was substituted with albumin and saline on day 7 before transplantation. For selective extracorporeal immunoadsorption, the removed plasma was mixed with donor blood type filtered red blood cells, centrifuged and the supernatant separated and preserved. In the next PE procedure, the removed plasma was replaced with immunoadsorbed plasma, and so on. Titers of ABO agglutinins, renal allograft function and survival were followed-up. **Results.** The pre-transplant treatment consisting of 1–5 PE procedures and immunosuppressive therapy resulted in target ABO agglutinins titers below 4. During a 10–24 month follow-up three patients had an early acute rejection, one patient acute rejection and hemolytic anemia, two patients surgical complications and one of them lost his graft. In the post-transplant period, the titers of ABO antibodies remained below 4. All the patients had stable kidney allograft function with mean serum creatinine \pm SD of $129 \pm 45 \mu\text{mol/l}$ at the end of the study. **Conclusion.** Our method for removal of ABO antibodies was effective in a limited series of patients and short-term follow-up.

Key words:

kidney transplantation; abo blood-group system; blood group incompatibility; plasmapheresis; antibodies; graft rejection; graft survival.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Zahvaljujući poboljšanju metoda za snižavanje titra ABO izoaglutinina i novim imunosupresivnim protokolima, kratkoročno i dugoročno preživljavanje transplantiranih bubrega je slično kod bolesnika kojima je transplantacija urađena preko krvno grupne barijere u odnosu na krvno grupno podudarne. Cilj ovog ispitivanja bio je određivanje efikasnosti naše originalne metode u smanjivanju titra ABO izoaglutinina u krvi bolesnika kojima je bubrež transplantiran preko krvno grupne barijere. **Metod.** Od 2006. do 2008. urađeno je dvanaest transplantacija bubrega od krvno grupno nepodudarnih živih davalaca. Titar ABO izoaglutinina bio je 4–128 (IgG). Sa imunosupresivnom terapijom počinjalo se 14 dana pre transplantacije rituksimabom, a nastavljalo se sedam dana pre transplantacije trojnom terapijom (prednizon+takrolimus+mikofenolat mofetil) i plazmaferezom u kojoj je izdvojena plazma supstituisana albuminima i fiziološkim rastvorom. Tokom selektivne ekstrakorporalne imunoadsorpcije (SEKIA) izdvojena plazma mešana je sa eritrocitima davaočeve krvne grupe, centrifugovana, a supernatant je odvažan i konzerviran. Tokom sledeće plazmafereze, izdvojena plazma supstituisana je imunoadsorbovanom plazmom. Broj procedura određivan je postizanjem ciljnog titra izoaglutinina < 4 (IgG). Tokom praćenja registrovani su titar izoaglutinina, funkcija i preživljavanje grafta. **Rezultati.** U pretransplantacionoj pripremi urađeno je 1–5 plazma izmena i sa imunosupresivnom terapijom postignut je titar izoaglutinina < 4 . Tokom praćenja od 10 do 24 meseca tri bolesnika su imala epizodu ranog akutnog odbacivanja, jedan akutno odbacivanje i hemolitičku anemiju, dva hirurške komplikacije, od kojih je jedan izgubio graft. U posttransplantacionom periodu titrovi izoaglutinina ostali su < 4 . Na kraju praćenja svi bolesnici imali su stabilnu funkciju alografta sa serumskim kreatininom $129 \pm 45 \mu\text{mol/l}$. **Zaključak.** Na malom broju bolesnika sa bubrežom transplantiranim preko krvno grupne barijere i uz nedovoljno dugo praćenje naš protokol za smanjenje titra ABO antitela pokazao se efikasnim.

Ključne reči:

transplantacija bubrega; abo sistem; krvne grupe, nepodudaranje; plazmafereza; antitela; graft, odbacivanje; graft, preživljavanje.

Introduction

In the past, preparations for kidney transplantation across blood groups were demanding, and often included extensive surgery¹. Over the last 10 years, methods for removal of ABO isoagglutinins (plasma exchange, immunoadsorption) have improved considerably, and new advances in immunosuppressive therapy have been made²⁻⁶. Contrary to early studies with poor results for kidneys transplanted across blood groups, recent reports showed short and long term outcome in kidney transplantation across blood groups to be similar to those with the same blood type^{7,8}.

Due to legislation and organizational problems at the national level concerning kidney transplant programs from deceased donors, only a limited number (about 7%) of kidneys are transplanted from cadavers in our institution. In order to increase the number of transplanted patients, we started with preemptive kidney transplantations from unrelated, but emotionally related donors and from incompatible living donors (with positive cross match and across the blood group barrier). We developed an original method for removal of ABO isoagglutinins from the recipient's blood, which includes two procedures: plasma exchange (PE) and selective extracorporeal immunoadsorption (SECIA) of removed plasma with filtered donor blood group erythrocytes, as "a closed circuit"⁹. The immunosuppressive protocol was adapted from a Swedish preposition for pre- and post-transplant management in kidney transplantation across blood groups^{10,11}. The aim of the present study was to investigate the efficacy of our therapy protocol in a kidney transplant program across blood groups.

Methods

In the period from April 1, 2006 to April 30, 2008 twelve ABO-incompatible transplantations, in 6 males and 6

61.92 ± 6.27 years), and with at least 50% Human Leukocyte Antigens (HLA) matching. Baseline titers of recipients' ABO isoagglutinins were 4 to 128 (IgG). The age and blood type of donors and recipients, HLA matching and cross match are shown in Table 1. Seven recipients with blood type O had a B type donor, three O type recipients had an A type donor, one A type recipient had a B type donor and one B type recipient had an A type donor. The lymphocytotoxic pre-transplant cross match was negative in all patients, although one patient had a historically positive cross match, successfully treated with PE, double immunosuppressive therapy (mycophenolate mofetil and tacrolimus) and rituximab.

The study was approved by the Ethical Committee of the Medical Military Academy and a written informed consent was obtained from each donor and recipient.

The day of transplantation was designated as day 0. Pre-transplant preparation started on day -14 with rituximab (375 mg/m²), followed from day -7 with triple immunosuppressive therapy: prednisone [0.5 mg/kg body weight (BW)], mycophenolate mofetil in the standard dose of 500 mg bid, and tacrolimus adjusted to a target C0 concentration of 15–20 ng/ml. Plasma exchange and SECIA were also performed on day -7. The first four patients received anti-CD 25 antibodies (daclizumab) twice, as induction therapy on day -1 (2 mg/kg BW) and on day +13 (1 mg/kg BW).

The first large volume PE was performed on day -7 with removal of 3.8 ± 0.5 l of plasma and replacement with 20% human albumin in saline. Plasma was exchanged on a BCT-Spectra instrument (Gambro, Sweden). The removed plasma underwent SECIA with filtered erythrocytes of the donor blood type, using the original method of Balint et al.⁹ as described in detail elsewhere. After immunoadsorption, the supernatant was centrifuged, separated and preserved. In the second PE procedure, the immunoadsorbed plasma was used as the replacement fluid. The removed plasma in the

Table 1

Basic patients data						
Patient (n)	Donors' age (years)	Recipients' age (years)	Donors' blood type	Recipients' blood type	HLA* matching	Cross match
1	58	36	B+	O+	2/4	–
2	58	34	B+	O+	2/4	hystoric +
3	64	59	B+	O+	2/9	–
4	64	42	A1+	O+	2/4	–
5	55	29	B+	O-	2/4	–
6	65	44	B+	O+	3/9	–
7	73	40	B+	A2+	2/4	–
8	58	41	B+	O+	2/4	–
9	64	36	B+	O+	2/4	–
10	50	34	A2+	B+	2/4	–
11	67	46	A1-	O+	2/4	–
12	67	41	A1+	O+	2/4	–

*HLA – human leukocyte antigens

females (mean age 40.17 ± 7.64 years) were performed at the Military Medical Academy, Belgrade. The etiology of end-stage renal disease was diabetic nephropathy in one patient and unknown in eleven patients. Donors were living, 11 related, one unrelated (emotionally related spouse) (mean age

second procedure underwent SECIA, and so on. The number of PE and SECIA procedures depended on the titer of ABO isoagglutinins, with the target titer less than 4 (IgG).

The immunosuppressive protocol in the post-transplant period consisted of prednisone (tapered by standard proto-

col), tacrolimus (dose adjusted to C0 blood concentration) and mycophenolate mofetil in a standard daily dose of 2 g for the first 1-3 months and then 1 g daily divided into two doses. In the follow up period the titers of ABO isoagglutinins (IgG), allograft function (through serum creatinine) and survival, episodes of rejections and infections were monitored.

Titers of ABO isoagglutinins were measured using a standard procedure described in detail in the Technical Manual of the American Association of Blood Banks, (Mark E Brecher, 15th ed., 1999). Blood groups and Rh factor were tested with blood grouping reagents ABO-Rh / Reverse grouping cassette (Ortho-Clinical Diagnostics, USA). The concentration of tacrolimus before the morning dose was measured with the Abbot IMx Tacrolimus II Assay, based on Micro particle Enzyme Immunoassay (MEIA). Serum creatinine concentrations were determined colorimetrically by the Bonsnes and Taussky method on a Dade Behring instrument.

According to transplantation protocol of our institution diagnosis of early acute rejection (in the first 15 posttransplant days) was based on clinical presentation, laboratory findings and response to steroid pulse therapy. In the cases resistant to steroid therapy kidney allograft biopsy was performed. The cut-off level for diagnosis of reactivated cytomegalovirus (CMV) was 400 copies/ml [Polymerase Chain Reaction (PCR) Amplicor, Hoffman La Roche]. Bacterial infections were diagnosed according to positive cultures, hematological and biochemical parameters and clinical presentation.

The efficacy of the PE + SECIA procedure is shown as individual IgG isoagglutinin titers before and after the procedure, and as a mean percentage of the antibody reduction per procedure. The reduction of ABO isoagglutinins titers per procedure was analyzed with the Wilcoxon matched pairs test using a standard statistical program (Stat for Windows, R.4.5, Stat Inc, SAD 1993). Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results

The main criteria for the number of PE procedures with immunoadsorbed plasma in the pre-transplant period was the titer of ABO isoagglutinins (IgG). Most of our patients had 1–3 procedures. Three patients with hemolytic ABO antibodies had 5 pre-transplant modified PE procedures. For these patients in first two PE procedures, instead of immunoadsorbed auto-plasma, immunoadsorbed allo-plasma or AB blood type plasma was used. None of the patients exhibited side effects after rituximab, PE with immunoadsorbed plasma and the triple immunosuppressive protocol. The first PE+SECIA procedure was very effective in reducing anti-donor BG antibodies (antibodies to white cell antigen remnants on red cells), but all patients showed the rebound phenomenon after the first procedure. After 3–5 procedures there were no rebounds, and the titers of ABO isoagglutinins (IgG) were within the reference range (below 4). The percentage reduction of ABO isoagglutinins (IgG) for PE with immunoadsorbed plasma was: $65.9 \pm 12.61\%$ after the first, 47.72 ± 26.11 after the second, 60 ± 12.8 after the third, 75% after the fourth, $81.25 \pm 8.83\%$ after the fifth and 50% after the sixth procedure (Table 2).

Selective extracorporeal immunoadsorption was very efficient in reducing ABO isoagglutinins: $91.4 \pm 17.3\%$ after the first, $88.75 \pm 17.13\%$ after the second, $88.75 \pm 17.13\%$ after the third, 78.13 ± 21.35 after the fourth, and 100% after the fifth, procedure (Table 3).

In the post-transplant period 1–3 preemptive PE procedures with immunoadsorbed plasma were performed in spite of the very low isoagglutinin titers only in the first three patients. Neither of these procedures was performed in the remaining eight patients. In all the patients the titer stayed very low during the whole follow up period, so we did not have to administer additional immunosuppressive therapy or PE with immunoadsorbed plasma procedures. The titers of ABO isoagglutinins in the post-transplant months are presented in Table 4.

Table 2

The titers of ABO isoagglutinins (IgG) at the start and in the end of the plasma exchange (PE) with human albumines (PE 0) and immunoadsorbed plasma (PE 1–5)

Patient (n)	PE 0		PE 1		PE 2		PE 3		PE 4		PE 5	
	start	end	start	end	start	end	start	end	start	end	start	end
1	32	8	16	4	8	4	8	2				
2	16	8	8	4	8	2						
3	128	32	32	8	16	8	32	8	16	4	2	1
4	64	32	32	16	16	8	16	4				
5	4	2	4	2								
6	32	8	16	16	16	4						
7	32	8	2	1	2	1						
8	8	2	4	2	4	2						
9	16	4	8	4	16	8	8	4	8	1		
10	32	8	8	2	8	2	32	4	8	4		
11	32	16	4	4	8	2						
12	64	16	16	8	8	4						
% of reduction	-65.91		-47.72		-60.0		-75.0		-81.25		-50.0 ± 0	
± SD	± 12.61		± 26.11		± 12.9		± 0.0		± 8.8		± 0.0	
<i>p</i>	0.003		0.007		0.005		0.068		–		–	

Table 3

The titers of ABO isoagglutinins (IgG) at the beginning and in the end of selective extra-corporeal immunoadsorption (SECIA)

Patient	1. SECIA		2. SECIA		3. SECIA		4. SECIA		5. SECIA	
	start	end	start	end	start	end	start	end	start	end
1	16	1	8	0	4	0	4	0	1	0
2	8	0	4	0	4	0	1	0		
3	64	H*	16	4	16	4	8	1		
4	32	H*	8	H*	16	2	16	4		
5	2	1	2	1	1	0				
6	8	1	16	0	8	0				
7	4	0	2	0	2	0				
8	4	0	2	0	2	0				
9	8	4	4	2	8	2	8	0		
10	16	H*	4	1	4	1	4	2		
11	8	0	8	0	4	0				
12	16	0	8	1	2	1				
% of reduction	-91.4		-88.75		-88.75		-78.125		-100	
±SD	± 17.33		± 17.13		± 17.12		± 21.34		± 0	
<i>p</i>	0.003		0.005		0.005		0.067			

*H – value than normal ones higher

Table 4

ABO isoagglutinin titers (IgG) in months after transplantation

Patient	Post- transplant months																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	18	20	22	24	
1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
3	2	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0
4	2	4	4	4	4	2	2	1	1	0	0	0	0	0					
5	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0					
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
8	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1					
10	4	4	4	4	1	1	2	2	4	4	4	2	1						
11	1	0	1	0	1	1	2	1	0	0	0								
12	2	0	0	2	1	0	0	1	0	0									

The first four patients received anti-CD25 antibodies and two of them experienced clinical and laboratory signs of acute steroid sensitive rejection. At the time of acute rejection tacrolimus C0 was somewhat below 15 ng/ml in both patients. Anti-CD25 antibodies were not used in the next eight patients. Their C0 concentration of tacrolimus before transplantation reached the target value of 15–20 ng/ml. Two of these eight patients had early episodes of acute rejection, and both were successfully treated with 5 × 500 mg methyl-prednisolone pulses. One to three months after the transplantation, the dose of mycophenolate mofetil was decreased by 50%, without further rejection episodes.

Two of our patients had serious surgical complications. The first had life threatening bleeding in the abdominal wall requiring massive transfusions of filtered red blood cells and donor-type fresh plasma. He also had urinoma and repeated episodes of acute pyelonephritis, which resolved with successful surgical treatment. The second patient had repeated surgical treatments for bleeding from the operative field complicated with recurrent sepsis with resistant *Pseudomonas aeruginosa* and the syndrome of

multi-organ dysfunction (MODS). He lost kidney graft function within 6 days. These two patients had no abnormalities in coagulation or increased titers of alloantibodies or isoagglutinins.

All the patients had at least one symptomatic or asymptomatic urinary tract infection during the follow up. Four patients with reactivated cytomegalovirus infection were successfully treated with intravenous gancyclovir. One patient had primary cytomegalovirus infection, and received intravenous gancyclovir for 28 days, and then oral acyclovir 400 mg daily for 6 months.

With the exception of the single patient (sepsis and MODS), who lost kidney function early after transplantation, all the remaining patients had stable renal function (estimated by serum creatinine) during the follow up. Mean creatinine level in these patients was 129 ± 45 μmol/l. Only one patient (with urinoma and multiple surgical treatments) had a creatinine concentration slightly above 200 μmol/l, which remained stable during the follow up. Individual serum creatinine levels in the examined patients throughout the post-transplant period are presented in Figure 1.

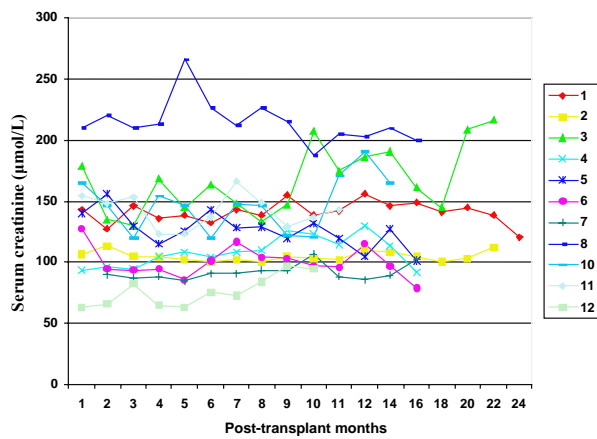


Fig. 1 – Serum creatinine in post-transplant period

Discussion

Unlike the majority of transplant professionals who use PE for removal of anti-donor BG antibodies in the pre- and post-transplant period, Tyden et al.^{10, 11} proposed selective, antigen-specific immunoabsorption as a safe and effective procedure. This method had several advantages over the standard PE procedures including minimal loss of coagulation factors, proteins and electrolytes and to be relatively ease of application. The remaining problem is a prediction of the right number of columns for immunoabsorption per patient, because the number of columns depends on the achieved isoagglutinins titer. The number reported varied from 7 to 26 columns per patient. In addition, considerable time is necessary to acquire the columns, which may not be acceptable in emergency situations. Our centre proposed a combination of PE and consecutive SECIA of ABO isoagglutinins with filtered erythrocytes of the donor blood type. The proposed procedure was tested and shown to be safe and effective in preserving plasma composition and reducing isoagglutinin titers⁹. After a pilot study, it was used in twelve kidney transplant recipients who were the subject of this study. The great advantage of this procedure compared to antigen specific immunoabsorption is the low price, combined with good safety and efficacy. Patients who had ABO agglutinin antibodies needed 2–3 procedures prior to transplantation, while those with hemolytic antibodies required 3–5 procedures pre-transplant. In the post-transplant period, extra procedures were not necessary, but, due to lack of experience, this was done pre-emptively in the first three patients. As part of the pre-transplant preparation, all our patients were given only one dose of rituximab adjusted to the body surface area, and none of them needed it in the post-transplant period. In the postoperative period the patients received only a maintenance immunosuppressive protocol, with the exception of four patients with signs of acute rejection who were treated with methylprednisolone pulses.

The kidney donors had blood types A1, A2, and B and the recipients O, A2 and B. Tyden et al.^{10, 11} also proposed an immunosuppressive protocol without splenectomy for the same blood group combinations and reported encouraging results in graft function, an acceptable number of acute rejection episodes and antibody mediated rejections with good response to standard therapy. In comparison to the immunosuppressive protocol proposed by Tyden's group, in our protocol intravenous immunoglobulin was excluded and, after the first four transplantations, induction therapy with monoclonal anti-CD 25 antibodies was also excluded. The use of intravenous immunoglobulin was proposed in order to scavenge HLA alloantibodies and minimize the chance of antibody-mediated rejection. However, as intravenous immunoglobulin contains small amounts of alloantibodies, they can promote an antibody-mediated rejection (own unpublished data). In the follow-up period we noticed acceptable rates of acute steroid-sensitive rejections (30%). Other authors also found similar rates of acute rejections^{10, 11}.

Considering that most kidney donors were marginal with a mean age of 61.92 ± 6.27 years, renal allograft function was satisfactory, with mean serum creatinine of 129 ± 45 $\mu\text{mol/L}$, which remained stable during the follow-up. Allograft function and complications after kidney transplantation across blood groups appeared with similar frequency and clinical features as in the ABO compatible kidney transplantations performed in our institution^{12, 13}.

Limitations of the study: This is a case-series study presenting preliminary experience in a single centre with a specific, modified protocol applied in the care of these complex patients. The study does not compare the results with those for patients with matching ABO donors or with different treatment protocols. However, our results are encouraging and warrant further prospective trials that would address these issues. The diagnosis of acute rejection was made according to clinical and laboratory findings and the response to steroid pulse therapy but was not confirmed by kidney biopsy. Although this is a limitation of the study, the post-transplant course and response to steroid pulse therapy in the patients with the clinical presentation of acute rejection indicated that acute rejection was not a significant problem in the presented incompatible living kidney donor transplantations.

Conclusion

Our original method for removal of anti-donor BG abs in patients receiving kidney transplant from ABO-incompatible donors appears to be safe and effective. The overall survival, complication rates and post-transplant kidney function are comparable to the historical data from ABO-compatible patients.

Acknowledgments. Authors would like to thank Ivan Barac, MD and professor Ljubica Đukanović for editorial help.

R E F E R E N C E S

1. *Gloor JM, Lager DJ, Fidler ME, Grande JP, Moore SB, Winters JL, et al.* A Comparison of splenectomy versus intensive post-transplant antidonor blood group antibody monitoring without splenectomy in ABO-incompatible kidney transplantation. *Transplantation*. 2005; 80(11): 1572–7.
2. *Segev DL, Simpkins CE, Warren DS, King KE, Shirey RS, Maley WR, et al.* ABO incompatible high-titer renal transplantation without splenectomy or anti-CD20 treatment. *Am J Transplant* 2005; 5(10): 2570–5.
3. *Stegall MD, Dean PG, Gloor JM.* ABO-incompatible kidney transplantation. *Transplantation* 2004; 78(5): 635–40.
4. *Tanabe K, Tokumoto T, Ishikawa N, Shimizu T, Okuda H, Ito S, et al.* ABO-incompatible living donor kidney transplantation under tacrolimus immunosuppression. *Transplant Proc* 2000; 32(7): 1711–3.
5. *Sonnenday CJ, Warren DS, Cooper M, Samaniego M, Haas M, King KE, et al.* Plasmapheresis, CMV hyperimmune globulin, and anti-CD20 allow ABO-incompatible renal transplantation without splenectomy. *Am J Transplant* 2004; 4(8): 1315–22.
6. *Gloor JM, Lager DJ, Moore SB, Pineda AA, Fidler ME, Larson TS, et al.* ABO-incompatible kidney transplantation using both A2 and non-A2 living donors. *Transplantation* 2003; 75(7): 971–7.
7. *Takahashi K, Saito K, Takahara S, Okuyama A, Tanabe K, Toma H, et al.* Japanese ABO-Incompatible Kidney Transplantation Committee. Excellent long-term outcome of ABO-incompatible living donor kidney transplantation in Japan. *Am J Transplant* 2004; 4(7): 1089–96.
8. *Cobney SJ, Walker RG, Haensler MN, Francis DM, Hogan CJ.* Blood group incompatibility in kidney transplantation: definitely time to re-examine! *Med J Aust* 2007; 187(5): 306–8.
9. *Balint B, Pavlovic M, Jevtic M, Hrnacovic R, Ignjatovic L, Ostojic G, et al.* Simple "closed-circuit" group-specific immunoadsorption system for ABO-incompatible kidney transplants. *Transfus Apher Sci* 2007; 36(3): 225–33.
10. *Tyden G, Kumlien G, Genberg H, Sandberg J, Sedigh A, Lundgren T, et al.* The Stockholm experience with ABO-incompatible kidney transplantations without splenectomy. *Xenotransplantation* 2006; 13(2): 105–7.
11. *Tyden G, Kumlien G, Genberg H, Sandberg J, Lundgren T, Fehrman I.* ABO incompatible kidney transplantations without splenectomy, using antigen-specific immunoadsorption and rituximab. *Am J Transplant* 2005; 5(1): 145–8.
12. *Ignjatović L, Vavić N, Paunić Z, Rabrenović V, Kovačević Z, Hrvačević R.* Renal allograft function in the patients with double immunosuppressive protocol. XVIII Danube Symposium, September 26–30, 2006; Novi Sad, Serbia: Abstract book, p. 144.
13. *Rabrenović V, Kovačević Z, Jovanović D, Ignjatović Lj.* Complications in the kidney transplant patients previously treated by peritoneal dialysis – 10 years experience in a single center. *BANTAO J* 2007; 5: 93–5.

The paper received on June 19, 2008.



Klinička efikasnost ampicilina u lečenju akutnih dentogenih apscesa

Clinical efficacy of ampicillin in treatment of acute odontogenic abscess

Stevo Matijević*, Zoran Lazić*, Zorka Nonković†

Vojnomedicinska akademija, *Klinika za maksilofacijalnu, oralnu hirurgiju i implantologiju, Odeljenje oralne hirurgije; †Institut za mikrobiologiju, Odeljenje za bakteriologiju, Beograd

Apstrakt

Uvod/Cilj. Stavovi o izboru antibiotika i dužini njihove primene u terapiji akutnih dentogenih apscesa kontroverzni su. Cilj ove studije bio je da se utvrdi klinička efikasnost peroralne primene ampicilina u lečenju akutnih dentogenih apscesa, kao i da se ispita antimikrobna osetljivost izolovanih sojeva bakterija na ampicilin u ranoj fazi razvoja apscesa. **Metode.** U istraživanje je bilo uključeno 60 ispitanika sa dentogenim apscesima koji su hirurški lečeni (ekstrakcija zuba i/ili incizija apscesa) i svrstani u dve grupe, ampicilinsku i hiruršku grupu (bez primene antibiotika). **Rezultati.** U grupi ispitanika koji su dobijali ampicilin, lečenje je trajalo u proseku 4,67 dana, a u hirurškoj grupi 6,17 dana. Kod 60 bakterioloških nalaza izolovano je 78 različitih bakterijskih sojeva. Najzastupljenije bile su fakultativno anaerobne Gram-pozitivne bakterije (68/78), a predominantno zastupljena bakterija bila je *Streptococcus viridans* (43/78). Ukupna osetljivost izolovanih bakterija na ampicilin iznosila je 70,5%. **Zaključak.** Peroralna primena ampicilina u ranoj fazi razvoja apscesa nakon primene hirurškog metoda lečenja, statistički značajno skraćuje trajanje kliničkih simptoma akutne dentogene infekcije u odnosu na tretman samo hirurškim metodom. Izolovani bakterijski sojevi, u ranoj fazi razvoja apscesa, pokazuju visoku osetljivost na ampicilin.

Ključne reči:

apsces, periapikalni; lečenje lekovima; antibiotici; ampicilin; hirurgija, oralna, procedure.

Abstract

Background/Aim. Antibiotics choice and the duration of their application in the therapy of acute odontogenic abscess is considered to be controversial. The aim of this study was to investigate the clinical efficacy of ampicillin in treatment of acute odontogenic abscess and to assess the antimicrobial susceptibility of the isolated bacteria in early phase of abscess development. **Methods.** This study included 60 patients with acute odontogenic abscess who were surgically treated (extraction of teeth and/or abscess incision) divided into two groups, ampicillin group and surgical group (without antibiotic treatment). **Results.** In the ampicillin group of patients treatment lasted on the average 4.67 days, while in the surgical group 6.17 days. A total of 78 bacterial strains were isolated from 60 patients. The most often bacteria were found to be Gram-positive facultative anaerobes (68/78). The most common bacteria isolated were *Viridans streptococci* (43/78). Susceptibility of isolated bacteria to ampicillin were 70.5%. **Conclusion.** Peroral use of ampicillin, after surgical treatment in an early phase of dentoalveolar abscess development, statistically significantly reduced the time of clinical symptoms of acute odontogenic abscess in comparison to surgical treatment only. The isolated bacterial strains in an early phase of dentoalveolar abscess development showed a high sensitivity to ampicillin.

Key words:

periapical abscess; drug therapy; anti-bacterial agents; ampicillin; oral surgical procedures.

Uvod

Dentogeni apscesi u najvećem broju slučajeva izazvani su mešovitom florom sa predominacijom striktno anaerobnih bakterija, ali u ranoj fazi njihovog razvoja dominantnu floru čine fakultativno anaerobne bakterije^{1,2}. Uobičajeni pristup u lečenju akutnih dentogenih apscesa zasniva se na hirurškoj terapiji i primeni antibiotika u adekvatnom vremenskom periodu, ali u literaturi postoje različiti podaci o potrebi i dužini

primene antibiotika³⁻⁸. Ističe se da je penicilin i dalje antibiotik izbora u empirijskoj (inicijalnoj) terapiji ovih infekcija⁹. Neki autori, međutim, navode da i drugi antibiotici kao što su cefalosporini, klindamicin, i azitromicin mogu biti efikasni u terapiji pojedinih formi ovih infekcija^{6,8,10}. S druge strane, povećano, a pre svega neracionalno korišćenje antibiotika, dovelo je do pojave rezistencije mikroorganizama na brojne lekove^{11,12}. Pojedini antibiotici, među kojima je i ampicilin koriste se već duže vreme u kliničkoj praksi, a razvoj rezis-

tencije bakterija proporcionalan je dugotrajnosti primene pojedinog antibiotika ili odgovarajuće grupe antibiotika^{13, 14}. To znači da podaci o njihovoj kliničkoj efikasnosti, indikacijama, neželjenim dejstvima i mogućim interakcijama moraju ponovo da se procenjuju, menjaju ili dopunjuju^{15, 16}. Uopšteno govoreći, stavovi o izboru antibiotika i dužini njihove primene u terapiji akutnih dentogenih apscesa opet postaju kontroverzno pitanje.

Cilj ove studije bio je da se utvrdi klinička efikasnost peroralne primene ampicilina u lečenju akutnih dentogenih apscesa, kao i da se u ranoj fazi njihovog razvoja ispita antimikrobna osetljivost izolovanih sojeva bakterija na ampicilin.

Metode

Ispitivanje je sprovedeno u Odeljenju za oralnu hiruriju i Institutu za mikrobiologiju Vojnomedicinske akademije (VMA) uz odobrenje Etičkog komiteta VMA u Beogradu (rešenje br. 2068 / 24.01.2006).

Istraživanjem bilo je obuhvaćeno 60 bolesnika oba pola i svih starosnih kategorija, sa klinički manifestnim znacima dentogene infekcije u formi apscesa dentoalveolarne lokalizacije. U ispitivanje su uključivani samo ispitanici koji, do momenta javljanja u Odeljenje oralne hirurije VMA, nisu započeli antibiotsku terapiju svojevoljno ili prethodno propisanu od strane lekara, a vezano za prisutnu dentogenu infekciju ili postojanje neke druge vrste infekcije. Svi ispitanici su ambulantno lečeni.

U ispitivanje nisu bili uključivani bolesnici sa alergijom na ampicilin, oni sa težim oblicima infekcija čije je lečenje zahtevalo hospitalizaciju i/ili parenteralnu primenu antibiotika, kao ni oni sa kompromitovanom opštom otpornošću organizma usled postojanja nekog sistemskog oboljenja.

Ispitanici su bili podeljeni u dve grupe, određene metodom slučajnog izbora: grupa I (ampicilin, n = 30) – ispitanici kod kojih je, u lečenju dentogenog apscesa, primenjena hirurška metoda lečenja (ekstrakcija zuba, intraoralna incizija ili ekstrakcija zuba sa intraoralnom incizijom) i ampicilin i grupa II (hirurška, n = 30) – ispitanici kod kojih je u lečenju dentogenog apscesa, primenjena samo hirurška metoda lečenja (ekstrakcija zuba, intraoralna incizija ili ekstrakcija zuba sa intraoralnom incizijom).

U grupi ispitanika kod kojih je u lečenju dentogenog apscesa pored hirurške metode lečenja sprovedena i terapija ampicilinom (Ampicilin – Galenika a.d. Beograd), doziranje ovog antibiotika bilo je uniformno, 2 g dnevno, raspoređena u četiri pojedinačne doze od po 0,5 g na šest sati, sve dok nije došlo do nestanka i poslednjeg simptoma infekcije.

U cilju procene efekta primenjene terapije, kod obe grupe ispitanika, registrovani su sledeći klinički simptomi infekcije: zapaljenjski otok, trizmus, regionalni limfadenitis, febrilnost.

Zapaljenjski otok bio je utvrđivan kliničkim pregledom (inspekcijom i palpacijom) i potom registrovan kao: 0 – nema otoka; 1 – blago izražen otok; 2 – umereno izražen otok; 3 – vrlo izražen otok.

Regionalni limfadenitis bio je utvrđivan kliničkim pregledom (palpacijom) i ocenjen prema skali: 0 – nema uvećanja regionalnih limfnih čvorova; 1 – uvećani regionalni limfni čvorovi, palpatorno bezbolni; 2 – uvećani regionalni limfni čvorovi, palpatorno bolni.

Trizmus je utvrđivan merenjem rastojanja između incizalnih ivica sekutića gornje i donje vilice, ukoliko su ovi zubi bili prisutni, odnosno između vrhova alveolarnih grebena gornje i donje vilice u frontalnom regionu u slučaju nedostatka ovih zuba, a dobijene vrednosti registrovane su i izražavane u milimetrima. Merenje je obavljano šestarom, a zatim je razmak između krakova šestara meren na milimetarskom lenjiru. Dobijene vrednosti izražavane su prema skali: 0 – nema prisutnog trizmusa (21 mm i više); 1 – blago izražen trizmus (11–20 mm); 2 – vrlo izražen trizmus (0–10 mm).

Febrilnost je utvrđivana merenjem telesne temperature standardnim toplomerom u pazušnoj jami ispitanika, a dobijene vrednosti registrovane su kao afebrilan (do 36,9 °C), subfebrilan (37–37,9 °C) i febrilan (38 °C i više).

Svi pobrojani simptomi infekcije praćeni su svakodnevno i to od dana prvog pregleda (nulti dan) kada je, u obe grupe ispitanika, bila izvršena hirurška intervencija i započeta antibiotska terapija (u prvoj grupi ispitanika) do dana kada je poslednji put registrovan makar i jedan simptom infekcije. Kod svih ispitanika prve grupe, antibiotska terapija bila je prekinuta posle potpune regresije kliničkih znakova prisutne infekcije.

Kod svih ispitanika, prvog dana po javljanju, uziman je sadržaj zapaljenjskog eksudata aspiracionom metodom, sterilnom iglom i špricom, uz prethodnu dezinfekciju dotičnog intraoralnog regiona 70% alkoholom i Hibidex Dap[®] (0,12% hlorheksidin diglukonat – Galenika a.d. Beograd), a potom je uzeti sadržaj prosleđivan na mikrobiološko ispitivanje. Mikrobiološko ispitivanje podrazumevalo je identifikaciju bakterija, uzročnika dentogenog apscesa i ispitivanje njihove osetljivosti na ampicilin.

Svi prispeli uzorci zasejavani su na hranljivu neselektivnu podlogu, krvni agar, koja je inkubirana 18 do 24 h na 37 °C u termostatu u aerobnim uslovima i na hranljivu neselektivnu podlogu (krvni agar obogaćenu heminom i K vitaminom) koja je inkubirana do 48 h u anaerobnim uslovima.

Bakterije su identifikovane u zavisnosti od morfologije njihovih kolonija pomoću klasične biohemijske identifikacije, serološke identifikacije, identifikacije na poluautomatskom aparatu ATB *Expression* i API 20A testovima za identifikaciju anaeroba.

Ispitivanje osetljivosti izolovanih bakterija na antibiotike (antibiogram) radeno je disk difuzionom metodom po standardima *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), na Mueller-Hinton podlozi sa antibiotskim diskovima proizvođača *Beckton Dickenson Microbiology Systems, Cockeysville, Mo* (BBL), prečnika 6 mm. Disk difuzionom metodom redovno je kontrolisana standardnim kontrolnim mikroorganizmima čija je osetljivost poznata. To su *American Type Culture Collection* (ATCC) sojevi: *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ATCC

29212 i *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ATCC 27853. Rezultati mikrobioloških analiza u našem istraživanju izražavani su kao 1 – osetljiv i 2 – rezistentan.

U statističkoj obradi podataka korišćeni su χ^2 -test i Studentov *t* test. Značajnost razlika prihvatana je na nivou $p < 0,05$.

Rezultati

Od ukupnog broja ispitanika 73,3% bilo je muškog pola, a 26,7% ženskog pola, prosečne starosti 33,4 godine. Najčešće primenjivani hirurški metod lečenja kod 65% ispitanika bila je ekstrakcija zuba, kod 33,3% ispitanika incizija apscesa i kod 1,7% ekstrakcija zuba sa incizijom apscesa.

Do potpunog gubitka svih registrovanih simptoma infekcije kod ispitanika prve grupe došlo je četvrtog dana (43,3%) i petog dana (46,6%). Trajanje lečenja iznosilo je, u proseku 4,67 dana, s tim što smo značajnu regresiju simptoma beležili drugog dana kod 25 od 30 bolesnika i trećeg dana kod 28 od 30 bolesnika od početka terapije. U ovoj grupi ni kod jednog ispitanika nije registrovana pojava tri-

zmusa i febrilnosti, kao kliničkih simptoma prisutnog dentogenog apscesa (tabela 1).

U drugoj grupi, potpuni gubitak svih registrovanih simptoma infekcije javio se kod najvećeg procenta ispitanika petog (46,7%) i šestog dana (30,0%) od početka terapije. Trajanje lečenja u ovoj grupi ispitanika iznosilo je u proseku 6,17 dana, s tim što smo značajnu regresiju simptoma zabeležili trećeg dana kod 25 od 30 bolesnika i četvrtog dana kod 26 od 30 bolesnika od početka terapije. U drugoj grupi, ni kod jednog ispitanika nije registrovana pojava trizmusa i febrilnosti, kao kliničkih simptoma prisutnog dentogenog apscesa (tabela 1).

Nakon statističke analize dobijenih vrednosti u obe grupe utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u trajanju lečenja između ove dve grupe ispitanika, odnosno da primena ampicilina nakon hirurškog postupka lečenja skraćuje trajanje kliničkih simptoma dentogene infekcije (tabela 1).

Od ukupno 60 bakterioloških nalaza, izolovano je 78 različitih bakterijskih sojeva. Najzastupljenije bile su fakultativno anaerobne Gram-pozitivne bakterije (68/78) posebno *Streptococcus viridans* (*S. viridans*) (tabela 2).

Tabela 1

Uticaj primene ampicilina na trajanje simptoma akutnih dentogenih apscesa tokom 10 dana od hirurške intervencije

Simptomi*	Broj bolesnika sa simptomima (A/H)											
	0.dan	1.dan	2.dan	3.dan	4.dan	5.dan	6.dan	7.dan	8.dan	9.dan	10.dan	
Otok												
0	0/0	0/0	0/0	0/0	13/0	27/8	30/19	30/28	30/30	30/30	30/30	
1	18/17	21/19	25/22	28/25	17/26	3/19	0/10	0/2	0/0	0/0	0/0	
2	9/9	8/7	4/5	2/3	0/4	0/3	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	
3	3/4	1/4	1/3	0/2	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
Reg. limfadenitis												
0	0/0	0/0	0/0	0/0	13/0	27/8	30/22	30/28	30/30	30/30	30/30	
1	14/19	14/19	21/20	26/22	16/24	3/16	0/3	0/1	0/0	0/0	0/0	
2	16/11	16/11	9/10	4/8	1/6	0/6	0/5	0/1	0/0	0/0	0/0	
Trizmus												
0	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	
1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
2	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
Febrilnost												
Afebrilan	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	
Subfebrilan	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
Febrilan	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
Ukupno bolesnika sa simptomima (%)	100/100	100/100	100/100	100/100	56,7/100	10/73,3	0,0/26,7	0,0/6,7	0,0/0,0	0,0/0,0	0,0/0,0	
Prosečno trajanje simptoma (dani), $\bar{x} \pm SD$						A: 4,67 \pm 0,65					$p < 0,05$	
						H: 6,17 \pm 0,81						

A – bolesnici tretirani ampicilinom posle hirurške intervencije; H – bolesnici samo hirurški tretirani;

* – ocenu inteziteta simptoma pogledati u **Metode rada**

Tabela 2

Prikaz izolovanih bakterija kod obe grupe ispitanika (n = 60)

Izolovane bakterije	Broj	%
<i>Streptococcus viridans</i>	43	55,1
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	6,4
Fakultativno anaerobne Gram-pozitivne bakterije	11	14,1
<i>Staphylococcus – kaogulaza negativan</i>	1	1,2
<i>Streptococcus β – haemoliticus grupe F</i>	5	6,4
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	1,2
<i>Streptococcus anginosus</i>	2	2,6
<i>Streptococcus β – haemoliticus grupe C</i>		
<i>Klebsiella spp.</i>	2	2,6
Fakultativno anaerobne Gram-negativne bakterije	2	2,6
<i>Serratia spp.</i>	1	1,2
<i>Esherihia coli</i>	1	1,2
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	1	1,2
Striktno anaerobne bakterije	1	1,2
<i>Bacteroides copilosus</i>	3	3,8
<i>Peptostreptococcus spp.</i>		
Ukupno	78	100,0

Prema nalazima antibiograma ukupna osetljivost izolovanih bakterija na ampicilin iznosila je 70,5%. Najveća osetljivost registovana je kod sojeva *S. viridans*. Najveću rezistenciju među fakultativno anaerobnim Gram-pozitivnim bakterijama pokazivali su sojevi *Staphylococcus* – kaogulaza negativan (11/11) i *S. aureus* (5/5), a među fakultativno anaerobnim Gram-negativnim bakterijama sojevi *Klebsiella spp.* (2/2) i *Serratia spp.* (2/2) (tabela 3).

Prema rezultatima našeg istraživanja, u prvoj grupi ispitanika do značajne regresije simptoma dolazilo je drugog (66,6%) i trećeg dana (86,6%), a do potpunog gubitka svih registovanih simptoma četvrtog i petog dana, odnosno u proseku 4,67 dana. Stoga, možemo prihvatiti i podržati mišljenje i stav onih autora da upotreba antibiotika ne mora da bude nepotrebno duga, naročito u situacijama kada ona evidentno brzo daje terapijske rezultate, odnosno da je treba prekinuti

Tabela 3

Prikaz stepena osetljivosti/rezistencije izolovanih bakterija na ampicilin <i>in vitro</i>			
Izolovane bakterije	O	R	Ukupno broj
<i>Streptococcus viridans</i>	41	2	43
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	5	5
<i>Staphylococcus</i> – kaogulaza negativan	0	11	11
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	3	0	3
<i>Enterococcus faecalis</i>	5	0	5
<i>Bacteroides copilosus</i>	1	0	1
<i>Serratia spp.</i>	0	2	2
<i>Klebsiella spp.</i>	0	2	2
<i>Streptococcus β - haemoliticus</i> grupe C	2	0	2
<i>Streptococcus β - haemoliticus</i> grupe F	1	0	1
<i>Streptococcus anginosus</i>	1	0	1
<i>Escherichia coli</i>	1	0	1
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	0	1	1
Ukupno	55	23	78

O – osetljivost, R – rezistentnost

Diskusija

Akutni dentogeni apscesi ne manifestuju se uvek prisustvom svih simptoma infekcije. Iako je otok dominantan simptom kod većine ovih infekcija, regresija otoka ne mora uvek biti isto izražena. Stoga, neretko se dešava da se primenjena antibiotska terapija u prvim danima lečenja protumači kao neadekvatna^{17, 18}. Nažalost, u praksi se vrlo često primenjuje dugotrajna antibiotska terapija sa višim dozama.

Idealno, antibiotska terapija treba da se primenjuje na osnovu postojanja kliničkih simptoma infekcije, a kad dođe do njihove potpune regresije ona bi trebalo da bude prekinuta¹⁷. Topazian i sar.¹⁸ napominju da bi antibiotike trebalo primenjivati dok se ne postigne obeskličenje u zoni infekcije, jer ukoliko se to ne postigne, postoji mogućnost recidiva infekcije. Većina autora preporučuje sedmodnevnu antibiotsku terapiju kod akutnih dentogenih infekcija, uz napomenu da se terapija kraća od sedam dana retko kada preporučuje, čak i kod većine blagih infekcija koje se leče ambulantno^{1, 19, 20}. Peterson⁹ navodi podatak da napredak u lečenju akutnih dentogenih apscesa, od momenta otpočinjanja terapije, treba očekivati već drugog dana, a značajno poboljšanje trećeg dana. I u takvim slučajevima, međutim, preporučuje sedmodnevnu antibiotsku terapiju, ali i to, da se ona ipak može individualizovati, odnosno skratiti na osnovu praćenja progressa u terapiji infekcije.

Mada je uobičajena praksa da se kod ovih vrsta infekcija propisuje najkraće petodnevna ili sedmodnevna antibiotska terapija, ovakvi stavovi bivaju sve više osporavani^{3, 17, 19, 20}. Izvesna istraživanja pokazala su da trajanje primene antibiotika može biti i kraće i ukazuju da ukoliko bolesnik pokazuje kliničke znake regresije infekcije ne postoji potreba za produžavanjem antibiotske terapije^{4-6, 10, 18}.

onog momenta kada dođe do potpune regresije kliničkih znakova infekcije.

Iako brojni autori ukazuju da je hirurška terapija najvažniji postupak u terapiji akutnih dentogenih apscesa, u literaturi nema puno podataka o izolovanoj primeni hirurške terapije^{4, 6, 18, 46}. Al-Belasy i Hairam¹⁰ navode da je grupa bolesnika koja nije dobijala antibiotike uspešno izlečena nakon sedam dana, kao i grupe koje su dobijale antibiotike, s tim što je regresija bolova i otoka bila izraženija drugog i trećeg dana kod onih koji su dobijali antibiotike nego kod onih koji su lečeni bez antibiotika. Dobijeni rezultati i u našem istraživanju pokazuju da su svi bolesnici hirurške grupe uspešno izlečeni primenom hirurških postupaka bez upotrebe antibiotika, što ukazuje na značaj ranog uklanjanja uzroka koji je doveo do apscesa. U ovoj grupi ispitanika, do značajne regresije simptoma dolazilo je trećeg (83,3%) i četvrtog dana (86,6%), ali potpuni gubitak svih registovanih simptoma, kod najvećeg broja ispitanika hirurške grupe zabeležen je šestog (46,7%) i sedmog dana (30,0%), odnosno u proseku 6,17 dana. Stoga, rezultati našeg istraživanja pokazuju da je i u slučajevima lakih oblika akutnih dentogenih infekcija, pored primene hirurškog metoda lečenja, korisno ordinirati antibiotike, jer njihovo uvođenje u terapiju značajno skraćuje vreme potrebno do potpunog izlečenja.

Teško je precizno definisati sve mikroorganizme koji učestvuju u patogenezi apscesa, jer posle prikupljanja uzorka gnoja, sama lezija je narušena i vrste koje se identifikuju predstavljaju samo mikroorganizme koji preovlađuju u leziji, ali ne i sve mikroorganizme¹⁵. Danas, većina autora ukazuje na striktno anaerobnu prirodu većine bakterija koje uzrokuju dentogeni apsces. Feldman i Large²¹, međutim, još davne 1966. godine ustanovili su predominaciju sojeva *S. viridans* uz podjednaku zastupljenost mikrobioloških kultura jedne ili

dve vrste bakterija, dok je procentualna zastupljenost anaerobnih i mešovitih mikrobioloških nalaza (3–6 vrsta mikroorganizama) bila znatno manja. Rega i sar.²² u studiji sprovedenoj kod 103 bolesnika, navode da su od izolovanih 269 bakterijskih sojeva 178 (65,7%) činile fakultativno anaerobne bakterije, a najzastupljenija bakterija bila je *S. viridans*. Dirks i Terezhalmay²³ ističu da u mešovitoj bakterijskoj flori dentogenih infekcija fakultativno anaerobne bakterije, naročito *S. viridans* udružen sa striktno anaerobnim bakterijama, predstavlja predominantnu floru. U studiji Bresco-Salinas i sar.²⁴ sprovedenoj na 64 bolesnika sa dentogenom infekcijom kod kojih su izolovane 184 različite bakterije, Gram-pozitivne fakultativno anaerobne bakterije (68%) bile su najzastupljenije. Takođe, Chan i sar.²⁵ navode podatak da je kod 74 bolesnika sa dentogenom infekcijom izolovano 178 različitih sojeva bakterija, ali da su predominantnu floru činile fakultativno anaerobne Gram-pozitivne bakterije. Podaci iz studija navedenih autora u potpunoj su korelaciji sa rezultatima našeg istraživanja, u okviru koga su najveću učestalost u ranoj fazi razvoja apscesa pokazivale fakultativno anaerobne Gram-pozitivne bakterije (84,6%), a predominantno zastupljena bakterija bila je *S. viridans* (43/78).

Primena suviše malih doza ili primena dugotrajne antibiotske terapije favorizuje nastanak rezistentnih sojeva mikroorganizama. Shodno tome, navodi se podatak o rastućoj pojavi rezistencije bakterija, uzročnika dentogenih infekcija, na brojne antibiotike, naročito one iz beta-laktamske grupe, koji su se do sada široko primenjivali u terapiji ovih infekcija²⁶.

Litterio i sar.²⁷ navode da je osetljivost izolovanih anaerobnih bakterija na testirane beta-laktamske antibiotike bila najmanja na ampicilin.

Nivo *in vitro* osetljivosti izolovanih bakterija na ampicilin u našem istraživanju bio je prilično visok, 70,5%. I drugi autori navode podatke koji su slični našim rezultatima. Eckert i sar.²⁸, takođe, navode podatak o retkoj rezistenciji (8,8%) izolovanih bakterija na ampicilin. Traub i Leonhard^{29,30} u svojim studijama ističu da je osetljivost izolovanih bakterija na ampicilin bila visoka, 66,9%. Rozkiewicz i sar.³¹ navode da je od ukupno 426 izolovanih sojeva bakterije *S. viridans* najmanji stepen rezistencije (16,7%) registrovan na ampicilin. Limeras i sar.³² navode da je najveći procenat (96%) izolovanih *streptococcus* sojeva iz dentogenih apscesa bio osetljiv na ampicilin.

Poređenjem vrednosti dobijenih u našem istraživanju o registrovanoj rezistenciji izolovanih bakterija na ampicilin u *in vitro* uslovima i kliničkom delu istraživanja primećujemo usklađenost dobijenih mikrobioloških i kliničkih vrednosti. Stoga, mišljenja smo da je vreme javljanja bolesnika sa akutnim dentogenim apscesom lekaru, kao i vreme uzimanja uzorka od momenta njegovog formiranja, značajan faktor koji utiče na mikrobiološki nalaz, a samim tim i na izbor antibiotika, kao i na njegovu efikasnost.

Zaključak

Izolovani bakterijski sojevi u ranoj fazi dentoalveolarnog apscesa pokazuju visoku osetljivost na ampicilin. Njegova pravovremena i vremenski definisana primena u dovoljnoj dozi pokazuje visoku kliničku efikasnost u pogledu značajnog skraćenja trajanja kliničkih simptoma apscesa kod bolesnika kod kojih je primenjeno i hirurško lečenje.

L I T E R A T U R A

- Gutiérrez-Pérez JL, Perea-Pérez EJ, Romero-Ruiz MM, Girón-González JA. Orofacial infections of odontogenic origin. *Med Oral* 2004; 9(4): 280–7. (English) (Spanish)
- Bratton TA, Jackson DC, Nkungula-Howlett T, Williams CW, Bennett CR. Management of complex multi-space odontogenic infections. *J Tenn Dent Assoc* 2002; 82(3): 39–47.
- Peterson LJ. Principles of management and prevention of odontogenic infections. In: Peterson LJ, Ellis E, Hupp JR, Tucker MR, editors. *Contemporary Oral and Maxillofacial Surgery*. 4ed. St. Louis: Mosby; 1998. p. 344–66.
- Levis MA, McGowan DA, MacFarlane TW. Short-course high-dosage amoxicillin in the treatment of acute dento-alveolar abscess. *Br Dent J* 1986; 161(8): 299–302.
- Martin MV, Longman LP, Hill JB, Hardy P. Acute dentoalveolar infections: an investigation of the duration of antibiotic therapy. *Br Dent J* 1997; 183(4): 135–7.
- Fazakerley MW, McGowan P, Hardy P, Martin MV. A comparative study of cephadrine, amoxicillin and phenoxymethylpenicillin in the treatment of acute dentoalveolar infection. *Br Dent J* 1993; 174(10): 359–63.
- von Konow L, Köndell PA, Nord CE, Heimdahl A. Clindamycin versus phenoxymethylpenicillin in the treatment of acute orofacial infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; 11(12): 1129–35.
- Gilmore WC, Jacobus NV, Gorbach SL, Doku HC, Tally FP. A prospective double-blind evaluation of penicillin versus clindamycin in the treatment of odontogenic infections. *J Oral Maxillofac Surg* 1988; 46(12): 1065–70.
- Peterson JL. Principles of surgical and antimicrobial infection management. In: Topazian R, Goldberg M, Hupp RJ. *Oral and maxillofacial infections*. 4th ed. W.B. Saunders Company; 2002. p. 99–112.
- Al-Belasy FA, Hiram AR. The efficacy of azithromycin in the treatment of acute infraorbital space infection. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; 61(3): 310–6.
- Tomasz A. Multiple-antibiotic-resistant pathogenic bacteria. A report on the Rockefeller University Workshop. *N Engl J Med* 1994; 330(17): 1247–51.
- Bischof WH. The use of systemic antibiotics in dental practice. *Ann R Australas Coll Dent Surg* 1998; 14: 62–5.
- Prostran M, Kažić T. Antibiotics-rational use. Belgrade: Section for clinical pharmacology DFJ; 1997. (Sebian)
- Simić D, Kažić T. Antibacterial medications. In: Simić D, ed. *Rational therapy*, 6th ed. Naučna knjiga, Belgrade; 1993. p. 91–130.
- Martindale 1996. *The extra pharmacopoeia*. 31st ed. London: Royal Pharmaceutical Society; 1996.
- Hancock RE. Peptide antibiotics. *Lancet* 1997; 349(9049): 418–22.
- Marsh PD, Martin MV. *Oral Microbiology*. 5th ed. Reed Educational and Professional Publishing; 2002.
- Topazian R, Goldberg M, Hupp RJ. *Oral and maxillofacial infections*. 4th ed. W.B. Saunders Company; 2002.
- Peterson LJ. Principles of antibiotic therapy. In: Topazian RG, Goldberg MH, Hupp JR, editors. *Oral and maxillofacial infec-*

- tions. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2002. p. 99–111.
20. *Montgomery EH*. Antibacterial antibiotics. In: *Yaggiela JA, Neidle EA, Dowd FJ*, editors. Pharmacology and therapeutics for dentistry. 4th ed. St. Louis: Mosby-Year Book; 1998. p. 496–533.
21. *Feldmann G, Larje O*. The bacterial flora of submucous abscesses originating from chronic exacerbating osteitis. *Acta Odontol Scand* 1966; 24(2): 129–45.
22. *Rega AJ, Azizi SR, Ziccardi VB*. Microbiology and antibiotic sensitivities of head and neck space infections of odontogenic origin. *J Oral Maxillofac Surg* 2006; 64(9): 1377–80.
23. *Dirks SJ, Terezhalmay GT*. The patient with an odontogenic infection. *Quintessence Int* 2004; 35(6): 482–502.
24. *Bresó-Salinas M, Costa-Riu N, Berini-Aytés L, Gay-Escoda C*. Antibiotic susceptibility of the bacteria causing odontogenic infections. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; 11(1): E70–5. (English) (Spanish)
25. *Chan Y, Chan CH*. Antibiotic resistance of pathogenic bacteria from odontogenic infections in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 2003; 36(2): 105–10.
26. *Ashkenazi M, Ashkenazi S*. Judicious use of antibiotics in dental practice. *Refuat Hapeh Vehashinayim* 2004; 21(4): 27–34, 94. (Hebrew)
27. *Litterio M, Bianchini H, Carloni G, Di Martino A, Fernández Canigia L, Greco G*, et al. "In vitro" activity of ten antimicrobial agents against anaerobic bacteria. A collaborative study, 1999–2002. *Rev Argent Microbiol* 2004; 36(3): 130–5. (Spanish)
28. *Eckert AW, Maurer P, Wilhelms D, Schubert J*. Bacterial spectra and antibiotics in odontogenic infections. Renaissance of the penicillins? *Mund Kiefer Gesichtschir* 2005; 9(6): 377–83. (German)
29. *Traub WH, Leonhard B*. Comparative susceptibility of clinical group A, B, C, F, and G beta-hemolytic streptococcal isolates to 24 antimicrobial drugs. *Chemotherapy* 1997; 43(1): 10–20.
30. *Traub WH, Leonhard B*. Antibiotic susceptibility of alpha- and nonhemolytic streptococci from patients and healthy adults to 24 antimicrobial drugs. *Chemotherapy* 1997; 43(2): 123–31.
31. *Rozkiewicz D, Daniluk T, Sciepek M, Zaremba ML, Cylwik-Rokicka D, Luczaj-Cepowicz E*, et al. Prevalence rate and antibiotic susceptibility of oral viridans group streptococci (VGS) in healthy children population. *Adv Med Sci* 2006; 51 Suppl 1: 191–5.
32. *Limeres J, Tomás I, Alvarez M, Diç P*. Empirical antimicrobial therapy for odontogenic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 100(3): 263–4.

Rad primljen 23. VII 2008. god.



Do stone size and impaction influence therapeutic approach to proximal ureteral stones?

Da li veličina i inklavisanost kamena utiču na terapijski pristup kamenu u proksimalnom delu uretera?

Slobodan Radulović*, Aleksandra Vuksanović†, Dragica Milenković-Petronić†, Božo Vavić*

Zvezdara University Medical Center, *Department of Urology, Belgrade; Clinical Center of Serbia, †Institute for Urology and Nephrology, Belgrade

Abstract

Background/Aim. Primary therapeutic approach to lumbar ureteral stones is still controversial. The aim of the study was to investigate the influence of stone impaction and size on the effectiveness of proximal ureteral stone lithotripsy. **Methods.** A total of 123 patients with proximal ureteral stones were investigated in this prospective study performed in a 10-month period. The patients were divided into the group I – 86 patients treated with extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL) and the group II – 37 patients treated with “Swiss” Lithoclast. In the group I, 49 stones (57%) were classified as impacted, while 20 stones (23.3%) were larger than 100 mm². In the group II, 26 stones (70.3%) were impacted, and 11 stones (29.7%) were larger than 100 mm². Stones were defined as impacted by the radiographic, echosonographic as well as endoscopic findings in the group II of patients. Stone size was presented in mm². Chemical composition of stones were almost the same in both groups of the patients. **Results.** Generally, there was no statistically significant difference in the treatment success between the groups. However, stones larger than 100 mm² were statistically more successfully treated endoscopically, while there was no statistical difference in the treatment success of impacted stones between these two groups. **Conclusion.** ESWL can be considered as primary first therapeutic approach in treatment of all proximal ureteral stones except for stones larger than 100 mm² that should primarily be treated endoscopically.

Key words: urolithiasis; ureteral calculi; therapeutics; lithotripsy; endoscopy; treatment outcome.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Primarni pristup u lečenju kamena uretera i danas je predmet naučnih kontroverzi naročito kad je u pitanju lokalizacija kamena u proksimalnom delu uretera. Cilj rada bio je da se ispita uticaj inklavisanosti i veličine kamena na efikasnost dezintegrativnih metoda lečenja kod te lokalizacije u ureteru. **Metode.** U 10-mesečnoj prospektivnoj studiji ispitana su 123 bolesnika sa kamenom u proksimalnom delu uretera. U zavisnosti od primenjene metode dezintegracije bolesnici su bili podeljeni u grupu I – 86 bolesnika tretiranih ekstrakorporalnom udarnotalasnom litotripsijom (ESWL) kod kojih je dokazana inklavisanost 49 kalkulusa (57,0%), a površina kamena bila je veća od 100 mm² kod 20 kalkulusa (23,3%) i grupu II – 37 bolesnika kod kojih je primenjena endoskopska litotripsija aparatom „Swiss“ Lithoclast, kod kojih je inklavisanost konstatovana kod 26 kalkulusa (70,3%), a površina veća od 100 mm² kod 11 kalkulusa (29,7%). Procena inklavisanosti kalkulusa vršena je na osnovu ehosonografskog, radiografskog, a u II grupi i endoskopskog nalaza. U obe grupe bolesnika hemijski sastav kamena bio je identičan. **Rezultati.** U pogledu efikasnosti dezintegracije kamena nije bilo statistički značajne razlike između ESWL i Lithoclasta. Kod površine kamena veće od 100 mm² značajno bolji rezultati postignuti su primenom endoskopske dezintegracije, dok inklavisanost kamena nije uticala statistički značajno na rezultate ni u jednoj grupi bolesnika. **Zaključak.** Metoda ESWL može se smatrati primarnom metodom izbora u lečenju kamena proksimalnog dela uretera, osim onih čija je površina veća od 100 mm² koje bi primarno trebalo tretirati endoskopski.

Ključne reči: urolitijaza; kamenci, ureteralni; lečenje; litotripsija; endoskopija; lečenje, ishod.

Introduction

Extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL) and ureteroscopic lithotriptors developed in the last two decades of the 20th century represent a revolution in urology and lead to modern era – an era of minimally invasive therapy of ureteric stones. Before 1992 ESWL was considered to be the first therapeutic choice for ureteral stones in all parts of ureter. Later studies, however, revealed better results of distal ureteral stones treatment by ureteroscopic approach^{1,2}. Till now ESWL has been considered as first treatment option for lumbar ureteral stones because of lower complications rate and auxiliary procedures rate, comparing to ureteroscopic treatment. The question of first therapeutic approach to ureteral stones is still contraversial especially for stones located in the proximal part of ureter. Large number of investigators did not find significant difference in treatment success between ESWL and ureteroscopy, regarding proximal ureteral stone localization³⁻⁸. Beside that, some authors reported even better results of proximal ureteral stone treatment with ureteroscopic lithotripsy than with ESWL⁹⁻¹¹. For these reasons, there is a certain need to investigate which factors have influence on proximal ureteral stones lithotripsy effectiveness, as well as what would be the first therapeutic choice.

So, the aim of our study was to investigate the influence of stone impaction and size on proximal ureteral stones lithotripsy effectiveness.

Methods

A total of 123 patients with proximal ureteral stones were investigated in this prospective study performed in a 10 months period. Patients were divided in the group I – 86 patients treated with ESWL (Siemens Lithostar, Germany) and the group II – 37 patients treated ureteroscopically with “Swiss” Lithoclast (EMS, Switzerland). Indications for treatment were also the same in both groups of the patients: stone size 7 mm with probability of spontaneous elimination less than 20%, or the absence of spontaneous stone elimination in a more than 30-day period of clinical evolution, with standard stone visualization diagnostic procedures performed (echosonography, kidneys, ureters and bladder radiography – KUB, intravenous urography). In the group I 49 stones (57.0%) were classified as impacted, and 20 stones (23.3%) were larger than 100 mm². In the group II 26 stones (70.3%) were impacted, and 11 stones (29.7%) larger than 100 mm². Stone were defined as impacted by the following diagnostic criteria: persistent or worsened hydronephrosis on successive echosonograms (Figure 1) or contrast radiograms (Figure 2) and by endoscopic findings such as edema and ureteral mucosa inflammation around and distal of stone impaction. Stone size was presented in mm².

Lithotripsy efficiency was estimated by echosonography and KUB performed 10–14 days after the procedure in the group I, immediately or one day after the procedure in the group II and after three months in both groups of the patients. Statistical difference of obtained data was analysed by χ^2 test.



Fig. 1 – Urinary tract echosonogram: marked right hydronephrosis caused by impacted and bulky (21 mm in diameter) proximal ureteric stone



Fig. 2 – Radiographic appearance of impacted proximal ureteric stone: marked uretero-hydronephrosis caused by 10 x 7 mm large stone, with no contrast visualization distal of stone impaction on intravenous urogram (framed area)

Results

There was no difference in distribution of patients regarding age and male/female ratio. The group I of patients consisted of 51 men, age 25–77 (average 53.1) years and 35 women, age 18–80 (average 50.2) years. The group II of patients consisted of 27 men, age 17–76 (average 49.3) years and 10 women, age 29–74 (average 51.8) years. Chemical composition of stones were investigated by X-ray diffraction and were almost the same in both groups of the patients, with predominance of calcium-oxalate in more than 60% of the cases. Calcium-oxalate monohydrate was predominant in more than 50% of calcium-oxalate stones.

Stone impaction was analyzed in Table 1. There were no statistical difference in the number of impacted stones between the groups I and II ($\chi^2 = 1.921, p > 0.05$).

Table 1
Proximal ureteric stone impaction in patients treated with extracorporeal shock wave lithotripsy (group I) and "Swiss" Lithoclast (group II)

Impacted stone	Number (%) of patients	
	group I	group II
No	37 (43%)	11 (29.7%)
Yes	49 (57%)	26 (70.3%)
Total	86 (100.0%)	37 (100.0%)

In the group I stone size varied from 16 to 275 (averagely 82.8) mm² with stones larger than 100 mm² in 23.3% of cases. In the group II stone size varied from 15 to 275 (averagely 86.7) mm², with stones larger than 100 mm² registered in 29.7% of patients. Analysis of data from Table 2 showed no statistical difference in the number of stones larger than 100 mm² between the two groups of the patients ($\chi^2 = 0.575, p > 0.05$).

There were no significant difference in disintegration success between the two groups ($\chi^2 = 0.235, p > 0.05$) (Table 3). Success was defined as the absence of stone fragments on KUB performed up to three months after the treatment. Partial success was defined as the presence of fragments, smaller than stone burden before lithotripsy, even three months after the procedure. The presence of stone unchanged size after procedure was defined as unsuccessful.

In spite of procentual superiority of ballistic lithotripsy to ESWL regarding the number of successful procedures as shown in Table 4, statistical analysis, however, revealed no significant difference between the two groups of patients in impacted proximal ureteral stone treatment success ($\chi^2 = 2.605, p > 0.05$).

Unlike stone impaction, analysis of influence of stone size on lithotripsy success showed that proximal ureteral stones larger than 100 mm² were significantly more successfully treated with Lithoclast than with ESWL ($\chi^2 = 4.045, p < 0.05$) (Table 5).

Table 2
Proximal ureteric stone quadrature in patients treated with extracorporeal shock wave lithotripsy (group I) and "Swiss" Lithoclast (group II)

Stone quadrature	Number (%) of patients	
	group I	group II
Smaller than 100mm ²	66 (76.7%)	26 (70.3%)
Larger than 100mm ²	20 (23.3%)	11 (29.7%)
Total	86 (100.0%)	37 (100.0%)

Table 3
Lithotripsy effectiveness in patients treated with extracorporeal shock wave lithotripsy (group I) and "Swiss" Lithoclast (group II)

Lithotripsy effectiveness	Number (%) of patients	
	group I	group II
Success	59 (68.6%)	27 (73.0%)
Partial success and failure	27 (31.4%)	10 (27.0%)
Total	86 (100.0%)	37 (100.0%)

Table 4
Impacted stones lithotripsy effectiveness in patients treated with extracorporeal shock wave lithotripsy (group I) and "Swiss" Lithoclast (group II)

Lithotripsy effectiveness	Number (%) of patients	
	group I	group II
Success	26 (53.1%)	19 (73.1%)
Partial success	10 (20.4%)	2 (7.7%)
Failure	13 (26.5%)	5 (19.2%)
Total	49 (100.0%)	26 (100.0%)

Table 5
Lithotripsy effectiveness of stones larger than 100 mm² in patients treated with extracorporeal shock wave lithotripsy (group I) and "Swiss" Lithoclast (group II)

Lithotripsy effectiveness	Number (%) of patients	
	group I	group II
Success	7 (35.0%)	8 (72.7%)
Partial success	5 (25.0%)	
Failure	8 (40.0%)	3 (27.3%)
Total	20 (100.0%)	11 (100.0%)

Discussion

Advancements in medical technology for urolithiasis treatment mode after 1980 brought significant advantages. Comparing to ureterolithotomy, ESWL and ureteroscopic procedures are minimally invasive therapeutic approaches for those ureteral stones that cannot be eliminated spontaneously due to their size or degree of impaction either. The advantages of these two therapeutic approaches are well known: possibility of treatment in analgesia or analgosedation and consequently in outpatient unit, less frequent intras well as postoperative complications and less working inability of patients. In order to make ureteric stone treatment more efficient and rational, question of gold therapeutic standard – primary therapeutic choice, is arising. Having in mind similar success rate of ESWL and ureteroscopic procedures, ESWL was considered favorable for proximal ureteral stones treatment due to lower complication rate comparing to ureteroscopic treatment. Additionally, there are many reports demonstrating that retrograde stone propulsion during procedure is the most common cause of unsuccessful endoscopic treatment. Reported success for ureteral stone treatment was from 71%, with 28.9% retrograde propulsion of stone fragments¹², to 100%, but with retrograde fragment propulsions registered in 48% of cases¹³. Percentage of retrograde stone propulsion varied from just 5.5%¹⁴, to even 60%¹⁵. In such cases additional ESWL treatment was necessary. In our study endoscopic lithotripsy of proximal ureteral stones was successful in 73% of cases with 21.6% retrograde stone propulsions. Puppo et al.⁹ reported the success of 93.6% regardless stone localization and recommended ballistic lithotripsy with “Swiss” Lithoclast as first therapeutic options for all ureteral stones.

In our study ESWL was successful in 68.6% of the cases. Gonzales et al.⁴ on the other side reported 97% successful ESWL procedures in their study. Regarding percentage of “stone free” outcomes, large numbers of authors emphasize stone size, stone impaction and chemical structure as the most important factors influencing ESWL success^{4, 16}.

Based on the results obtained comparing ESWL with Modulith SL20 device and “Swiss” Lithoclast treatment of ureteral stones, Eden et al.¹⁰ concluded that ESWL is optimal treatment for stone size below 8 mm, while for stones larger than 8 mm and multiple stones Lithoclast should be first therapeutic option. Eden’s attitude was also confirmed by other authors^{4, 17–21}. Kim et al.²² achieved cumulative “stone free” status with Siemens Lithostar: 100% for stone smaller than 5 mm, 90% for stones 6–10 mm, 87% for stones 11–15 mm, 70% for stones 16–20 mm, 67% for stones 21–25 mm and only 50% for stones larger than 25 mm and thus concluded that ureteral stone size has very important influence on ESWL outcome ($p < 0.01$). Our study also confirms the results of Kim’s²² study, by 72.7% success rate for Lithoclast lithotripsy comparing to only 35% success ac-

complished with ESWL for ureteral stones larger than 100 mm² ($p < 0.05$).

One of the factors that can influence ureteral stone minimally invasive treatment outcome is stone impaction. Dretler and Weinstein²³ reported in 1988 the opinion that impacted ureteral stone should be primarily treated endoscopically. Later reports^{24, 25} confirmed the opinion of Yagisawa et al.²⁶ too, by 91% successful pneumatic ureteroscopic lithotripsies of impacted ureteral stones and only 9% failed lithotripsies due to retrograde stone propulsion or sharp ureteric curve below a stone site. By other authors attitudes²⁷, the best therapeutic effect in cases of impacted stone can be achieved by stone pushing back from ureter to kidney and than its ESWL treatment. On the other side, Srivastava et al.²⁸ achieved 93% successful results by *in situ* ESWL treatment of no impacted ureteral stones and only 35% successful results in impacted stones group. Kim et al.²² also confirmed a high influence of ureteral stone impaction on ESWL outcome. In their study, ESWL of ureteral stones was 100% successful in no obstructed ureter, 80% successful in mild obstructed ureter and only 50% successful in completely obstructed ureter (defined as an absence of contrast excretion from obstructed kidney). Other authors, however, consider that ESWL of impacted stone in ureter is a therapeutic method of choice, but not in cases of high degree of stone impaction in whom previous urine drainage is indicated¹¹. For such cases ureteroscopic lithotripsy should be primarily performed. Statistical analysis of our study, in spite of 73% successful Lithoclast lithotripsies and 53% successful ESWL treatments, did not confirm a significant influence of stone impaction on ESWL and Lithoclast treatment success. The results of our study are at least statistically consonant with Sinha’s et al.²⁹ results by which ESWL of impacted and no impacted ureteral stones were equally successful – in 76.7% of cases (stones were defined as impacted in cases of no visualization of contrast distal of stone site). Among factors that influence ESWL successfulness, such are stone impaction, localization, number of stones, first ESWL session failure and patient sex, age and obesity, stone size and distal ureteral stone localization alone have the strongest negative influence on ESWL treatment outcome^{16, 19}.

Conclusion

The results of our study showed no statistically significant difference between “Swiss” Lithoclast and ESWL in proximal ureteral stones treatment. Evaluation of stone impaction and stone size influence on treatment success showed significantly more efficient treatment of proximal ureteral stones larger than 100 mm² with Lithoclast, while stone impaction had no influence on the treatment efficiency difference between two methods. Based on these results, ESWL should be considered as first therapeutic approach for all proximal ureteral stones, except for stones larger than 100 mm² that should be primarily treated endoscopically.

R E F E R E N C E S

- Hofbauer J, Tuerk C, Hobarth K, Hasun R, Marberger M. ESWL in situ or ureteroscopy for ureteric stone? *World J Urol* 1993; 11: 54–8.
- Denstedt JD, Razvi HA, Rowe E, Grignon DJ, Eberwein PM. Investigation of the tissue effects of a new device for intracorporeal lithotripsy—the Swiss Lithoclast. *J Urol* 1995; 153(2): 535–7.
- Umeyama T, Kawada T, Takahashi O, Tsuchiya K, Nakamura T, Uehara H, et al. Treatment of ureteral calculi by extracorporeal shock wave lithotripsy. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 1990; 81(6): 868–72. (Japanese)
- González Enguita C, Cabrera Pérez J, Calaborra Fernández FJ, Cancho Gil MJ, Vela Navarrete R. Treatment of ureteral lithiasis with shock waves. *Arch Esp Urol* 2001; 54(9): 971–82. (Spanish)
- Nabi G, Baldo O, Cartledge J, Cross W, Joyce AD, Lloyd SN. The impact of the Dornier Compact Delta lithotripter on the management of primary ureteric calculi. *Eur Urol* 2003; 44(4): 482–6.
- Hochreiter WW, Danuser H, Perrig M, Studer UE. Extracorporeal shock wave lithotripsy for distal ureteral calculi: what a powerful machine can achieve. *J Urol* 2003; 169(3): 878–80.
- Netto Júnior N, Claro JF, Ferreira U, Lemos GC. Lumbar ureteric stones: which is the best treatment? *Urology* 1991; 38(5): 443–6.
- Zanetti G, Seveso M, Montanari E, Guarneri A, Rovera F, Trinchieri A. Extracorporeal shock wave lithotripsy in the treatment of ureteral lithiasis: methodological controversies and therapeutic efficacy. *Arch Ital Urol Androl* 1996; 68(4): 277–82.
- Puppo P, Ricciotti G, Bozzzo W, Introini C. Primary endoscopic treatment of ureteric calculi. A review of 378 cases. *Eur Urol* 1999; 36(1): 48–52.
- Eden CG, Mark IR, Gupta RR, Eastman J, Shrotri NC, Tiptaft RC. Intracorporeal or extracorporeal lithotripsy for distal ureteral calculi? Effect of stone size and multiplicity on success rates. *J Endourol* 1998; 12(4): 307–12.
- Arrabal-Martín M, Pareja-Vilobes M, Gutiérrez-Tejero F, Miján-Ortiz JL, Palao-Yago F, Zuluaga-Gómez A. Therapeutic options in lithiasis of the lumbar ureter. *Eur Urol* 2003; 43(5): 556–63.
- Akhtar MS, Akhtar FK. Utility of the lithoclast in the treatment of upper, middle and lower ureteric calculi. *Surgeon* 2003; 1(3): 144–8.
- Robert M, Bennani A, Guiter J, Avérous M, Grasset D. Treatment of 150 ureteric calculi with the Lithoclast. *Eur Urol* 1994; 26(3): 212–5.
- Leidi GL, Berti GL, Canclini L, Giola V, Maccaroni A, Raimoldi A, et al. Ureteroscopy and stone lithotripsy with lithoclast: personal experience. *Arch Ital Urol Androl* 1997; 69(3): 181–3.
- Terai A, Takenuchi H, Terachi T, Kawakita M, Okada Y, Yoshida H, et al. Intracorporeal lithotripsy with the Swiss Lithoclast. *Int J Urol* 1996; 3(3): 184–6.
- Shiroyanagi Y, Yagisawa T, Nanri M, Kobayashi C, Toma H. Factors associated with failure of extracorporeal shock-wave lithotripsy for ureteral stones using Dornier lithotripter U/50. *Int J Urol* 2002; 9(6): 304–7.
- Gnanapragasam VJ, Ramsden PD, Murthy LS, Thomas DJ. Primary in situ extracorporeal shock wave lithotripsy in the management of ureteric calculi: results with a third-generation lithotripter. *BJU Int* 1999; 84(7): 770–4.
- Kageyama S, Hirai S, Higashi Y. An investigation of factors associated with failure of extracorporeal shock wave lithotripsy for ureteral calculi. *Hinyokika Kyo* 2000; 46(6): 371–6. (Japanese)
- Delakas D, Daryotis I, Daskalopoulos G, Lianos E, Mavromanolakis E. Independent predictors of failure of shockwave lithotripsy for ureteral stones employing a second generation lithotripter. *J. Endourol* 2003; 17(4): 201–5.
- Robert M, Delbos O, Guiter J, Grasset D. In situ piezoelectric extracorporeal shock wave lithotripsy of ureteric stones. *Br J Urol* 1995; 76(4): 435–9.
- Sfaxi M, Miladi M, Ben Hassine L, Jemni M, Chebil M, Ayed M. Treatment of ureteral stones by ESWL. Indications and results in 201 cases. *Prog Urol* 2003; 13(1): 50–3. (French)
- Kim HH, Lee JH, Park MS, Lee SE, Kim SW. In situ extracorporeal shockwave lithotripsy for ureteral calculi: investigation of factors influencing stone fragmentation and appropriate number of sessions for changing treatment modality. *J Endourol* 1996; 10(6): 501–5.
- Dretler SP, Weinstein A. A modified algorithm for the management of ureteral calculi: 100 consecutive cases. *J Urol* 1988; 140(4): 732–6.
- Wada S, Kishimoto T, Ameno Y, Harima M, Kamizuru M, Limori H, et al. Evaluation of the results of extracorporeal shock-wave lithotripsy (ESWL) for solitary upper urinary tract stone. *Hinyokika Kyo* 1991; 37(12): 1633–7. (Japanese)
- Yamamoto K, Katoh Y, Kumata N, Kishimoto T, Wada S, Sakamoto W, et al. Extracorporeal shock wave lithotripsy for ureteral stones and cystine stones. *Hinyokika Kyo* 1991; 37(10): 1121–4. (Japanese)
- Yagisawa T, Kobayashi C, Ishikawa N, Kobayashi H, Toma H. Benefits of uteroscopic pneumatic lithotripsy for the treatment of impacted ureteral stones. *J. Endourol* 2001; 15(7): 687–9.
- Morgentaler A, Bridge SS, Dretler SP. Management of the impacted ureteral calculus. *J Urol* 1990; 143(2): 263–6.
- Srinastava A, Murthy PVLN, Sasidharan K. Intracorporeal lithotripsy of lumbar and iliac calculi: is it the most viable option? *Indian Journal of Urology* 1996; 12(2): 51–4.
- Sinha M, Kekre NS, Chacko KN, Devasia A, Lionel G, Pandey AP, Gopalakrishnan G. Does failure to visualize the ureter distal to an impacted calculus constitute an impediment to successful lithotripsy? *J Endourol* 2004; 18(5): 431–5.

The paper received on July 28, 2008.



ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД
ВОЈНОМЕДИЦИНСКА АКАДЕМИЈА
Црнотравска 17, 11040 Београд, Србија
Тел/факс: +381 11 2669689
vmaini2@hotmail.com
vmaini2@eunet.yu

Пристап чланцима публикованим у часопису Војносанитетски преглед у *pdf* формату

По узору на велике издавачке куће у свету које публикују и часописе из области биомедицине као и раширену праксу *on line* доступности медицинске периодике и чланака преко *Interneta* у *pdf* формату (програм *Adobe Reader*) и Војносанитетски преглед, пратећи савремене трендове издаваштва и доступности у електронској форми, нуди свим заинтересованима чланке у *pdf* формату публиковане од 2002. године до данас. Од 2002. године часопис је доступан преко *EBSCO* базе података у *pdf* формату, али је мали број установа у Србији претплаћен на ову медицинску научноинформацијску базу.

Сви заинтересовани могу преузети жељени чланак у *pdf* формату, из часописа који је доступан преко сајта ВМА: <http://www.vma.mod.gov.yu>



Uticaj kašnjenja u postavljanju dijagnoze na preživljavanje kod bolesnika sa kolorektalnim karcinomom

Implication of late diagnosis for survival of patients with colorectal carcinoma

Darko Zdravković, Dragoljub Bilanović, Tomislav Randelović,
Marija Zdravković, Borislav Tošković

Kliničko bolnički centar „Bežanijska kosa“, Beograd

Apstrakt

Uvod/Cilj. Kolorektalni karcinom predstavlja jedan od najčešćih maligniteta, a ranim otkrivanjem bolesti može se smanjiti mortalitet i poboljšati prognoza. Cilj istraživanja bio je analiza uticaja kašnjenja u postavljanju dijagnoze kolorektalnog karcinoma na preživljavanje bolesnika. **Metode.** U studiju je bilo uključeno 119 bolesnika sa kolorektalnim karcinomom koji su operisani u Hirurškoj klinici Kliničko-bolničkog centra „Bežanijska kosa“ u periodu od 2000. do 2002. Bolesnici su bili podeljeni u dve grupe prema dužini trajanja simptoma: rano operisani bolesnici (ROB), kod kojih su tegobe trajale manje od tri meseca ($n = 51$) i kasno operisani bolesnici (KOB), kod kojih su tegobe trajale duže od tri meseca ($n = 68$). Period praćenja bio je 5 godina. **Rezultati.** Gubitak telesne mase, povremeni bolovi u trbuhu i gubitak apetita bili su značajno češći u grupi KOB ($p < 0,01$). Mlađe životno doba, krv u stolici i lokalizacija tumora na rektumu bili su češći u grupi ROB. Ukupno kašnjenje u postavljanju dijagnoze bilo je $2,19 \pm 0,79$ meseci kod ROB i $11,37 \pm 5,68$ meseci kod KOB ($p < 0,01$). Ukupno preživljavanje iznosilo je 44,75%. Petogodišnje preživljavanje imalo je 65,9% bolesnika u grupi ROB i 26,5% u grupi KOB ($\chi^2 = 28,16$, $p < 0,01$). Gubitak telesne mase je dominantna karakteristika bolesnika koji nisu preživeli petogodišnji period ($\chi^2 = 14,26$, $p < 0,01$). Period od dva meseca kašnjenja u postavljanju dijagnoze predstavlja graničnu vrednost u predikciji smrtnog ishoda sa senzitivnošću 75,5% i specifičnošću 90,3%. **Zaključak.** Kašnjenje u postavljanju dijagnoze i stadijum bolesti visoko su značajni faktori preživljavanja bolesnika sa kolorektalnim karcinomom. U svakodnevnoj lekarskoj praksi posebnu pažnju trebalo bi usmeriti na pojavu krvi u stolici, promenu u navikama crevnog pražnjenja, bolove u trbuhu, gubitak telesne mase i sideropenijsku anemiju.

Ključne reči:

kolorektalne neoplazme; dijagnoza; prognoza; preživljavanje, analiza.

Abstract

Background/Aim. Colorectal cancer (CRC) is one of the most frequent diseases and early diagnosis has a potential role to improve survival. The aim of this study was to analyze influence of delay in diagnosis on survival in patients with colorectal cancer. **Methods.** A total of 119 patients with pathohistological diagnosis of CRC were included in the study. They were operated at our Department for Surgery from 2000 to 2002. They were divided into two groups according to the duration of symptoms: early operated patients – EOP (symptoms were presented for 3 months) and late operated patients - LOP (duration of symptoms was more than 3 months). Follow-up period was 5 year. **Results.** Weight loss, intermittent abdominal pain and anorexia were more frequent in LOP ($p < 0.01$). Young age, blood in stool, and tumor localized in rectum were dominant characteristics in EOP ($p < 0.05$). Overall delay in diagnosis was 2.19 ± 0.79 months in EOP and 11.37 ± 5.68 months in LOP. There was highly statistically significant difference between these two groups ($p < 0.01$). Overall survival was 44.75%. Five years survival was 65.9% in the group of EOP and 26.5% in the group of LOP ($\chi^2 = 28.16$, $p < 0.01$). Weight loss was dominant characteristics in the patients who did not survive five years ($\chi^2 = 14.26$, $p < 0.01$). A period of 2 months in delay in diagnosis is “cut-off” value in prediction of death (sensitivity of 75.5% and specificity of 90.3%). **Conclusion.** A delay in diagnosis and stage of the disease are highly significant factors of patients with CRC survival. In everyday medical practice higher importance should be put on weight loss, intermittent abdominal pain, change in bowel habits, as well as on syderopenic anaemia.

Key words:

colorectal neoplasms; diagnosis; prognosis; survival analysis.

Uvod

Kolorektalni karcinom po učestalosti je na drugom mestu u ukupnom obolevanju od malignih bolesti u razvijenim zemljama¹. Incidencija u zemljama zapadne Evrope iznosi 55,4 na 100 000 muškaraca i 34,6 na 100 000 žena². Prosečno petogodišnje preživljavanje bolesnika sa kolorektalnim karcinomom je 52%, a životni rizik od njegovog nastanka u opštoj populaciji iznosi 6%^{3,4}.

Incidencija kolorektalnog karcinoma u našoj zemlji je 57 na 100 000 muškaraca i 42 na 100 000 žena, dok mortalitet iznosi 0,42 kod muškaraca i 0,38 kod žena na 1 000 zdravih osoba u opštoj populaciji. Topografska analiza obolevanja kod oba pola pokazuje najvišu incidenciju u Beogradu, Vojvodini, Moravičkom i Šumadijskom okrugu, a najnižu u Topličkom okrugu⁵.

Najčešći simptomi i znaci kolorektalnog karcinoma su pojava krvi u stolici, promene u navikama crevnog pražnjenja, bol u trbuhu, gubitak telesne mase, malokrvnost, a ređi perforacija i ileus koji su pokazatelji loše prognoze⁶.

Klinička slika, međutim, često ima pritajen i podmukao tok, posebno kada je tumor lokalizovan na desnom kolonu, pa rano otkrivanje bolesti ima ključni značaj u pogledu lečenja ovih bolesnika i njihovog preživljavanja.

Očekivano je da smanjenje dijagnostičkog ili terapijskog kašnjenja, odnosno izgubljenog vremena bude udruženo sa smanjenjem morbiditeta i mortaliteta i poboljšanjem petogodišnjeg preživljavanja. To je dokazano kod karcinoma dojke, dok su, kada je reč o malignitetima drugih lokalizacija, rezultati različiti^{7,8}.

Osim toga, u literaturi je prisutna značajna raznolikost u metodologiji merenja i analize izgubljenog vremena, što otežava poređenje rezultata različitih studija. U više studija analiziran je uticaj izgubljenog vremena kašnjenja u obraćanju lekaru i/ili u postavljanju dijagnoze na preživljavanje bolesnika sa kolorektalnim karcinomom sa kontradiktornim i nehomogenim rezultatima⁹⁻¹¹.

U našoj populaciji slična istraživanja nisu rađena. Takođe, veliki broj bolesnika dolazi u stadijumu komplikacija, što je bio još jedan razlog da se u našoj sredini analizira odnos izgubljenog vremena i preživljavanja kod ovih bolesnika.

Metode

Istraživanjem je bilo obuhvaćeno 119 bolesnika koji su operisani od karcinoma kolona ili rektuma u našoj ustanovi u periodu od 2000. do 2002. god. Osnovni kriterijum za ulazak u istraživanje bila je patohistološka dijagnoza kolorektalnog karcinoma. Bolesnici su bili podeljeni u dve grupe prema dužini trajanja simptoma. Grupu rano operisanih ($n = 51$) činili su bolesnici kod kojih su tegobe trajale manje od tri meseca, a grupu kasno operisanih ($n = 68$) činili su bolesnici kod kojih su tegobe trajale više od tri meseca. Period od tri meseca uzet je arbitrarno, a u skladu sa podacima iz velikog broja studija, gde se ovaj period kretao od tri do šest meseci. Svi podaci o početku bolesti i simptomima dobijeni su prilikom prijema u bolnicu. Pored istorije bolesti i druge medicinske

dokumentacije, izvor podataka bio je i upitnik koji su bolesnici popunjavali prilikom dolaska u bolnicu.

Analizirano je izgubljeno vreme zavisno od bolesnika, ukupno izgubljeno vreme i vreme od postavljanja dijagnoze do operacije. Izgubljeno vreme zavisno od bolesnika definisano je kao vremenski period od pojave prvih simptoma bolesti do obraćanja lekaru. Izgubljeno vreme zavisno od lekara predstavlja vremenski period od kada se bolesnik prvi put obratio lekaru do postavljanja dijagnoze. Ukupno izgubljeno vreme predstavlja zbir izgubljenog vremena zavisnog od bolesnika i izgubljenog vremena zavisnog od lekara. Takođe, razmatrano je vreme od trenutka postavljanja dijagnoze do početka lečenja, odnosno operativnog zahvata.

Za određivanje stadijuma bolesti korišćena je klasifikacija po Dukesu. Planirana dužina praćenja bolesnika bila je pet godina. Prvi klinički pregled bolesnici su imali tri nedelje nakon operacije. Dalja dinamika praćenja određivana je na osnovu stadijuma bolesti prema postojećim preporukama.

Kriterijumi za isključivanje iz istraživanja bili su inflamacijske bolesti creva, autoimune bolesti, prethodne druge maligne bolesti, primena hemio- i zračne terapije, pozitivna porodična anamneza za kolorektalni karcinom, familijarna polipoza, *Sy Lynch* i drugi polipozni sindromi, nepotpuna medicinska dokumentacija i smrt izazvana drugim uzrokom tokom perioda praćenja.

U radu su primenjene metode deskriptivne statistike; od metoda analitičke statistike, korišćene su metode identifikacije empirijskih raspodela i metode za procenu značajnosti razlike (χ^2 -test Studentov t test i Mann-Whitney U test -test sume rangova). Statistička značajnost postojala je ukoliko je $p < 0,05$, a visoka statistička značajnost ukoliko je $p < 0,01$. Za analizu preživljavanja korišćena je Kaplan-Meier metoda, kao i Log Rank test za poređenje preživljavanja među ispitivanim grupama. Za identifikaciju faktora rizika korišćen je univarijacioni i multivarijacioni Koksov proporcioni regresioni model. Senzitivnost i specifičnost određivana je pomoću *Receiver Operating Characteristic* (ROC) krive.

Rezultati

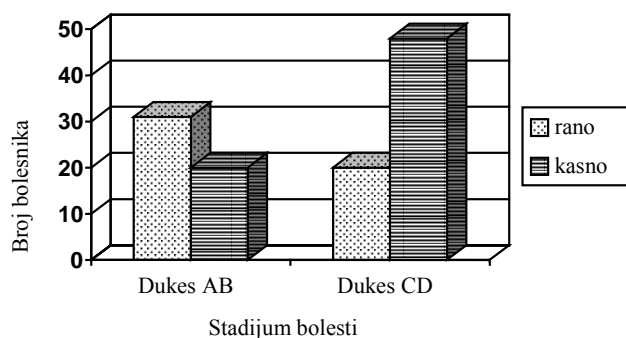
Prosečna starost svih ispitanika bila je $63,5 \pm 9,7$ godina. Od ukupnog broja ispitanika ($n = 119$), bilo je 70 (59%) muškaraca i 49 (41%) žena.

U grupi rano operisanih bio je 51 (42,9%) bolesnik, dok je u grupi kasno operisanih bilo 68 (57,1 %) bolesnika.

Grupa kasno operisanih bolesnika bila je značajno starija u odnosu na grupu rano operisanih bolesnika ($\chi^2 = 4,31$; $p < 0,05$).

Kasno operisani bolesnici bili su češće u odmaklom stadijumu bolesti ($p < 0,01$) (slika 1).

Klinička dijagnoza kolorektalnog karcinoma u najvećem broju postavljena je endoskopski (rektoskopija, sigmoidoskopija, kolonoskopija), irigografijom ili, čak, intraoperativno, ukoliko je bilo reči o ileusu ili perforaciji. Intraoperativna dijagnoza postavljena je kod pet bolesnika u grupi rano operisanih i kod 15 bolesnika u grupi kasno operisanih.



Sl. 1 – Stadijum bolesti kod rano i kasno operisanih bolesnika

šće su bili prisutni gubitak apetita i gubitak telesne mase. Hipohromna anemija bila je prisutna kod 20% bolesnika.

Bolovi u trbuhu, gubitak telesne mase, gubitak apetita i poremećaj dinamike crevnog pražnjenja bili su karakteristični za grupu kasno operisanih bolesnika ($p < 0,01$). Prisustvo krvi u stolici, karakteristika je grupe rano operisanih bolesnika ($p < 0,01$) (tabela 1).

Ukupno petogodišnje preživljavanje svih bolesnika iznosilo je 44,75%. Petogodišnje preživljavanje u grupi rano operisanih bolesnika iznosilo je 65,9%, a u grupi kasno operisanih bolesnika 26,5%. Razlika u petogodišnjem preživljavanju između ove dve grupe bolesnika visoko je statistički značajna ($\chi^2 = 28,16; p < 0,01$)

Učestalost simptoma kod rano i kasno operisanih bolesnika

Tabela 1

Simptom	Rano operisani (n = 51)		Kasno operisani (n = 68)		χ^2	p
	n	%	n	%		
Bol	21	41,0	52	77,0	13,85	< 0,01
Promena navike crevnog pražnjenja	19	37,2	44	64,7	7,75	< 0,01
Krvi u stolici	32	62,7	24	35,3	7,75	< 0,01
Gubitak telesne mase	8	15,7	31	46,6	10,50	< 0,01
Gubitak apetita	8	15,7	29	42,6	9,00	< 0,01

Kolorektalni karcinom kod 23% bolesnika bio je lokalizovan u cekumu i ascensu, kod 11% bolesnika na transverzalnou kolonu i kod 18% bolesnika na descendentnom kolonu. Najveći broj bolesnika imao je tumor na sigmoidnom kolonu (24%) i rektumu (25%).

Upoređivanjem učestalosti tumora lokalizovanih na rektumu i sigmoidnom kolonu u odnosu na tumore ostalih lokalizacija dobijena je statistički značajna razlika, a tumori ove lokalizacije bili su češći kod rano operisanih bolesnika ($\chi^2 = 16,22, p < 0,01$).

Prosečno izgubljeno vreme zavisa od bolesnika zbog navedenih tegoba u grupi rano operisanih bolesnika bilo je jedan mesec ($1,23 \pm 0,45$). Ukupno izgubljeno vreme do postavljanja dijagnoze iznosilo je $2,19 \pm 0,79$ meseca, a od trenutka dijagnostikovanja osnovne bolesti do operacije proteklo je u proseku $18,8 \pm 6,3$ dana.

U grupi kasno operisanih bolesnika prosečno izgubljeno vreme zavisa od bolesnika iznosilo je $10,97 \pm 5,76$ meseci, a ukupno izgubljeno vreme $11,37 \pm 5,68$ meseci. Vreme od postavljanja dijagnoze do operacije iznosilo je $4,42 \pm 3,64$ dana.

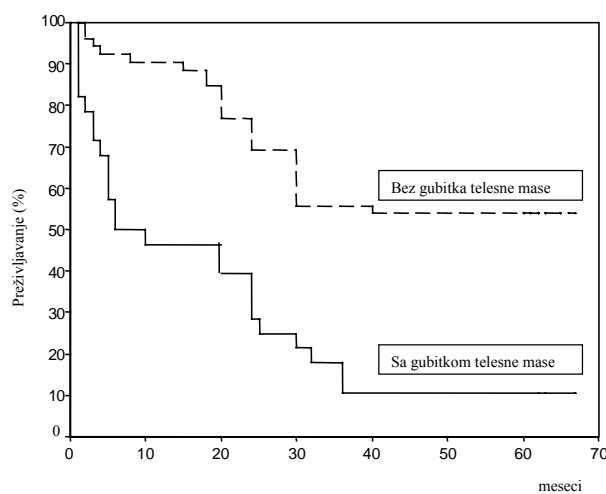
Pol bolesnika nije uticao na dužinu izgubljenog vremena ($\chi^2 = 1,19; p > 0,05$) i na ishod lečenja. Stepenn stručne sprema, takođe, nije uticao na dužinu izgubljenog vremena, niti na ishod lečenja ($\chi^2 = 1,02; p > 0,05$).

Izgubljeno vreme zavisa od bolesnika u trajanju od dva meseca predstavlja graničnu (*cut-off*) vrednost, koja ima senzitivnost 75,5%, a specifičnost 90,3% u predikciji smrtnog ishoda.

Najčešći simptomi i znaci bolesti bili su promena navike crevnog pražnjenja (42%), pojava krvi ili sluzi u stolici (40%) i bolovi u trbuhu (29%). Od opštih simptoma i znakova, najče-

Gubitak telesne mase izdvojio se kao faktor koji je bio dominantno prisutan kod bolesnika koji nisu preživeli petogodišnji period praćenja ($\chi^2 = 14,26; p < 0,01$).

Prosečno preživljavanje bolesnika koji nisu gubili telesnu masu bilo je 44,3 meseca (95% interval poverenja je od 39,1 do 52,2), a prosečno preživljavanje bolesnika koji su gubili telesnu masu bilo je 17,9 meseci (95% interval poverenja bio je od 11,3 do 26,3). Razlika u preživljavanju bolesnika sa i bez gubitka telesne mase bio je visoko statistički značajan (Log Rank = 1,70; $p < 0,01$). Relativni rizik od umiranja, u zavisnosti od prisustva ove karakteristike, iznosio je 3,5 (95% interval poverenja 2,0-6,2) (slika 2).



Sl. 2 – Uticaj gubitka telesne mase na preživljavanje bolesnika sa kolorektalnim karcinomom

Multivarijntnom Koksovom regresionom analizom kao najznačajniji prediktori smrtnog ishoda dobijeni su kašnjenje u postavljanju dijagnoze i započinjanju lečenja, stadijum bolesti i gubitak telesne mase (tabela 2).

U našem istraživanju, period kašnjenja je značajno kraći kod bolesnika sa karcinomom rektuma što je u skladu sa rezultatima istraživanja drugih autora²². Sem toga, de Nooijer i sar.²³ pokazali su i da je kašnjenje u postavljanju dijag-

Tabela 2
Prediktori preživljavanja u multivarijantnoj Koksovoj regresionoj analizi

Karakteristika	<i>p</i>	<i>RR</i>	95% interval poverenja za <i>RR</i>
Kašnjenje dijagnoze	0,0237	2,69	1,14–6,35
Stadijum bolesti	0,0149	2,37	1,18–4,77
Gubitak telesne mase	0,0326	2,62	1,08–6,37

Diskusija

Glen i sar.¹² 1966. godine tokom tridesetdvo godišnjeg praćenja populacije od 1 026 bolesnika pokazali su da rana dijagnoza i brza terapija mogu poboljšati preživljavanje bolesnika sa kolorektalnim karcinomom.

Rezultati velikog broja studija dokazali su pozitivnu korelaciju između kašnjenja u postavljanju dijagnoze kolorektalnog karcinoma i preživljavanja bolesnika^{9,13}. U skladu sa tim rezultatima, Ministarstvo zdravlja V. Britanije 1. jula 2000. god. proklamovalo je obavezno „pravilo 14 dana“ koje podrazumeva da bolesnik, koga je lekar opšte prakse uputio specijalisti zbog sumnje na postojanje kolorektalnog karcinoma, mora završiti dijagnostiku u roku od 14 dana¹⁴.

Takođe, treba naglasiti da u literaturi postoje i studije čiji rezultati ukazuju da ne postoji veza između ovih parametara, odnosno da je ona čak i negativna^{11,15}.

Značajan problem u objedinjavanju rezultata predstavlja izražavanje izgubljenog vremena na jedan od tri načina: kao broj meseci, vremenski period ograničen nekom vremenskom determinantom izraženom u mesecima (manje, odnosno više od šest meseci) ili određivanjem granične (*cut off*) vrednosti koja predstavlja prekretnicu u preživljavanju bolesnika^{1,14,16}.

Značajan podatak dobijen ovim istraživanjem jeste da su se stariji bolesnici kasnije javljali na pregled zbog tegoba. Oni su češće primani zbog hitnih operacija i neke od komplikacija kolorektalnog karcinoma. Slične rezultate dobili su i drugi autori^{17,18}. Ovo je verovatno posledica zanemarivanja postojećih tegoba, koje se inače češće javljaju u starijem životnom dobu kao posledica komorbiditeta (opstipacija, hemoroidi i sl.), kako od strane bolesnika, tako i od strane lekara. Međutim, postojanje dužeg izgubljenog vremena koje zavisi od lekara u grupi starijih bolesnika ukazuje da su lekari tegobama starijih bolesnika pridavali manji značaj i da su ih najčešće tumačili kao simptom hroničnih bolesti.

Naši rezultati donekle se razlikuju od podataka drugih autora koji govore da nema značajnog uticaja pola i starosti bolesnika na period kašnjenja u dijagnozi^{12,19}.

Analizom uticaja stručne spreme i mesta prebivališta na kašnjenje u postavljanju dijagnoze, nije uočena statistička značajnost, što je u skladu sa rezultatima nekih istraživanja, dok su druge studije pokazale da bolesnici koji potiču iz ruralnih sredina i imaju niži stepen obrazovanja imaju duži period kašnjenja u postavljanju dijagnoze^{20,21}.

noze tumora kolona kraće u odnosu na postavljanje dijagnoze nekih drugih vrsta maligniteta, npr. melanoma.

Zanemarivanje bolova u trbuhu i promena dinamike crevnog pražnjenja najvažniji su razlozi produženja izgubljenog vremena, što je u skladu sa rezultatima drugih autora, a gubitak telesne mase predstavlja visoko značajan prognostički faktor loše prognoze, što je u skladu sa prirodnim tokom bolesti^{6,20,24,25}.

Pojava krvi u stolici najčešće se javlja kod bolesnika kod kojih je tumor lokalizovan u rektumu i sigmoidnom kolonu, što je u našem istraživanju bila karakteristika bolesnika sa kraćim izgubljenim vremenom. Ovakve rezultate potvrdili su i Young i sar.²⁶.

Međutim, ovi bolesnici nisu imali i duže preživljavanje. Neki autori navode i kraće preživljavanje^{27,28}. Ova razlika između ranijeg otkrivanja i nešto lošijeg ili istog preživljavanja može se tumačiti i uticajem hirurške tehnike, koja danas predstavlja važan faktor prognoze. Ova činjenica dolazi posebno do izražaja kod tumora rektuma²⁹.

Podaci iz literature pokazuju da bolesnici koji su imali više simptoma, raniju malignu bolest, ili malignu bolest u porodici ili pridružene bolesti imali su kraći period kašnjenja³⁰.

Više od tri četvrtine do sada opisanih studija identifikovalo je faktore koji produžuju interval kašnjenja u postavljanju dijagnoze, a zavisni su od lekara²³. Pogrešna dijagnoza, simtomatsko lečenje bolesnika, kao i pripisivanje postojećih tegoba drugim bolestima bili su najčešći razlozi kašnjenja zavisnog od lekara²⁷.

Takođe, neuraden, odnosno površno ili nestručno urađen pregled, neadekvatan pregled bolesnika (rektalni pregled) značajno doprinosi kašnjenju u postavljanju dijagnoze²¹.

U našoj studiji, kašnjenje u postavljanju dijagnoze zavisno od lekara u grupi kasno operisanih bilo je kraće u odnosu na grupu rano operisanih, jer je kod 18,5% bolesnika postojalo hitno hirurško stanje koje je iziskivalo hitno operativno lečenje, te je dijagnoza postavljena intraoperativno.

Studija koju su sproveli Kern i sar.³¹ analizirala je medicinske i pravne aspekte posledica kašnjenja u postavljanju dijagnoze maligne bolesti kod 338 bolesnika i pokazala da se mogućnost odbrane lekara na sudu od optužbe za nesavesno lečenje značajno smanjuje kada izgubljeno vreme iznosi više od tri meseca.

Ukupno petogodišnje preživljavanje bolesnika u našem istraživanju u skladu je sa rezultatima koje navode Staib i sar.³² koji su pratili 2 400 bolesnika tokom 20 godina.

Naše istraživanje pokazalo je da bolesnici sa dužim ukupnim izgubljenim vremenom imaju viši stadijum bolesti i lošije preživljavanje. Ustanovljeno je da postoji visoko značajna veza između dužine izgubljenog vremena i stadijuma bolesti, kao i dužine izgubljenog vremena i preživljavanja bolesnika, a dobro je poznato da stadijum kolorektalnog karcinoma predstavlja najvažniji prognostički faktor preživljavanja^{17, 19, 24}.

Najvažniji prediktori preživljavanja u našoj studiji su kašnjenje u postavljanju dijagnoze i započinjanja lečenja, stadijum bolesti i gubitak telesne mase, što je u skladu sa podacima iz literature^{24, 26, 27}.

U skladu sa do sada iznetim činjenicama i analizom dostupne literature može se konstatovati da su savremeni trendovi usmereni prvenstveno na rano otkrivanje kolorektalnog karcinoma. Korišćenje određenih preporuka u pogledu ranog otkrivanja smanjuje period kašnjenja u postavljanju dijagnoze³³. Lekari opšte prakse u ruralnim sredi-

nama su manje skloni da upućuju bolesnike u specijalizovane centre čime se povećava dužina kašnjenja u postavljanju dijagnoze²³.

Zaključak

Kašnjenje u postavljanju dijagnoze, stadijum bolesti i gubitak telesne mase visoko su značajni faktori preživljavanja bolesnika sa kolorektalnim karcinomom.

Kašnjenje u postavljanju dijagnoze duže od dva meseca povećava procenat komplikacija bolesti, a samim tim je lošiji ishod bolesti.

Skraćenje izgubljenog vremena, prvenstveno ono koje zavisi od bolesnika, može poboljšati preživljavanje, odnosno smanjiti mortalitet, tim pre što su mogućnosti naše zdravstvene službe materijalno ograničene u smislu sprovođenja sekundarne prevencije kod osoba sa niskim, odnosno prosečnim rizikom obolevanja od kolorektalnog karcinoma.

L I T E R A T U R A

- Ramos M, Esteva M, Cabeza E, Campillo C, Llobera J, Aguiló A. Relationship of diagnostic and therapeutic delay with survival in colorectal cancer: a review. *Eur J Cancer* 2007; 43(17): 2467–78.
- Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 2007; 18(3): 581–92.
- Sant M, Aareleid T, Berrino F, Bielska Lasota M, Carli PM, Fairre J, et al. EURO-CARE-3: survival of cancer patients diagnosed 1990-94-results and commentary. *Ann Oncol* 2003; 14 Suppl 5: v61–118.
- Esteva M, Ramos M, Cabeza E, Llobera J, Ruiz A, Pita S, et al. Factors influencing delay in the diagnosis of colorectal cancer: a study protocol. *BMC Cancer* 2007; 7(86): 1–6.
- Vlajinac H, Sipetić-Grujić S, Janković S, Marinković J, Kocov N, Marković-Denić L, et al. Burden of cancer in Serbia. *Croat Med J* 2006; 47(1): 134–41.
- Porta M, Fernandez E, Belloc J, Malats N, Gallén M, Alonso J. Emergency admission for cancer: a matter of survival? *Br J Cancer* 1998; 77(3): 477–84.
- Richards MA, Westcombe AM, Love SB, Littlejohns P, Ramirez AJ. Influence of delay on survival in patients with breast cancer: a systematic review. *Lancet* 1999; 353(9159): 1119–26.
- Allgar VL, Neal RD. Delays in the diagnosis of six cancers: analysis of data from the National Survey of NHS Patients: Cancer. *Br J Cancer* 2005; 92(11): 1959–70.
- Arbman G, Nilsson E, Störren-Fordell V, Sjö Dahl R. A short diagnostic delay is more important for rectal cancer than for colonic cancer. *Eur J Surg* 1996; 162(11): 899–904.
- Gonzalez-Hermoso F, Perez-Palma J, Marchena-Gomez J, Lorenzo-Rocha N, Medina-Arana V. Can early diagnosis of symptomatic colorectal cancer improve the prognosis? *World J Surg* 2004; 28(7): 716–20.
- Roncoroni L, Pietra N, Violi V, Sarli L, Choua O, Peracchia A. Delay in the diagnosis and outcome of colorectal cancer: a prospective study. *Eur J Surg Oncol* 1999; 25(2): 173–8.
- Glenn F, McSherry CK. Carcinoma of the distal large bowel: 32-year review of 1,026 cases. *Ann Surg* 1966; 163(6): 838–49.
- Smith D, Ballal M, Hodder R, Soim G, Selvachandran SN, Cade D. Symptomatic presentation of early colorectal cancer. *Ann R Coll Surg Engl* 2006; 88(2): 185–90.
- Walsh S, Bruce C, Bennington S, Ravi S. The fourteen-day rule and colorectal cancer. *Ann R Coll Surg Engl* 2002; 84(6): 386–8.
- Ramos M, Esteva M, Cabeza E, Llobera J, Ruiz A. Lack of association between diagnostic and therapeutic delay and stage of colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2008; 44(4): 510–21.
- Korsgaard M, Pedersen L, Laurberg S. Delay of diagnosis and treatment of colorectal cancer-a population-based Danish study. *Cancer Detect Prev* 2008; 32(1): 45–51.
- Arai T, Takubo K, Sawabe M, Esaki Y. Pathologic characteristics of colorectal cancer in the elderly: a retrospective study of 947 surgical cases. *J Clin Gastroenterol* 2000; 31(1): 67–72.
- Kemppainen M, Riihala I, Rajala T, Sourander L. Delay in diagnosis of colorectal cancer in elderly patients. *Age Ageing* 1993; 22(4): 260–4.
- Cockburn J, Paul C, Tzelepis F, McElduff P, Byles J. Delay in seeking advice for symptoms that potentially indicate bowel cancer. *Am J Health Behav* 2003; 27(4): 401–7.
- Langenbach MR, Schmidt J, Neumann J, Zirngibl H. Delay in treatment of colorectal cancer: multifactorial problem. *World J Surg* 2003; 27(3): 304–8.
- McCaffery K, Wardle J, Waller J. Knowledge, attitudes, and behavioral intentions in relation to the early detection of colorectal cancer in the United Kingdom. *Prev Med* 2003; 36(5): 525–35.
- Mitchell E, Macdonald S, Campbell NC, Weller D, Macleod U. Influences on pre-hospital delay in the diagnosis of colorectal cancer: a systematic review. *Br J Cancer* 2008; 98(1): 60–70.
- De Nooijer J, Lechner L, De Vries H. Help-seeking behaviour for cancer symptoms: perceptions of patients and general practitioners. *Psychooncology* 2001; 10(6): 469–78.
- Fernandez E, Porta M, Malats N, Belloc J, Gallén M. Symptom-to-diagnosis interval and survival in cancers of the digestive tract. *Dig Dis Sci* 2002; 47(11): 2434–40.
- Kiran PR, Glass RE. Duration of symptoms and spread of colorectal cancer: a short history does not mean early disease. *Ann R Coll Surg Engl* 2002; 84(6): 381–5.
- Young CJ, Sweeney JL, Hunter A. Implications of delayed diagnosis in colorectal cancer. *Aust N Z J Surg* 2000; 70(9): 635–8.
- Park YJ, Park KJ, Park JG, Lee KU, Choe KJ, Kim JP. Prognostic factors in 2230 Korean colorectal cancer patients: analysis of consecutively operated cases. *World J Surg* 1999; 23(7): 721–6.

28. *Rudy DR, Zdon MJ.* Problem oriented diagnosis. *Am Fam Physician* 2000; 61(6): 115–30.
29. *Heald RJ, Moran BJ, Radger DH, Ryall RD, Bexton R, MacFarlane JK.* Rectal cancer: the Basingstoke experience of total mesorectal excision, 1978–1997. *Arch Surg* 1998; 133: 894–8.
30. *Mariscal M, Llorca J, Prieto D, Delgado-Rodríguez M.* Determinants of the interval between the onset of symptoms and diagnosis in patients with digestive tract cancers. *Cancer Detect Prev* 2001; 25(5): 420–9.
31. *Kern KA.* Medicolegal analysis of the delayed diagnosis of cancer in 338 cases in the United States. *Arch Surg* 1994; 129(4): 397–403;
32. *Staab L, Link KH, Blatz A, Beger HG.* Surgery of colorectal cancer: surgical morbidity and five-and ten-year results in 2400 patients-monoinstitutional experience. *World J Surg* 2002; 26(1): 59–66.
33. *Eccersley AJ, Wilson EM, Makris A, Novell JR.* Referral guidelines for colorectal cancer-do they work? *Ann R Coll Surg Engl* 2003; 85: 107–10.

Rad primljen 10. IX 2008.

Farmakodinamski i farmakokinetički efekti primene flumazenila i teofilina kod pacova akutno trovanih diazepamom

Pharmacodynamic and pharmacokinetic effects of flumazenil and theophylline application in rats acutely intoxicated by diazepam

Zoran Šegrt, Snežana Đorđević, Vesna Jačević, Vesna Kilibarda, Slavica Vučinić, Jasmina Jović-Stošić, Olivera Potrebić, Nataša Vukčević-Perković

Vojnomedicinska akademija, Centar za kontrolu trovanja, Beograd

Apstrakt

Uvod/Cilj. Najveći broj simptoma i znakova akutnog trovanja diazepamom posledica su njegovog sedativnog delovanja na centralni nervni sistem (CNS) u kome on deluje selektivno na polisinaptičke puteve, stimulacijom inhibitornog delovanja neurotransmitera GABA-e. Cilj studije bio je da se pokaže efekat kombinovane primene teofilina i flumazenila na sedaciju i poremećenu motornu aktivnost kod pacova akutno trovanih diazepamom. **Metode.** Mužjaci pacova soja Wistar metodom slučajnog izbora bili su podeljeni u četiri grupe i tretirani na sledeći način: grupa I – rastućim dozama diazepamom u cilju izazivanja najvećeg nivoa sedacije i poremećene motorne aktivnosti; grupa II – diazepam + različite doze flumazenila; grupa III – diazepam + različite doze teofilina; grupa IV – diazepam + kombinacija flumazenila i teofilina. Koncentracije diazepamom i njegovih metabolite merene su primenom tehnike LC-MS. U eksperimentu korišćen je komercijalni aparat za registraciju spontane motoričke aktivnosti (LKB-Farad, Sweden). Procena diazepamom izazvanih neurotoksičnih efekata, kao i efekata nakon primene flumazenila i/ili teofilina izvedena je primenom rotarod testa na komercijalnom aparatu *Automatic treadmill for rats, Ugo Basile, Italy*. **Rezultati.** Doze diazepamom od 10 mg/kg i 15 mg/kg dovele su do dugotrajnih i reproduktivnih farmakodinamskih efekata. Izolovana primena flumazenila ili teofilina antagonizovala je diazepamom izazvane efekte, ali ne u potpunosti. Kombinovanom primenom flumazenila i teofilina ostvaren je najbolji terapijski efekat u uklanjanju diazepamom izazvanih negativnih efekata na motoričku aktivnost i sedaciju. Nakon primene teofilina postignuta je najbolja eliminacija diazepamom i njegovih metabolita. **Zaključak.** Kombinovanom primenom flumazenila i teofilina postignuti su najbolji antidotski efekti kao rezultat sumiranja njihovih različitih mehanizama delovanja, dužeg poluvremena eliminacije teofilina u odnosu na flumazenil i diuretskog delovanja teofilina.

Ključne reči: trovanje; benzodiazepini; flumazenil; teofilin; pacovi.

Abstract

Background/Aim. The majority of symptoms and signs of acute diazepam poisoning are the consequence of its sedative effect on the CNS affecting selectively polysynaptic routes by stimulating inhibitory action of GABA. The aim of the present study was to examine the effects of combined application of theophylline and flumazenil on sedation and impaired motor function activity in acute diazepam poisoning in rats. **Methods.** Male Wistar rats were divided in four main groups and treated as follows: group I – with increasing doses of diazepam in order to produce the highest level of sedation and motor activity impairment; group II – diazepam + different doses of flumazenil; group III – diazepam + different doses of theophylline; group IV – diazepam + combined application of theophylline and flumazenil. Concentrations of diazepam and its metabolites were measured with LC-MS. The experiment was performed on a commercial apparatus for spontaneous motor-activity registration (LKB-Farad, Sweden). Assessment of diazepam-induced neurotoxic effects and effects after theophylline and flumazenil application was performed with rotarod test on a commercial apparatus (Automatic treadmill for rats, Ugo Basile, Italy). **Results.** Diazepam in doses of 10 mg/kg and 15 mg/kg produced long-time and reproducible pharmacodynamic effects. Single application of flumazenil or theophylline antagonized effects of diazepam, but not completely. Combined application of flumazenil and theophylline resulted in best effects on diazepam-induced impairment of motoric activity and sedation. As a result of theophylline application there was better elimination of diazepam and its metabolites. **Conclusion.** Combined application of flumazenil and theophylline resulted in the best antidotal effects in the treatment of diazepam poisoned rats. These effects are a result of different mechanisms of their action, longer half-life of theophylline in relation to that of flumazenil and presumably the diuretic effect of theophylline.

Key words: poisoning; benzodiazepines; flumazenil; theophylline; rats.

Uvod

Analiza ukupnog broja bolesnika zbrinutih u Centru za kontrolu trovanja Vojnomedicinske akademije pokazuje da su akutna trovanja benzodiazepinskim preparatima najčešća kod trovanja lekovima, odnosno hemijskim materijama^{1, 2}. Ova trovanja, kod kojih je diazepam jedan od vodećih uzročnika, klinički se manifestuju različitim nivoima poremećaja stanja svesti (od somnolencije do kome), dizatrijom, ataksijom, hipotonijom, hiporefleksijom ili arefleksijom, midrijazom ili miozom i horizontalnim nistagmusom³⁻⁵. Najveći broj simptoma i znakova akutnog trovanja diazepamom posledica su njegovog sedativnog delovanja na centralni nervni sistem (CNS), u kome on deluje selektivno na polisinaptičke puteve, stimulacijom inhibitornog delovanja neurotransmitera, gama aminobuterne kiseline (GABA-e)^{6, 7}.

Radi korekcije poremećaja stanja svesti, ranije su u terapiji akutnih trovanja benzodiazepinima korišćeni preparati iz grupe ksantina, u prvom redu teofilin⁸⁻¹¹. Ovi lekovi svoje delovanje ostvaruju prvenstveno putem inhibicije fosfodiesteraze koja u ćeliji inaktiviše ciklični adenzin-monofosfat (cAMP). Na ovaj način povećava se količina cAMP-a, koji ima ulogu tzv. sekundarnog glasnika u inicijaciji i održavanju niza značajnih funkcija u organizmu, kao rezultat brojnih farmakoloških efekata^{12, 13}. Ipak, budući da benzodiazepini povećavaju koncentraciju adenzina u CNS-u, koji je veoma potentan depresor CNS-a, terapijska primena teofilina bazira se verovatno na blokiranju adenzinskih receptora, sa sledstvenim značajnim smanjenjem ili poništavanjem efekata benzodiazepina u CNS-u. Stoga, jedan od ključnih efekata koji nastaje nakon primene teofilina je parcijalna reverzija sedacije izazvane benzodiazepinima¹⁴⁻¹⁶.

Savremeniji i efikasniji terapijski pristup podrazumeva primenu flumazenila, specifičnog, kompetitivnog antagoniste receptora preko kojih deluju benzodiazepini. Blokodom na receptorskom nivou on efikasno, ali vremenski ograničeno, antagonizuje sedativne efekte benzodiazepina¹⁷. To je moguće jer se flumazenil vezuje za ista mesta na receptoru kao i receptorski agonisti^{18, 19}. Nažalost, poluvreme eliminacije flumazenila (oko 53 minuta) značajno je kraće od poluvremena eliminacije diazepama (20–50 h), pa se može očekivati ponovno javljanje benzodiazepinskih toksičnih efekata koji su inicijalno bili kupirani flumazenilom. Terapijsko delovanje teofilina, iako nepotpuno, duže traje (prosečno oko šest sati), jer mu je poluvreme eliminacije duže u poređenju sa flumazenilom²⁰⁻²³.

Razlike u mehanizmima delovanja dva specifična antagonista benzodiazepina, kao i saznanja o njihovim različitim metaboličkim putevima i poluvremenima eliminacije, sugerisale su ideju da se bliže prouče efekti pojedinačne i kombinovane primene teofilina i flumazenila na profil farmakološkog delovanja i biotransformaciju diazepama kod pacova akutno trovanih ovim benzodiazepinom sa dugotrajnim delovanjem.

Metode

U eksperimentu su korišćeni Wistar pacovi, telesne mase 180–200 g, starosti 6–8 nedelja. Životinje su držane u individualnim metalnim kavezima, standardnih dimenzija. U

prostoriji, u kojoj su smešteni kavezi, zoohigijenski i mikroklimatski uslovi u potpunosti su odgovarali standardima. Sve životinje hranjene su briketiranom, potpunom krmnom smešom za ishranu laboratorijskih životinja, standardnog sirovinskog i higijenskog sastava. Životinje su imale slobodan pristup hrani i vodi.

Tokom ispitivanja korišćeni su Bensedin® (Galenika, Beograd, Republika Srbija) sa 10 mg diazepama u 2 ml rastvora; flumazenil, čista supstanca rastvorena u fiziološkom rastvoru (Roche, Francuska) i *Euphyllin 200*® (Buk Gylden, Nemačka) sa 200 mg teofilina u 10 ml rastvora. Svi lekovi aplikovani su intraperitonealno (*ip*).

Pre uvođenja u eksperimente sve životinje podeljene su u eksperimentalne grupe metodom slučajnog izbora, (za svaku dozu po pet jedinki u grupi). Pre započinjanja eksperimenta sa antidotima izvršeno je pilot istraživanje u kome je jedan broj eksperimentalnih životinja tretiran rastućim dozama diazepama, nakon čega je utvrđeno da se primenom doza od 10 mg/kg i 15 mg/kg ostvaruju sedacija, kao i depresija motoričke aktivnosti i diskoordinacija pokreta (mereno preko latentnog vremena do spontanog otvaranja očiju pacova i bazalnog nivoa spontane motoričke aktivnosti) dovoljnog stepena i dužine trajanja, te su ove doze korišćene u daljim testiranjima. Nakon toga pristupilo se ispitivanju efekata primene teofilina i flumazenila, pri čemu su eksperimentalne životinje tretirane dozama diazepama od 10 i 15 mg/kg (DZP 10 i DZP 15) koje izazivaju diskoordinaciju pokreta i depresiju motoričke aktivnosti, a potom rastućim dozama flumazenila: 5 mg/kg, 10 mg/kg i 20 mg/kg (F 5, F 10 i F 20) odnosno teofilina: 5 mg/kg, 10 mg/kg i 20 mg/kg (T 5, T 10 i T 20) kako bi se utvrdila doza koja najbolje antagonizuje ostvarene efekte diazepama. Takođe, ispitan je efekat kombinacije flumazenila od 10 mg/kg (F 10) i rastućih doza teofilina od 5 mg/kg, 10 mg/kg ili 20 mg/kg (T 5, T 10 i T 20) u cilju utvrđivanja doza kojima se postiže najbolji terapijski efekat kod akutnog trovanja diazepamom.

U cilju ispitivanja biotransformacije i eliminacije diazepama i njegovih metabolita, posebno su izdvojene životinje napred navedenih karakteristika, koje su, takođe metodom slučajnog izbora, bile podeljene u grupe, a potom su primenjene sledeće doze lekova: grupa I – diazepam 10 mg/kg (*ip*); grupa II – diazepam 10 mg/kg + flumazenil 10 mg/kg (*ip*); grupa III – diazepam 10 mg/kg + teofilin 20 mg/kg (*ip*); grupa IV – diazepam 10 mg/kg + flumazenil 10 mg/kg i teofilin 20 mg/kg (*ip*).

Eksperimentalni protokol sproveden je u skladu sa Uputstvima za ispitivanja na životinjama br. 282-12/2002, Etičkog komiteta Vojnomedicinske akademije, Beograd, Republika Srbija.

Analitička identifikacija i kvantifikacija diazepama i njegovih metabolita u krvi pacova vršena je tehnikom tačne hromatografije u sprezi sa masenospektrometrijskim detektorom (LC-MS). Navedena metoda veoma je pouzdana jer je osetljiva i specifična, uz mogućnost spektralne identifikacije i kvantifikacije analiziranog jedinjenja²⁴⁻²⁶.

Za određivanje toksične doze diazepama koja izaziva dovoljno jake i dugotrajne efekte, kao i doze flumazenila ili/i teofilina koja antagonizuju postignute efekat, korišćeni su

bihevioralni modeli. Primenom opservacionog testa za procenu sedacije ispitani su intenzitet i dužina trajanja sedativnog i hipnotičkog efekta, koji se određuju na osnovu latentnog vremena, tj. vremena koje protekne do spontanog otvaranja očiju i oporavka spontane motoričke aktivnosti. Prisustvo ovih znakova registrovano je svakih 15 minuta u periodu od 420 minuta.

Test spontane motoričke aktivnosti (SMA) korišćen je za procenu efekata lekova na motoričke komponente ponašanja. Eksperimenti su izvedeni na komercijalnom uređaju za registrovanje spontane motoričke aktivnosti (SMA) (LKB-Farad, Švedska). Životinje su pojedinačno smeštane u bokse od pleksiglasa koji su, zatim, postavljani na platformu za registrovanje SMA. Tokom prvih 10 minuta SMA nije bila registrovana (period adaptacije). Motorička aktivnost bila je registrovana svakih 30 minuta u periodu od šest sati nakon aplikacije pojedinih lekova ili njihove kombinacije, kako bi se utvrdio početak i trajanje ostvarenog antidotskog efekta.

Za procenu neurotoksičnih efekata diazepama, kao i efekata ostvarenih nakon primene flumazenila i teofilina (pojedinačno ili u kombinaciji) korišćen je standardni test, tzv. *rotarod* test (model rotirajuće osovine). Eksperiment je izveden na komercijalnom uređaju (*Automatic treadmill for rats, Ugo Basile, Italy*), pri čemu je korišćena brzina rotacije osovine od četiri okretaja/min.

Pre pristupanja testiranju životinje su bile trenirane tako da bez pada mogu provesti na rotirajućoj osovini najmanje 180 sekundi (kontrolna vrednost). Test je izveden na dobro utreniranim životinjama, tako da je efekat lekova procenjivan na osnovu dužine vremena (sekunde) koje životinje provedu na rotirajućoj osovini bez pada (180 sec = *cut off time*). Testovi su izvođeni po isteku 30. minuta, 1, 2, 4 i 6. sata nakon primene ispitivanih lekova (pojedinačno ili u kombinaciji), kako bi se utvrdio početak i dužina trajanja ostvarenog antidotskog efekta.

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm standardna devijacija (SD). U tabeli su date promene apsolutnih vrednosti obeležja prikazane relativnim brojevima (% promene u odnosu na početnu ili bazičnu vrednost skupa).

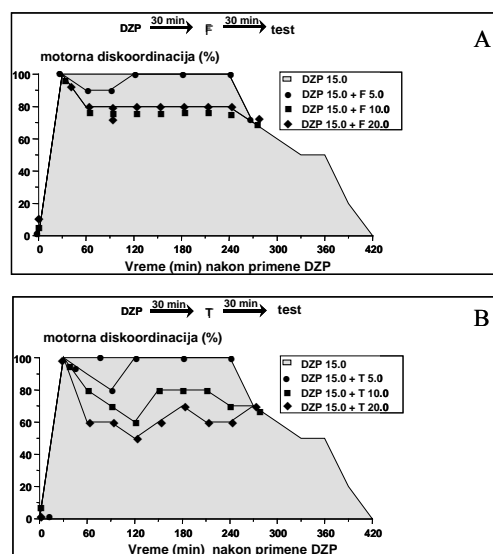
Statistička značajnost unutar grupa određena je primenom Mann-Whitney *U* testa i Studentovog *t* testa, a između grupa primenom jednosmerne analize varijanse i Tukey testa. Utvrđena su tri nivoa statističke značajnosti: $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); i $p < 0,001$ (***)). Obrada podataka izvršena je pomoću komercijalnog statističkog softvera za PC računare (Stat for Windows, R.4.5, Stat Soft, Inc., SAD, 1993.).

Rezultati

Rotarod test. Primenom rastućih doza flumazenila (5 mg/kg, 10 mg/kg i 20 mg/kg) kod životinja kod kojih je poremećaj motorne koordinacije izazvan dozom diazepama od 15 mg/kg, ostvaren je antagonistički efekat slabijeg intenziteta (maksimalno 20–30%), pri čemu su doze flumazenila od 10 i 20 mg/kg ispoljile efekat sličnog intenziteta (slika 1A).

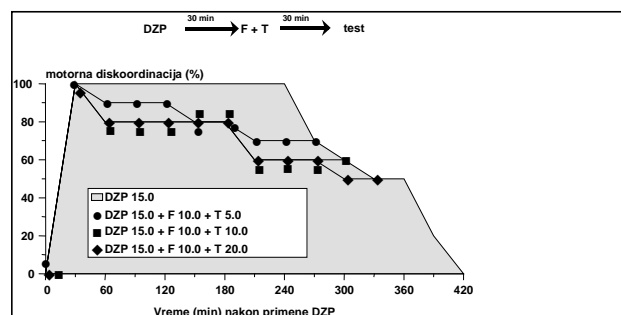
Primena rastućih doza teofilina od 5 mg/kg, 10 mg/kg i 20 mg/kg dovela je do minimalnog, nepotpunog i veoma

ograničenog oporavka poremećaja motorne koordinacije uzrokovanog diazepamom (slika 1B).



Sl. 1 – Uporedni prikaz dozozavisnih antagonističkih efekata pojedinačne primene flumazenila (F = 5, 10 i 20 mg/kg) (A) i teofilina (T = 5, 10 i 20 mg/kg) (B) na motornu diskordinaciju izazvanu diazepamom (DZP = 15 mg/kg) kod pacova (Rotarod test)

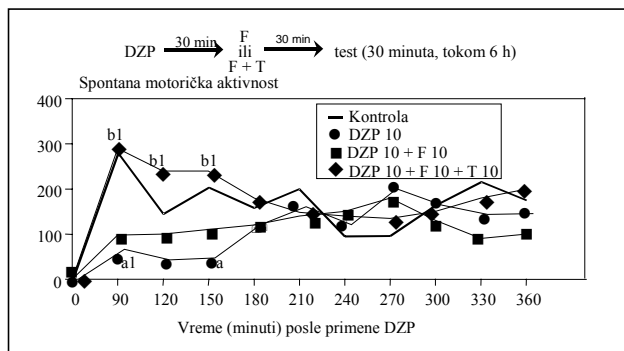
Kako se farmakodinamski efekti flumazenila, primenjenog u dozi od 10 mg/kg, nisu bitno razlikovali u odnosu na dozu od 20 mg/kg, u ispitivanjima antagonističkih efekata kombinovane primene flumazenila i teofilina, testiran je efekat primene flumazenila u dozi od 10 mg/kg, koji je primenjen u kombinaciji sa rastućim dozama teofilina od 5 mg/kg, 10 mg/kg i 20 mg/kg. Kombinovana primena flumazenila (10 mg/kg) i rastućih doza teofilina (5 mg/kg, 10 mg/kg i 20 mg/kg) dala je delimičan, nepotpun efekat na poništavanje poremećaja motorne koordinacije izazvanog diazepamom (15 mg/kg) kod eksperimentalnih životinja (slika 2).



Sl. 2 – Efekat kombinovane primene flumazenila (F = 10 mg/kg) i teofilina (T = 10 mg/kg) na poremećaj motorne koordinacije pacova trovanih diazepamom (DZP) u dozi od 15 mg/kg (Rotarod test)

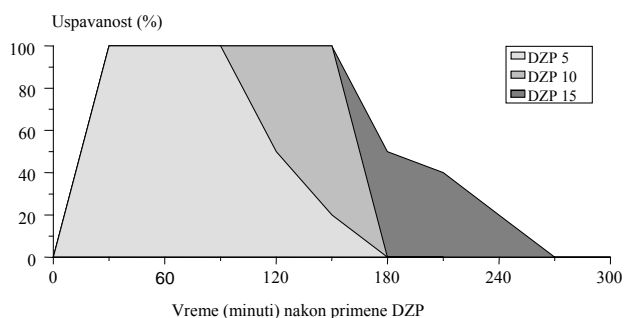
Test SMA. Ispitujući uticaj diazepama na spontanu motoričku aktivnost pacova ustanovljeno je da jednokratna primena 10 mg/kg diazepama dovodi do statistički značajne depresije spontane motoričke aktivnosti kod pacova tokom perioda od 150–180 min ($p < 0,05$) nakon aplikacije. Postignuti efekat delimično je otklonjen primenom 10 mg/kg flumazenila. Me-

đutim, istovremena primena 10 mg/kg flumazenila i 10 mg/kg teofilina u potpunosti je otklonila efekat diazepam na spontanu motoričku aktivnost kod pacova ($p < 0,01$) (slika 3).



Sl. 3 – Uticaj flumazenila (F = 10 mg/kg) i teofilina (T = 10 mg/kg) datih per se ili kombinovano na spontanu motoričku aktivnost pacova kod kojih je primenjen diazepam (DZP) u dozi od 10mg/kg (a2 – $p < 0,05$ i a1 – $p < 0,01$ u odnosu na kontrolnu grupu; b1 – $p < 0,01$ u odnosu na grupu koja je tretirana DZP+F)

Opservacioni test za procenu sedacije. Ispitujući uticaj rastućih doza diazepam na sedaciju kod pacova ustanovljeno je da pokazatelji uspavanosti (latentno vreme do spontanog otvaranja očiju pacova i bazalni nivo spontane motoričke aktivnosti) imaju dozozavisnan karakter. Potpuna i dugotrajna sedacija postignuta je kod svih životinja koje su primile doze diazepam od 10 mg/kg i 15 mg/kg i trajala je 150 minuta (slika 4).

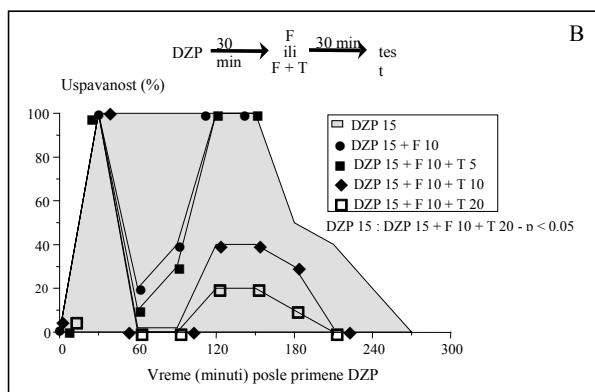
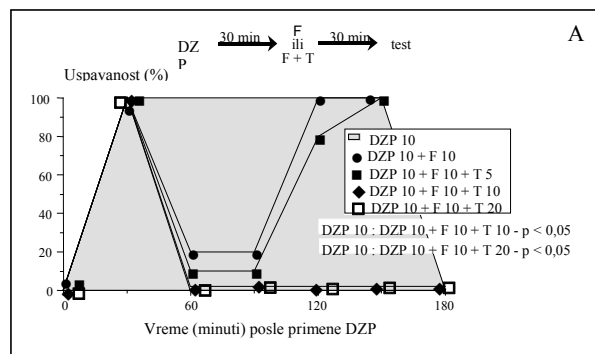


Sl. 4 – Uporedni prikaz uticaja tri doze diazepam (DZP = 5, 10 i 15 mg/kg) u opservacionom testu za procenu sedacije

Procena antagonističkih svojstava flumazenila i teofilina izvršena je kod životinja koje su tretirane sa 10 i 15 mg/kg diazepam, jer su to doze koje ispoljavaju stabilan i dugotrajni sedativni efekat kod pacova. Sprovedena ispitivanja pokazala su da pojedinačna primena 10 mg/kg flumazenila skoro u potpunosti antagonizuje sedativni efekat koji je postignut sa 10 mg/kg diazepam, i to u periodu od 60. do 90. minuta posle aplikacije. Postignuti efekat bio je relativno kratkotrajan, a početni nivo sedacije ponovo se uspostavio i trajao je do kraja ispitivanja. Primenjen u kombinaciji sa teofilinom (10 mg/kg i 20 mg/kg), flumazenil kompletno i dugotrajno (najmanje 150 minuta) uklanja depresorne efekte diazepam ($p < 0,05$) (slika 5A).

Pojedinačna primena flumazenila delimično antagonizuje i sedativni efekat koji je postignut sa 15 mg/kg diaze-

pama (60–90 min posle primene diazepam). Kombinovana primena flumazenila (10 mg/kg) i teofilina (10 mg/kg i 20 mg/kg) ispoljila je značajan antagonistički efekat na sedaciju izazvanu primenom 15 mg/kg diazepam. Međutim, ostvareni farmakodinamski efekat bio je nešto slabijeg intenziteta nego u slučaju njihove kombinovane primene kod životinja kod kojih je sedacija izazvana sa 10 mg/kg diazepam. Najveća efikasnost dobijena je primenom kombinacije 10 mg/kg flumazenila i 20 mg teofilina ($p < 0,05$) (slika 5B).



Sl. 5 – Antagonistički efekat flumazenila (F = 10 mg/kg) i kombinovane primene flumazenila (10 mg/kg) i rastućih doza teofilina (T =5, 10 i 20 mg/kg) na sedativni efekat diazepam (DZP) primenjenog na pacovima u dozi od 10 mg/kg (A) i 15 mg/kg (B)

Poredeći ostvarene sedativne efekte, kao i uticaj diazepam na poremećaj motorne koordinacije, uočeno je da identične doze diazepam ispoljavaju dejstva koja se po svom intenzitetu i trajanju znatno razlikuju. Rezultati ukazuju da je motorna koordinacija daleko više poremećena pod dejstvom diazepam, te stoga i ne čudi činjenica da su primenjeni lekovi (flumazenil i teofilin) bili samo delimično efikasni u njenom otklanjanju kod pacova tretiranih visokim dozama diazepam (tabela 1).

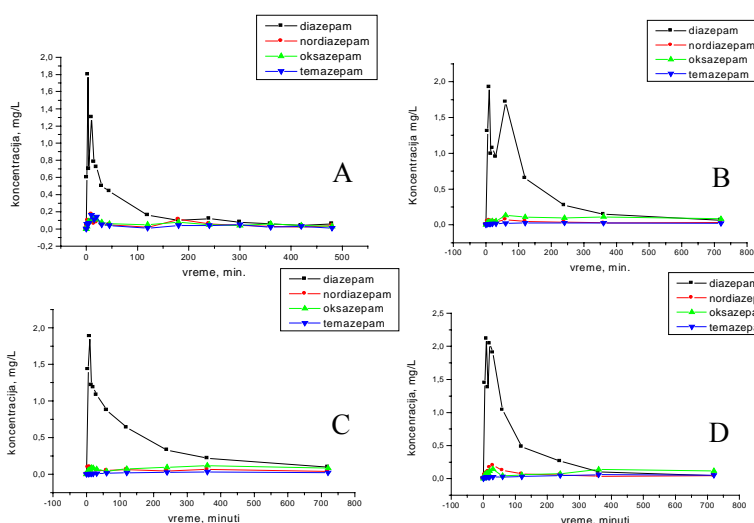
Paralelno sa eksperimentalnim praćenjem ostvarenih terapijskih efekata, praćene su i koncentracije diazepam i njegovih metabolita u grupi životinja koje nakon primene diazepam u dozi od 10 mg/kg nisu primile antidot (slika 6A), u grupi životinja koje su nakon primene diazepam u dozi od 10 mg/kg primile flumazenil u dozi od 10 mg/kg (slika 6B), u grupi životinja koje su nakon primene diazepam u dozi od 10 mg/kg primile teofilin u dozi od 20

Tabela 1
Komparativni prikaz efekta diazepama kod pacova (sedacija procenjena u opservacionom testu, motorna diskoordinacija, dozno-zavisni i vremenski-zavisni efekti)

Vreme (min)	% životinja sa ispoljenim efektom					
	Sedacija			Motorna diskoordinacija		
	5 mg	10 mg	15 mg	5 mg	10 mg	15 mg
0	0	0	0	0	0	0
30	100	100	100	100	100	100
60	100	100	100	100	100	100
90	100	100	100	100	100	100
120	50	100	100	80	100	100
150	20	100	100	40	100	100
180	0	0	50	20	100	100
210			40	10	70	100
240			20	0	60	100
270			0		40	70
300					20	60
330					10	50
360					0	50
390						20
420						0

mg/kg (slika 6C) i u grupi životinja koje su nakon primene diazepama u dozi od 10 mg/kg primile kombinaciju flumazenila u dozi od 10 mg/kg i teofilina u dozi od 20 mg/kg (slika 6D). Na osnovu apsolutnih vrednosti koncentracija diazepama i njegovih metabolita evidentno je da dolazi do njihovog značajnijeg smanjivanja tokom vremena u grupama koje su kao antidot primale teofilin, sam ili u kombinaciji sa flumazenilom ($p < 0,05$).

Pri utvrđivanju mišićnog tonusa na genetski mutiranim životinjama, kojima su uklanjane pojedine vrste receptora, utvrđeno je da je miorelaksantno dejstvo diazepama najviše posredovano α_2 -GABA_A receptorima, i α_3 receptorima pri većim dozama²⁷. Pored limbičkog sistema, α_2 receptori široko su rasprostranjeni u kičmenoj moždini, naročito u površnim slojevima dorzalnog roga i u motornim neuronima, sa jakim dejstvom na mišićnu relaksaciju.



Sl. 6 – Promena koncentracija diazepama, oksazepama, nordiazepama i temazepama u funkciji vremena u grupi pacova koja nije primila antidotsku terapiju (A), u grupi koja je primila flumazenil (B), u grupi koja je primila teofilin (C) i u grupi koja je primila kombinaciju flumazenila i teofilina (D)

Diskusija

Diazepam, kao klasični predstavnik benzodiazepina, svoje delovanje ostvaruje putem fasilitacije aktivnosti GABA-e na tzv. benzodiazepin-senzitivnim receptorima koji u sebi sadrže različite podjedinice. Posebno značajne su α_2 , α_3 i α_5 , koje su odgovorne za njihovo miorelaksantno dejstvo¹⁹.

Jedan od osnovnih mehanizama delovanja teofilina bazira se na antagonizovanju adenozičkih receptora (posredstvom G proteina), A₁ (naročito) i A₂ receptora²⁸. Subtip A₁ receptora najrasprostranjeniji je u mozgu i kičmenoj moždini i on ima najveći afinitet za adenzin. Adenzin, kao purinski neuromodulator koji inhibira oslobađanje neurotransmitera (uključujući i GABA), deluje sedativno, antikonvulzivno, analgetski i anksiolitički. Primena adenozičkih receptorskih

antagonista (antagonizovanje A_1 receptora), kakav je teofilin, dovodi do stimulativnih efekata na CNS²⁹. Zahvaljujući svojim stimulativnim efektima metilksantini, a tako i teofilin, dovode do povećanja budnosti, poboljšanja psihomotornih performansi i smanjenja zamora. Primena metilksantina u većim dozama dovodi do pojave iritabilnosti i anksioznosti, a može doći i do provokacije konvulzivne aktivnosti.

Adenozin ima manji afinitet za subtip A_2 receptora (A_{2A} i A_{2B}) nego za A_1 receptor. Podtip A_{2B} receptora rasprostranjen je po čitavom telu, a u značajnim koncentracijama nalazi se u nižim nivoima mozga i kičmene moždine, dok su A_{2A} receptori u visokoj koncentraciji prisutni u bazalnim strukturama (*dorsum striatum*, *nucleus accumbens* i olfaktorni tuberkuli – tri moždana regiona koji imaju bogatu dopaminergičku stimulaciju, tako da je delovanje adenozina i dopamina u ovim regionima blisko povezano). U strijatumu A_{2A} receptorski antagonisti inhibiraju dopaminske efekte posredovane D2 receptorima i A_{2A} antagonisti podražavaju D2 receptorske agoniste. Ovi efekti najviše su uključeni u ostvarivanje stimulativnih efekata metilksantina^{28,29}.

Primena flumazenila u odgovarajućoj dozi dovodi do blokiranja sedativnih efekata benzodiazepina i/ili drugih supstancija koje svoje delovanje ostvaruju putem istih receptora. Flumazenil kao kompetitivni antagonist benzodiazepina, sa visokim afinitetom vezuje se za specifična receptorska mesta gde kompetitivno antagonizuje vezivanje i alosteričke efekte benzodiazepina³⁰⁻³¹.

Tokom eksperimentalnih ispitivanja kod pacova registrovani su veliki poremećaji motorne koordinacije pri primeni diazepamom u dozi od 15 mg/kg, kojom je onemogućeno koordinirano kretanje pacova po rotirajućoj osovini u periodu od najmanje tri sata. Primenom rastućih doza flumazenila (5–20 mg/kg) ili teofilina (5–20 mg/kg) nije bilo moguće u potpunosti antagonizovati poremećaje koordinacije koji su izazvani primenom diazepamom. Takođe, bio je registrovan i nepotpuni antagonistički efekat kombinovane primene flumazenila sa teofilinom. Ovi rezultati, kao i do sada poznati, napred opisani mehanizmi delovanja, ukazuju da se poremećaj motorne aktivnosti izazvan diazepamom ne može u potpunosti uspešno antagonizovati do sada primenjivanim lekovima ili njihovim kombinacijama^{27,28}. Zbog kompleksne kontrole mišićne koordinacije (mali mozak, bazalne ganglije, kičmena moždina itd.) i velikog broja sinapsi u kojima GABA stupa u interakciju sa drugim neurotransmiterima (npr. kateholamini) dobijeni rezultati ne začuđuju. Kaskada biokemijskih događaja može u potpunosti poremetiti kontrolne mehanizme motorne koordinacije posebno u slučaju kada flumazenil kasno zaposedne benzodiazepinska mesta vezivanja^{30,31}. Takođe, nije u potpunosti poznata efikasnost flumazenila na perifernim benzodiazepinskim receptorima.

Na modelu spontane motoričke aktivnosti nakon primene diazepamom u dozi od 10 mg/kg zabeležena je dugotrajna depresija motoričke aktivnosti koja je bila statistički značajno niža u odnosu na kontrolu u periodu 150–180 minuta nakon aplikacije. Primenom flumazenila u dozi od 10 mg/kg ovaj efekat bio je delimično otklonjen, dok je kombinovana primena flumazenila (10 mg/kg) i teofilina (10 mg/kg) u potpunosti otklonila efekte diazepamom na spontanu motoričku

aktivnost, pri čemu je željeni terapijski efekat registrovan u trajanju od najmanje 180 minuta. Stimulaciju spontane motoričke aktivnosti moguće je ostvariti primenom različitih grupa lekova (i metilksantina), čak i u dozama koje *per se* u izvesnoj meri narušavaju motornu koordinaciju³²⁻³⁵. U našim eksperimentalnim uslovima stimulativni efekat teofilina na spontanu motoričku aktivnost, uz antagonističke efekte flumazenila, bio je dovoljan za oporavak spontane motoričke aktivnosti.

Primenom rastućih doza diazepamom, kod pacova ostvaren je dozozavisni sedativni efekat u trajanju 90–120 min. Za njegovo nastajanje, pojedinačno ili u različitim kombinacijama, ključni receptori su oni koji sadrže α_1 podjedinice^{27,30}. Primenom flumazenila sedativni efekat je u potpunosti poništen, a njegovo trajanje bilo je približno 45 minuta. Kada je teofilin bio pridružen flumazenilu, antagonizovanje hipnotičkog delovanja diazepamom bilo je odgovarajućeg intenziteta, ali značajno dužeg trajanja (najmanje 120 minuta). Ovo, bez rezervi, ukazuje na međusobno potenciranje efekata teofilina i flumazenila u našem eksperimentalnom modelu. Ti rezultati u skladu su i sa prethodnim kliničkim zapažanjem da kod bolesnika koji se hospitalno leče zbog akutnog samotrovanja diazepamom, kombinovana terapija flumazenilom i teofilinom dovodi do brzog i dovoljno dugog oporavka kvaliteta svesti, smanjenja stepena dezorijentacije, kao i poboljšanja poremećaja koordinacije izazvanog diazepamom³⁷.

Ključni receptori (u različitim kombinacijama), odgovorni za sedativno delovanje diazepamom, su receptori koji sadrže α_1 podjedinice²⁹. Pored diazepamom, visoki afinitet za njihovo vezivanje ima i flumazenil, što za posledicu ima otklanjanje sedacije, koja je izazvana diazepamom. Verovatno je da je istovremena primena teofilina (drugim mehanizmom delovanja, tj. stimulativnim delovanjem na CNS) značajno doprinela kupiranju sedacije izazvane diazepamom, što je kod eksperimentalnih životinja dalo najbolji farmakodinamski efekat.

Na osnovu eksperimentalnih rezultata stiče se utisak da kombinovana primena flumazenila sa teofilinom ispoljava značajno bolji efekat u odnosu na njihovu pojedinačnu primenu.

Rezultati su posebno ohrabrujući kod antagonizovanja hipnotskog (sedativnog) dejstva diazepamom. Poremećaje motorne koordinacije nije moguće otkloniti kako pojedinačnom, tako ni kombinovanom primenom flumazenila i teofilina. Dobijeni eksperimentalni rezultati su, uglavnom, u saglasnosti sa rezultatima kliničkog ispitivanja, osim u segmentu efekata na motornu koordinaciju.

„Kriterijumi“ kojima su bile izložene eksperimentalne životinje u ovom segmentu testiranja bili su nešto oštriji i od eksperimentalnih životinja zahtevane su aktivnosti čije neizvršenje može ukazati na poremećaj „fine“ motorne koordinacije.

Nakon analize farmakokinetičkih rezultata diazepamom i njegovih metabolita, kao i njihovog međusobnog odnosa, evidentno je da primena flumazenila i teofilina značajno menja metabolizam diazepamom. Pod dejstvom flumazenila, dolazi do značajnog nakupljanja diazepamom, ali i njegovog

ključnog metabolita nordiazepam, dok primena teofilina, samog ili u kombinaciji sa flumazenilom, pospešuje eliminaciju diazepam i njegovih metabolita, verovatno zahvaljujući diuretskom delovanju teofilina³⁸. Imajući u vidu vreme polueliminacije diazepam i metabolita, kao i biološki poluživot flumazenila, primena teofilina u kombinaciji sa flumazenilom u akutnim trovanjima diazepamom potpuno je opravdana.

Zaključak

Kombinovanom primenom flumazenila i teofilina kod eksperimentalnih životinja antagonizovani su psihomotorni poremećaji izazvani visokim dozama diazepam značajno bolje nego posle njihove pojedinačne primene. Dobijeni efekat, prema svom intenzitetu i trajanju, najverovatnije je posledica adicije individualnih farmakoloških dejstava antidota

(flumazenil-kompetitivna blokada benzodiazepinskih receptora, teofilin-antagonizam na adenozinim receptorima) i značajno dužeg biološkog poluživota teofilina u odnosu na flumazenil. Dodatno, tome doprinosi i ubrzanje eliminacije diazepam, kao i njegovih farmakološki aktivnih metabolita, u svim grupama životinja koje su primale teofilin bilo pojedinačno, bilo u kombinaciji sa flumazenilom. Navedeni rezultati otvaraju puteve za dalji eksperimentalni rad koji bi rezultirao formulisanjem fiksne kombinacije ispitivanih, ili, po mehanizmima delovanja, njima sličnih antidota benzodiazepina. Cilj je obezbediti brz i vremenski dovoljno dug terapijski efekat koji sprečava ponovno javljanje toksičnih efekata dugodelujućih benzodiazepina, poput diazepam. Može se očekivati da ekonomska analiza ovakve terapijske procedure da prednost novom pristupu u odnosu na do sada primenjene terapijske protokole.

L I T E R A T U R A

- Jovanović D, Joksović D, Vučinić S, Todorović V, Šegrt Z, Kilibarda V, et al. Serbia National Poison Control Centre: organization and current activities. *Przegl Lek* 2005; 62(6): 547–51.
- Forrest AR, Marsb I, Bradshaw C, Braich SK. Fatal temazepam overdoses. *Lancet* 1986; 2(8500): 226.
- Joksović D, Kušić R, Randelović S, Jandrić D. Clinical observations in acute benzodiazepine poisoning. *Med Pregl* 1987; 40(1–2): 61–3.
- Ashton CH, Teob R, Davies DM. Drug-induced stupor and coma: some physical signs and their pharmacological basis. *Adverse Drug React Acute Poisoning Rev* 1989; 8(1): 1–59.
- Buckley NA, Dawson AH, Whyte IM, O'Connell DL. Relative toxicity of benzodiazepines in overdose. *BMJ* 1995; 310(6974): 219–21.
- Joksović D. Acute drug-induced poisoning. Belgrade: Co. Rivel; 1999.
- Ellenhor M, Schonwald S, Ordog G, Wasserberger J. eds. *Ellenhorn's Medical Toxicology: Dagnosis and treatment of Human Poisoning*. 2nd edition, Williams and Wilkins, Baltimore: UD; 1997: 687–95.
- Arvidsson S, Niemand D, Martinell S, Ekström-Jodal B. Aminophylline reversal of diazepam sedation. *Anaesthesia* 1984; 39(8): 806–9.
- Foster PN, Moles EJ, Sheard C, Herbert M, Atkinson M. Low dose aminophylline accelerates recovery from diazepam premedication for digestive endoscopy. *Gastrointest Endosc* 1987; 3(6): 421–4.
- Niemand D, Martinell S, Arvidsson S, Ekström-Jodal B, Svedmyr N. Adenosine in the inhibition of diazepam sedation by aminophylline. *Acta Anaesthesiol Scand* 1986; 30(7): 493–5.
- Meyer BH, Weis OF, Müller FO. Antagonism of diazepam by aminophylline in healthy volunteers. *Anesth Analg* 1984; 63(10): 900–2.
- Kažić T. Ready-to-use drugs. Belgrade: Integra; 2001. (Serbian)
- Rall T. W. Drugs used in the treatment of asthma. The methylxanthines, cromolyn sodium, and other agents. In: *Goodman LS, Gilman, A, Rall T.W, Nies A.S, Taylor P*, editors. *Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*. New York: Pergamon Press; 1990: 619–30.
- Arvidsson SB, Ekström-Jodal B, Martinell SA, Niemand D. Aminophylline antagonises diazepam sedation. *Lancet* 1982; 2(8313): 1467.
- Kleindienst G, Usinger P. Diazepam sedation is not antagonised completely by aminophylline. *Lancet* 1984; 1(8368): 113.
- Niemand D, Martinell S, Arvidsson S, Svedmyr N, Ekström-Jodal B. Aminophylline inhibition of diazepam sedation: is adenosine blockade of GABA-receptors the mechanism? *Lancet* 1984; 1(8374): 463–4.
- Roche. „Anexate“ the first specific benzodiazepine antagonist, Roche, First revised edition, Basel, Switzerland, 1994; 5–89.
- Rogers JF, Morrison AL, Nafziger AN, Jones CL, Rocci ML Jr, Bertino JS Jr. Flumazenil reduces midazolam-induced cognitive impairment without altering pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72(6): 711–7.
- Obradović D, Savić M, Ugresić N, Bokonić D. GABA-A receptors: molecular substrate for the development of new anxiolytic agents. *Vojnosanit Pregl* 2003; 60(3): 345–52. (Serbian)
- Klotz U, Ziegler G, Reimann IW. Pharmacokinetics of the selective benzodiazepine antagonist Ro 15–1788 in man. *Eur J Clin Pharmacol* 1984; 27(1): 115–7.
- Roncari G, Ziegler WH, Guentert TW. Pharmacokinetics of the new benzodiazepine antagonist Ro 15-1788 in man following intravenous and oral administration. *Br J Clin Pharmacol* 1986; 22(4): 421–8.
- Aslaksen A, Bakke OM, Vigander T. Comparative pharmacokinetics of theophylline and aminophylline in man. *Br J Clin Pharmacol* 1981; 11(3): 269–73.
- Caldwell J, Staib AH, Cotgrave LA, Siebert-Weigel M. Theophylline pharmacokinetics after intravenous infusion with ethylenediamine or sodium glycinate. *Br J Clin Pharmacol* 1986; 22(3): 351–5.
- Thoma JJ, Bondo PB, Sunshine I. Guidelines for analytical toxicology programs. Vol I and II, Cleveland: Ohio; CRC; 1977.
- Inoue H, Maeno Y, Iwasa M, Matoba R, Nagao M. Screening and determination of benzodiazepines in whole blood using solid-phase extraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Forensic Sci Int* 2000; 113(1–3): 367–73.
- Wallis M, Mullett WM, Pawliszyn J. Monitoring of drugs and metabolites in whole blood by restricted-access solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2004; 1025(1): 85–92.
- Möhler H, Fritschy JM, Rudolph U. A new benzodiazepine pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 300(1): 2–8.
- Nestler JE, Hyman SE, Malenka C. eds. *Molecular Neuropharmacology: Foundation for Clinical Neuroscience*. The McGraw-Hill Companies. International Edition; 2001.
- Hardman J, Limbird L. Theophylline. In: *Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*. 10th ed. New York: McGraw Hill; 2001. p. 743–54.

30. *Charney DS, Mibic J, Harris RA.* Hypnotics and Sedatives. In: *Hardman, JG, Limbird, LE.* Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10th ed. New York: McGraw Hill; 2001. p. 399–427.
 31. *Zbi J, Massarella JW, Melia AT, Teller SB, Schmitt-Muskus J, Crews T, et al.* The pharmacokinetic-pharmacodynamic (Digit Symbol Substitution Test) relationship of flumazenil in a midazolam steady-state model in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 1994; 56(5): 530–6.
 32. *Turski L, Schwarz M, Turski WA, Ikonomidou C, Sontag KH.* Effect of aminophylline on muscle relaxant action of diazepam and phenobarbitone in genetically spastic rats: further evidence for a purinergic mechanism in the action of diazepam. *Eur J Pharmacol* 1984; 103(1–2): 99–105.
 33. *Henauer SA, Hollister LE, Gillespie HK, Moore F.* Theophylline antagonizes diazepam-induced psychomotor impairment. *Eur J Clin Pharmacol* 1983; 25(6): 743–7.
 34. *Sanders LD, Piggott SE, Isaac PA, Okell RW, Roberts B, Rosen M, et al.* Reversal of benzodiazepine sedation with the antagonist flumazenil. *Br J Anaesth* 1991; 66(4): 445–53.
 35. *Karavokiros KA, Tsipis GB.* Flumazenil: a benzodiazepine antagonist. *DICP* 1990; 24(10): 976–81.
 36. *Kleingoor C, Wieland HA, Korpi ER, Seeburg PH, Kettenmann H.* Current potentiation by diazepam but not GABA sensitivity is determined by a single histidine residue. *Neuroreport* 1993; 4(2): 187–90.
 37. *Šegrt Z.* Pharmacodynamic and pharmacokinetic interactions of theophylline and flumazenil [dissertation]. Belgrade: Military Medical Academy; 2003. (Serbian)
 38. *Vassallo R, Lipsky JJ.* Theophylline: recent advances in the understanding of its mode of action and uses in clinical practice. *Mayo Clin Proc* 1998; 73(4): 346–54.
- Rad primljen 23. IX 2008.



Prediktivni značaj mutacija u K-ras onkogenu za hemioterapijske protokole na bazi platine kod bolesnika sa uznapredovalim nesitnoćelijskim karcinomom pluća

K-ras mutation predictive significance in platinum based chemotherapeutic protocols in patients with advanced non-small cell lung cancer

Gordana Cvetković*, Goran Plavec*, Ilija Tomić*, Vesna Ilić†, Zvonko Magić†, Željka Tatomirović‡, Dobrivoje Novković*, Rade Milić*, Vukojića Karličić*

Vojnomedicinska akademija, *Klinika za plućne bolesti, †Odeljenje za genetski inženjering Instituta za medicinska istraživanja, ‡Odeljenje za citologiju, Institut za patologiju, Beograd

Abstract

Uvod/Cilj. Mutacije u K-ras onkogenu javljaju se kod oko 20% karcinoma pluća. Ovo ispitivanje imalo je za cilj da proceni prediktivni značaj za ishod terapije mutacija u K-rasu kod bolesnika sa uznapredovalim nesitnoćelijskim karcinomom pluća (NSČKP). **Metode.** Kod 39 bolesnika u II-III i IV stadijumu NSČKP uzeti su uzorci aspirata bronha pre izlaganja hemioterapijskim protokolima baziranim na derivatima platine. Mutacije u 12. i 13. kodonu K-ras onkogena analizirane su pomoću konformacionog polimorfizma jednolančanih fragmenata (*single strand conformation polymorphism – SSCP*) i alel specifične oligonukleotidne hibridizacije lančane reakcije polimeraze (*polymerase chain reaction – PCR*) uzoraka DNK iz aspirata bronha bolesnika. Nakon dva ciklusa hemioterapije vršena je procena odgovora. **Rezultati.** Od 39 bolesnika, kod 10 (25,5%) detektovane su mutacije u K-rasu, dok ih 29 (74,4%) nije imalo. Nije bilo značajnih razlika između ove dve grupe bolesnika u odnosu na njihove osnovne karakteristike. Parcijalni odgovor na terapiju imalo je 16 (41%), stabilno stanje 14 (36%), a progresiju bolesti 9 (23%) bolesnika. Postojala je tendencija boljeg terapijskog odgovora kod bolesnika bez mutacija u odnosu na one sa mutacijama u K-rasu, ali bez statističke značajnosti ($p = 0,14$). **Zaključak.** Mutacije u K-rasu kod uznapredovalog nesitnoćelijskog karcinoma bronha nisu imale prediktivni značaj za ishod terapije.

Key words:

pluća, nesitnoćelijski karcinom; geni, ras; lečenje kombinovanjem antineoplastika, protokoli; platina, jedinjenja; prognoza.

Apstrakt

Beckground/Aim. K-ras oncogene is mutated in about 20% of lung cancer. The purpose of this study was to investigate the predictive significance for therapeutic response of K-ras mutations in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. **Methods.** Bronchial aspirate samples were assessed prior to platinum-based chemotherapy start in 39 patients with stage IIIb or IV NSCLC. K-ras mutations at codons 12 and 13 were analyzed by single strand conformation polymorphism (SSCP) and allele specific oligonucleotide hybridisation of polymerase chain reaction (PCR) of the patient's DNA present in bronchial aspirate. After two cycles of chemotherapy the patients were subjected to response evaluation. **Results.** Of 39 patients 10 (25.5%) demonstrated K-ras mutations, while 29 (74.4%) patients had not. There were no significant differences between these two groups of patients with respect to baseline patient characteristics. Partial response to the therapy had 16 (41%), no changes 14 (36%), and progressive disease 9 (23%) patients. There was a tendency to higher response rate for patients without K-ras mutations *versus* those with mutations, but not statistically significant ($p = 0.14$). **Conclusion.** There was no significant predictive value for therapeutic response of K-ras mutations for advanced non-small cell lung cancer.

Ključne reči:

karcinoma, non-small-cell lung; genes, ras; antineoplastic combined chemotherapy protocols; platinum compounds; prognosis.

Uvod

Godišnje se u svetu registruje 1,2 miliona novih slučajeva karcinoma pluća, a čak 1,1 milion ljudi umre od ove bolesti

(više smrtnih ishoda nego zbir karcinoma dojke, prostate i debelog creva)¹⁻³. Oko 80% karcinoma pluća spada u nesitnoćelijske karcinome pluća (NSČKP)². Čak 40% bolesnika pri otkrivanju bolesti ima lokalno uznapredovalu bolest⁴.

Tokom poslednje dve decenije značajno je unapređeno razumevanje molekularnih i bioloških osnova karcinoma pluća. Utvrđeno je da su mutacije u onkogenima i tumor supresor genima ključne u nastanku tumora pluća⁵. Mutacije u ras onkogenima nalaze se kod približno 15–20% bolesnika sa NSČKP^{6,7}. Ras onkogeni kodiraju grupu proteina molekulske težine 21 kDa, koji su vezani za unutrašnju stranu ćelijske membrane u blizini receptora za faktor rasta. Nakon stimulacije membranskog receptora, faktor rasta indukuje aktivaciju ras proteina i tada dolazi do porasta koncentracije ras-guanozin trifosfata (GTP) u citoplazmi. Usled prelaska iz ras-GTP (aktivnog) oblika u ras-GDP (neaktivni) oblik prekida se transdukcija signala od ćelijske membrane do jezdra⁸. K-ras aktivira se tačkastom mutacijom na jednom od „vrućih“ mesta (*hot spots*) u 12, 13, i 61. kodonu, što ima za posledicu nastanak mutiranog proteina koji neprekidno šalje mitogeni signal, nezavisno od stimulacije faktorom rasta. Ćelija poprima maligne karakteristike, tj neprekidno se deli i raste⁹. Ras proteini imaju ulogu i u aktivaciji određenih proteina važnih za međućelijske veze, te tako mogu uticati na rani metastatski potencijal tumorskih ćelija¹⁰. Većina istraživanja pokazuje da su ras mutacije dominantno povezane sa izlaganjem karcinogenima iz duvanskog dima kod adenokarcinoma pluća, kao i da predstavljaju nepovoljan prognostički indikator kod NSČKP^{11–15}. Pojedina istraživanja ukazuju na uticaj mutacija u K-rasu na rezistenciju na hemioterapiju¹⁶. Huber i Stratakis¹⁷ ističu da nijedan od genetskih faktora (uključujući i mutacije u K-ras onkogenu) do sada nije dostigao dovoljnu selektivnost u odnosu na prognostički značaj i procenu terapijske efikasnosti. Hemioterapija ima izuzetno važnu ulogu u lečenju bolesnika sa uznapredovalim NSČKP. Prema dosadašnjim kliničkim istraživanjima smatra se da je primena hemioterapije indikovana i opravdana kod bolesnika sa „performans“ statusom od 0 do 2 (opšte zdravstveno stanje) po *Karnofsky* skali¹⁸. D’Addario i sar.¹⁹ 2005. godine publikovali su opsežnu metaanalizu (37 studija, obuhvaćeno 7 633 bolesnika sa uznapredovalim NSČKP) kojom su pokazali da terapijski protokoli bazirani na derivatima platine daju bolju stopu terapijskog odgovora (bez značajne razlike u odnosu na jednogodišnje preživljavanje) uz veću toksičnost, u odnosu na protokole bazirane na drugim citotoksičnim lekovima. *American Society of Clinical Oncology* (ASCO) 1997. godine publikovalo je vodič za lečenje neresektabilnih NSČKP u kojima se preporučuje 2 do 8 ciklusa hemioterapije²⁰. U randomizovanim istraživanjima koja su poredila stopu odgovora na terapiju i vreme preživljavanja nije bilo značajne razlike u odnosu na broj primenjenih ciklusa hemioterapije (3 ciklusa, u odnosu na 6 ciklusa i 4 ciklusa u odnosu na primenu 8 ciklusa do progresije bolesti), ali je postojala razlika u ispoljavanju toksičnih efekata usled dugotrajnije primene hemioterapije^{21,22}.

Uprkos nesumnjivom napretku dijagnostike i terapije, lečenje bolesnika sa uznapredovalim stadijumom NSČKP ostavlja utisak beznadežnosti, naročito ako se ima u vidu da je petogodišnje preživljavanje bolesnika u IIIb kliničkom stadijumu bolesti oko 5%, a kod bolesnika sa metastatskom bolešću prava retkost²³. Iz navedenog proizlazi potreba za daljim istraživanjem prognostičkih i prediktivnih činilaca u

vezi sa karcinomima pluća. Prognostičke faktore čine karakteristike obolelog i karakteristike tumora (veličina tumora, histološki tip i podtip, stepen diferencijacije tumora), na osnovu kojih je moguće predvideti ishod bolesti nezavisno od terapijskog pristupa i doneti odluku o obliku terapije, dok su prediktivni faktori klinički, ćelijski i molekularni markeri kojima je moguće predvideti odgovor tumora na terapiju²⁴. Neki autori smatraju da K-ras onkogen postaje značajan u selekciji bolesnika za određene oblike hemioterapije^{12,24}.

Ovo ispitivanje imalo je cilj da utvrdi da li postoje značajne razlike u odgovoru na hemioterapiju po protokolima na bazi platine kod bolesnika sa NSČKP u IIIb i IV stadijumu u zavisnosti od prisustva mutacija u K-ras onkogenu. Rasvetljavanje uloge K-ras onkogeni u hemosenzitivnosti omogućilo bi humaniji i racionalniji terapijski pristup kod bolesnika sa uznapredovalim NSČKP.

Metode

Od ukupno 59 bolesnika u IIIb i IV kliničkom stadijumu bolesti prema međunarodnoj *Tumor-Node-Metastasa* (TNM) klasifikaciji rađena je analiza mutacija u K-ras onkogenu, kriterijume za istraživanje ispunilo je svega 39 bolesnika²⁵. Razlozi zbog kojih je 20 bolesnika isključeno iz daljeg praćenja bili su raznovrsni. Najčešći razlog bio je što su neki bolesnici nakon dijagnostičkih procedura lečenje nastavili u drugim ustanovama, loš performans status, prethodna radijaciona terapija, sekundarni depoziti u centralnom nervnom sistemu, kao i nepotpuna medicinska dokumentacija. Ispitivano je 39 bolesnika sa NSČKP u IIIb i IV stadijumu bolesti. Shodno kliničkim studijama koje istražuju efekte hemioterapije svi bolesnici zadovoljavali su sledeće uslove: da budu stariji od 18 godina i mlađi od 75 godina; opšte stanje bolesnika procenjeno prema skali *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) (tzv. performans status) ≤ 2 ; da imaju zadovoljavajuću hematološku funkciju (broj leukocita $\geq 3,5 \times 10^9/l$; broj trombocita $\geq 100 \times 10^9/l$; hemoglobin ≥ 100 g/l); zadovoljavajuću funkciju jetre i bubrega; da nemaju metastaze u centralnom nervnom sistemu; da nisu ranije lečeni radijacionom ili hemioterapijom^{1,26,27}. Svim bolesnicima urađena je kompletna krvna slika, biohemijski profil (glukoza, urea, kreatinin, proteini, bilirubin, AST, ALT, LDH), elektrokardiogram (EKG), radiografija grudnog koša, ehotomografija abdomena, bronhoskopija i drugi raspoloživi dijagnostički postupci u zavisnosti od potrebe (kompjuterizovana tomografija grudnog koša i gornjeg abdomena, scintigrafija kostiju, transezofagusna ehosonografija, kompjuterizovana tomografija centralnog nervnog sistema, pleuralna punkcija). Prilikom dijagnostičke bronhoskopije uzimano je oko 3 ml aspirata bronha, radi detekcije mutacija u K-ras onkogenu. Izolacija DNK iz bronhijalnog aspirata rađena je pomoću SDS-proteinaze K, ekstrakcijom fenol-hloroformom i izoamil-alkoholom, a potom precipitacijom etanolom²⁸. Nakon izolacije DNK iz bronhijalnog aspirata rađena je detekcija mutacija u K-ras onkogenu metodom alel specifične oligonukleotidne hibridizacije lančane reakcije polimeraze (*polymerase chain reaction – PCR*) i konformacionog polimorfizma jednonlačanih fragmenata (*single strand conformation polymorphism – SSCP*), tzv. PCR/SSCP metodom^{29–32}.

Na osnovu prisustva mutacija u K-ras onkogenu ispitanici bili su podjeljeni na K-ras pozitivne (detektovane mutacije) i K-ras negativne (nisu detektovane mutacije). Po isteku četiri nedelje nakon primene dva ciklusa polihemioterapije prema standardnim protokolima baziranim na derivatima platine (za nesitnoćelijske tumore pluća) rađena je procena odgovora na polihemioterapiju. Svim bolesnicima rađena je

bolest, ali nijedan bolesnik nije imao klinički N1 bolest. Mutacije u K-ras onkogenu detektovane su kod 10 (25,6%) bolesnika, dok 29 (74,4%) bolesnika nije imalo mutacije u K-rasu. Nakon dva ciklusa hemioterapije procenjeno je da parcijalni odgovor postoji kod 16 (41%) bolesnika, stabilno stanje kod 14 (36%) bolesnika, dok je znakove progresije bolesti imalo 9 (23%) bolesnika (tabela 1).

Tabela 1

Raspodela bolesnika prema odgovoru na hemioterapiju				
Odgovor na hemioterapiju	Broj bolesnika	K-ras negativni	K-ras pozitivni	Statistička značajnost
	n (%)	n (%)	n (%)	
Parcijalni odgovor	16 (41%)	12 (41%)	4 (40%)	$p = 0,36$ $p = 0,14$
Stabilno stanje	14 (36%)	13 (45%)	1 (10%)	
Progresija bolesti	9 (23%)	4 (14%)	5 (50%)	

radiografija grudnog koša, a potom, zavisno od kliničke slike i nalaza radiografije, i drugi dijagnostički postupci (ehotomografija abdomena, bronhoskopija, kompjuterizovana tomografija grudnog koša i gornjeg abdomena, scintigrafija kostiju). Teorijski, mogući su sledeći odgovori na terapiju: kompletan odgovor (tj. kompletna remisija bolesti koja podrazumeva potpuno odsustvo svih kliničkih i laboratorijskih znakova bolesti u trajanju najmanje četiri nedelje); parcijalni odgovor (koji podrazumeva redukciju tumorske mase za 50%); stabilna bolest (nema znakova progresije bolesti) i progresija bolesti (porast tumorske mase za preko 25% i/ili pojava novih metastaza)²⁶.

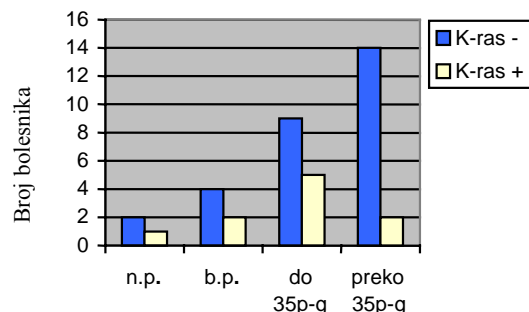
Od bazične (deskriptivne) statistike izračunavane su srednje vrednosti i standardne devijacije (SD). Takođe, izračunate su i frekvencije pojedinih obeležja praćenih parametara u odgovarajućim grupama. Statistička značajnost parametarskih obeležja između grupa određivana je primenom Studentovog *t* testa ili primenom Mann-Whitney *U* testa.

Statistička značajnost obeležja između grupa (frekvencije) određivana je primenom Kolmogorov-Smirnov testa. Početni stepen statističke značajnosti utvrđen je na nivou $p < 0,05$. Obrada podataka izvršena je pomoću komercijalnog statističkog softvera za PC računare (Stat for Windows, R.4.5, Stat Soft, Inc, SAD, 1993).

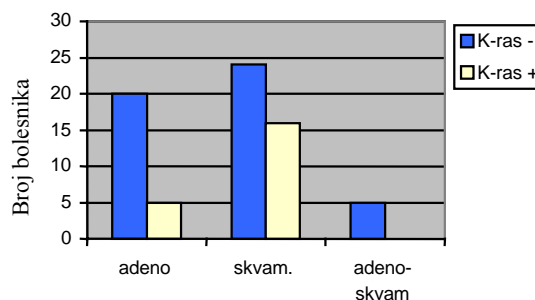
Rezultati

Analizirano je ukupno 39 bolesnika, 32 (82%) muškarca i 7 (18%) žena, starosti od 43 do 74 godine (prosečno $59,2 \pm 7,31$). U IIIb kliničkom stadijumu bolesti bilo je 18 (46%), a u IV stadijumu 21 (54%) bolesnik. Samo 3 (8%) bolesnika bili su nepušači, 6 (15%) bivši pušači, a čak 30 (77%) bolesnika bili su pušači i to 14 (36%) pušači do 35 paklo-godina, a 16 (41%) preko 35 paklo-godina. Performans status (PS) 0 imala su 2 (5%) bolesnika, PS 1 čak 25 (64%) bolesnika, dok je 12 (31%) bolesnika imalo PS 2. Citološki nalaz aspirata bronha bio je pozitivan kod 20 (51%) bolesnika, a negativan kod 19 (49%) bolesnika. Patohistološki nalaz adenokarcinoma imalo je 17 (43%) bolesnika, skvamocelularnog 19 (49%) bolesnika i adenoskvamoznog karcinoma 3 (8%) bolesnika. Kada je u pitanju TNM klasifikacija čak 51%, tj. 20 bolesnika imalo je T4 bolest, 56%, tj. 22 bolesnika imalo je N3

Kada je u pitanju učestalost mutacija u K-ras onkogenu u odnosu na pol bolesnika, mutacije su detektovane kod 8 (80%) muškaraca i 2 (20%) žene. Nije postojala statistički značajna razlika ($p = 0,98$) u učestalosti mutacija u odnosu na pol bolesnika. Raspodela mutacija prema godinama života bolesnika, takođe, nije pokazala statistički značajnu razliku ($p = 0,98$). Što se pušačkih navika tiče, kod jednog (10%) nepušača, dva (20%) bivša pušača i sedam (70%) aktivnih pušača (5, tj. 50% do 35 paklo-godina + 2, tj. 20% preko 35 paklo-godina) detektovane su mutacije (slika 1). Statistička značajnost iznosila je $p = 0,29$, tj. nije bilo statistički značajne razlike. Prema histološkom tipu karcinoma zastupljenost mutacija u K-rasu bila je: mutacije su imala tri (30%) bolesnika sa adenokarcinomom i sedam (70%) bolesnika sa skvamocelularnim karcinomom (slika 2). Nije postojala statistička značajnost ($p = 0,14$).



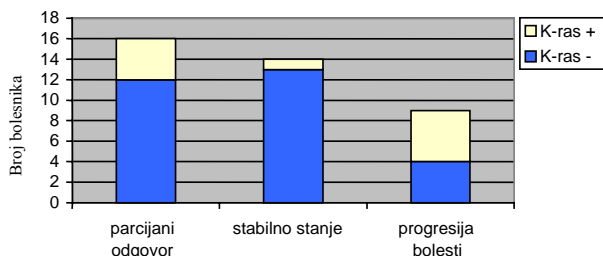
Sl. 1 – Učestalost mutacija u K-rasu u odnosu na pušačke navike (n.p. – nepušač; b.p. – bivši pušač; do 35 p-g – pušač do 35 paklo-godina; preko 35 p-g – pušač preko 35 paklo-godina)



Sl. 2 – Učestalost mutacija u K-rasu u odnosu na histološki tip karcinoma (adeno – adenokarcinom; skvam – skvamocelularni karcinom)

Kod 15 (52%) bolesnika sa pozitivnim citološkim nalazom aspirata bronha i kod 14 (48%) bolesnika sa negativnim citološkim nalazom, nisu nađene mutacije u K-rasu. Mutacije su bile prisutne kod pet (50%) bolesnika sa pozitivnim i pet (50%) bolesnika sa negativnim citološkim nalazom, te nije bilo statistički značajne razlike ($p = 0,99$). Učestalost mutacija u odnosu na kliničku lokalizaciju, veličinu i intratorakalni rast tumora iznosila je 20% (2) bolesnika sa T1; 30% (3) sa T2; 50% (5) bolesnika sa T4. Nije bilo statistički značajne razlike ($p = 0,66$). Što se nodusnog statusa i prisustva mutacija u K-rasu tiče, mutacije su detektovane kod jednog (10%) bolesnika sa N0 bolešću, dva (20%) sa N2 i sedam (70%) sa N3 bolešću. Nije bilo statistički značajne razlike ($p = 0,51$). Kada je u pitanju učestalost mutacija u odnosu na klinički stadijum bolesti, 15 (52%) bolesnika u IIIb kliničkom stadijumu bolesti i 14 (48%) u IV stadijumu bolesti nije imalo mutacije. Mutacije su imala tri (30%) bolesnika u IIIb i sedam (70%) bolesnika u IV kliničkom stadijumu bolesti. Nije postojala statistički značajna razlika između ovih grupa bolesnika ($p = 0,49$).

Analizom odnosa prisustva mutacija u K-rasu i odgovora na datu polihemioterapiju dobijeni su sledeći rezultati: parcijalni odgovor postignut je kod 12 (41%) bolesnika bez mutacija i četiri (40%) bolesnika sa mutacijama; stabilno stanje kod 13 (45%) bolesnika bez i kod jednog (10%) bolesnika sa mutacijama. Progresiju bolesti imala su četiri (14%) bolesnika bez mutacija i pet (50%) bolesnika sa detektovanim mutacijama u K-rasu (slika 3, tabela 1). Nije bilo statistički značajne razlike u terapijskoj efikasnosti u odnosu na mutacije u K-rasu ($p = 0,14$).



Sl. 3 – Odgovor na hemioterapiju i učestalost mutacija u K-rasu

Diskusija

Analizirali smo prisustvo mutacija u K-ras onkogenu pomoću PCR-SSCP metode, kao i prediktivni značaj ovih mutacija kod bolesnika u IIIb i IV stadijumu bolesti, koji su ispunjavali precizno određene kriterijume za primenu citostatske terapije. Od naših 39 bolesnika u IIIb i IV stadijumu bolesti mutacije je imalo 25,6% bolesnika, što je u skladu sa rezultatima drugih autora kod kojih se ovaj procenat kreće od 15 do 42%^{6, 7, 23, 33-35}. Mascaux i sar.⁷ istraživali su značaj K-ras onkogene kao prognostičkog faktora kod NSČKP na osnovu analize literature od 1990. do 2003. godine (ukupan broj bolesnika 5 216; od 23 do 355 po istraživanju). Zaključci do kojih su oni došli na osnovu ove, do sada najopsežnije, metaanalize jesu da PCR pokazuje veću preciznost u detekciji mutacija u K-rasu u odnosu na imunohistohemijske

(IHH) tehnike, kao i da su mutacije u K-rasu negativan prognostički faktor ukoliko su detektovane PCR-om, a ne IHH tehnikom, i to samo kod adenokarcinoma, ali ne i kod skvamocelularnog karcinoma⁷.

Većina istraživanja pokazuje da se K-ras mutacije najčešće javljaju kod adenokarcinoma^{6, 11-13}. Naše istraživanje pokazalo je veću zastupljenost mutacija kod skvamocelularnih (7 od 19, tj. 36,8%) u odnosu na adenokarcinome (3 od 17, tj. 17,6%), bez statistički značajne razlike. U radu Claytona i sar.³⁶ *real time* ARMS metodom, takođe, češće su detektovane mutacije kod skvamocelularnih (18 od 39, tj. 46%) u odnosu na adenokarcinome (16 od 36, tj. 44%). Treba imati u vidu da se u našem istraživanju radi o relativno malom broju bolesnika u IIIb i IV kliničkom stadijumu bolesti, što može biti razlog ovakvog rezultata. Jedno od objašnjenja moglo bi biti i to da postoje razlike u frekvenciji K-ras mutacija između etničkih grupa³⁷. Takođe, potrebno je uzeti u obzir činjenicu da se mutacije u K-ras onkogenu smatraju za rani, ali ne prvi u nizu dešavanja pri nastanku karcinoma, te da samim tim detekcija mutacije može jednostavno odražavati stadijum bolesti³⁷. Detekcija K-ras mutacija u metastazama NSČKP pokazuje prisustvo mutacija kod čak 80% analiziranog tkiva, što ide u prilog navedenom³⁸.

Prema našim rezultatima nije bilo statistički značajne razlike u učestalosti mutacija u K-rasu u odnosu na godine života, pol bolesnika, ali ni u odnosu na pušačke navike. Praktično, 92% od ukupnog broja naših bolesnika su pušači, a svega 8% nepušači, a samo kod jednog od njih detektovane su mutacije u K-rasu, što je bilo dovoljno da utiče na rezultat statističke značajnosti. Hunt i sar.³⁹ detektovali su mutacije u 27,6% (32 od 116) bolesnika sa karcinomom pluća i na osnovu istraživanja došli do zaključaka da mutacije, takođe, nisu statistički značajno povezane sa godinama života, polom bolesnika, niti sa pušenjem. Oni su utvrdili da postoji statistički značajna povezanost mutacija sa rasom, tj. da se kod crne rase, mutacije javljaju znatno češće u odnosu na pripadnike bele rase. Prema ovim autorima, prisustvo mutacija u K-ras onkogenu nije značajan prognostički činilac, ali oni ističu da studije rađene u Americi pokazuju da K-ras onkogen nije prognostički faktor, dok većina studija rađenih u Evropi i Aziji pokazuje suprotno. U istraživanju japanskog tima, Toyooka i sar.³⁷ mutacije u K-rasu nađene su kod 10% (16 od 164 bolesnika) adenokarcinoma uz postojanje statistički značajne razlike učestalosti mutacija u odnosu na pol bolesnika i pušačke navike. Mutacije su bile značajno češće kod muškaraca pušača³⁷. Nemački tim istraživača utvrdio je statistički značajno veću učestalost mutacija kod pušača preko 20 paklo-godina⁴⁰. Vahakangas i sar.⁴¹ u svom istraživanju nisu našli razliku u učestalosti mutacija u K-rasu kod žena koje su bivši pušači (11%, tj. 1 od 9) i žena nepušača (11%, tj. 13 od 117). Le Calvez i sar.⁴² na osnovu svog istraživanja došli su do zaključka da se mutacije u K-rasu značajno češće javljaju kod bivših pušača, nego kod aktivnih pušača i nepušača. Učestalost i značaj K-ras mutacija ipak su nedovoljno istraženi.

Kod pet citološki negativnih uzoraka aspirata i kod pet pozitivnih, nađene su mutacije u K-rasu. U radu Claytona i sar.³⁶ takođe, u citološki negativnim uzorcima bronhoalveolarnog lavata nađene su mutacije u K-rasu. Ovaj podatak ide

u prilog većoj preciznosti molekulsko-bioloških u odnosu na citološke analize. Ni TNM status nije pokazao značajan uticaj na učestalost mutacija u K-ras onkogenu. Zanimljivo je napomenuti da nijedan od naših bolesnika nije klinički procenjen da ima N1 bolest. Prema Rodenhuisu i sar.⁴³ K-ras pozitivni adenokarcinomi imaju tendenciju da budu manji, ređe se šire u regionalne limfne čvorove, u odnosu na K-ras negativne, ali bez statistički značajne razlike. Većina bolesnika u njihovom istraživanju sa K-ras mutacijama bili su pušači, ali kada su poređeni sa grupom bolesnika bez mutacija nije bilo statistički značajne razlike.

Mada je postojala tendencija boljeg odgovora na citotoksičnu terapiju kod naših bolesnika koji nisu imali mutacije u K-ras onkogenu, ipak nije dokazana statistički značajna razlika u efikasnosti terapije u odnosu na prisustvo mutacija u K-rasu. Schiller i sar.⁴⁴ zaključili su da je klinički značaj mutacija u K-rasu u II i IIIa kliničkom stadijumu NSČKP veoma ograničen, te da ne bi trebalo da postane deo standardne kliničke pretrage. Oni nisu našli korelaciju između K-ras mutacija i vremena do progresije bolesti, kao ni korelaciju sa dužim preživljavanjem. Postojala je tendencija dužeg preživljavanja K-ras negativnih bolesnika koji su lečeni hemio- i radijacionom terapijom, ali bez statističke značajnosti. Studija Nelsona i sar.⁴⁰ pokazala je da su K-ras mutacije u prognostičkom smislu statistički značajne samo u I kliničkom stadijumu NSČKP. Oni su pretpostavili da tumori u I kliničkom stadijumu kod kojih su detektovane mutacije u K-rasu verovatno imaju mikrometastaze koje nisu detektovane pri dijagnostikovanju, te da kada se pojave klinički evidentne metastaze nema razlika u preživljavanju u odnosu na K-ras status. Drugi tim američkih istraživača, Lu i sar.³⁵ koji su radili multivarijantnu analizu šest molekularnih markera kod bolesnika sa resekiranim NSČKP u I stadijumu bolesti, nije našao statističku značajnost K-ras mutacija kao prognostičkog faktora. Camps i sar.⁴⁵ su kod 67 bolesnika u IIIb i IV kliničkom stadijumu bolesti uzimali uzorke seruma za analizu mutacija u K-rasu, pre izlaganja hemioterapijskim protokolima na bazi platine. Mutacije je imalo 20 bolesnika (30%). Postojala je tendencija boljeg odgovora na terapiju kod bolesnika sa mutacijama, ali bez statističke značajnosti. Rosell i sar.³⁴ kod 60 bolesnika u IIIa kliničkom stadijumu bolesti analizirali su mutacije u K-rasu. Oni su kod 30 bolesnika dali preoperativno tri ciklusa hemioterapije, dok je 30 operisano bez prethodne hemioterapije. Zaključili su da postoji statistički značajna razlika u dužem preživljavanju bolesnika koji su prethodno dobili hemioterapiju, ali nije bilo značajne razlike u odnosu na prisustvo K-ras mutacija. Kanadski i američki istra-

živači prošle godine objavili su rezultate istraživanja interakcije K-ras mutacija i adjuvantne hemioterapije kod 450 bolesnika. Mutacije u K-rasu imalo je 26% bolesnika. Nakon kompletne resekcije T2No i T1-2N1 NSČKP svi bolesnici dobili su po četiri ciklusa terapije po protokolu Cisplatin-Vinorelbin. Nije nađena statistički značajna razlika u odnosu na dobrobit od adjuvantne hemioterapije kod K-ras pozitivnih i K-ras negativnih bolesnika⁴⁶. Američki tim retrospektivno je analizirao 1 079 bolesnika sa IIIb i IV kliničkim stadijmom NSČKP, od kojih je 540 lečeno hemioterapijom (Carboplatin-Paclitaxel), a 539 je uz hemioterapiju dobijalo i Erlotinib (tirozin kinazni inhibitor EGFR). K-ras mutacije analizirane su kod 264 bolesnika od kojih je 21% (tj. 55 bolesnika) imalo mutacije. Od tih 55 bolesnika samo hemioterapiju dobilo je njih 30, dok je 25 bolesnika dobilo i Erlotinib. Od 207 bolesnika bez mutacija samo hemioterapiju dobilo je njih 103, dok je 104 dobilo i Erlotinib. Nije nađena statistički značajna razlika ni u jednoj grupi vezano za odgovor na hemioterapiju, kao i na hemioterapiju i Erlotinib, mada je nađena negativna korelacija između mutacija u K-rasu i Erlotiniba⁴⁷.

S obzirom na to da je uloga mutacija u K-ras onkogenu u predviđanju efekta hemioterapije, tj. njihova prediktivna uloga, nedovoljno istražena, ispitivanje značaja ovih mutacija i dalje je aktuelno. Prema prošlogodišnjem istraživanju američkih autora potvrđen je značaj mutacija u K-rasu kao negativnog prediktora odgovora na terapiju tirozin kinaznim inhibitorima EGFR-a (Genfitiniba i Erlotiniba) kod NSČKP. Zapravo, utvrđeno je da bez obzira na povećan broj EGFR-a prisustvo mutacija u K-ras onkogenu značajno utiče na slab odgovor (tj. rezistenciju) na tirozin kinazne inhibitore EGFR, tako da je preporučeno da se K-ras uvrsti u red markera koje je potrebno ispitati pre uvođenja ove terapije⁴⁸.

Zaključak

Na osnovu našeg ispitivanja zaključili smo da su mutacije u K-ras onkogenu prisutne kod 25,6% bolesnika u I-Ib i IV kliničkom stadijumu NSČKP, koji zadovoljavaju kriterijume za primenu polihemioterapije, da je učestalost mutacija u K-rasu nezavisna od godina života, pola, pušačkog i TNM statusa bolesnika. Mutacije su zastupljene i kod adeno i kod skvamocelularnih karcinoma i nemaju značaj za predviđanje odgovora na hemioterapiju sa protokolima na bazi platine, odnosno nemaju značaj prediktivnog tumorskog faktora, kod bolesnika u IIIb i IV kliničkom stadijumu NSČKP.

L I T E R A T U R A

1. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, Langer C, Sandler A, Krook J, et al. Eastern Cooperative Oncology Group. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2002; 346(2): 92–8.
2. Zinner RG, Herbst RS. Pemetrexed in the treatment of advanced non-small-cell lung cancer: a review of the clinical data. *Clin Lung Cancer* 2004; 5 Suppl 2: S67–74.
3. Shottenfeld D, Searle JG. Etiology and epidemiology of lung cancer. In: Pass HI, Carbone DP, Minna JD, Johnson DH, Mitchell JB, Turrisi III AT, editors. Lung cancer-principles and practice. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 3–73.
4. Alberola V, Cortesi E, Juan O. Weekly paclitaxel in the treatment of metastatic and/or recurrent non-small cell lung cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2002; 44 Suppl: S31–41.
5. Wiest JS, Franklin WA, Drabkin H, Gemmill R, Sidransky D, Anderson MW. Genetic markers for early detection of lung cancer and outcome measures for response to chemoprevention. *J Cell Biochem Suppl* 1997; 28–29: 64–73.

6. *Fleischbacher M, Beinert T, Possinger K.* Molecular genetic characteristics of lung cancer-useful as real' tumor markers? *Lung Cancer* 1999; 25(1): 7–24.
7. *Mascaux C, Iannino N, Martin B, Paesmans M, Berghmans T, Dussart M, et al.* The role of RAS oncogene in survival of patients with lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis. *Br J Cancer* 2005; 92(1): 131–9.
8. *Korsmeyer SJ.* Genes and neoplasia. In: *Isselbacher KJ, Braunvald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL*, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 13th ed. New York: McGraw Hill; 1996. p. 374–80.
9. *Adjei AA.* Blocking oncogenic Ras signaling for cancer therapy. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93(14): 1062–74.
10. *Nelson HH, Christiani DC, Mark EJ, Wiencke JK, Wain JC, Kelsey KT.* Implications and prognostic value of K-ras mutation for early-stage lung cancer in women. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91(23): 2032–8.
11. *Slebos RJ, Kibbelaar RE, Dalesio O, Kooistra A, Stam J, Meijer CJ, et al.* K-ras oncogene activation as a prognostic marker in adenocarcinoma of the lung. *N Engl J Med* 1990; 323(9): 561–5.
12. *Rodenbus S, Slebos RJ.* Clinical significance of ras oncogene activation in human lung cancer. *Cancer Res* 1992; 52(9 Suppl): 2665s–9s.
13. *Graziano SL, Gamble GP, Newman NB, Abbott LZ, Rooney M, Mookherjee S, et al.* Prognostic significance of K-ras codon 12 mutations in patients with resected stage I and II non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17(2): 668–75.
14. *Rosell R, Li S, Skacel Z, Mate JL, Maestre J, Canela M, et al.* Prognostic impact of mutated K-ras gene in surgically resected non-small cell lung cancer patients. *Oncogene* 1993; 8(9): 2407–12.
15. *Harada M, Dosaka-Akita H, Miyamoto H, Kuzumaki N, Kawakami Y.* Prognostic significance of the expression of ras oncogene product in non-small cell lung cancer. *Cancer* 1992; 69(1): 72–7.
16. *Volm M, Mattern J.* Resistance mechanisms and their regulation in lung cancer. *Crit Rev Oncog* 1996; 7(3–4): 227–44.
17. *Huber RM, Stratakis DF.* Molecular oncology-perspectives in lung cancer. *Lung Cancer* 2004; 45 Suppl 2: S209–13.
18. *Hoang T, Traynor AM, Schiller JH.* Chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer. In: *Pass HI, Carbone DP, Minna JD, Johnson DH, Turrisi III AT*, editors. *Lung cancer: Principles and Practice*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 571–87.
19. *D'Addario G, Pintilie M, Leighl NB, Feld R, Cerny T, Shepherd FA.* Platinum-based versus non-platinum-based chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer: a meta-analysis of the published literature. *J Clin Oncol* 2005; 23(13): 2926–36.
20. Clinical practice guidelines for the treatment of unresectable non-small-cell lung cancer. Adopted on May 16, 1997 by the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* 1997; 15(8): 2996–3018.
21. *Smith IE, O'Brien ME, Talbot DC, Nicolson MC, Mansi JL, Hickish TF, et al.* Duration of chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer: a randomized trial of three versus six courses of mitomycin, vinblastine, and cisplatin. *J Clin Oncol* 2001; 19(5): 1336–43.
22. *Socinski MA, Schell MJ, Peterman A, Bakri K, Yates S, Gütten R, et al.* Phase III trial comparing a defined duration of therapy versus continuous therapy followed by second-line therapy in advanced-stage IIIB/IV non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20(5): 1335–43.
23. *Huncharek M, Muscat J, Geschwind JF.* K-ras oncogene mutation as a prognostic marker in non-small cell lung cancer: a combined analysis of 881 cases. *Carcinogenesis* 1999; 20(8): 1507–10.
24. *Shepherd FA, Tsao MS.* Unraveling the mystery of prognostic and predictive factors in epidermal growth factor receptor therapy. *J Clin Oncol* 2006; 24(7): 1219–20.
25. *Mountain CF.* Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. *Chest* 1997; 111(6): 1710–7.
26. *Rosell R, González-Larriba JL, Alberola V, Molina F, Monzó M, Benito D, et al.* Single-agent paclitaxel by 3-hour infusion in the treatment of non-small cell lung cancer: links between p53 and K-ras gene status and chemosensitivity. *Semin Oncol* 1995; 22(6 Suppl 14): 12–8.
27. *Mendelsohn J.* Principles of neoplasia. In: *Isselbacher KJ, Braunvald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL*, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 13th ed. New York: McGraw Hill; 1996. p. 1814–26.
28. *Ilic V, Cikota B, Vojvodic D, Malesevic M, Stamatovic D, Magic Z.* Detection of K-ras and p-53 oncogene mutations in a patient with acute lymphoblastic leukemia before and after bone marrow transplantation. *Vojnosanit Pregl* 2001; 58(5): 557–61. (Serbian)
29. *Beaudet AL, Ballabio A.* Molecular genetics and medicine. In: *Isselbacher KJ, Braunvald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL*, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 13th ed. New York: McGraw Hill; 1996. p. 349–65
30. *Glavac D, Dean M.* Optimization of the single-strand conformation polymorphism (SSCP) technique for detection of point mutations. *Hum Mutat* 1993; 2(5): 404–14.
31. *Bassam BJ, Caetano-Anollés G, Gresshoff PM.* Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Anal Biochem* 1991; 196(1): 80–3.
32. *Hayashi K.* PCR-SSCP: a method for detection of mutations. *Genet Anal Tech Appl* 1992; 9(3): 73–9.
33. *Zhu CQ, Shih W, Ling CH, Tsao MS.* Immunohistochemical markers of prognosis in non-small cell lung cancer: a review and proposal for a multiphase approach to marker evaluation. *J Clin Pathol* 2006; 59(8): 790–800.
34. *Rosell R, Gómez-Codina J, Camps C, Maestre J, Padille J, Cantó A, et al.* A randomized trial comparing preoperative chemotherapy plus surgery with surgery alone in patients with non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 1994; 330(3): 153–8.
35. *Lu C, Soria JC, Tang X, Xu XC, Wang L, Mao L, et al.* Prognostic factors in resected stage I non-small-cell lung cancer: a multivariate analysis of six molecular markers. *J Clin Oncol* 2004; 22(22): 4575–83.
36. *Clayton SJ, Scott FM, Walker J, Callaghan K, Haque K, Liloglou T, et al.* K-ras point mutation detection in lung cancer: comparison of two approaches to somatic mutation detection using ARMS allele-specific amplification. *Clin Chem* 2000; 46(12): 1929–38.
37. *Toyooka S, Tokumo M, Shigematsu H, Matsuo K, Asano H, Tomii K, et al.* Mutational and epigenetic evidence for independent pathways for lung adenocarcinomas arising in smokers and never smokers. *Cancer Res* 2006; 66(3): 1371–5.
38. *Fleischbacher M, Beinert T, Possinger K.* Molecular genetic characteristics of lung cancer-useful as real' tumor markers? *Lung Cancer* 1999; 25(1): 7–24.
39. *Hunt JD, Strimas A, Martin JE, Eyer M, Haddican M, Luckett BG, et al.* Differences in KRAS mutation spectrum in lung cancer cases between African Americans and Caucasians after occupational or environmental exposure to known carcinogens. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11(11): 1405–12.
40. *Kerling M, Friedl C, Kraus A, Behn M, Pankow W, Schuermann M.* Differential frequencies of p16(INK4a) promoter hypermethylation, p53 mutation, and K-ras mutation in exfoliative material mark the development of lung cancer in symptomatic chronic smokers. *J Clin Oncol* 2000; 18(18): 3221–9.
41. *Vähäkangas KH, Bennett WP, Castrén K, Welsh JA, Khan MA, Blömeke B, et al.* p53 and K-ras mutations in lung cancers from former and never-smoking women. *Cancer Res* 2001; 61(11): 4350–6.

42. *Le Calvez F, Mukeria A, Hunt JD, Kelm O, Hung RJ, Tanière P, et al.* TP53 and KRAS mutation load and types in lung cancers in relation to tobacco smoke: distinct patterns in never, former, and current smokers. *Cancer Res* 2005; 65(12): 5076–83.
43. *Rodenbuis S, Slebos RJ, Boot AJ, Evers SG, Mooi WJ, Wagenaar SS, et al.* Incidence and possible clinical significance of K-ras oncogene activation in adenocarcinoma of the human lung. *Cancer Res* 1988; 48(20): 5738–41.
44. *Schiller JH, Adak S, Feins RH, Keller SM, Fry WA, Livingston RB, et al.* Lack of prognostic significance of p53 and K-ras mutations in primary resected non-small-cell lung cancer on E4592: a Laboratory Ancillary Study on an Eastern Cooperative Oncology Group Prospective Randomized Trial of Postoperative Adjuvant Therapy. *J Clin Oncol* 2001; 19(2): 448–57.
45. *Camps C, Sirera R, Bremnes R, Blasco A, Sancho E, Bayo P, et al.* Is there a prognostic role of K-ras point mutations in the serum of patients with advanced non-small cell lung cancer? *Lung Cancer* 2005; 50(3): 339–46.
46. *Tsao MS, Aviel-Ronen S, Ding K, Lau D, Lin N, Sakurada A, et al.* Prognostic and predictive importance of p53 and RAS for adjuvant chemotherapy in non small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25(33): 5240–7.
47. *Eberhard DA, Johnson BE, Amler LC, Goddard AD, Heldens SL, Herbst RS, et al.* Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib. *J Clin Oncol* 2005; 23(25): 5900–9.
48. *Massarelli E, Varela-Garcia M, Tang X, Xavier AC, Oğburn NC, Liu DD, et al.* KRAS mutation is an important predictor of resistance to therapy with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13(10): 2890–6.

Rad primljen 24. IX 2008. god.



Assessment of quality of care in acute postoperative pain management

Procena kvaliteta zdravstvene nege u tretmanu akutnog postoperativnog bola

Dragana Milutinović*, Verica Milovanović†, Miroslava Pjević‡,
Mirjana Martinov-Cvejin§, Tomislav Cigić§

Medical Faculty, *Department of Nursing, Novi Sad; Military Medical Academy, †Department of Nursing Care, Belgrade; Clinical Centre of Vojvodina, ‡Clinic for Anesthesiology and Intensive Therapy, §Clinic for Neurosurgery, Novi Sad; ||Institute for public health of Vojvodina, Novi Sad

Abstract

Background/Aim. Managing of acute postoperative pain should be of great interest for all hospital institutions, as one of the key components of patients satisfaction, which indicates quality, as well as the outcome of treatment. The aim of this study was to assess the quality of nursing care in managing acute postoperative pain and to establish factors which influence patients assessment of the same. **Method.** The investigation was conducted on the sample of 135 patients hospitalized in surgical clinics of the Clinical Centre of Vojvodina in Novi Sad in the form of cross-sectional study, by interviewing patients during the second postoperative day and collecting sociodemographic variables, type of surgical procedure and applied analgesic therapy which were taken from their medical documentation. The modified questionnaire of the Strategic and Clinical Quality Indicators in Postoperative Pain Management (SCQIPP) was used as the instrument of the investigation. The data were processed with suitable mathematical statistics methods such as multivariate analyses of variance (MANOVA), discriminative and other parametric procedures and methods. Roy's test, Pearson's coefficient contingency (χ), multiple correlation coefficient (R) were conducted amongst other univariate procedures. **Results.** The mean score for the individual items of SCQIPP questionnaire was between 2.0 and 4.7 (scale range 1–5) and the percentage of patients answers "strongly agree" ranged from 4.4 to 77%. The smallest number of positive answers were

given by the patients for the item "In order to assess pain intensity, some of the staff asked me at least once in the morning, in the afternoon and in the evening to show the number from 0–10". Most of the patients (57%) evaluated severe pain during the previous 24 hours, as moderate pain, which represents significantly greater number of patients which complain of severe pain and mild pain ($p < 0.001$). The analysis of patients evaluation (MANOVA $p < 0.05$ and discriminative $p < 0.05$) indicates the existence of significant difference between the assessment of nursing care quality in managing acute postoperative pain as regards to clinics as the place for pain management, patient's sex and his expectations. Evaluation from "communication" subscale gives the greatest contribution (24.9%) to the difference between the observed clinics, and the greatest contribution (25.7%) to the difference in evaluation of nursing care quality as regards to patients' sex has the evaluations from "procedure" subscale. **Conclusion.** The results of this study show a useful evidence and identify aspects of nursing care in postoperative management of acute pain which are still to be improved. According to the patients' answers the priority should be given to a regular assessment of the intensity of postoperative pain and evaluation of the effects of analgesic therapy.

Key words:
quality assurance, health care; nursing; pain, postoperative; self-evaluation programs; analgesics.

Apstrakt

Uvod/cilj. Značajan interes za sve hospitalne ustanove trebalo bi da bude rešavanje akutnog postoperativnog bola kao jednog od ključnih pokazatelja zadovoljstva bolesnika, kvaliteta zdravstvene nege i ishoda lečenja. Cilj ovog rada bio je da se izvrši procena kvaliteta zdravstvene nege u tretmanu akutnog postoperativnog bola i utvrde faktori koji utiču na procenu istog od strane bolesnika. **Metode.** Istraživanje je sprovedeno na uzorku od 135 bolesnika hospitalizovanih na hirurškim klinikama Kliničkog centra Vojvodine u Novom

Sadu u obliku studije preseka, anketiranjem bolesnika drugog postoperativnog dana i prikupljanjem sociodemografskih podataka, vrste hirurškog zahvata i primenjene analgetičke terapije iz medicinske dokumentacije. Kao instrument istraživanja korišćen je modifikovani upitnik Strateški i klinički pokazatelji kvaliteta tretmana postoperativnog bola (*Strategic and Clinical Quality Indicators in Postoperative Pain Management* – SCQIPP). Podaci su obrađeni multivarijantnom analizom varijanse (MANOVA), Royovim testom i Piersonovim koeficijentom kontingencije. **Rezultati.** Prosečan skor na pojedinačnim obeležjima SCQIPP upitnika kretao

se od 2 do 4,7 (veći skor označavao je bolji kvalitet nege), a procenat odgovora bolesnika „potpuno se slažem“ varirao je od 4,4% do 77%. Bolesnici su dali najmanje pozitivnih odgovora na obeležje „Da bi procenili jačinu bola, neko od osoblja me je najmanje jednom ujutro, posle podne i uveče molio da pokažem broj od 0–10“. Većina bolesnika (57%) su najjači bol u prethodna 24 sata ocenili kao umereno jak bol, što je značajno više od broja bolesnika, koji su se žalili na jak ili blag bol ($p < 0,001$). Analiza ocena bolesnika (MANOVA $p < 0,05$ i diskriminativna $p < 0,05$) ukazala je na značajnu razliku između procene kvaliteta zdravstvene nege u zbrinjavanju akutnog postoperativnog bola u odnosu na kliniku kao mesto zbrinjavanja bola, pol bolesnika i nje-

gova očekivanja. Ocene iz supskale „komunikacija“ najviše su doprinosile razlici između posmatranih klinika, a ocene iz supskale „postupak“ razlici među polovima bolesnika u proceni kvaliteta nege. **Zaključak.** Rezultati ove studije pružaju korisne dokaze i identifikuju aspekte zdravstvene nege u zbrinjavanju akutnog postoperativnog bola koje treba poboljšati. Na osnovu rezultata testa najbolji način poboljšanja zdravstvene nege bio bi redovna procena jačine bola i provera analgetskog učinka datih lekova.

Ključne reči:

zdravstvena zaštita; obezbeđenje kvaliteta; sestринство; bol, postoperativni; samoprocena, programi; analgetici.

Introduction

There has been an increasing interest in acute postoperative pain management for several decades^{1,2}. The examples of most frequent obstacles of inadequacy of postoperative management are inadequate pain assessment, variability of individual experience of postoperative pain, lack of systematic follow up and documented pain assessment, the absence of interaction between patients and healthcare providers, negative attitude to the use of analgesia³⁻⁷.

Despite the advancement in knowledge of pathophysiological mechanisms of acute postoperative pain, pharmacological and technological development, epidemiological studies reveal insufficiency in pain relief and significant prevalence of acute postoperative pain^{8,9}. The results of some studies show that 40 to 70% of surgical patients experience moderate and severe postoperative pain⁹⁻¹¹.

Regular assessment of healthcare quality in managing acute postoperative pain is necessary for several reasons¹². Allowing patient to experience postoperative pain is unacceptable and unethical when tools and educated healthcare providers are available. The right of pain relief should be basic human right. Pain delays postoperative recovery and may cause medical complications associated with inadequately treated acute pain (impairing mobility, respirations and coughing, breathing problems and forming venous thrombosis and hypoxia)^{12,13}. Severe, acute pain after surgical procedures may progress to chronic postoperative pain¹⁴.

Inefficient treatment of acute postoperative pain may result in obvious material and immaterial expenses and losses. Material expenses are the ones in the system of health care (prolonged hospitalization, the increased use of medications, medically related work absenteeism). Immaterial losses cause emotional anxiety and patients dissatisfaction^{12,13}.

Significant goals in managing postoperative pain include minimizing or eliminating discomfort, facilitating the recovery process, and avoiding complications and transition of acute pain into chronic pain. Nurses from surgical ward and clinics are also responsible for achieving these goals^{6,13}. Nurses interventions in managing acute postoperative pain comprise recognition of physiological, behavioral and emotional signs and pain symptoms and assessment of pain in-

tensity as the “fifth vital sign”, recording the pain, having knowledge of available pharmacological and non pharmacological approaches for pain relief^{13,15-17}. Since nurses spend 24 hours with patients, in most cases health care is the foundation of quality of work in the organization, and pain management should be the very core of nursing care⁶.

Management of pain should be of great interest for all hospital institutions as one of key components of patients satisfaction which is a quality indicator, as well as an outcome of treatment. The best way of quality assessment of pain management is based on patients self-report¹⁸.

The aim of this study was to assess the quality of health care in managing acute postoperative pain and to establish factors of patients perspectives.

Methods

A total of 135 inpatients in surgical clinics (neurosurgery, abdominal surgery, endocrine and transplantation surgery, orthopedics, trauma and urology) of the Clinical Centre of Vojvodina were included in the study conducted in the form of cross-sectional study, by interviewing patients during the second postoperative day and collecting sociodemographic variables, type of surgical procedure and applied analgesic therapy which were taken from their medical documentation. The patients included in the study underwent elective surgical procedure, were over eighteen and had given verbal and written consent for participating in the investigation. Interviewing of the patients and collecting data from medical documentation was conducted by an independent investigator.

The modified questionnaire of the Strategic and Clinical Quality Indicators in Postoperative Pain Management (SCQIPP), developed by Ewa Idvall and her associates in 2002, was used as the instrument of investigation¹⁹.

The last version of Strategic and Clinical Quality Indicators in Postoperative Pain Management Questionnaire was used comprising 14 items in four subscales (communication, action, trust and environment) converted into statements. The format of typical five-level Likert item was used to measure level of agreement or disagreement with the statements which represent individual items in the questionnaire. The intensity of description ranges from 1 – strongly disagree, 2

– disagree, 3 – neither agree nor disagree, 4 – agree to 5 – strongly agree.

The questionnaire contains two supplementary questions concerning general patient satisfaction with postoperative pain management and two concerning pain intensity and general satisfaction. Patients scored “How dissatisfied or satisfied are you with the postoperative pain treatment” according to 11 – level scale, with 0 describing strongly agree, and “yes” or “no” responds to the question “Tell me if you experienced more severe pain than you anticipated”.

The supplementary questions concerning pain intensity (the worst pain experienced during the last 24 hours, as well as right now pain), measured with numerical scale – Numeric Rating Scale (NRS), was taken from multidimensional i.e. the Brief Pain Inventory¹⁷ using numeric 0 to 10 scales, with 0 being “none”, 1 to 3 “mild”, 4 to 6 “moderate”, and 7 to 10 “severe” pain. In recent studies the questionnaire was tested by checking the domain/scale internal consistency (Cronbach’s alpha) which was $\alpha = 0.84$.

The study was examined and approved by the Ethics Committee of Medical Faculty and Ethics Committee of Clinical Centre of Vojvodina in Novi Sad. In order to make the patients anonymous the interviews were conducted without taking patients personal data and all the data were treated in strict confidence. The patients were informed on the independency of the researcher i.e. on no affiliation to the hospital.

Non-parametric procedures according to frequency of modalities were used to analyze patients assessments of all dimensions of health care quality in postoperative pain management since they have non-parametric characteristics. However, in order not to lose information, finding the finest correlations and knowledge, on non-parametric values, data scaling was done on contingency tables. Since the scaling of data does not exclude the use of non-parametric tests, the multivariate analysis of variance (MANOVA) for scaled data, discriminative and other parametric procedures and methods were possible. Furthermore, Roy’s test, Pearson’s coefficient contingency (χ), multiple correlation coefficient (R) was conducted amongst other univariant procedures.

Results

The research was conducted on the sample of 135 inpatients of which 40 inpatients (29.6%) participated in the Clinics of Abdominal, Endocrinological and Transplantation Surgery, and 29 inpatients (21.5%) in the Clinics of Neurosurgery. The same numbers of 33 patients (24.4%) were both in the Clinics of Orthopedics and in the Clinics of Urology.

Most patients were male, 71 (52.6%) and 64 (47.4%) were female. The mean age of the surveyed patients was 47.2 ± 15.9 years. Several patients asked the researcher to read and fill in the questionnaire instead of them.

The patients underwent different surgical procedures (Table 1).

Table 1

Classification of surgical procedures		
Surgical procedures	n	%
<i>Neurosurgery</i>		
Interhemilaminectomy	26	19.2
Intracranial tumor	3	2.2
<i>Abdominal surgery</i>		
Herniectomy	15	11.1
Cholecistectomy	23	17.0
Colorectal surgery	2	1.4
<i>Orthopedics</i>		
Alorthoplastica genus	10	7.4
Alorthoplastica coxae	7	5.1
Ligamentoplastica	16	11.9
<i>Urology</i>		
Radical prostatectomia	7	5.1
Nephrectomia	6	4.4
Cystectomy	4	2.9
Lymfadenectomy	4	2.9
Semicastratio	3	2.2
Transurethral resection of prostate	3	2.2
Ureterolithotomia	6	4.4
Total	135	100.0

It was established from medical documentation that the most often administered analgesic on the first postoperative day was metamizol (Novalgetol) (67, 39.6%) and ketoralak (Zodol) (61, 36.1%) which is much more than the use of tramadol (Trodon) (31, 18.3%; $p < 0.001$), metamizol (Baralgin[®]) (5, 3%; $p < 0.001$), diklofenak (Diklofen[®]) (4, 2.4%; $p < 0.001$) i nimesulid (Nimulid[®]) (1, 0.6%; $p < 0.001$). Medications were administered intravenously, subcutaneously and orally.

More than a half of the patients, 78 (57.8%), answered they hadn’t experienced worse pain than they anticipated, in relation to 57 (42.2%) patients who had experienced worse pain than they anticipated ($p < 0.05$). Most of the patients, 77 (57.0%), assessed the worst pain in the last 24 hours as moderate pain, which is significantly more than the number of patients complaining of extreme pain 47 (34.8%; $p < 0.001$) and mild pain (7.4%; $p < 0.001$). One of the patients did not experience any pain. The lowest pain intensity in the last 24 hours and right now pain are shown in Table 2.

Table 2

Pain intensity scale	Pain intensity measured on the second postoperative day							
	No pain (0)		Mild pain (1–3)		Moderate pain (4–6)		Severe pain (7–10)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
IB1	1	0.7	10	7.4	77	57.0*	47	34.8
IB2	8	5.9	113	83.7*	14	10.4		
IB3	8	5.9	103	76.3*	23	17.0	1	0.7

IB₁ – the worst pain during last 24 hours ; IB₂ – the lowest pain intensity in the last 24 hours; IB₃ – right now pain (the second postoperative day); * $p < 0.001$

Mean score of individual SCQIPP questionnaire items (n=14) ranged from 2.0 to 4.7 (higher score marks better care quality), and percentage of “strongly agree” scores varied from 4.4% to 77%. Table 3 shows that the lowest number of

Analysis of patients’ evaluation (MANOVA $p < 0.05$ and discriminative $p < 0.05$) indicated the existence of significant difference between the assessment of health care quality in managing acute postoperative pain as regards to

Table 3
Patients’ mean (\pm SD) and numeric (n) scores for individual items and percentage (%) of patients scoring of “strongly agree” and “agree” on each SCQIPP item

Quality of care indicators converted into statement			“agree“		“strongly agree“	
Scqipp questions	\bar{x}	SD	n	%	n	%
<i>Subscale: Communication</i>						
1. Before my operation I was told about the type of pain treatment I would be offered after surgery (K1)	3.4	1.2	45	33.33	25	18.52
2. When nurses come on duty, they know “everything” about how much pain I have had and the pain treatment I have had received (K2)	4.0	1.0	41	30.37	53	39.26
3. The nurses and doctors cooperated in treating my pain (K3)	4.6	0.8	22	16.30	100	74.07
<i>Subscale: Action</i>						
4. After my operation I talked with nurse about how I wanted my pain to be treated (PS1)	3.8	1.3	49	36.30	46	34.07
5. I received support or help in finding a comfortable position in bed to help avoid pain (PS2)	4.2	1.0	49	36.30	63	46.67
6. The staff asked me about the pain I had when I breathed deeply, sat up, or moved around (PS3)	4.1	1.1	40	29.63	63	46.67
7. To determine my level of pain, a member of a staff asked me to pick a number between 1 to 10 at least once in the morning, afternoon and evening (PS4)	2.0	1.1	10	7.41	6	4.44
<i>Subscale: Trust</i>						
8. Even if I did not always ask for it, I was given pain medication (PV1)	3.6	1.2	52	38.52	31	22.96
9. The nurses helped me with pain treatment until I was satisfied with the effects of pain relief. (PV2)	3.3	1.2	43	31.85	23	31.85
10. The nurses are knowledgeable about how to relieve my pain (PV3)	4.4	1.0	36	26.67	77	57.04
11. The nurses believe me when I tell them about my pain (PV4)	4.7	0.5	26	19.26	104	77.04
<i>Subscale: Environment</i>						
12. I was given the opportunity for peace and quiet so I could sleep at night (O1)	4.2	1.0	51	37.78	65	48.15
13. I have a pleasant room (O2)	4.1	1.0	57	42.22	54	40.00
14. There have been enough nurses on duty for someone to respond quickly to my request for pain relief (O3)	3.9	1.1	29	21.48	51	37.78

SCQIPP – Strategic and Clinical Quality Indicators in Postoperative Pain

positive answers was for the item “To determine my level of pain, a member of the staff asked me to pick a number between 0 and 10 (or make a mark on a straight line) at least once every morning, afternoon, and evening”, which means the lack of regular assessment of pain intensity as the fifth vital sign in every day nursing care.

Numeric and percentage representation of “agree” and “strongly agree” modalities, as well as mean values of scores to the question “How dissatisfied or satisfied are you with the postoperative pain treatment” 7.9 ± 1.8 ($\bar{x} \pm$ SD) show general satisfaction with postoperative health care in observed patients.

The aim of the research and methodological approach determined the analysis of patients assessment of surveyed indicators of health care quality in managing acute postoperative pain, intensity of extreme pain (IB₁) and mildest pain (IB₂) during the last 24 hours and right now pain intensity (IB₃) in relation to clinics of inpatients as the setting of pain management, their expectations of more severe pain and patients gender.

clinics as the setting of pain management for most items in all four subscales, with exception of scores for PV4 (“The nurses believe me when I tell them about my pain” $p = 0.106$) and PS₁ (“After my operation I talked with a doctor or nurse about how I wanted my pain to be treated” $p = 0.139$). Discriminative coefficient gave the greatest contribution to the difference between the surveyed clinics (with starting point at greatest difference) for the patients’ scores for the following items PV₁ (.141), PS₃ (.138), PS₄ (.137), K₂ (.128), K₁ (.126), PV₂ (.116) and PS₁ (.096). Other items showed lower discriminative coefficient.

The results of this research suggest that health care characteristics ordered by the degree of discrimination as regards to clinics are following for the items:

– PV1 (Even if I did not always ask for it, I was given pain medication) in the Clinics for Abdominal Surgery was agree*, Clinics for Orthopedics and Trauma was strongly disagree*, and Clinics for Urology neither agree nor disagree*.

– PS3 (The staff asked me about the pain I had when I breathed deeply, sat up, or moved around) in the Clinics for

Neurosurgery was disagree* and strongly disagree*. In the Clinics for Orthopedics and Trauma was neither agree nor disagree* and disagree, and Clinics for Urology strongly disagree (* $p < 0.05$).

Analysis of patients' responds to pain intensity (MANOVA $p < 0.05$ and discriminative $p < 0.05$) established a significant differences amongst four surveyed clinics in relationship to IB₁ assessment (worst pain; $p < 0.001$), and without difference for patients' assessment of IB₃ (pain now; $p = 0.153$) and IB₂ (the lowest pain; $p = 0.183$), with discriminative coefficient for IB₁ (.126), IB₃ (.030) and IB₂ (.024) assessment.

The patients in neurosurgery scored IB₁ (the worst pain) as: mild pain, patients in abdominal surgery as severe pain* and mild pain, while patients in orthopedics and trauma scored as moderate pain* (* $p < 0.05$).

Figure 1 shows that the greatest contribution to the difference of clinics as the setting of pain management has the item scores of subscale "communication" (24.9%) and "action" (21.5%).

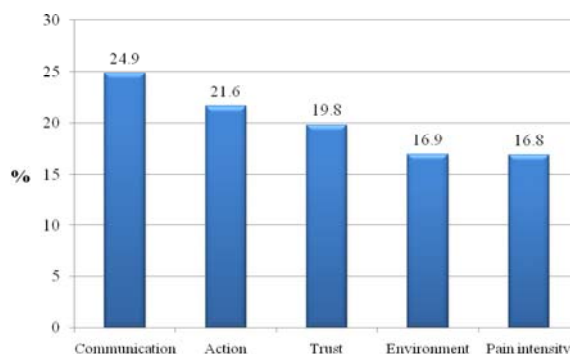


Fig. 1 – Contribution of patients' scores (%) in subscales and pain intensity assessments to different clinic settings

Analysis of patients' scores of quality of care in managing postoperative pain (MANOVA $p < 0.05$ and discriminative $p < 0.05$) established the significant differences between patients expectations of postoperative pain intensity in relation to overall assessments of health care quality with discrimination for PS₄ (.188), K₃ (.104), K₁ (.080), PV₄ (.060) and PS₁ (.052) scores.

According to the patients scores of item K₃ ("The nurses and doctors have cooperated in treating my pain") those patients with pain worse than they expected scored: strongly disagree and disagree, while patients without severe pain scored strongly agree, and K₁ ("Before my operation I was told about the type of pain treatment I would be offered after surgery") for patients with worse pain than they expected scores were strongly disagree, disagree and neither agree nor disagree, while patients without severe pain scores were: agree and strongly agree ($p < 0.05$).

Analysis of the patients scores of quality of postoperative pain intensity (MANOVA $p < 0.001$ and discriminative $p < 0.001$) suggests that there is a significant difference between patients expectation and IB₁ assessment (the worst pain; $p < 0.001$), IB₃ (pain now; $p < 0.001$), IB₂ (the lowest

pain; $p < 0.05$), with discrimination for IB₁ (.432), IB₃ (.215), IB₂ (.000). The results show that patients with worse pain than they expected IB₁ (the worst pain) scored: none, mild pain, moderate pain ($p < 0.001$).

Figure 2 represents pain intensity scores (33.2%) and subscale "action" scores (21.4%) giving the greatest contribution to the difference among the patients in relation to their expectation of postoperative pain intensity.

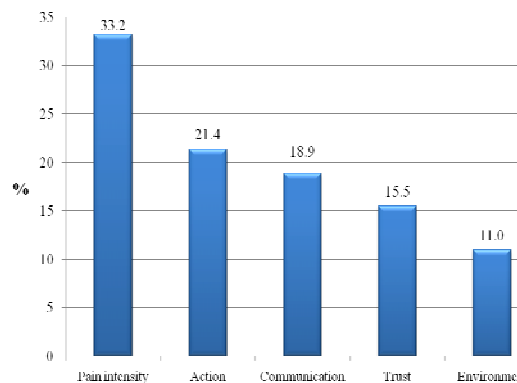


Fig. 2 – Contribution of scores (%) in subscales and pain intensity assessments to difference in relation to worse postoperative pain expectation

Analysis of the patients scores of quality of postoperative pain intensity (MANOVA $p < 0.05$ and discriminative $p < 0.05$) suggests that there is a significant difference between patients gender in scoring most of items in all four subscales, and there was no established difference for item PV₂ ("The nurses helped me with pain treatment until I was satisfied with the effects of pain relief" $p = 0.112$) and PV₄ ("The nurses believe me when I tell them about my pain" $p = 0.708$). Discriminative coefficient suggests that the greatest contribution to gender discrimination were scores on PS₂ (.158), PV₁ (.085), PS₁ (.072), O₃ (.068), PS₄ (.061), O₂ (.048), while the other items have significantly lower discriminative coefficient.

It is necessary to mention that assessment indicators of the subscale "trust" have latent items contributing to discrimination of genders together with other items although they did not show a significant difference, such as PV₂ and PV₄.

Characteristics of gender can be inferred from this research according to discriminative degree order with the starting point at highest difference for the following items: PS₂ ("I received support or help in finding a comfortable position in bed to help avoid pain") male patients scored neither agree nor disagree and strongly agree, while female patients scored disagree and agree; PV₁ ("Even if I did not always ask for it, I was given pain medication") men scored the following items strongly disagree, and women agree ($p < 0.05$).

Analysis of patients scores of quality of postoperative pain intensity (MANOVA $p < 0.001$ and discriminative $p < 0.001$) suggests that there is a significant differences between genders in scoring IB₂ (the lowest pain; $p < 0.001$), IB₁ (the worst pain; $p < 0.05$). There was no difference for

IB₃ (pain right now; $p = 0.237$) scores, and discriminative coefficient indicates the greatest contribution to discrimination between genders in scores on IB₂ (.131), IB₁ (.001), and then on IB₃ (.000). Thus, it can be concluded that women scored IB₂ (the lowest pain) as moderate pain, and men: none and mild pain ($p < 0.001$).

Figure 3 suggests that scores of the subscale "action" (25.6%) and pain intensity (22.8%) contribute most to gender differences between the patients.

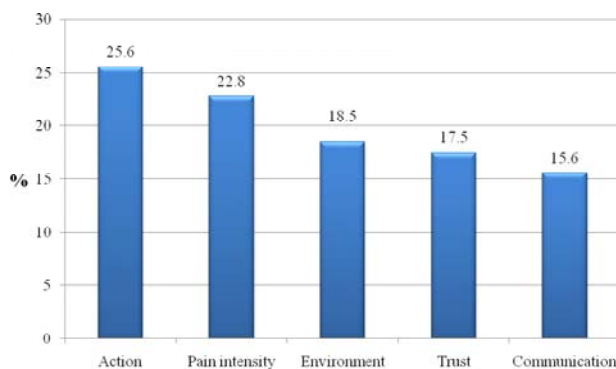


Fig. 3 – Contribution of patients' scores (%) in subscales and pain intensity assessment to difference between patients' gender

Discussion

The results of this study suggest that the question of satisfaction with managing postoperative pain should be considered incomplete for the assessment of health care quality since it indicates that regardless of the presence of severe and moderate pain, a significant number of patients express satisfaction with the care. There were similar results in other studies, which can be explained by the fact that our patients traditionally assume postoperative pain as inevitable and therefore they have to suffer pain, and very few patients were aware of the standards of health care they may receive and of potential benefits of adequate pain relief^{12, 21–23}.

However, Cronbach's alpha from initial psychometric analysis ($\alpha = .84$) of questionnaire and its subscales called "communication", "action", "trust" and "environment" comprising significant aspects of health care gave valuable aspects for the assessment of postoperative care management quality. The subscale "communication" comprises: informing and educating patients, as well as team work. "Action" scale means: timely noticing and treating signs and symptoms of postoperative pain, performing pre- and postoperative care, general care and giving emotional support to patients. "Trust" subscale comprises carrying out doctors orders, care of patients, competence and nurses attitude, and "environment" subscale comprises: patients privacy guarantees, auxiliary staff, ward rooms and equipment²⁴. A dilemma exists about the "high" quality care. Author of the SCQIPP thinks there is only a small discrepancy allowance in percentage of the patients scores "strongly agree" or, the scope of scores "strongly disagree" and "disagree" ranging from 0.5 to 3%²⁵.

Taking this criterion into account, the most important aspect of nursing care in postoperative pain, which needs to be improved, is a regular pain assessment by applying some of one-dimensional scales. Since this item was scored "strongly disagree" and "disagree" by 105 (77%) patients it can be concluded that a regular assessment of pain intensity is not common practice neither among nurses not among doctors and most likely indicates to organizational problem of surveyed clinics. Regular and documented assessment of pain intensity has been a problem in other countries, too^{4, 5, 21}. In Holland, an indicator of quality in postoperative pain management is almost lower than four (in scale ranging from 0 to 10) in the last 72 hours after operation divided by the number of evaluated patients. However, in spite of legislative regulations of recording quality indicators only a few hospitals can make complete results public, because standards for documenting pain have not been implemented yet in most of Holland hospitals¹¹. In our country there is a regular assessment of pain intensity according to the Regulations of Health Care Quality Indicators as obligatory indicator of quality of work, but only in institutions for health care of old people²⁶.

The patients responses showed that a lack of monitoring effects of analgesic therapy in nursing care is very often the case. It is recommended to monitor effects of analgesic therapy in treating postoperative pain together with a regular pain assessment because of possible therapy change in accordance with patients reactions²⁷.

Trust as one of the basic principles of pain management was fulfilled since nurses believe patients have pain. This finding points out patients trust in the staff and nurses acceptance of definition of pain by Margo McCaffery, international expert on health care of patients with pain. She defined pain as "whatever the experiencing person says it is, existing whenever s/he says it does"¹⁷. Another positively scored aspect of postoperative pain was a team work of doctors and nurses.

Surgical clinic as a setting for postoperative pain management turned out to be a significant factor influencing the quality of nursing care regarding acute postoperative pain and it was confirmed by the results of other studies¹². The quality of nursing care in these clinics gives an explanation, but we need further research to confirm this.

The results show that gender and patients expectations in relation to postoperative pain have the most significant influence on pain intensity assessment and consequently on quality of pain management. More than a half of patients with worse pain than they anticipated have lower mean score in "action" and "communication" subscales. These findings point out the need for patients to be informed about pain by nurses before the surgical procedure and different methods of pain management, the importance of their active participation in treatment, as it is performed by nurses in most European countries^{8, 29}. Sherwood emphasized that patients show greater pleasure with postoperative treatment of acute pain if they were educated through early nursing interventions how to treat their pain, how to be active partners in planning of their postoperative pain management²⁹.

The existing drawbacks can be overcome by professional education of nurses and establishment of a Postoperative Pain Management Service. Rawall Swedish model would be most acceptable for our conditions and it is performed by nurses under supervision of one anesthesiologist. According to this model, nurses from the Service are entitled to perform education of patients and ward nurses in treating pain, but they are also obliged to prepare guidelines for treating acute pain together with surgeons^{30,32}.

Conclusion

This study showed a lack of regular assessment of pain intensity and follow-up of effects of analgesic therapy in professional nursing care, nurses trust in patients when they report pain and cooperation with doctors in postoperative pain

management, as well as, surgical clinic as a setting for pain management, gender and existence of worse pain than expected comprise significant factors which influence score on quality of acute postoperative management care.

Pain relief itself is not enough for the improvement of postoperative stay, but in addition to other procedures and measures it is a precondition for improving outcomes of care and treatment. Thus, treatment of postoperative pain as an essential part of care in surgical wards should be given special attention. Professional nurse services should have system of quality planning, performing, evaluating and improving care, comprising measurable aims and quality indicators. Since nurses represent most numerous group of professional health care workers and the ones who are closest to patients, defining and using indicators of their performance should be a priority for health care managers.

R E F E R E N C E S

1. Breivik H, Stubhaug A. Management of acute postoperative pain: still a long way to go! *Pain*. 2008; 137(2): 233–4.
2. Karlsten R, Ström K, Gunningberg L. Improving assessment of postoperative pain in surgical wards by education and training. *Qual Saf Health Care* 2005; 14(5): 332–5.
3. Drayer RA, Henderson J, Reidenberg M. Barriers to better pain control in hospitalized patients. *J Pain Symptom Manage* 1999; 17(6): 434–40.
4. McCaffery M, Ferrell BR. Nurses' knowledge of pain assessment and management: how much progress have we made? *J Pain Symptom Manage* 1997; 14(3): 175–88.
5. Briggs M, Dean KL. A qualitative analysis of the nursing documentation of post-operative pain management. *J Clin Nurs* 1998; 7(2): 155–63.
6. Idvall E, Ehbrenberg A. Nursing documentation of postoperative pain management. *J Clin Nurs* 2002; 11(6): 734–42.
7. McCaffery M, Ferrell BR, Passero C. Nurses' personal opinions about patients' pain and their effect on recorded assessments and titration of opioid doses. *Pain Manag Nurs* 2000; 1(3): 79–87.
8. Svensson I, Sjöström B, Haljamäe H. Influence of expectations and actual pain experiences on satisfaction with postoperative pain management. *Eur J Pain* 2001; 5(2): 125–33.
9. Cohen FL. Postsurgical pain relief: patients status and nurses medication choices. *Pain* 1980; 9(2): 265–74.
10. Klopfenstein CE, Herrmann FR, Mamie C, Van Gessel E, Forster A. Pain intensity and pain relief after surgery. A comparison between patients' reported assessments and nurses' and physicians' observations. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000; 44(1): 58–62.
11. Sommer M, de Rijke JM, van Kleef M, Kessels AG, Peters ML, Geurts JW, et al. The prevalence of postoperative pain in a sample of 1490 surgical inpatients. *Eur J Anaesthesiol* 2008; 25(4): 267–74.
12. Chung JW, Lai JC. Postoperative pain management: study of patients' level of pain and satisfaction with health care providers' responsiveness to their reports of pain. *Nurs Health Sci* 2003; 5(1): 13–21.
13. Core curriculum for pain management nursing. In: *St. Marie B*, editor. American Society of pain Management Nurses. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2002.
14. Kehlet H, Jensen TS, Woolf CJ. Persistent postsurgical pain: risk factors and prevention. *Lancet* 2006; 367(9522): 1618–25.
15. *The American Society*. Pain: current understanding of assessment, management and treatment. JAM; 2007.
16. Perry, AG, Potter P A. Clinical nursing skills and techniques. 6th ed. United States: Mosby; 2006.
17. Passero C, McCaffery M. Acute pain. In: *Ackly B, Ladwig G*. Nursing diagnosis handbook. A guide to planning care. Mosby, Elsevier, Seventh Edition, 2006.
18. NHS Scotland. The impact of nursing on patient clinical outcomes-developing quality indicators to improve care. Available from: <http://www.nhshealthquality.org>
19. Idvall E, Hamrin E, Unosson M. Development of an instrument to measure strategic and clinical quality indicators in postoperative pain management. *J Adv Nurs* 2002; 37(6): 532–40.
20. Feinstein AR. Principles of Medical Statistics. New York: Chapman and Hall/CRC 2002.
21. Idvall E, Berg A. Patient assessment of postoperative pain management – Orthopaedic patients compared to other surgical patients. *Journal of Orthopaedic Nursing* 2008; 12: 35–40.
22. Niemi-Murola L, Pöyhkä R, Onkinen K, Rhen B, Mäkelä A, Niemi TT. Patient satisfaction with postoperative pain management-effect of preoperative factors. *Pain Manag Nurs* 2007; 8(3): 122–9.
23. Gunningberg L, Idvall E. The quality of postoperative pain management from the perspectives of patients, nurses and patient records. *J Nurs Manag* 2007; 15(7): 756–66.
24. Idvall E, Rooke L. Important aspects of nursing care in surgical wards as expressed by nurses. *J Clin Nurs* 1998; 7(6): 512–20.
25. Idvall E, Hamrin E, Sjöström B, Unosson M. Patient and nurse assessment of quality of care in postoperative pain management. *Qual Saf Health Care* 2002; 11(4): 327–34.
26. Regulations governing indicators of health care quality. *Službeni glasnik RS*, broj 57/2007; 5–17.
27. Australian and New Zealand College of Anaesthetists and Faculty of Pain Medicine, ed. Acute pain management: scientific evidence. 2nd ed. Melbourne 2005.
28. Idvall E, Bergqvist A, Silverhjelm J, Unosson M. Perspectives of Swedish patients on postoperative pain management. *Nurs Health Sci* 2008; 10(2): 131–6.
29. Sherwood G, Adams-McNeill J, Starck PL, Nieto B, Thompson CJ. Qualitative assessment of hospitalized patients' satisfaction with pain management. *Res Nurs Health* 2000; 23(6): 486–95.
30. Rawal N. 10 years of acute pain services-achievements and challenges. *Reg Anesth Pain Med* 1999; 24(1): 68–73.
31. Rawal N. Acute pain services revisited-good from far, far from good? *Reg Anesth Pain Med* 2002; 27(2): 117–21.
32. Breivik H. Postoperative pain management: why is it difficult to show that it improves outcome? *Eur J Anaesthesiol* 1998; 15(6): 748–51.

Article received on September 26, 2008.



Multiple džinovske ciste bubrega

Multiple gigantic renal cysts

Sladana Živković*, Svetlana Pavlović†, Slobodan Ćirić‡

Vojna bolnica, *Odsek za urologiju, †Odsek za radiologiju, Niš;
Klinički centar, ‡Klinika za urologiju, Niš

Apstrakt

Uvod. Cistične lezije bubrega vrlo su heterogene i razlikuju se u pogledu etiopatogeneze, morfoloških i kliničkih manifestacija, kao i u pogledu evolucije i terapije. Klasifikacija cističnih lezija složena je, simptomatologija oskudna, a dijagnoza zasnovana na potpunim radiološkim dijagnostičkim postupcima. **Prikaz bolesnika.** Bolesnik, star 20 godina, javio se urologu zbog neznatnih subjektivnih tegoba. Objektivno, bio je bez pozitivnog kliničkog nalaza i promena u biohemizmu krvi. Na ultrasonografiji (US) opisano je više seroznih, jednostavnih cista obostrano u bubrežima. Na kompjuterizovanoj tomografiji (CT) potvrđen je nalaz multiplih seroznih cista, bez promena u zidu cista, sa očuvanim parenhimom bubrega i bez cističnih promena na drugim parenhimatoznim organima. **Zaključak.** Iako su cistične lezije bubrega česta pojava u populaciji odraslih, ovo je redak primer odraslog mladog čoveka sa jednostavnim džinovskim, seroznim cistama koje, zasada, ne proizvode kliničke manifestacije, kao ni funkcijske smetnje bubrega.

Ključne reči:

bubreg, bolesti; ciste; dijagnoza; prognoza; klasifikacija.

Abstract

Introduction. Cystic renal lesions are very heterogeneous lesions which differ in etiopathogenesis, morphological and clinical manifestations, and also in evolution and therapy. Classification of cystic lesions is complex, symptomatology is poor, and diagnosis is based on complete radiological diagnostic procedures. **Case report.** We presented a 20-year old patient with mild subjective symptoms. Objectively, he was without positive clinical signs and changes in biochemistry of blood. Using ultrasonography (US) multiple serous simple cysts were found in both kidneys. Using computed tomography (CT) multiple serous cysts were found, without changes in cystic walls, with preserved renal parenchyma and without cystic changes on other parenchymatous organs. **Conclusion.** Although renal cystic lesions are frequent in adult population, this is a rare example of a young adult man with simple, gigantic, serous cysts which do not produce clinical manifestations nor functional renal difficulty so far.

Key words:

kidney disease; cysts; diagnosis; prognosis; classifications.

Uvod

Cistične bolesti bubrega vrlo su heterogene bubrežne displazije koje se razlikuju u pogledu etiopatogeneze, morfoloških i kliničkih manifestacija. Neke cistične lezije su nasledne, druge nastaju usled poremećaja u razvoju u toku abnormalne morfogeneze bubrega.

Ciste u bubregu predstavljaju patološke, tečnošću ispunjene šupljine u parenhimu. Jednostavne, benigne, serozne ciste najčešće su cistične lezije bubrega. Javljaju se na jednom ili oba bubrega u vidu solitarnih ili multiplih lezija. Mogu se naći u svakom uzrastu, najčešće između 4. i 6. decenije, češće su kod dečaka, dok su podjednako česte kod odraslih oba pola. Klasifikacija cističnih lezija složena je i nju čini više grupa cističnih bolesti bubrega, sa po nekoliko

podgrupa. Simptomatologija ovakvih lezija bubrega oskudna je i najčešće se otkrivaju pri ultrasonografskom pregledu bubrega. Dijagnoza se zasniva na potpunim radiološkim dijagnostičkim postupcima: ultrasonografiji (US), ekskretornoj urografiji i kompjuterizovanoj tomografiji (CT) ¹.

Prikaz bolesnika

Bolesnik, star 20 godina, javio se na pregled zbog povremenih tupih bolova u slabinama posle izlaganja većem fizičkom naporu. Kliničkim pregledom konstatovano je da renalna sukusija pokazuje blagu bolnu osetljivost, dok se obostranom bimanuelnom palpacijom ne uočavaju promene. Laboratorijske analize krvi i urina pokazale su normalan biohemijski nalaz.

Na US pregledu uočena je u donjem polu levog bubrega velika cistolika, anehogena, tankozidna promena veličine 80 mm koja se pružala do ulaska u malu karlicu. U desnom bubregu u centralnom delu (slika 1) uočena je cistolika, tankozidna, anehogena promena, na poprečnom preseku veličine 50 × 45 mm, koja se kaudalno pružala do visine ulaska u malu karlicu, a u hilusu izdizala krvne sudove peletjke bubrega (slika 2). U gornjem polu istog bubrega bila



Sl. 1 – Ultrasonografski prikaz cističnih promena desnog bubrega na uzdužnom preseku



Sl. 2 – Ultrasonografski prikaz cističnih promena desnog bubrega na poprečnom preseku

je prisutna još jedna cistolika promena istih ehosonografskih karakteristika, veličine 50 mm. Na ekskretornoj urografiji uočeno je da oba bubrega izlučuju kontrastno sredstvo istovremeno i pravovremeno u dobroj koncentraciji. U desnom bubregu na medijalnoj konturi okrugla mekotkivna senka kompresijom dovodila je do dilatacije kaliksa za gornji pol, dok su kaliksi za donji pol i interpolarnu regiju bili peharasti. U levom bubregu uočena je laka dilatacija pijelona i kaliksa gornjeg pola, dok se kaliksi donjeg pola nisu prikazali. Ureteri su bili uredne širine lumena, glatkih ivica i u srednjoj trećini potisnuti lateralno, sa kolenastim presaivanjem desnog uretera u srednjoj trećini. Mokraćna bežika bila je urednog nalaza (slika 3).



Sl. 3 – Ekskretorna urografija – snimak nakon kompresije

U cilju definitivne eksploracije cističnih promena koje se nisu prikazivale od donjih polova bubrega do male karlice, a koje se ultrazvučnim pregledom nisu mogle jasno izdiferencirati urađen je CT pregled. Na CT pregledu uočene su cistične promene obostrano u bubrezima, jasno ograničene, tankog glatkog zida, homogenog sadržaja koje su denzimetrijski odgovarale bistroj seroznoj tečnosti (slika 4). U gornjem polu desnog bubrega videle su se cistolike promene



Sl. 4 – Prikaz cističnih promena u bubrezima obostrano sa denzimetrijskim vrednostima njihovog sadržaja na nalazu kompjuterizovane tomografije

veličine 55 mm, a u donjem polu posteromedijalno cistična promena prečnika 62 mm koja se spuštala paravertebralno i kaudalno do visine mokraćne bežike. U levom bubregu medijalno uočena je cistična promena prečnika 80 mm koja se, takođe, pružala kaudalno do visine dna mokraćne bežike (slika 5). U gornjem polu ovog bubrega bilo je prisutno još nekoliko manjih cističnih promena veličine do 25 mm. Oba uretera nativno nejasno su se prikazivala, imao se utisak dilatacije desnog uretera do 25 mm, levog do 23 mm. Na ponovljenom pregledu, nakon datog kontrasta, viđeni delovi uretera bili su obične širine, većim delom maskirani cistolikim promenama. Tokom CT pregleda isključeno je postojanje cističnih promena na ostalim parenhimatoznim organima abdomena.



Sl. 5 – Prikaz oba bubrega tokom *real time* (RT) rekonstrukcije (nalaz kompjuterizovane tomografije)

Diskusija

Gotovo sva cistična oboljenja bubrega nastaju od nefrona ili kolektornih kanalića, mada sam njihov nastanak nije u potpunosti razjašnjen. Veličina jednostavnih benignih cista varira od jedva vidljivih okom do velikih cista koje mogu da sadrže nekoliko litara tečnosti. Benigne ciste ispunjene su bistrom tečnošću i na ehosonografskim snimcima imponuju kao okrugle transonične zone, anehogenih karakteristika, koja se jasno razlikuju od solidnih tumora bubrega. Zid ciste tanak je i sagrađen od fibroznog tkiva¹. Veće ciste sa tendencijom perifernog rasta van bubrežnih kontura mogu da ostave neizmenjene bubrežne šupljine i na ekskretornoj urografiji nije moguće razdvojiti solitarnu od multilokularne ciste, a ponekad i solitarne od multiplih cista².

Multiple ciste teško se razlikuju i od rane faze policistične bolesti bubrega. Multiple ciste nepravilno su razbacane sa očuvanim zonama bubrežnog tkiva između njih. Kod policističnih bubrega lezije su difuzne, familijarna anamneza je pozitivna, funkcija bubrega je poremećena. Nema pouzdanog kriterijuma, međutim, za sigurno razlikovanje policistične bolesti bubrega odraslih od multiplih jednostavnih cisti koje većinom rastu lagano dovodeći do kompresivne atrofije bubrežnog parenhima¹.

Primenom US i CT poslednjih trideset godina učestalo je otkrivanje asimptomatskih bubrežnih masa, ali je teško diferencirati jednostavne ciste i solidni tumor bubrega³. Bosniak je dao 1986. godine klasifikaciju renalnih cista u cilju bolje dijagnoze i praćenja. Dijagnoza i praćenje kompleksnih renalnih cista je kontinuirano i zasnovano na kombinaciji US, CT i ekskretorne urografije pri čemu se može napraviti razlika između benignih i malignih lezija⁴⁻⁶. Bosniak navodi karakteristike benignosti cističnih lezija bubrega i to su: dobra prozračnost sadržaja cisti, bez eho promena unutar cisti i jasno ograničeni glatki zid⁵. Ehosonografski ne može da se otkrije maligna degeneracija zida ciste, te se primenjuje dopunska dijagnostička procedura. Metoda CT najpouzdanija je metoda za razlikovanje običnih cista od solidnih tumora bubrega, kao i za prepoznavanje maligne degeneracije zida cisti. Metodom CT utvrđuje se sumnja na malignost cisti u vidu: septiranosti, kalcifikacije, neravnih ivica, vaskularnih elemenata i visokog denziteta cistične tečnosti^{7,8}.

Bosniakova klasifikacija određuje jednostavne ciste kao prvu kategoriju i benigne cistične lezije sa minimalnom komplikacijom kao drugu kategoriju. Nijedna od njih ne zahteva intervenciju. Treća kategorija sadrži više komplikovane cistične lezije koje pokazuju radiološke odlike maligniteta i treba ih hirurški eksplorisati. Četvrta kategorija su jasno maligne ciste. Autor ističe potrebu pažljivog korišćenja standardizovanih metoda snimanja, kao i potrebno iskustvo u dijagnozi kompleksnih cista^{9,10}. Klasifikacija Bosniak široko je prihvaćena zato što rešava teške kliničke probleme; lako je primenjuju i dobro je prihvataju radiolozi i urolozi. Karakteriše se najvažnijim aspektima u dijagnostici benignih cista, kao i razlikovanju između benignih i malignih. Problem ove klasifikacije je razlikovanje druge i treće kategorije^{10,11}.

Zaključak

Navedeni dijagnostički postupci sugerišu da cistične lezije bubrega kod prikazanog bolesnika po svojim radiološkim karakteristikama pripadaju prvoj grupi klasifikacije Bosniak koja ukazuje da se ovakve ciste maligno ne degenerišu i da samo zahtevaju urološko praćenje.

L I T E R A T U R A

1. Marković VS, ed. Urology – urinary tract surgery. Belgrade: Službeni list; 1997. (Serbian)
2. Curry NS, Cochran ST, Bisada NK. Cystic renal masses: accurate Bosniak classification requires adequate renal CT. *AJR Am J Roentgenol* 2000; 175(2): 339–42.
3. Warren KS, McFarlane J. The Bosniak classification of renal cystic masses. *BJU Int* 2005; 95(7): 939–42.
4. Bosniak MA. The current radiological approach to renal cysts. *Radiology* 1986; 158(1): 1–10.
5. Bosniak MA. The use of the Bosniak classification system for renal cysts and cystic tumors. *J Urol* 1997; 157(5): 1852–3.
6. Israel GM, Bosniak MA. Follow-up CT of moderately complex cystic lesions of the kidney (Bosniak category IIF). *AJR Am J Roentgenol* 2003; 181(3): 627–33.
7. Israel GM, Bosniak MA. Calcification in cystic renal masses: is it important in diagnosis? *Radiology* 2003; 226(1): 47–52.
8. Hartman DS, Aronson S, Frazer H. Current status of imaging indeterminate renal masses. *Radiol Clin North Am* 1991; 29(3): 475–96.
9. Bosniak MA, Rofsky NM. Problems in the detection and characterization of small renal masses. *Radiology* 1996; 198(3): 638–41.
10. Koga S, Nishikido M, Inuzuka S, Sakamoto I, Hayashi T, Hayashi K, et al. An evaluation of Bosniak's radiological classification of cystic renal masses. *BJU Int* 2000; 86(6): 607–9.
11. Bosniak MA. Diagnosis and management of patients with complicated cystic lesions of the kidney. *AJR Am J Roentgenol* 1997; 169(3): 819–21.

Rad primljen 20. VI 2008.



Atrofija prednjeg režnja hipofize kao kasna komplikacija hemoragijske groznice sa renalnim sindromom

Anterior pituitary lobe atrophy as late complication of hemorrhagic fever with renal syndrome

Dragan Jovanović*, Zoran Kovačević*, Tamara Dragović†, Marijana Petrović*, Jelena Tadić*

Vojnomedicinska akademija, *Klinika za nefrologiju, †Klinika za endokrinologiju, Beograd

Apstrakt

Uvod. Hemoragijska groznica sa bubrežnim sindromom (HGBS) je akutno infektivno multisistemsko oboljenje koje se odlikuje pojavom febrilnosti, hemoragijama i akutnom bubrežnom insuficijencijom. Krvarenje u prednji režanj hipofize sa posledičnom nekrozom tkiva obično se javlja u akutnoj fazi teških kliničkih formi HGBS, dok se atrofija prednjeg režnja hipofize sa smanjenom funkcijom žlezde javlja nakon faze oporavka. **Prikaz bolesnika.** Prikazan je bolesnik sa razvojem hronične bubrežne insuficijencije i hipopituitarizmom kao komplikacijom koja je dijagnostikovana šest godina nakon akutne infekcije prouzrokovane hanta virusima. Magnetnom rezonancijom regiona hipofize ustanovljena je atrofija hipofize i prazna *sella turcica*. **Zaključak.** S obzirom na učestalost ove virusne infekcije i njen endemski karakter u pojedinim krajevima naše zemlje, neophodno je razmišljati i o parcijalnom i/ili kompletnom gubitku hipofizne funkcije kao kasnoj komplikaciji HGBS.

Cljučne reči: hemoragijska groznica sa bubrežnim sindromom; dijagnoza; lečenje, ishod.

Abstract

Introduction. Hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) is acute infective multisystemic disease followed by febrility, hemorrhages and acute renal insufficiency. Bleeding in the anterior pituitary lobe leading to tissue necrosis occurs in acute stage of severe clinical forms of HFRS, while atrophy of the anterior pituitary lobe with diminution of the gland function occurs after recovery stage. **Case report.** We presented a patient with the development of chronic renal insufficiency and hypopituitarism as complication that had been diagnosed six years after Hantavirus infection. Magnetic resonance of the pituitary gland revealed atrophy and empty *sella turcica*. **Conclusion.** Regarding frequency of this viral infection and its endemic character in some parts of our country partial and/or complete loss of pituitary function should be considered during the late stage of HFRS.

Key words: hemorrhagic fever with renal syndrome; hypopituitarism; diagnosis; treatment outcome.

Uvod

Hemoragijska groznica sa bubrežnim sindromom (HGBS) je akutno infektivno multisistemsko oboljenje čije su osnovne kliničke manifestacije febrilnost, hemoragije i afekcija bubrega sa razvojem akutne bubrežne insuficijencije (ABI)^{1,2}. Spada u grupu prirodno-žarišnih zoonoza koju izazivaju virusi iz roda hanta virusa, familija *Bunyaviridae*³. Osnovni patogenetski mehanizam HGBS je vaskularna disfunkcija uzrokovana oštećenjem endotelnih ćelija kapilara, smanjenjem perifernog otpora i povećanjem vaskularnog permeabiliteta⁴. Pojava hemoragije je posledica vaskularnog oštećenja i poremećene funkcije trombocita koje je komplikovano pojavom uremije⁵. Tipičan klinički tok HGBS prolazi kroz 5 faza: feb-

rilnu, hipotenzivnu, oligurijsku, diuretsku i rekonvalescentnu^{6,7}. U oligurijskoj fazi razvija se ABI, koja se može komplikovati edemom pluća, arterijskom hipertenzijom i encefalopatijom uz izražene hemoragijske manifestacije (epistaksa, hemoptizije, makrohaturija, hematemeza, melena, rede krvarenje u centralni nervni sistem)⁸⁻¹⁰. Sa uspostavljanjem diureze počinje faza rekonvalescencije i oporavak bubrežne funkcije i čitavog organizma^{10,11}. Kod određenog broja bolesnika posle završene faze rekonvalescencije zaostaju hronične sekvele na bubrežima koje mogu dovesti do razvoja hronične bubrežne insuficijencije (HBI)⁸. Ipak, većina bolesnika potpuno se oporavlja, a posebno su retke neurološke sekvele¹².

Hemoragija i nekroza u prednjem režnju hipofize uzrok su 50–100% fatalnih ishoda od ozbiljnih komplikacija nakon

hipotenzivne faze^{13,14}. Prednji režanj hipofize bio je glavno mesto krvarenja kod 29 autopsija uključujući medulu bubrega i desnu pretkomoru srca¹⁵. Kod nekih bolesnika posle faze rekonvalescencije zaostaju sekvele u smislu poremećene funkcije prednjeg režnja hipofize¹⁶.

U radu je prikazan bolesnik sa hipopituitarizmom kao kasnom komplikacijom nakon HGBS.

Prikaz bolesnika

Bolesnik, star 31 godinu, primljen je na kliničko ispitivanje zbog pogoršanja opšteg stanja i razvoja hronične bubrežne insuficijencije. Šest godina ranije proboleo je HGBS dokazanu pozitivnim hanta virusnim titrom. Akutna bubrežna insuficijencija zahtevala je sprovođenje višestrukih hemodijaliznih procedura. Nakon godinu dana, u sklopu redovne kontrole, verifikovana je bubrežna insuficijencija sa skokom serumskog kreatinina do 250 mmol/l, anemijski sindrom (serumski hemoglobin Hgb – 89 g/l, hematokrit Hct – 25%) i nešto manje dimenzije bubrega pri ultrazvučnom pregledu. Šest meseci pred sadašnji prijem nastupile su prve tegobe u vidu periodične intolerancije na napor, kratkotrajnih febrilnih epizoda, gubitka apetita sa pratećim progresivnim telesnim propadanjem, bolovima u trbuhu i razvojem hipotenzije, što je i bio razlog prijema u bolnicu. U međuvremenu, nakon prebolele HGBS bolesnik nije imao nikakve veće traume, pogotovo glave, niti se obraćao lekaru zbog endokrinoloških ili neuroloških tegoba.

Pri prijemu, bolesnik je bio svestan i afebrilan, adinamičan, astenične građe, suve kože, oslabljenog turgora i suvih sluznica. Na telu se uočavala oskudna kosmatost lica i podpazušnog regiona, uz izrazitu slabost miškulature gornjih i donjih ekstremiteta. Srčana akcija bila je ritmična, bradikardična sa frekvencijom od 50 otkucaja u minuti, muklih tonova, bez šumova. Vrednost krvnog pritiska iznosila je 90/70 mmHg.

Laboratorijske analize ukazivale su na blažu anemiju (Hgb – 102g/l, Hct – 29%) kao i znake hronične bubrežne slabosti (urea – 10,6 mmol/l, kreatinin – 191–171 mmol/l) uz endogeni klirens kreatinina od 21,98 ml/min i povišen β 2 mikroglobulin u urinu (0,87 mg/l). Bazalno izmerene vrednosti tropnih hormona hipofize bile su snižene: TSH – 0,291 mIU/l (referentna vrednost 0,350–5,50 mIU/l); LH – 0,5 IU/l (referentna vrednost 1,5–9,3 IU/l); FSH – 0,2 IU/l (referentna vrednost 1,4–18,1 IU/l); ACTH – 5,8 pg/ml (referentna vrednost 9–46 pg/ml). Dnevni profil hormona rasta nije učinjen iz tehničkih razloga. Bazalno izmerene ostale endokrinološke analize pokazale su snižene vrednosti ukupnih hormona štitaste žlezde i njihovih slobodnih frakcija: T4 – 36,2 nmol/l (referentna vrednost 58,1–140,6 nmol/l); FT4 – 5,68 pmol/l (referentna vrednost 12,0–22,0 pmol/l); T3 – 1,68 nmol/l (referentna vrednost 0,92–2,79 nmol/l); FT3 – 3,72 pmol/l (referentna vrednost 3,50–6,50 pmol/l); testosteron < 0,069 nmol/l (referentna vrednost 9,9–27,8 nmol/l); kortizolemija u 08,00h: 27,6 mmol/l (referentna vrednost 138–690 mmol/l); prolaktin u 08,00h: 147 uIU/ml, u 11,00h: 146 uIU/ml, u 13,00h: 151 uIU/ml (vrednosti u referentnim granicama). Serološke reakcije na hanta viruse: test indirektno

imunofluorescencije antitela u IgG klasi bio je pozitivan (1 : 512); ELISA test At u IgM klasi na hanta-pumala viruse bio je negativan. Nivo serumskog K⁺ i Na⁺ sve vreme hospitalizacije bio je u referentnim granicama.

Morfološko ispitivanje hipofiznog regiona učinjeno je desetog dana hospitalizacije magnetnom rezonancijom. Na uradnim sekvencama T-1 D3 u sagitalnoj i koronarnoj projekciji uočavala se plitka i prazna *sella turcica* bez jasno diferenciranog žlezdanog parenhima. Pregled je urađen uz slabu saradnju bolesnika, bez injekcije kontrasta, uz brojne artefakte.

Inicijalna supstitucija glukokortikoidne funkcije započeta je tabletama hidrokortizona u dnevnoj dozi od 60 mg, koja je posle poboljšanja opšteg stanja, smanjena na dozu od 30 mg dnevno. Supstitucija tireoidne funkcije započeta je sintetskim preparatima levotiroksina u dozi 100 μ g dnevno. Na sprovedenu terapiju bolesnik je reagovao povoljno, nastupilo je povlačenje većine navedenih tegoba, a vrednosti krvnog pritiska stabilizovane su na 100/80 mmHg. Predložena supstitucija depo-preparatom testosterona u dozi od 250 mg jednom mesečno ostala je da se sprovede u mestu boravka.

Diskusija

Na bazi dosadašnjih istraživanja kod nas i u svetu, HGBS u bivšoj Jugoslaviji, posebno u Srbiji, bila je izazivana različitim serotipovima hanta virusa¹⁷. Svaki od njih izaziva bolest različitog kliničkog toka, različite prognoze i različitog letaliteta koji se kreće od 0,5% za *Puumala* do 16,3% za Beograd hanta virus. Kod prikazanog bolesnika radilo se o Beograd hanta virusu za koji se zna da izaziva HGBS sa teškom kliničkom slikom¹⁷. U periodu od 1989–2007. lečeno je 135 bolesnika u Vojnomedicinskoj akademiji (VMA) od kojih je 11 (8,15%) razvilo HBI, hipertenziju 3 (2,22%), hipotireozu i sterilitet 2 (1,48%) i hipokortizam 1 (0,74%), što je znatno ređe nego kod nekih drugih autora^{17,18}. U grupi od 60 bolesnika nakon HGBS 11 (18%) bilo je sa endokrinim deficitom pa je zaključeno da postoji visoka učestalost hipopituitarizma u kasnijem periodu¹⁸. Pored standardnih testiranja endokrine funkcije hipofize korišćena je i magnetna rezonancija kojom je potvrđena atrofija hipofize i prazna *sella turcica*¹⁸. Mali procenat endokrinih sekvela u našoj grupi bolesnika može se objasniti kasnijim neredovnim kontrolama ili činjenicom da endokrini poremećaji protiču supklinički. S druge strane, hipofizna krvarenja se najčešće završavaju letalno i dijagnostikuju na autopsijama, a u grupi od 135 bolesnika u VMA samo kod dva bolesnika je usledio letalni ishod¹⁷.

Prikazani bolesnik imao je težu kliničku formu HGBS sa razvojem ABI i potrebom za lečenjem hemodijalizom (HD). U toku faze rekonvalescencije zaostala je bubrežna slabost. U akutnoj fazi HGBS nije rađena magnetna rezonancija glave i nema podataka iz ustanove u kojoj je lečen u to vreme o hormonskom statusu, a ni u kasnijoj medicinskoj dokumentaciji o eventualnim drugim mogućim razlozima za poremećaj funkcije hipofize.

Mayer¹⁹ opisuje kliničku sliku panhipopituitarizma nakon HGBS u nekoliko dobro dokumentovanih slučajeva. U većini slučajeva hipopituitarizam javlja se nakon rekonvales-

centne faze HGBS i manifestuje kao panhipopituitarizam nakon oporavka¹⁹. Mikroskopski, u prednjem lobusu videni su tipični fokusi nekroze kod 31 od 40 autopsija naročito u infundibulumu, a bili su povezani sa hemoragijama u teškim formama bolesti¹⁴. U nekoliko slučajeva, nađeni su fokusi hemoragije u hipotalamusu u mamilarnom telu i u blizini infundibuluma. Polje nekroze bilo je uglavnom lokalizovano u centralnom delu u blizini fibrovaskularnog stalka infundibuluma kod 39 od 42 autopsije¹³. Mehanizam nekroze i hemoragije hipofize još uvek je nedovoljno poznat, ali vazospazam zajedno sa šokom zasigurno učestvuju u patogenezi¹⁵. Ni u jednom slučaju nije viđena vaskularna okluzija¹⁴. Atrofija hipofize opisuje se na nalazu magnetne rezonancije ili kompjuterizovane tomografije u kasnijem periodu nakon

prebolele HGBS²⁰. Ovakav nalaz ukazuje da je bolesnik u akutnoj fazi teške kliničke forme HGBS mogao imati apopleksiju hipofize i kasnije njenu stalnu rezidualnu hipofunkciju^{20,21}. Prikaz pojedinačnih slučajeva hipopituitarizma nakon prebolele HGBS i saznanje da su endokrine sekvele znatno češće, nalaže potrebu praćenja endokrinog statusa kod svih bolesnika nakon HGBS²².

Zaključak

Kod bolesnika sa HGBS treba kontrolisati aktivnost prednjeg režnja hipofize u akutnoj fazi i nakon oporavka, jer se kao posledica hemoragije može razviti parcijalni ili potpuni gubitak sekretorne funkcije žlezde.

L I T E R A T U R A

1. *Cosgriff TM*. Mechanisms of disease in Hantavirus infection: pathophysiology of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Rev Infect Dis* 1991; 13(1): 97–107.
2. *Peters CJ, Simpson GL, Levy H*. Spectrum of hantavirus infection: hemorrhagic fever with renal syndrome and hantavirus pulmonary syndrome. *Annu Rev Med* 1999; 50: 531–45.
3. *McCaughey C, Hart CA*. Hantaviruses. *J Med Microbiol* 2000; 49(7): 587–99.
4. *Chen JP, Cosgriff TM*. Hemorrhagic fever virus-induced changes in hemostasis and vascular biology. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2000; 11(5): 461–83.
5. *Cosgriff TM, Lewis RM*. Mechanisms of disease in hemorrhagic fever with renal syndrome. *Kidney Int Suppl* 1991; 35: S72–9.
6. *Nguyen AT, Penalba C, Bernadac P, Jaafar S, Kessler M, Canton P*, et al. Respiratory manifestations of hemorrhagic fever with renal syndrome. Retrospective study of 129 cases in Champagne-Ardenne and Lorraine. *Presse Med* 2001; 30(2): 55–8. (French)
7. *Rasche FM, Ubel B, Krieger DH, Karges W, Czock D, Hampl W*, et al. Thrombocytopenia and acute renal failure in Puumala hantavirus infections. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(8): 1420–5.
8. *Jovanović D, Skatarić V, Kovačević Z, Marić M, Gligić A, Romanović R*. Acute renal insufficiency in hemorrhagic fever with renal syndrome. *Vojnosanit Pregl* 1997; 54(5): 453–8. (Serbian)
9. *Kim GH, Han JS, Earm J, Jeon US, Kim YS, Ahn C*, et al. Evaluation of renal tubular functions in convalescent phase of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Am J Nephrol* 1998; 18(2): 123–30.
10. *Vanbille P, Binaut R, Kyndt X, Launay D, Thomas C, Fleury D*. Hemorrhagic fever with renal syndrome. *Nephrologie* 2001; 22(6): 301–5. (French)
11. *Aker S, Ivens K, Pilaski J, Grabensee B, Heering P*. Acute renal failure in hantavirus infections. *Med Klin* 2000; 95(4): 213–7. (German)
12. *Pimenov LT, Dudarev MV, Kustarnikov GK*. Functional loading tests in nephropathy examination in patients recovering from hemorrhagic fever with renal syndrome. *Ter Arkh* 1999; 71(11): 26–9. (Russian)
13. *Lukes RJ*. The pathology of thirty-nine fatal cases of epidemic hemorrhagic fever. *Am J Med* 1954; 16(5): 639–50.
14. *Hallinghorst RL, Steer A*. Pathology of epidemic hemorrhagic fever. *Ann Intern Med* 1953; 38(1): 77–101.
15. *Kim YI*. Korean hemorrhagic fever/pathologic approach and its problems. *Korean J Intern Med* 1976; 19: 384–91.
16. *Dae CS, Jung SP, Su-Kil P, Ho KL, Kee MC*. Pituitary hemorrhage as a complication of Hantaviral Disease. *Am J Neuroradiol* 1995; 16: 175–78.
17. *Jovanović D, Kovačević Z, Škatarić V*. Hemorrhagic fever with renal syndrome. In: *Kovačević Z, Jovanović D, Gligić A, Škatarić V*, editors. Hemorrhagic fever with renal syndrome. Belgrade: Red Apple doo Aleksandrovac; 2008. p. 58–69. (Serbian)
18. *Stojanović M, Pekić S, Cvijović G, Miljić D, Doknić M, Nikolić-Djurović M*, et al. High risk of hypopituitarism in patients who recovered from hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(7): 2722–8.
19. *Mayer CF*. Epidemic hemorrhagic fever of the Far East or endemic hemorrhagic nephros-nephritis; morphology and pathogenesis. *Lab Invest* 1952; 1(3): 291–311.
20. *Lim TH, Chang KH, Han MC, Chang YB, Lim SM, Yu YS*, et al. Pituitary atrophy in Korean (epidemic) hemorrhagic fever: CT correlation with pituitary function and visual field. *AJNR Am J Neuroradiol* 1986; 7(4): 633–7.
21. *Lee JS, Han JS, Kim S, Changb KH*. Panhypopituitarism in the acute stage of hemorrhagic fever with renal syndrome: a case report. *Arch Virol* 1990; (suppl 1): 95–100.
22. *Pekić S, Cvijović G, Stojanović M, Kendereski A, Micic D, Popović V*. Hypopituitarism as a late complication of hemorrhagic fever. *Endocrine* 2005; 26(2): 79–82.

Rad primljen 10. IX 2008. god.



Dva veka urološke endoskopije

Two centuries of urologic endoscopy

Milan B. Potić, Ivan M. Ignjatović

Univerzitetski klinički centar, Urološka klinika, Niš

Ključne reči:

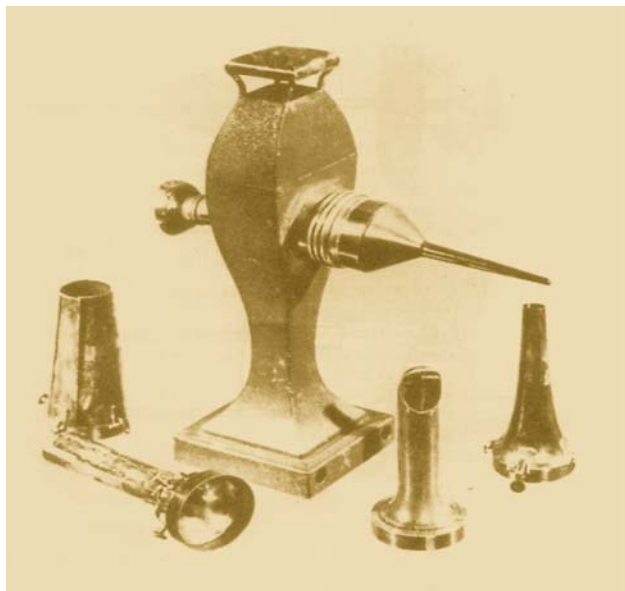
endoskopija; hirurški instrumenti; urologija; istorija medicine.

Key words:

endoscopy; surgical instruments; urology; history of medicine.

Počeci razvoja endoskopije

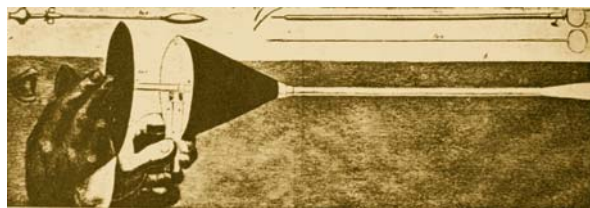
Vekovima čovekova prirodna radoznalost za ljudsko telo dovođila je do stvaranja raznih instrumenata od kojih su mnogi slični današnjoj dijagnostičkoj opremi. Prvi veliki napredak u endoskopiji učinjen je u 19. veku. Filip Bocini (Phillip Bozzini, 1773–1809) opisao je 1806. godine instrument koji vizuelizuje unutrašnjost mokraćne bešike i nazvao ga *lichtleiter*¹. Okrugli otvor *lichtleitiera* bio je podeljen vertikalno na dva dela (slika 1). Jedna polovina otvora držala je izvor svetlosti



Sl. 1 – Bocinijev *lichtleiter*

(sveću), dok je druga polovina korišćena za sagledavanje. I pored toga što ne postoje dokazi da je *lichtleiter* ikada bio korišćen na bolesniku, Bocini je bio ismevan, zbog neprikladne znatizelje, od strane Medicinskog fakulteta u Beču, koji je odbacio „magičnu lampu“ zbog male površine sagledavanja, lošeg osvetljenja i procene da bi upotreba bila suviše bolna.

Pjer Segalas (Pierre Segalas, 1792–1874) 1826. godine predstavio je svoj uretro-cistični spekulum (slika 2)². Sistem osvetljenja sa dve male sveće i tubularnim koničnim ogledalom Akademija nauka odbacila je kao neadekvatan.



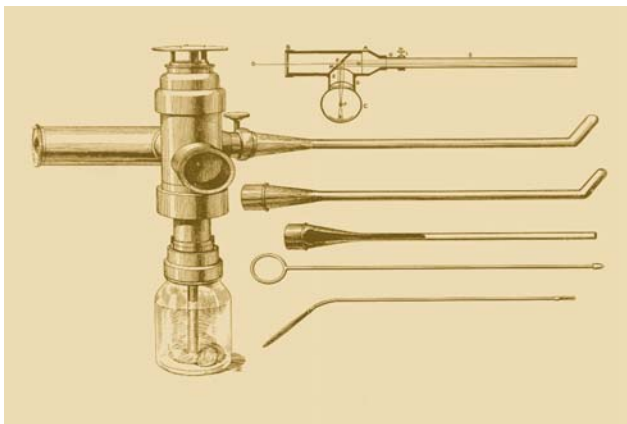
Sl. 2 – Segalasov uretro-cistični spekulum

Godinu dana kasnije, Džon Fišer (John Fisher, 1798–1850) pokušao je da reši problem osvetljenja modifikacijom cevi u Z-formaciju sa dva prava ugla, zadržavajući sveću kao primarni izvor svetlosti, ali, takođe, bez uspeha³.

Par godina kasnije, 1865. godine, Antonin Dezormo (Antonin Desormeaux, 1815–1894), predstavio je, po mišljenju Pariske medicinske akademije, prvi, zadovoljavajući cistoskop (slika 3)⁴. Kao izvor svetlosti Dezormo je koristio sagorevanje smeše alkohola i terpentina. Lampa postavljena između reflektora i sočiva projektovala je preko ravnog ogledala svetlost u bešiku. Dezormo je uveo u praksu endoskopsku uretrotomiju sa termalnim dugmetom pod direktnom vizijom i, verovatno, prvi izveo uklanjanje papiloma iz uretre, zbog čega se može smatrati ocem cistoskopije. Iako je Dezormoov cistoskop korišćen uspešno u Evropi, značaj cistoskopije u Americi nije bio u potpunosti sagledan, jer je većina posmatranih stanja, kao što su tumori bešike, bila van domašaja hirurgije.

Mnogi ponavljani, ali nezavisni pokušaji da se modifikuju ovi instrumenti nastavljani su. Godine 1865. Francis Kruz (Francis Richard Cruise), modifikacijom položaja svetla na osnovnom modelu Dezormoove lampe, bočno i promenom smeše goriva lampe na petrolej i kamfor, postigao je bolje osvetljenje mokraćne bešike⁵. Već 1867. pojavili su se opisi jednog od radikalnijih načina osvetljenja mokraćne be-

šike³. Julius Bruk uvodio je usijanu platinsku žicu hladenu vodom u rektum bolesnika da bi osvetlio bešiku koju je sagledavao kroz spekulum. Rektum bolesnika u više navrata bio je značajno oštećen, zbog čega je metoda i napuštena. Prva uspešna kateterizacija uretera pod vizijom bila je ostvarena 1876. godine od strane Jozefa Grinfelda².



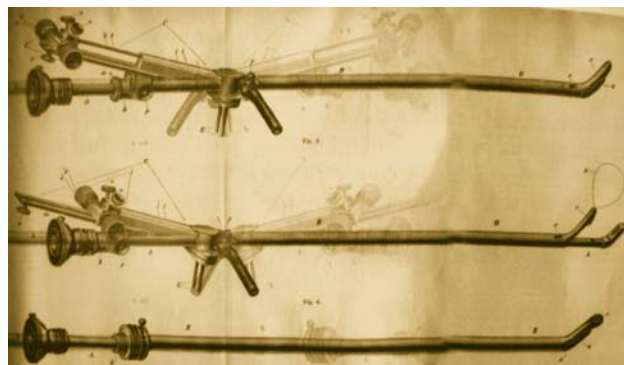
Sl. 3 – Dezormoov endoskop

Maksimilijan Nice i uvođenje izvora svetlosti u bešiku

Inspirisan radom Bruka, Maksimilijan Nice (Maximilian Nitze, 1848–1906) došao je na ideju da izvor svetlosti treba prebaciti u mokraćnu bešiku. Godine 1877. postavljanjem usijane platinske žice hladene vodom na vrh cistoskopa dobio je bolje osvetljenje unutar bešike⁵. Nice je imao 28 godina kada je 2. oktobra 1877. godine predstavio svoj prvi cistoskop prečnika 21 French Nacionalnom medicinskom koledžu na Patološkom institutu Friedrichstadt bolnice u Drezdenu⁶. I pored toga što je rizik oštećenja bešike bio veliki, Nice je učinio istorijski preokret prebacivši izvor svetlosti, koji se do tada nalazio van, u mokraćnu bešiku. Međutim, sistem direktne vizije omogućavao je sagledavanje vrlo uskog polja prilikom cistoskopije. Zajedničkim radom Nice i Lajter (Josef Leiter, 1830–1892) problem ograničenog vidnog polja rešili su postavljanjem optičkog sistema na cistoskop i 1879. godine svetu predstavili Nice-Lajter cistoskop⁶. Naredni korak napretka bio je usmeren ka razvitku modernijeg sistema osvetljenja. Godine 1887. Nice na svoj cistoskop postavio je, za to vreme revolucionarni, izvor svetlosti – Edisonovu „minjon” lampu⁷. Vakumska „minjon” lampa bila je do tada najpouzdaniji izvor svetlosti a, takođe, nije dovođila do oštećenja zida mokraćne bešike, što je bio glavni ograničavajući faktor ranijeg dizajna. Nakon objavljivanja svojih cistoskopskih zapažanja 1889. godine u „Lehrbuch der Cistoskopie“ Nice je postavljen za profesora Berlinskog univerziteta⁵.

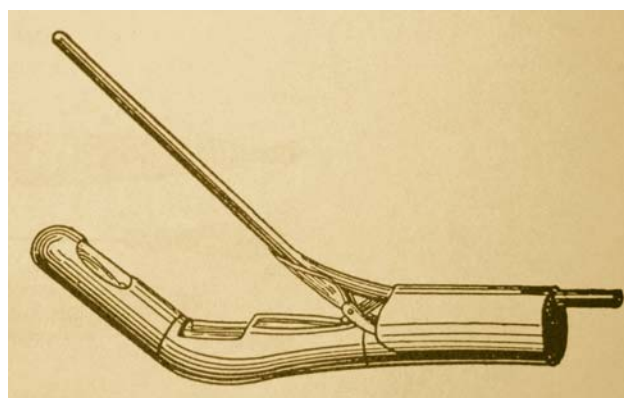
Radeći sa Pol Hartvingom u periodu do 1896. godine Nice je razvio nekoliko vrsta cistoskopa 21–23 šarijea kao što su irigacioni cistoskop (1899), fotografski endoskop (1893), nekoliko različitih vrsta operativnih cistoskopa i kateterizirajući cistoskop (1891–1895)⁶. Smatra se da je prezentovanjem Niceovog operativnog cistoskopa u časopisu „Zentralblatt für Chirurgie“ 1891. godine započela era endoskopske hirurgije (slika 4)⁶. Operativni cistoskop imao je

omču na svom kraju koja je postavljana oko tumora nakon čega je uključivana galvanska struja. Kontrola krvarenja bila je toliko dobra da je na uzorku od 150 tretiranih bolesnika Nice imao samo jedan smrtni slučaj⁶. Iste godine Johan Fon Mikulitz razvio je instrument kod kojeg se donja trećina mogla dovesti u ugaoni položaj od 30 stepeni⁷. Boize du Rošer 1889. godine dao je najznačajniji doprinos razvoju endoskopije nakon Nicea³. Podelivši košuljicu cistoskopa na dva dela omogućio je alternativno korišćenje jednog kanala.



Sl. 4 – Niceov operativni cistoskop

Nice je u narednim godinama radio na tehnici kateterizacije uretera, ali zbog nepostojanja vodiča u to vreme uglavnom bezuspešno. Francuski urolog Joakim Albaran (1860–1912) dodao je zavrtanj Niceovom cistoskopu 1896. godine koji je omogućavao podizanje i spuštanje vrha cistoskopa, rešivši time problem ureteralne kateterizacije (slika 5)³. U početku je Albaranov zavrtanj bio priključivan na standardni cistoskop kao dodatna oprema, ali Nice od 1897. godine počinje da izrađuje svoje cistoskope sa inkorporiranim „Albaranom“ unutar jedne košuljice⁸. Ovo je omogućilo pokretljivost unutar mokraćne bešike što je znatno olakšavalo operativni rad. Godinu dana pre svoje smrti dao je svoj poslednji doprinos razvoju endoskopije predstavljanjem ureteralnog okluzionog katetera⁶. Dvadeset prvog februara 1906. godine Nice je umro nakon moždanog udara u svojoj ordinaciji.

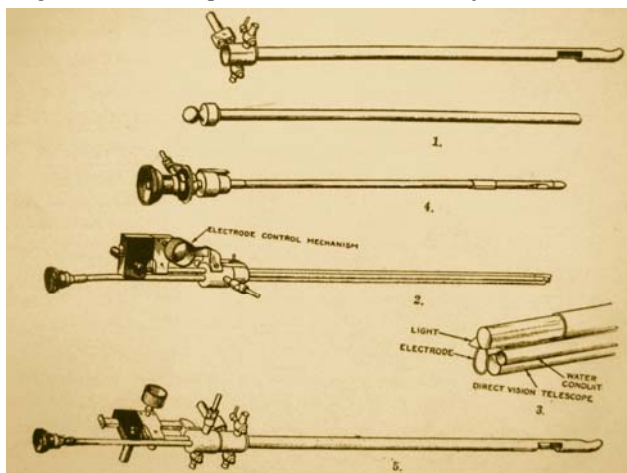


Sl. 5 – Albaranova modifikacija Niceovog cistoskopa

Stalni rad na unapređivanju i primeni novih tehničko-tehnoloških dostignuća omogućili su krajem 19. veka da urolozi širom sveta koriste cistoskopiju kao relativno bezbednu i jako korisnu dijagnostičku metodu.

Spektrofotometrija i uvećanje slike

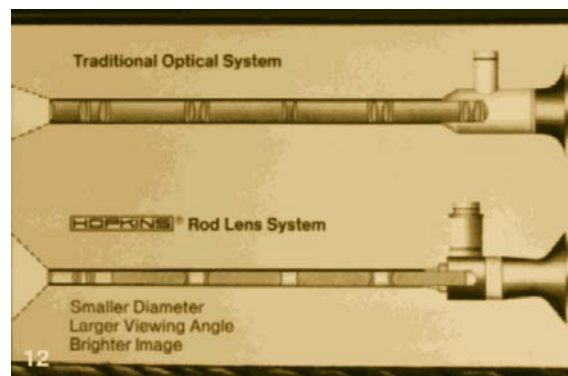
Maja 1900. godine Tilden Braun iz Nju Jorka predstavio je prvi duplo kateterizujući cistoskop na temeljima du Rošeovog megaloskopa, koji je omogućavao direktno i indirektno sagledavanje⁹. Vilijem Otis je 1902. godine patentirao sferičnu prizmu na čijoj osnovi nastaje cistoskop sa sočivom širokog ugla¹⁰. Godine 1907. švajcarska kompanija „Zeiss“ razvila je Amiči prizmu koja je davala vertikalnu, oštriju i svetliju sliku¹¹. Kao rezultat primene prizmi došlo je do povećanja slike kao i ugla sagledavanja promena u bešici pri cistoskopiji. Maksimilijan Štern (Maximilian Stern, 1878–1946) 1926. godine publikovao je po prvi put u istoriji resektoskop za transuretralnu resekciju prostate u vodenom medijumu u časopisu „*International Journal of Medical Surgery*“ (slika 6)^{6,12}. Štern je narednog dana u ordinaciji Eugena Jozefa uspešno demonstrirao svoju tehniku na



Sl. 6 – Šternov resektoskop

zefa uspešno demonstrirao svoju tehniku na bolesniku.

U skladu sa tehničko-tehnološkim dostignućima endoskopski instrumenti u urologiji su usavršavani sa ciljem da se uveća slika, poboljša oštrina i intenzitet svetlosti. Endoskopi Nice generacije za vizuelizaciju podrazumevali su slaganje serije sočiva na tačan i precizan način unutar endoskopa. Kao rezultat velikih vazdušnih prostora između sočiva dolazilo je do smanjenja radijusa raspoložive vidljivosti. Godine 1959. Harold Hopkins uveo je u praksu sistem kompaktnih sočiva¹³. Novi sistem sastojao se od staklenog stuba između sočiva što je optički omogućilo kvadratno povećanje svetlosne transmisije, mehanički upotrebu cistoskopa manjeg dijametra i doprinelo oštrini i kontrastu dobijene slike (slika 7). Moderni sistem svetlosnog prenosa omogućio je 80 puta jaču transmisiju svetlosti od predratnih modela, bolju rezoluciju i širi ugao sagledavanja⁷. Karl Štorc je 1960. godine dodao novi način prenosa svetlosti putem fiber optičkih vlakana Hopkinsonovom sistemu kompaktnih sočiva¹³. Zahtevi za izvođenjem komplikovanijih procedura rasli su sa poboljšanjima endoskopske vizije. Bipolarna endoskopska elektrokauterizacija uvedena je u upotrebu 1966. godine⁷. Iako je Nice još 1893. godine objavio svoj patološki atlas sa fotografijama, bilo je potrebno da prođe još četiri decenije pre nego što su kvalitetne fotografije u boji postale standard³. Osam-



Sl. 7 – Tradicionalni i Hopkinsov sistem kompaktnih sočiva

desetih godina 20. veka postavljanjem elektronske kamere na vrh endoskopa omogućeno je konvertovanje optičkih slika u elektronske impulse. Napredak u video endoskopiji omogućio je uvećanje slike na monitoru koji je obezbedio ugodniji položaj urologa pri radu, kao i znatno bolju viziju i mogućnost edukacije (slika 8)⁷.



Sl. 8 – Moderni sistem endovizije

Zaključak

Nastanak endoskopije predstavljao je kopernikanski preokret u razvoju urologije. Ključni elementi poboljšavanja endoskopije bili su uvođenje izvora svetlosti u mokraćnu bešiku, korišćenje optičkih sistema za uvećanje slike, nastanak operativnih endoskopskih instrumenata i uvođenje endovizije. Sumacija pronalazaka učinila je da je urologija, zbog mogućnosti endoskopske dijagnostike, danas postala obrazac elektivne hirurgije među svim hirurškim disciplinama. Endoskopska hirurgija koristi se za urološke operacije, za koje je doskora otvorena hirurgija bila neprikosnoveno pravilo, kao što su operacija benigne hiperplazije prostate, tumora mokraćne bešike, kalkuloza bešike i kalkuloza gornjeg urotrakta.

Zahvalnica. Rad pomognut sredstvima sa Projekta broj 145004 Ministarstva za nauku Srbije.

L I T E R A T U R A

1. *Engel RM*. Philipp Bozzini-the father of endoscopy. *J Endourol* 2003; 17(10): 859–62.
 2. *Murphy LJT*. The history of urology. Iliois, USA: Charles C. Tomas Springfield; 1972.
 3. *Shab J*. Endoscopy through the ages. *BJU Int* 2002; 89(7): 645–52.
 4. *Berci G, Forde KA*. History of endoscopy: what lessons have we learned from the past? *Surg Endosc* 2000; 14(1): 5–15.
 5. *Mouton WG, Bessell JR, Maddern GJ*. Looking back to the advent of modern endoscopy: 150th birthday of Maximilian Nitze. *World J Surg* 1998; 22(12): 1256–8.
 6. *Schultbeiss D, Sbopec M, Zykan M*. Berlin-center of urology in the early 20th century. Begleithelt zur Ausstellung Aeim XXIIth Congress of the European Association of Urology; 2007 matz 21–24, Berlin; 2007. p. S1–15.
 7. *Lau WY, Leow CK, Li AK*. History of endoscopic and laparoscopic surgery. *World J Surg* 1997; 21(4): 444–53.
 8. *Fuchs GJ*. Milestones in endoscope design for minimally invasive urologic surgery: the sentinel role of a pioneer. *Surg Endosc* 2006; 20 Suppl 2: S493–9.
 9. *Smith AD*. A personal perspective on the origins of endourology and the endourological society. *J Endourol* 2002; 16(10): 705–8.
 10. *Litynski GS*. Endoscopic surgery: the history, the pioneers. *World J Surg* 1999; 23(8): 745–53.
 11. *Linder TE, Simmen D, Stool SE*. Revolutionary inventions in the 20th century. The history of endoscopy. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 123(11): 1161–3.
 12. *Stern M*. Resection of obstruction at the vesical orifice, new instruemnts resectotherm resectoscope and new method. *JAMA* 1926; 87: 1726–30.
 13. *Gow JG*. Harold Hopkins and optical systems for urology-an appreciation. *Urology* 1998; 52(1): 152–7.
- Rad primljen 29. IX 2008.



Osnovi kliničke radiologije Od slike do dijagnoze

Naslov originala: Getting Started in Clinical Radiology

Autori: Joerg W Oestmann, Christoph Wald, Jane Crossin

Prevod na srpski: Dejan Dimitrijević

Izdavač: Data status, Beograd

Štampa: SP Print, Novi Sad

Mesto i godina izdanja: Novi Sad; 2008.



„Radiologija može da bude veoma zabavna. To je savim lično iskustvo autora, koje će vas pratiti kroz ovu knjigu, a nadamo se, i tokom vaše medicinske karijere. To je osnovni razlog zbog kojeg smatramo da je ova knjiga potrebna.....“. Tako počinje knjiga. „Osnovi kliničke radiologije – Od slike do dijagnoze“, čiji je originalni naslov „Getting Started in Clinical Radiology“.

Autori knjige su Joerg Wilhelm Oestmann, profesor radiologije Campus Virchow klinike, Charité univerzitetskog kliničkog centra, Humboltovog univerziteta i Slobodnog berlinskog univerziteta (Berlin, Nemačka), Christoph Wald, docent radiologije Medicinskog fakulteta Tufts univerziteta (SAD) i Janne Crossin, viši predavač dijagnostičke radiologije Kraljevske bolnice Brisbane (Brisben, Australija).

Knjigu je preveo sa engleskog na srpski jezik dr Dejan Dimitrijević.

„Osnovi kliničke radiologije – Od slike do dijagnoze“ broji 355 strana, 14 poglavlja i 1 035 ilustracija.

Autori ove knjige kažu da je „radiologija gigantska specijalnost, koja neprestano raste, i iz meseca u mesec postaje sve kompleksnija. Nju je, iz više razloga, nemoguće nabubati napamet. Mora se potpuno ovladati instrumentima za dobijanje slike i njeno analiziranje, što znači da njihova načela moraju da se potpuno razumeju. Shvatanje principa radiološke dijagnostike i svakog pojedinog snimka je, prvenstveno, intelektualni izazov. Zbog toga je, iako specifično znanje može da se stiče čitanjem literature, najvažniji princip nastave interpersonalni transfer iskustva: ne postoji zamena za iskustvo nastavnika radiologije. Zbog ovoga je radiologija didak-

tička disciplina par ekselans. Najrelevantnije dijagnostičke tehnike se mogu preneti i naučiti korišćenjem egzemplarno snimljenog materijala. To je velika prilika u akademskoj radiologiji – samo treba da je zgrabimo“. Između ostalog, autori naglašavaju da „radiolog prvi kontakt sa pacijentom uspostavlja gledanjem snimka, što je postupak koji podseća na normalnu proceduru u patologiji, a razlikuje se od svega što rade drugi specijalisti“ i nastoje da daju odgovor na pitanje – „po čemu se radiologija toliko razlikuje od drugih kliničkih disciplina?“

Autori ovog interesantnog dela nastoje da čitaoca ove knjige prošetaju kroz osnove radiologije, upoznavši ga sa instrumentima u radiologiji (projekciona radiografija, kompjuterizovana tomografija, ultrasonografija, magnetna rezonancija), stvaranjem, detekcijom i atenuacijom x-zraka, procesiranjem snimka, principima rada ultrasonografije, magnetne rezonancije i dr. Autori ističu da je poznavanje osnovnih postupaka i pravila konvencionalne i digitalne radiografije neophodno za shvatanje nastanka određenog radiografskog prikaza. Naglašavaju fenomen imidžinga i percepcije i šta treba da znamo da bismo analizirali radiografsku sliku. U posebnom poglavlju autori iznose rizik, smanjivanje rizika i profilaktičke mere, uz napomenu da je za bolesnika najbolja zaštita od zračenja, uz strogo pridržavanje liste indikacija, smanjenje broja rendgenograma na apsolutno potreban minimum, i kad god je ostvarljivo, biranje modaliteta snimanja koji ne koristi jonizujuće zračenje. Opisuju se jedna kontrastna sredstva, barijum-sulfat, ultrasonografska kontrastna sredstva i kontrastna sredstva u magnetnoj rezonanciji, sa

mogućnostima nastanka neželjenih reakcija na njih i preduzimanje neophodnih mera predostrožnosti za njihovo saniranje. Data je rendgendijagnostika sa rendgenskom slikom grudnog koša, kardiovaskularnog sistema, kosti i mekog tkiva, gastrointestinalnog trakta, urogenitalnog sistema, centralnog nervnog sistema, dojke, glave i vrata, dijagnostika traume, politraume, luksacija i fraktura.

Knjiga „Osnovi kliničke radiologije – Od slike do dijagnoze“ namenjena je studentima medicine ili, kako kažu autori, ona „isto važi i za one koji uče radiologiju kao studenti i mladi lekari: među poletarce na ovom polju mora da se unese entuzijazam za fascinantno područje radiologije“.

dr Rade R. Babić

UPUTSTVO AUTORIMA

Vojnosanitetski pregled (VSP) objavljuje radove koji ranije nisu nigde publikovani, niti predati za publikovanje redosledom koji određuje uređivački odbor. Uz rad, na posebnom listu, treba dostaviti: izjavu da rad do sada nije (ili je delimično) objavljen ili prihvaćen za štampu u drugom časopisu; potpise svih koautora; ime, tačnu adresu, brojeve telefona (fiksne, mobilne, faks), *e-mail* adresu, kao i kopiju dokaza o pretplati na časopis za sve autore (i koautore). Za objavljene radove VSP zadržava autorsko pravo.

Radove slati na adresu: Vojnosanitetski pregled Vojnomedicinska akademija, Institut za naučne informacije, Cmotravska 17, 11040 Beograd.

U VSP-u se objavljuju **uvodnici, originalni članci, prethodna ili kratka saopštenja**, revijski radovi tipa **opšteg pregleda, aktuelne teme ili metaanalize, kazuistika**, članci iz **istorije medicine**, lični stavovi, naručeni komentari, pisma uredništvu, izveštaji sa naučnih i stručnih skupova, prikazi knjiga, referati iz naučne i stručne literature i drugi prilozii.

Radove tipa opšteg pregleda Uredništvo će prihvatiti samo ukoliko autori navođenjem najmanje 5 autocitata potvrde da su eksperti u oblasti o kojoj pišu.

Radovi se objavljuju na srpskom ili engleskom jeziku sa apstraktima na srpskom i engleskom, za radove tipa originalnih članaka, prethodnih ili kratkih saopštenja, metaanalize i kazuistike. Odabrani članci objavljuju se u celini na engleskom jeziku sa apstraktom na srpskom.

Rukopis se piše pomoću IBM-PC kompatibilnog računara, sa proredom 1,5. Štampa se na laserskom ili nekom drugom visokokvalitetnom štampaču, uredno i bez ispravki, na čistoj beloj hartiji formata A4, sa levom marginom od 4 cm. Koristiti font veličine 12, a načelno izbegavati upotrebu **bold** i *italic* slova, koja su rezervisana za podnaslove. Originalni članci, opšti pregledi i metaanalize ne smeju prelaziti 16 stranica (sa prilogima); aktuelne teme – osam, kazuistika – šest, prethodna saopštenja – pet, a pisma uredniku, izveštaji sa skupova i prikazi knjiga – dve stranice.

U celom radu obavezno je korišćenje međunarodnog sistema mera (SI) i standardnih međunarodno prihvaćenih termina.

Radove (tekst i grafičke priloge) treba slati na disketi i štampane u tri primerka (original i dve kopije). Autori konačnu verziju rukopisa i priloga prihvaćenih za publikovanje predaju u jednom štampanom primerku i na disketi od 3,5" (očišćenju od „virusa“) ili na kompaktnom disku. Za obradu teksta koristiti program **Word for Windows** verzije 97, 2000, XP ili 2003, a samo izuzetno i neki drugi. Za izradu grafičkih priloga koristiti standardne grafičke programe za **Windows**, poželjno iz programskog paketa **Microsoft Office (Excel, Word Graph)**. Kod kompjuterske izrade grafika izbegavati upotrebu boja i senčenja pozadine.

Prispeli radovi kao anonimni podležu uređivačkoj obradi i recenziji najmanje dva urednika/recenzenata. Primedbe i sugestije urednika/recenzenata dostavljaju se autoru radi konačnog oblikovanja. Otisak članka šalje se prvom autoru na korekturu, koji treba vratiti u roku od pet dana. Rukopisi radova prihvaćenih za štampu ne vraćaju se autoru.

Priprema rada

Delovi rada su: **naslovna strana, apstrakt sa ključnim rečima, tekst i literatura.**

1. Naslovna strana

a) Naslov treba da bude kratak, jasan i informativan i da odgovara sadržaju rada. Podnaslove treba izbegavati.

b) Ispisuju se puna imena i prezimena autora.

c) Navode se puni nazivi ustanove i organizacijske jedinice u kojima je rad obavljen i mesta u kojima se ustanove nalaze, sa jasnim obeležavanjem odakle je autor, koristeći standardne znake za fus-note.

2. Apstrakt i ključne reči

Na drugoj stranici nalazi se strukturisani apstrakt sa naslovom rada. Kratkim rečenicama na srpskom i engleskom jeziku iznosi se **uvod i cilj** rada, osnovne procedure - **metode** (izbor ispitanika ili laboratorijskih životinja; metode posmatranja i analize), glavni nalazi - **rezultati** (konkretni podaci i njihova statistička značajnost) i glavni **zaključak**. Naglasiti nove i značajne aspekte studije ili zapažanja. Strukturisani apstrakt (**250** reči) ima podnaslove: *uvod/cilj, metode, rezultati i zaključak*. Za apstrakte na engleskom dozvoljeno je i do **450** reči. Strukturisani apstrakt je obavezan za metaanalize (istog obima kao i za originalne članke) i kazuistiku (do 150 reči, sa podnaslovima *uvod, prikaz slučaja i zaključak*). Ispod apstrakta, pod podnaslovom „Ključne reči“ predložiti 3–10 ključnih reči ili kratkih izraza koji oslikavaju sadržinu članka.

3. Tekst članka

Tekst sadrži sledeća poglavlja: **uvod, metode, rezultate i diskusiju. Zaključak** može da bude posebno poglavlje ili se iznosi u poslednjem

pasusu diskusije. U **uvodu** ponovo napisati naslov rada, bez navođenja autora. Navesti hipotezu (ukoliko je ima) i ciljeve rada. Ukratko izneti razloge za studiju ili posmatranje. Navesti samo strogo relevantne podatke iz literature i ne iznositi opširna razmatranja o predmetu rada, kao ni podatke ili zaključke iz rada o kome se izveštava.

Metode. Jasno opisati izbor metoda posmatranja ili eksperimentalnih metoda (ispitanici ili eksperimentalne životinje, uključujući kontrolne). Identifikovati metode, aparaturu (ime i adresa proizvođača u zagradi) i proceduru, dovoljno detaljno da se drugim autorima omogući reprodukcija rezultata. Navesti podatke iz literature za uhodane metode, uključujući i statističke. Tačno identifikovati sve primenjene lekove i hemikalije, uključujući generičko ime, doze i načine davanja. Za ispitivanja na ljudima i životinjama navesti saglasnost etičkog komiteta.

Rezultate prikazati logičkim redosledom u tekstu, tabelama i ilustracijama. U tekstu naglasiti ili sumirati samo značajna zapažanja.

U **diskusiji** naglasiti nove i značajne aspekte studije i izvedene zaključke. Posmatranja dovesti u vezu sa drugim relevantnim studijama, u načelu iz poslednje tri godine, a samo izuzetno i starijim. Povezati zaključke sa ciljevima rada, ali izbegavati nesumnjive tvrdnje i one zaključke koje podaci iz rada ne podržavaju u potpunosti.

Literatura

Literatura se u radu citira kao superskript, a popisuje rednim brojevima pod kojima se citat pojavljuje u tekstu. Navode se svi autori, ali ako broj prelazi šest, navodi se prvih šest i dodaje et al. Svi podaci o citiranoj literaturi moraju biti tačni. Literatura se u celini citira na engleskom jeziku, a iza naslova se navodi jezik članka u zagradi. Ne prihvata se citiranje apstrakata, sekundarnih publikacija, usmenih saopštenja, neobjavljenih radova, službenih i poverljivih dokumenata. Radovi koji su prihvaćeni za štampu, ali još nisu objavljeni, navode se uz dodatak „u štampi“. Rukopisi koji su predati, ali još nisu prihvaćeni za štampu, u tekstu se citiraju kao „neobjavljeni podaci“ (u zagradi). Podaci sa *Interneta* citiraju se uz navođenje datuma.

Primeri oblika referenci:

Durović BM. Endothelial trauma in the surgery of cataract. *Vojnosanit Pregl* 2004; 61(5): 491–7. (Serbian)

Balint B. From the haemotherapy to the haemomodulation. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2001. (Serbian)

Mladenović T, Kandolf L, Mijušković ŽP. Lasers in dermatology. In: *Karadaglić D*, editor. *Dermatology*. Beograd: Vojnoizdavački zavod & Verzal Press; 2000. p. 1437–49. (Serbian)

Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: *Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG*, editors. *Genetic programming*. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12]; 102(6): [about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

Tabele

Sve tabele štampaju se sa proredom 1,5 na posebnom listu hartije. Obeležavaju se arapskim brojevima, redosledom pojavljivanja, u desnom uglu (**Tabela 1**), a svakoj se daje kratak naslov. Objašnjenja se daju u fus-noti, ne u zaglavlju. Za fus-notu koristiti sledeće simbole ovim redosledom: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, Svaka tabela mora da se pomene u tekstu. Ako se koriste tuđi podaci, obavezno ih navesti kao i svaki drugi podatak iz literature.

Ilustracije

Slikama se zovu svi oblici grafičkih priloga i predaju se u tri primerka i na disketi (CD). Fotografije treba da budu oštre, na glatkom i sjajnom papiru, do formata dopisnice. Slova, brojevi i simboli treba da su jasni i ujednačeni, a dovoljne veličine da prilikom umanjivanja budu čitljivi. Na svakoj slici treba na poleđini, tankom grafitnom olovkom, označiti broj slike, ime prvog autora i gornji kraj slike. Slike treba obeležiti brojevima, onim redom kojim se navode u tekstu (**Sl. 1; Sl. 2** itd.). Ukoliko je slika već negde objavljena, obavezno citirati izvor.

Legende za ilustracije pisati na posebnom listu hartije, koristeći arapske brojeve. Ukoliko se koriste simboli, strelice, brojevi ili slova za objašnjenje pojedinog dela ilustracije, svaki pojedinačno treba objasniti u legendi. Za fotomikrografije navesti unutrašnju skalu i metod bojenja.

Skraćenice i simboli

Koristiti samo standardne skraćenice, izuzev u naslovu i apstraktu. Pun naziv sa skraćenicom u zagradi treba dati kod prvog pominjanja u tekstu.

Detaljno uputstvo može se dobiti u redakciji.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Vojnosanitetski pregljed (VSP) publishes only previously neither published nor submitted papers in any other journals in the order determined by the Editorial Board. The following should be enclosed with the manuscript: a statement that the paper has not been submitted or accepted for publication elsewhere; a consent signed by all the authors that the paper could be submitted; the name, exact address, phone number, and e-mail address of the first author and co-authors. VSP reserves all copyrights.

Papers should be sent to: Military Medical Academy, Institute for Scientific Information, Crnotravska 17, 11040 Belgrade, Serbia & Montenegro, for "Editorial Board of VSP."

VSP publishes: **editorials, original articles, short communications, reviews/meta-analyses, case reports**, from the **medical history** (general or military), personal views, invited comments, letters to the editor, reports from scientific meetings, book reviews, extensive abstracts of interesting articles from foreign language journals, and other contributions. Papers are published in Serbian or English with abstracts in both languages, and the selected ones fully in English for original articles, short communications, meta-analyses and case reports.

General review papers type will be accepted by the Editorial Board only if the authors prove themselves as the experts in the fields they write on by citing not less than 5 self-citations.

Papers should be written on IBM-compatible PC, using 12 pt font, and double spacing, and printed on the laser, or other high-quality printer without any corrections, on white bond paper ISO A4 (212×297 mm) with at least 4 cm left margin. **Bold** and *italic* letters should be avoided. Observational and experimental articles, reviews and meta-analyses, should not exceed 16 pages (including tables and illustrations); case reports – 6; short communications – 5; letters to the Editor, reports on scientific meetings and book reviews – 2.

All measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI). Standard, internationally accepted terms should be used. Papers should be submitted on a diskette (CD) in triplicate (original and two copies).

Authors are requested to submit the final version of manuscript approved for publishing with tables and illustrations on a 3.5" virus free diskette or a CD. **MS Word for Windows** (97, 2000, XP, 2003) is recommended for word processing; other programs are to be used only exceptionally. Illustrations should be made using standard **Windows** programs. Avoid the use of colors in graphs.

Papers are reviewed anonymously by at least two editors and/or invited reviewers. Remarks and suggestions are sent to the author for final composition. Galley proofs are sent to the first author for corrections that should be returned within 5 days. Manuscripts accepted for publication are not being returned.

Preparation of manuscript

Parts of the manuscript are: **Title page; Abstract with key words; Text; References.**

1. Title page

- The title should be concise but informative. Subheadings should be avoided;
- full name of each author;
- name and place of department(s) and institution(s) of affiliation, clearly marked by standard footnote signs.

2. Abstract and key words

The second page should carry a structured abstract with the title for original articles, meta-analyses and case reports. The abstract should state the purposes of the study or investigation, basic procedures (selection of study subjects or laboratory animals; observational and analytical methods), main findings (giving specific data and their statistical significance, if possible), and the principal conclusions. It should emphasize new and important aspects of the study or observations. **Structured** abstract should contain typical subtitles: *background/aim, methods, results and conclusion*. The abstract for meta-analyses and original papers should have up to 450 words, and up to 150 words for case reports (with subtitles *background, case report, conclusion*). Below the abstract authors should provide, and identify as such, 3–10 key words or short phrases that will assist indexers in cross-indexing the article and will be published with the abstract.

3. Text

The text of original articles is divided into sections with the headings: **Introduction, Methods, Results, and Discussion**. Long articles may need subheadings within some sections to clarify their content.

In the **Introduction** repeat the title of the article, excluding the names of authors. State the purpose of the article and summarize the rationale for the study or observation. Give only strictly pertinent references and do not include data or conclusions from the work being referred.

Methods. Describe your selection of the observational or experimental subjects (patients or experimental animals, including controls) clearly. Identify the methods, apparatus (manufacturer's name and address in parentheses), and procedures in sufficient detail to allow other workers to reproduce the results. Give references to established methods, including statistical methods. Identify precisely all drugs and chemicals used, with generic name(s), dose(s), and route(s) of administration. State the approval of the Ethics Committee for the tests in humans and animals.

Results should be presented in logical sequence in the text, tables and illustrations. Emphasize or summarize only important observations.

Discussion is to emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions that result from them. Relate the observations to other relevant studies. Link the conclusions with the goals of the study, but avoid unqualified statements and conclusions not completely supported by your data.

References

References should be superscripted and numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. **The references must be verified by the author(s) against the original document.** List all authors, but if the number exceeds 6, give 6 followed by et al. Do not use abstracts, secondary publications, oral communications, unpublished papers, official and classified documents. References to papers accepted but not yet published should be designated as "in press". Information from manuscripts not yet accepted should be cited in the text as "unpublished observations". References are cited according to the **International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals. Ann Intern Med 1997; 126: 36–47. Updated October 2001.**

Examples of references:

Jurhar-Pavlova M, Petlichkovski A, Trajkov D, Efiniska-Mladenovska O, Arsov T, Strezova A, et al. Influence of the elevated ambient temperature on immunoglobulin G and immunoglobulin G subclasses in sera of Wistar rats. *Vojnosanit Pregl* 2003; 60(6): 657–612.

DiMaio VJ. Forensic Pathology. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 2001.

Blinder MA. Anemia and Transfusion Therapy. In: Ahya NS, Flood K, Paranjothi S, editors. *The Washington Manual of Medical Therapeutics*, 30th edition. Boston: Lippincott, Williams and Wilkins; 2001. p. 413–428.

Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: *Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG*, editors. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3–5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182–91.

Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12]; 102(6): [about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

Tables

Type each table double-spaced on a separate sheet. Number tables consecutively in the order of their first citation in the text in the upper right corner (**Table 1**) and supply a brief title for each. Place explanatory matter in footnotes, using the following symbols, in this sequence: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, Each table has to be mentioned in the text. If you use data from another source, acknowledge fully.

Illustrations

Figures are submitted in triplicate, and for the final version also on diskette/CD. Photos should be sharp, glossy black and white photographic prints, not larger than 203 × 254 mm. Letters, numbers, and symbols should be clear and even throughout and of sufficient size that when reduced for publication, each item will still be legible. Each figure should have a label on its back indicating the number of the figure, author's name, and top of the figure. If a figure has been published, acknowledge the original source.

Legends for illustrations are typed on a separate page, with arabic numerals corresponding to the illustrations. Identify and explain each one clearly in the legend symbols, arrows, numbers, or letters used to identify parts of the illustrations. Explain the internal scale and identify the method of staining in photomicrographs.

Abbreviations and symbols

Use only standard abbreviations. Avoid abbreviations in the title and abstracts. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text.



VOJNOSANITETSKI PREGLED
VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA
Crnotravska 17, 11040 Beograd, Srbija
Tel/Fax: +381 11 2669689
vmaini1@eunet.yu
vmaini2@eunet.yu

Časopis „Vojnosanitetski pregled“ izlazi godišnje u 12 brojeva. Godišnja pretplata za 2009. godinu iznosi: 4 000 dinara za građane Srbije, 8 000 dinara za ustanove iz Srbije i 150 € za strane državljanke i ustanove. Sredstva se uplaćuju na tekući račun Vojnomedicinske akademije Beograd kod Uprave za javna plaćanja u Beogradu broj: **840-941621-02 VMA (za Vojnosanitetski pregled ili za VSP), PIB 102116082 ili na devizni račun kod Narodne banke broj: 54104-oznaka valute-549**. Uplatnicu (dokaz o uplati) dostaviti lično ili poštom (pismom, faksom, *e-mail*-om). Za zaposlene u MO i Vojsci Srbije moguća je i pretplata u 12 mesečnih rata putem trajnog naloga, tj. „odbijanjem od plate“. Popunjen obrazac poslati na adresu VSP-a.

PRIJAVA ZA PRETPLATU NA ČASOPIS „VOJNOSANITETSKI PREGLED“

Ime i prezime ili naziv ustanove	
Jedinstveni matični broj građana	
Poreski identifikacioni broj (PIB) za ustanove	
Mesto	
Ulica i broj	
Telefon / telefaks	
Pretplata na časopis „Vojnosanitetski pregled“ (zaokružiti):	
1. Lično. Dokaz o pretplati dostavljam uz ovu prijavu.	
2. Za pripadnike MO i Vojske Srbije: Dajem saglasnost da se prilikom isplate plata u Računovodstvenom centru MO iz mojih nadležnosti obustavlja iznos mesečne rate (preplate).	
3. Virmanom po prijemu profakture.	
Datum _____	Potpis _____



VOJNOSANITETSKI PREGLED
VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA
Crnotravska 17, 11040 Beograd, Srbija
Tel/Fax: +381 11 2669689
vmaini1@eunet.yu
vmaini2@eunet.yu

Časopis „Vojnosanitetski pregled“ izlazi godišnje u 12 brojeva. Godišnja pretplata za 2009. godinu iznosi: 4 000 dinara za građane Srbije, 8 000 dinara za ustanove iz Srbije i 150 € za strane državljanke i ustanove. Sredstva se uplaćuju na tekući račun Vojnomedicinske akademije Beograd kod Uprave za javna plaćanja u Beogradu broj: **840-941621-02 VMA (za Vojnosanitetski pregled ili za VSP), PIB 102116082 ili na devizni račun kod Narodne banke broj: 54104-oznaka valute-549**. Uplatnicu (dokaz o uplati) dostaviti lično ili poštom (pismom, faksom, *e-mail*-om). Za zaposlene u MO i Vojsci Srbije moguća je i pretplata u 12 mesečnih rata putem trajnog naloga, tj. „odbijanjem od plate“. Popunjen obrazac poslati na adresu VSP-a.

PRIJAVA ZA PRETPLATU NA ČASOPIS „VOJNOSANITETSKI PREGLED“

Ime i prezime ili naziv ustanove	
Jedinstveni matični broj građana	
Poreski identifikacioni broj (PIB) za ustanove	
Mesto	
Ulica i broj	
Telefon / telefaks	
Pretplata na časopis „Vojnosanitetski pregled“ (zaokružiti):	
1. Lično. Dokaz o pretplati dostavljam uz ovu prijavu.	
2. Za pripadnike MO i Vojske Srbije: Dajem saglasnost da se prilikom isplate plata u Računovodstvenom centru MO iz mojih nadležnosti obustavlja iznos mesečne rate (preplate).	
3. Virmanom po prijemu profakture.	
Datum _____	Potpis _____

