

ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

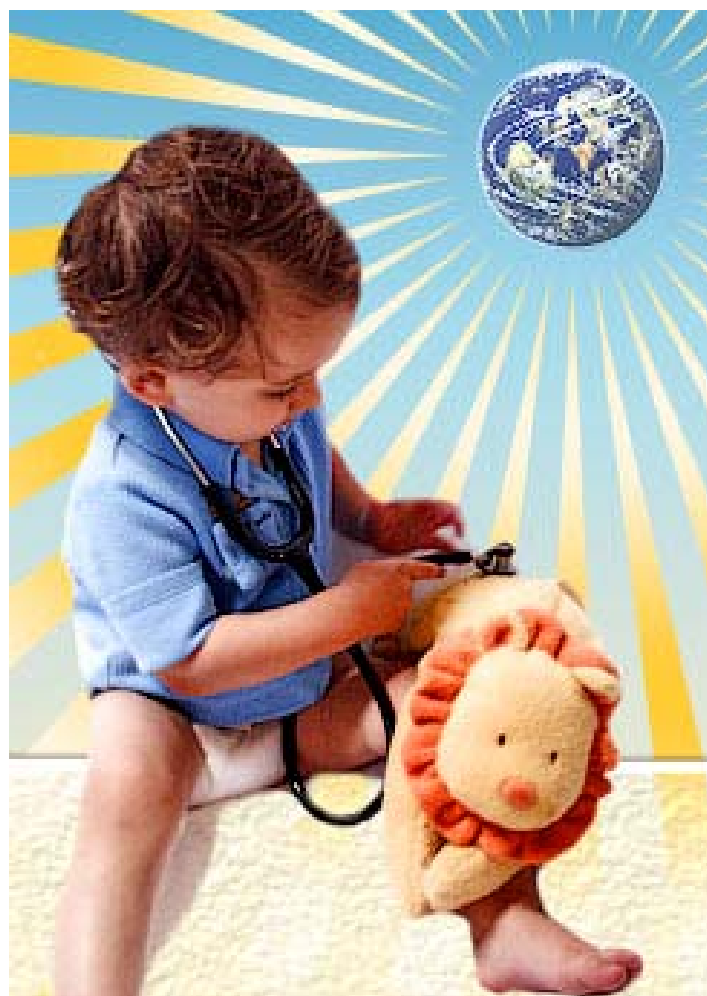
Часопис лекара и фармацеутика Војске Србије

Military Medical and Pharmaceutical Journal of Serbia



Vojnosanitetski pregled

Vojnosanit Pregl 2009; April vol. 66 (No. 4): pp. 259-342.



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, Црнобравска 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 vmaini@hotmail.com (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 Bokonić**, 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 vmaini@hotmail.com

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

UVODNIK / EDITORIAL

Silva Dobrić

- Svetski dan zdravlja 2009 – Spasi živote. Učini bolnice bezbednim u vanrednim situacijama**
 World Health Day 2009 – Save lives. Make hospitals safe in emergencies..... 263

ORIGINALNI ČLANCI / ORIGINAL ARTICLES

Goran Damnjanović, Marija Jelić, Boris Đinđić, Stevan Ilić

- Usporedna analiza serumskih koncentracija solubilnih formi adhezivnih molekula kod bolesnika sa različitim prezentacijom koronarne bolesti**
 Serum concentration of soluble adhesive molecules in patients with different forms of coronary artery disease 265

Nenad Biorac, Mihajlo Jakovljević, Danka Stefanović, Saša Perović, Slobodan Janković

- Procena troškova lečenja diabetes mellitus-a tip 2 u Republici Srbiji**
 Assessment of diabetes mellitus type 2 treatment costs in the Republic of Serbia 271

Ivan Ilić, Pavle Ranđelović, Ratko Ilić, Vuka Katić, Maja Milentijević, Ljubinka Veličković, Miljan Krstić

- An approach to malignant mammary phyllodes tumors detection**
 Pristup otkrivanju malignih filodnih tumora dojke 277

Vujica Marković, Đorđe Kontić, Paraskeva Hentova-Senčanić, Marija Božić, Ivan Marjanović, Vera Krstić, Dragana Kovačević

- Doprinos i značaj nalaza Hajdelbergove tomografije retine II u dijagnostikovanju okularne hipertenzije i njene konverzije u primarni glaukom otvorenog ugla**
 Contribution and significance of Heidelberg Retinal Tomography II in diagnostics of ocular hypertension and its conversion into primary open-angle glaucoma 283

Jelena Jeremić, Živorad Nikolić, Lazar Drčić, Aleksandar Petrović, Katarina Jeremić, Vladimir Todorović
Primena slobodnog radijalnog podlaktnog reznja u rekonstrukciji ekstraoralnih defekata glave i vrata

- Application of radial forearm free flap in extraoral soft tissue head and neck reconstruction..... 290

Goran Stanojević, Miroslav Stojanović, Milan Jovanović, Miodrag Stojanović, Miroslav Jeremić, Branko Branković, Nebojša Ignjatović, Vuka V. Katić

- Primarni kolorektalni limfomi**
 Primary colorectal lymphomas..... 295

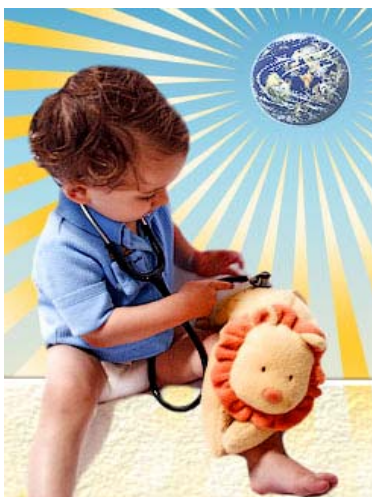
Nebojša Bojanić, Sava Mičić, Aleksandar Vuksanović, Ivan Vuković, Aleksandar Janjić

- The treatment of stage A testicular seminoma by carboplatin monochemotherapy**
 Lečenje seminomskih tumora testisa u stadijumu A monohemioterapijom karboplatinom..... 303

Radmila Veličković-Radovanović, Jasmina Petrović, Branislava Kocić, Snežana Antić, Gordana Ranđelović

- Correlation between antibiotic consumption and bacterial resistance as quality indicator of proper use of these drugs in inpatients**
 Korelacija potrošnje antibiotika i bakterijske rezistencije kao indikator njihove pravilne upotrebe kod hospitalizovanih bolesnika 307

<i>Zorica Čaparević, Nada Kostić, Vera Ćelić, Zoran Ćosić, Đorđe Marina, Sanja Ilić, Biljana Penčić</i> Effects of acute exercise on atherogenic lipids in untreated mild hypertensive patients Uticaj akutne fizičke aktivnosti na aterogene lipide kod nelečenih bolesnika sa blagom hipertenzijom.....	313
<i>Neđo Ćutura, Vesna Soldo, Aleksandar Ćurković, Branko Tomović, Tanja Mitrović</i> Uticaj epiduralne anestezije na prvo i drugo porođajno doba i na novorođenče Effects of epidural anesthesia on I and II delivery stages and on a newborn.....	319
SEMINAR PRAKTIČNOG LEKARA / PRACTICAL ADVICE FOR PHYSICIANS	
<i>Predrag Pavlović, Dragan Tavčioski, Emina Stamenković</i> Agregacija trombocita, disfunkcija endotela i akutni infarkt miokarda Thrombocyte aggregation, endothelial dysfunction and acute myocardial infarction.....	323
KAZUISTIKA / CASE REPORTS	
<i>Aleksandra Grdinić, Danilo Vojvodić, Vesna Ilić, Zvonko Magić, Nina Đukanović, Mina Radovanović, Predrag Miljić, Slobodan Obradović, Ivana Majstorović, Bojana Cikota, Miodrag Ostojić</i> Značaj primene testova za procenu efekta antiagregacijske terapije kod bolesnika sa rekurentnom trombozom intrakoronarnog stenta The importance of tests applied to evaluate the effectiveness of antiplatelet therapy in patients with recurrent coronary stent thrombosis.....	328
<i>Danica Cvetković-Matić, Milika Ašanin, Dragan Matić, Branislava Ivanović, Dragan Simić, Nevena Kalezić, Vesna Stojanov</i> Acute myocardial infarction following a hornet sting Akutni infarkt miokarda posle ujeda stršljena.....	333
ERRATA.....	338
UPUTSTVO AUTORIMA / INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS.....	339



Svake godine, 07. aprila, pod pokroviteljstvom Svetske zdravstvene organizacije, širom sveta proslavlja se Svetski dan zdravlja. Ove godine obeležava se pod sloganom: Spasi živote. Učini bolnice bezbednim u vanrednim događajima! (vidi Uvodnik, str. 263).

The World Health Day is worldwide celebrated every year on 7 April, under the sponsorship of the World Health Organization. The theme of the World Health Day 2009 is: Save lives. Make hospitals safe in emergencies! (see Editorial, p. 263).



Svetski dan zdravlja 2009 – Spasi živote. Učini bolnice bezbednim u vanrednim situacijama

World Health Day 2009 – Save lives. Make hospitals safe in emergencies

Silva Dobrić

**Vojnomedicinska akademija, Institut za naučne informacije
Beograd, Srbija**

Pod pokroviteljstvom Svetske zdravstvene organizacije (SZO), svake godine, 07. aprila, proslavlja se Svetski dan zdravlja. Ovaj datum ustanovljen je na prvoj Generalnoj skupštini SZO, održanoj 1948. godine, a s njegovim obeležavanjem počelo se 1950.

Svetski dan zdravlja ustanovljen je s ciljem podizanja svesti o specifičnim zdravstvenim problemima koje je SZO prepoznala kao posebno značajne za celokupno stanovništvo zemlje. Tog dana, širom planete, sprovode se aktivnosti kojima se, uvek i iznova, naglašava značaj zdravlja za obezbeđenje produktivnog i srećnog života svakog pojedinca.

Svake godine Svetski dan zdravlja proslavlja se pod određenim sloganom koji određuje glavni cilj i karakter kampanje koja će se provoditi te godine širom sveta. Ove godine, Svetski dan zdravlja posvećen je isticanju značaja zdravstvenih ustanova i radnika u zbrinjavanju stanovništva u vanrednim situacijama. Očuvanje njihovog normalnog funkcionisanja u vanrednim situacijama, uključujući prirodne katastrofe i ratna dešavanja, od presudnog je značaja za sprečavanje ne samo neposrednih, već i onih kasnijih, odgođenih, teških posledica po zdravlje stanovništva ugroženih područja. U sklo-

pu predviđenih aktivnosti, poseban akcent stavljen je na važnost investiranja u zdravstvenu infrastrukturu i implementiranja sistema kvaliteta u mere zaštite od internih nepogoda, kao što su požari, poplave i sl., da bi se s maksimalnim kapacitetima obezbedilo funkcionisanje zdravstvenog zbrinjavanja i u najtežim situacijama.

Ovogodišnja težišna aktivnost SZO uklapa se u zdravstvene prioritete ove organizacije, zacrtane na početku novog milenijuma, a to je – spasiti živote ljudi i poboljšati zdravlje celokupnog svetskog stanovništva. U tom smislu, sve zemlje članice SZO, kao i svi zdravstveni radnici, u obavezi su da na svojim radnim mestima, kroz svakodnevne aktivnosti dadu svoj doprinos realizaciji postavljenih ciljeva. Dobijanjem sertifikata za uspešno uvođenje međunarodnih ISO standarda u oblasti menadžmenta kvalitetom (ISO 9001), menadžmenta zaštitom životne sredine (ISO 14 000/14 001) i menadžmenta zdravljem i bezbednosti na radu (OHSAS 18 001), Vojnomedicinska akademija, kao prva zdravstvena ustanova u Srbiji, već je učinila prve ozbiljne korake u ostvarenju ciljeva ovogodišnjeg Svetskog dana zdravlja: Spasi živote. Učini bolnice bezbednim u vanrednim situacijama ¹!

L I T E R A T U R A

1. Anonymous. World Health Day 2009. Available from: <http://www.euro.who.int/whd09>



ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

ВОЈНОМЕДИЦИНСКА АКАДЕМИЈА

Црнотравска 17, 11040 Београд, Србија

Тел/факс: +381 11 2669689

vmaini1@eunet.yu

vmaini2@eunet.yu

Позив на рекламирање у 2009. години

У прилици смо да вам понудимо могућност оглашавања и рекламирања производа и услуга у часопису „Војносанитетски преглед“ (ВСП). То је сигурно најбољи вид и најзаступљенији начин упознавања евентуалних корисника са вашим услугама и производима.

Часопис „Војносанитетски преглед“, званични орган лекара и фармацеута Војске Србије, научно-стручног је карактера и објављује радове из свих области медицине, стоматологије и фармације. Радове равноправно објављују стручњаци из војних и цивилних установа и из иностранства. Штампана се на српском и енглеском језику. Часопис излази непрекидно од 1944. године до сада. Једини је часопис у земљи који излази месечно (12 бројева), на око 100 страна А4 формата, а повремено се објављују и тематски додаци (суплементи). Путем размене или претплате ВСП се шаље у 23 земље света. Радове објављене у ВСП-у индексирају: *Science Citation Index Expanded (SCIE)*, *Journal Citation Reports/Science Edition*, *Index Medicus (Medline)*, *Excerpta Medica (EMBASE)*, *EBSCO* (преко ове базе ВСП је *on line* доступан од 2002. године у *pdf* формату) и *Biomedicina Serbica*.

Цене реклама и огласа у часопису „Војносанитетски преглед“ у 2009. години су:

1.	Оглас у црно-белој техници А4 формата за један број	20 000,00 динара
2.	Оглас у ц/б техници А4 формата за целу годину (11-12 бројева)	200 000,00 динара
3.	Оглас у боји А4 формата за један број	35 000,00 динара
4.	Оглас у боји А4 формата за целу годину (11-12 бројева)	330 000,00 динара
5.	Оглас у боји на корицама К3 за један број	50 000,00 динара
6.	Оглас у боји на корицама К3 за целу годину (11-12 бројева)	455 000,00 динара
7.	Оглас у боји на корицама К2 и К4 за један број	55 000,00 динара
8.	Оглас у боји на корицама К2 и К4 за целу годину (11-12 бројева)	530 000,00 динара

За сва објашњења, упутства и понуде заинтересовани контактирају редакцију часописа „Војносанитетски преглед“. Средства се уплаћују на жиро рачун код Управе јавних плаћања у Београду број: 840-941621-02 **ВМА (за Војносанитетски преглед или за ВСП), ПИБ 102116082**. Уплатницу (доказ о уплати) доставити лично или поштом (писмом, факсом, *e-mail*-ом) на адресу: Војносанитетски преглед, Црнотравска 17, 11000 Београд; тел/факс: 011 2669 689, *e-mail*: vmaini1@eunet.yu или vmaini2@eunet.yu



Uporedna analiza serumskih koncentracija solubilnih formi adhezivnih molekula kod bolesnika sa različitim prezentacijom koronarne bolesti

Serum concentration of soluble adhesive molecules in patients with different forms of coronary artery disease

Goran Damnjanović*, Marija Jelić†, Boris Đinđić‡, Stevan Ilić§

Vojna bolnica Niš, *Interno odeljenje, †Kliničko-biohemijska laboratorija, Niš; Medicinski fakultet Niš, Srbija; ‡Institut za patološku fiziologiju, Niš, Srbija; §Institut za prevenciju i lečenje kardiovaskularnih bolesnika, Niška banja; Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Vaskularni ćelijski adhezivni molekul-1 (VCAM-1) i interćelijski adhezivni molekul-1 (ICAM-1) imaju važnu ulogu u razvoju i progresiji ateroskleroze koronarnih arterija. Cilj rada bio je sprovođenje uporedne analize koncentracija solubilnih formi adhezivnih molekula kod bolesnika sa različitim kliničkim prezentacijama koronarne bolesti (KB). **Metode.** Analizirani su uzorci krvi i određivana je koncentracija adhezivnih molekula VCAM-1 i ICAM-1 kod 25 bolesnika sa akutnim infarktomiokarda (AIM), 25 bolesnika sa nestabilnom anginom pektorisa (NAP), 25 bolesnika sa stabilnom anginom pektorisa (SAP) i 15 osoba kontrolne grupe bez dokazane KB. **Rezultati.** Gojaznost je izraženija kod bolesnika sa NAP u odnosu na SAP i kontrolu ($p < 0,05$). Hipertenzija i dijabetes melitus tip 2 češći su kod bolesnika sa KB nego kod osoba kontrolne grupe ($p < 0,01$). Porodična anamneza KB češća je kod bolesnika sa AIM i NAP, u odnosu na kontrolu ($p < 0,05$). Serumске koncentracije VCAM-1 slične su kod bolesnika sa AIM ($955,9 \pm 117,8$ ng/mL), NAP ($952,4 \pm 139,1$ ng/mL) i SAP ($931 \pm 169,8$ ng/mL), i znatno veće u odnosu na kontrolu ($823,4 \pm 97,6$; $p < 0,05$, $p < 0,05$ i $p < 0,1$ respektivno). Serumска koncentracija ICAM-1 slična je kod bolesnika sa AIM ($699,2 \pm 125,6$ ng/mL), NAP ($727,6 \pm 171,8$ ng/mL) i SAP ($697,5 \pm 165,6$ ng/mL), i značajno veća u sve tri grupe u odnosu na kontrolu ($583,4 \pm 86,6$; $p < 0,1$, $p < 0,05$ i $p < 0,1$ respektivno). **Zaključak.** Porast koncentracije adhezivnih molekula kao markera inflamacije, ukazuje na značaj inflamacijskih procesa u razvoju ateroskleroze i kliničkom ispoljavanju koronarne bolesti. Određivanje serumskih koncentracija ICAM-1 i VCAM-1 koristan je pokazatelj prisustva aterosklerotskih promena, ali ne i težine kliničkog ispoljavanja koronarne bolesti.

Ključne reči: vaskularni ćelijski adhezivni molekul-1; interćelijski adhezivni molekul-1; koronarna bolest.

Abstract

Background/Aim. Vascular cell adhesion molecules-1 (VCAM-1) and intercellular cell adhesive molecules-1 (ICAM-1) play an important role in developing and progression of coronary atherosclerosis. The aim of the paper was to compare concentrations of soluble forms of VCAM-1 and ICAM-1 in patients with different clinical presentations of coronary artery disease (CAD) and patients without CAD. **Methods.** Blood samples were taken from 25 patients with acute myocardial infarction (AMI), 25 patients with unstable angina pectoris (UAP), 25 with stable angina pectoris (SAP) and from 15 control patients without CAD, and concentrations of soluble adhesive molecules (VCAM-1, ICAM-1) were determined. **Results.** Obesity was more prominent in the NAP than in the SAP and the control patients ($p < 0.05$). There were no significant differences in gender distribution, age, duration of the CAD and body mass index between the groups. Hypertension and diabetes mellitus type 2 were more frequent in the CAD patients than in the controls ($p < 0.01$). Family history of the CAD was more frequent in the AMI and the UAP group than in the controls ($p < 0.05$). Serum concentrations of VCAM-1 was similar in the patients with AMI (955.9 ± 117.8 ng/mL), UAP (952.4 ± 139.1 ng/mL) and SAP (931 ± 169.8 ng/mL), and significantly higher in these groups compared with the controls (823.4 ± 97.6 ; $p < 0.05$, $p < 0.05$ and $p < 0.1$ respectively). Serum concentration of ICAM-1 was similar in the patients with AMI (699.2 ± 125.6 ng/mL), UAP (727.6 ± 171.8 ng/mL) and SAP (697.5 ± 165.6 ng/mL), and significantly higher in these groups compared with the controls (583.4 ± 86.6 ; $p < 0.1$, $p < 0.05$ and $p < 0.1$ respectively). **Conclusion.** Increased concentrations of VCAM-1 and ICAM-1, as markers of inflammation, showed the importance of inflammatory processes in development of atherosclerosis and clinical expression of CAD. Measurement of soluble ICAM-1 and VCAM-1 concentrations is a useful indicator of atherosclerosis presence but not severity of CAD clinical presentation.

Key words: vascular cell adhesion molecule-1; intercellular adhesion molecule-1; coronary artery disease.

Uvod

Ateroskleroza je hronična inflamacijska bolest velikih arterija, pri čemu inflamacija ima ključnu ulogu u nastanku, progresiji i rupturi aterosklerotskog plaka^{1,2}. U osnovi ovog procesa leži endotelna disfunkcija i aktivacija T-limfocita i monocita koji produkuju proinflamacijske citokine i hemokine, kao što su faktor tumorske nekroze alfa (TNF- α), interferon gama (IF- γ)³, interleukini (IL-1, IL-6 i drugi)⁴.

Marginacija, adhezija i delimično transendotelna migracija cirkulišućih leukocita veoma su važni procesi u inicijaciji i progresiji aterosklerotske bolesti^{1,5}. Endotelna disfunkcija i inflamacija posredstvom citokina i hemokina dovode do ekspresije E i P selektina koji omogućavaju kotrljanje leukocita po površini endotelnih ćelija, povećavaju ekspresiju vaskularnog ćelijskog adhezivnog molekula-1 (VCAM-1) i interćelijskog adhezivnog molekula-1 (ICAM-1) koji omogućavaju čvrsto vezivanje i transendotelnu migraciju u zid krvnog suda⁶⁻⁸.

Određivanje solubilnih formi adhezivnih molekula (sICAM-1 i sVCAM-1) u prospektivnim studijama bazirano je na činjenici da inflamacija u zidu krvnog suda povećava njihovu ekspresiju te da serumski nivo ovih molekula reflektuje njihovu ekspresiju na endotelnim ćelijama⁹. Količina serumskog ICAM-1 je u srazmeri sa membranskom ekspresijom ICAM-1 na endotelnim ćelijama, dok je korelacija između sVCAM-1 i VCAM-1 mRNA pokazana u kliničkim studijama^{10,11}.

Sama pomisao da inflamacijski procesi mogu biti u osnovi patogeneze ateroskleroze dovela je do postavljanja pitanja o postojanju veze između inflamacijskih markera, pokazatelja endotelne aktivnosti i progresije aterosklerotske bolesti. U eksperimentalnim modelima pokazano je da je odsustvo ekspresije adhezivnih molekula bilo povezano sa značajno sporijim rastom aterosklerotskog plaka¹².

Jedna od većih studija, dizajnirana da odgovori na pitanje povezanosti inflamacije i progresije ateroskleroze je *Edinburgh Artery Study*, koja je pokazala je da su CRP, IL-6 i ICAM-1 molekularni markeri udruženi sa pojavom i progresijom ateroskleroze¹³. Slične rezultate iznosi „PRIMA“ i druge studije koje pokazuju da je koncentracija solubilnih formi adhezivnih molekula, a posebno sICAM-1, koristan prognostički pokazatelj za razvoj kardiovaskularnog događaja u zdravoj populaciji i težinu ispoljavanja koronarne bolesti^{14,15}.

Povišen nivo solubilnih adhezivnih molekula prisutan je kod bolesnika sa akutnim koronarnim sindromom i stabilnom formom ishemijske bolesti srca, ali je stepen njihove ekspresije vrlo različit u literaturi¹⁶⁻¹⁸. Iako je poznato da postoji promena vrednosti koncentracija solubilnih adhezivnih molekula u različitim stadijumima koronarne bolesti (KB), još uvek je malo podataka u literaturi koji analiziraju njihove promene u različitim kliničkim prezentacijama ove bolesti. Da bi analizirali ekspresiju adhezivnih molekula na endotelnim ćelijama u ovim stanjima, određivana je koncentracija VCAM-1 i ICAM-1 kod bolesnika sa akutnim infarktom miokarda (AIM), nestabilnom anginom pektoris (NAP) i stabilnom anginom pektoris (SAP) i upoređivane su njihove vrednosti u odnosu na zdrave ispitanike. Cilj rada bio je

sprovođenje uporedne analize koncentracija solubilnih formi adhezivnih molekula kod bolesnika sa različitim kliničkim prezentacijama koronarne bolesti.

Metode

U kliničkoj studiji preseka analizirano je 90 bolesnika lečenih u Vojnoj bolnici u Nišu. U istraživanje nisu bili uključeni bolesnici sa akutnom i hroničnom inflamacijskom bolešću, malignitetom, renalnom insuficijencijom, značajnom bolešću jetre, vezivnotkivnom bolešću, kao ni bolesnici sa kardiogenim šokom, perifernom arterijskom bolešću, preležanim infarktom miokarda i revaskularizacijom miokrada. Svi bolesnici bili su podeljeni u četiri grupe koje se nisu značajno razlikovale prema distribuciji po polu i prosečnoj starosti.

Grupa I – 25 bolesnika sa AIM. Dijagnoza AIM postavljena je u prisustvu porasta i/ili pada enzima nekroze miokarda (troponin T) sa dokazom miokardne ishemije i najmanje jednim od sledećih znakova: simptomi ishemije, EKG promene koje ukazuju na pojavu nove ishemije (elevacija ili depresija ST segmenta ≥ 1 mm, promene T-talasa ili pojava novog bloka leve grane); razvoj novog patološkog Q-zupca; ehokardiografski nalaz promene vijabilnosti i/ili pojava regionalnog ispada kontraktiliteta miokarda¹⁹.

Grupa II – 25 bolesnika sa NAP. Svi bolesnici imali su prolongirani bol u grudima, u poslednjih 48 sati i EKG dinamiku u smislu ishemije (depresija ST-segmenta ≥ 1 mm ili inverzija T-talasa u dva uzastopna odvođa registrovana na EKG-u pre prijema u intenzivnu negu). Ovi bolesnici bili su bez porasta troponina i/ili CK/CK-MB.

Grupa III – 25 bolesnika sa SAP koji su imali bol u grudima karakterističnog kvaliteta, provociran naporom ili emocionalnim stresom, koji prestaje nakon odmora i/ili uzimanjem lingvaleta nitroglicerina (NTG)²⁰. Svi bolesnici imali su pozitivan test opterećenja izveden na ergobiciklu sa porastom opterećenja na svaka tri minuta po 25 W do pojave indikacija za prekid testa. Bolesnici sa anginom pektoris u miru isključeni su iz ove grupe.

Grupa IV (kontrolna) – 15 kardiološki zdravih ispitanika slične polne distribucije, prosečne starosti i stepena uhranjenosti, kao i bolesnici kliničkih grupa. Odsustvo KB potvrđivano je negativnim anamnestičkim podacima, normalnim EKG i ergometrijskim nalazom.

Kod svih bolesnika uzeta je detaljna anamneza, a zatim, iz kubitalne vene uzorak krvi pre otpočinjanja hospitalnog lečenja i dijagnostike, za određivanje adhezivnih molekula, ukupnog holesterola i triglicerida. Treba napomenuti da period od početka bola do prijema nije bio duži od jednog sata kod bolesnika sa AIM. U prehospitarnom tretmanu svi bolesnici sa AIM dobili su terapiju: lingvalet NTG, acetilsalicilnu kiselinu, sedativ i analgetik. Za određivanje adhezivnih molekula ICAM-1 i VCAM-1 korišćen je serum kao uzorak koji je odvojen u prvom satu posle uzimanja od uobličjenih elemenata (nakon koagulacije krvi u staklenoj epruveti u trajanju od 30 min i centrifugiranja 15 min pri brzini od 1 000 obrtaja/min sa odvajanjem uobličjenih elemenata) u plastične epruvete (250–500 μ L) i čuvan na -80° C. Nakon odmrzavanja, i dilucije u odnosu 1:100, uz korišćenje kitova firme

Beckman Coulter Company (*Dual Monoclonal Antibody Sandwich Enzyme Immunoassay*) i očitavanja na eliza čitaču (Bio Sistems), dobijene su vrednosti: sVCAM-1 (opseg merenja 0–25 ng/mL, senzitivnost 0,74 ng/mL, sICAM-1 (opseg merenja: 0–16 ng/mL, senzitivnost 0,1 ng/mL). Ukupni holesterol i trigliceridi određivani su enzimatskim kolor testom, reagensima firme Bayer, na analizatoru Technicon-Axon Bayer. Normalne vrednosti laboratorije za holesterol su 3,63–5,5 mmol/L, a za trigliceride 0,5–1,97 mmol/L. Pored laboratorijskih analiza merena je vrednost krvnog pritiska, kao i težina i visina bolesnika i izračunavan indeks telesne mase (BMI).

Laboratorijska ispitivanja vršena su u okviru biohemijske laboratorije Vojne bolnice u Nišu. Podaci su obrađeni korišćenjem standardnih deskriptivnih statističkih metoda (srednja vrednost, standardna devijacija, procentualna zastupljenost, medijana). Statistička obrada urađena je između definisanih grupa. Kontinuirane varijable u odnosu na distribuciju podataka poredene su Studentovim *t*-testom ili ANOVA testom sa naknadnom *post hoc* analizom. Od neparametrijskih testova korišćen je Fisherov test egzaktne verovatnoće. Statistička obrada urađena je programima Excel 7,0 i SPSS 11,0 u Windows 98 okruženju.

Rezultati

U tabeli 1 prikazane su opšte karakteristike ispitivanih bolesnika i terapija KB. Fisherov test egzaktne verovatnoće pokazao je sličnu polnu distribuciju, prosečnu starost i traja-

nje KB u svim ispitivanim grupama. Step en gojaznosti meren pomoću BMI bio je sličan u svim grupama bolesnika. Hipertenzija i dijabetes melitus tip 2 bili su značajno češći u grupama bolesnika sa različitim kliničkim oblicima KB u odnosu na kontrolu ($p < 0,01$). Učestalost pušenja bila je približno slična u svim ispitivanim grupama, osim nešto niže učestalosti u grupi sa AIM. Pozitivna porodična anamneza za KB bila je znatno češća kod bolesnika sa AIM i NAP u odnosu na kontrolu ($p < 0,05$).

U tabeli 2 data je procena krvnog pritiska i lipidnih pokazatelja. Vrednosti sistolnog i dijastolnog pritiska bile su približno slične u ispitivanim grupama, osim značajno većih vrednosti dijastolnog pritiska kod bolesnika sa NAP u odnosu na kontrolu ($p < 0,05$). Vrednosti holesterola i triglicerida bile su značajno više kod bolesnika sa AIM u odnosu na SAP i kontrolu ($p < 0,05$).

Na slikama 1 i 2 prikazane su interkvartilne vrednosti, medijana, opseg i ekstremne (*ouliner*) vrednosti serumskih koncentracija ICAM-1 i VCAM-1 kod ispitivanih grupa. Urađena analiza varijanse pokazala je značajan međugrupni varijabilitet, kako za vrednosti ICAM-1 ($F = 3,22$; $p < 0,05$) tako i za vrednosti VCAM-1 ($F = 3,5$; $p < 0,05$). Urađena *post hoc* analiza između ispitivanih grupa pokazala je da ne postoji značajnija razlika u koncentracijama ICAM-1 i VCAM-1 molekula između grupa sa različitim prezentacijom KB, međutim serumske koncentracije ICAM-1 i VCAM-1 značajno su bile veće kod bolesnika sa AIM, NAP i SAP u odnosu na kontrolnu grupu.

Tabela 1

Parametri	Karakteristike ispitanika			
	Grupe ispitanika			
	AIM (n = 25)	NAP (n = 25)	SAP (n = 25)	Kontrola (n = 15)
Žene [n (%)]	8 (32)	10 (40)	11 (44)	7 (46)
Muškarci [n (%)]	17 (68)	15 (60)	14 (56)	8 (54)
Starost (god), $\bar{x} \pm SD$	56,4 \pm 5,6	58,5 \pm 6,1	57,2 \pm 6,4	54,8 \pm 5,01
Trajanje KB (god), $\bar{x} \pm SD$	7,78 \pm 4,2	8,7 \pm 4,04	8,15 \pm 4,7	–
BMI (kg/m ²), $\bar{x} \pm SD$	28,5 \pm 2,76	29,1 \pm 2,94	27,1 \pm 2,85	27,3 \pm 1,8
Hipertenzija [n (%)]	25 (100) [‡]	25 (100) [‡]	21 (84) [‡]	6 (40)
Dijabetes melitus [n (%)]	12 (48) [‡]	10 (40) [‡]	9 (36) [‡]	1 (7)
Pušenje [n (%)]	6 (24) [*]	10 (40)	12 (48)	5 (33)
Porodična anamneza za KB [n (%)]	14 (56) [†]	15 (60) [†]	11 (44)	4 (26,6)
Terapija [n (%)]				
Nitrati	17 (68)	20 (80)	14 (56)	–
Beta blokatori	16 (64)	14 (56)	11 (44)	2 (13)
Ca-antagonisti	2 (8)	4 (16)	9 (36)	1 (7)
ACE inhibitori	11 (44)	11 (44)	10 (40)	4 (27)
Statini	6 (24)	4 (16)	6 (24)	–
Aspirin	17 (68)	18 (72)	11 (44)	–

* $p < 0,5$ naspram SAP; [†] $p < 0,05$; [‡] $p < 0,01$ naspram kontrole

AIM – akutni infarkt miokarda; NAP – nestabilna angina pektorisa; SAP – stabilna angina pektorisa; BMI – *body mass index*

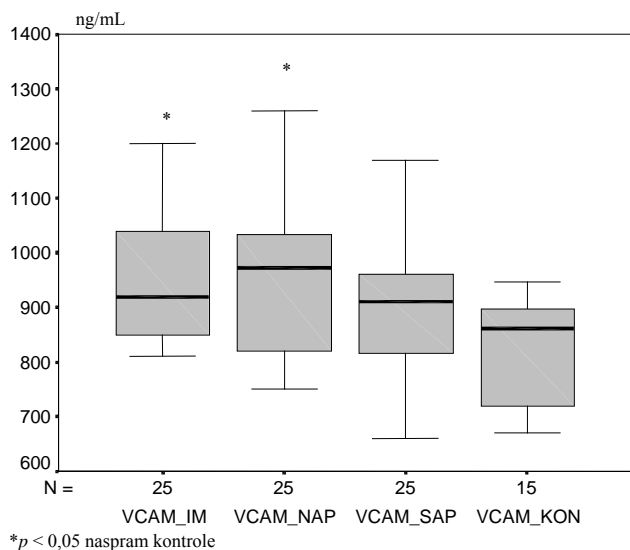
Tabela 2

Parametri	Vrednosti sistolnog (sisTA) i dijastolnog (dijTA) krvnog pritiska i pokazatelja lipidnog statusa			
	Grupe ispitanika			
	AMI	NAP	SAP	Kontrola
sisTA (mmHg)	135 \pm 5,1	140 \pm 6,4	139 \pm 4,3	135 \pm 3,2
dijTA (mmHg)	85 \pm 6,2	87 \pm 5,3 [‡]	83 \pm 2,7	80 \pm 2,4
Holesterol (mmol/L)	6,1 \pm 1,2 [*]	5,7 \pm 1,26	5,4 \pm 1,2	4,8 \pm 0,8
Trigliceridi (mmol/L)	2,62 \pm 1,0 [*]	2,3 \pm 0,8	1,6 \pm 0,7	1,5 \pm 0,9

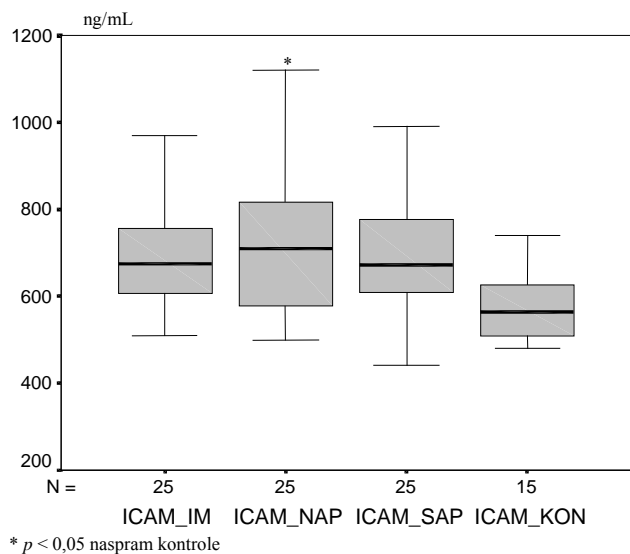
Podaci su predstavljeni kao srednja vrednost \pm SD

* $p < 0,05$ naspram SAP i kontrole; [†] $p < 0,1$; [‡] $p < 0,05$ naspram kontrole

AIM – akutni infarkt miokarda; NAP – nestabilna angina pektorisa; SAP – stabilna angina pektorisa



Sl. 1 – Boksplot prikaz serumskih koncentracija vaskularnog ćelijskog adhezivnog molekula-1 kod bolesnika sa infarktom miokarda (VCAM_IM), nestabilnom anginom pektoris (VCAM_NAP), stabilnom anginom pektoris (VCAM_SAP) i u kontrolnoj grupi (VCAM_KON). Boksplotovi pokazuju interkvartilni opseg (25–75 percentil), centralnu liniju medijanu, opseg i ekstremne vrednosti individualnih varijabli



Sl. 2 – Boksplot prikaz serumskih koncentracija intercelularni ćelijski adhezivni molekul-1 kod bolesnika sa infarktom miokarda (ICAM_IM), nestabilnom anginom pektoris (ICAM_NAP), stabilnom anginom pektoris (ICAM_SAP) i kontrolnoj grupi (ICAM_KON). Boksplotovi pokazuju interkvartilni opseg (25–75 percentil), centralnu liniju medijanu, opseg i ekstremne vrednosti individualnih varijabli

Diskusija

Ispitivane grupe bolesnika nisu se značajnije razlikovale prema polnoj distribuciji, prosečnoj starosti, trajanju KB i stepenu gojaznosti (tabela 1). Hipertenzija i dijabetes meli-

tus tip 2 češće su kod bolesnika sa KB nego kod kontrolne grupe, što je u skladu sa činjenicom da bolesnici na primarnoj i sekundarnoj prevenciji KB često imaju veći broj međusobno povezanih faktora rizika koji se prezentuju kao kardiometabolički sindrom. Ovi udruženi faktori rizika vode razvoju ateroskleroze i dijabetes melitusa tip 2 i imaju direktan uticaj na pojavu aterogene dislipidemije, hipertenzije, hiperglikemije sa potenciranjem proinflamacijskog i protrombotičkog stanja²¹. Treba napomenuti da su plazmatske koncentracije adhezivnih molekula i drugih markera inflamacije povišene kod bolesnika sa hipertenzijom, ali je prema rezultatima „NHANES“ studije najjača povezanost registrovana između hipertenzije, dijabetes melitusa tip 2 i gojaznosti^{22, 23}.

Positivna porodična anamneza nezavisan je faktor rizika od razvoja KB kod muškaraca pre 55. i žena pre 65. godine²⁴. Ispitivanjem je pokazana slična relacija pozitivne porodične anamneze za KB sa velikom prevalencijom u grupi sa SAP i znatno češća kod AIM i NAP u odnosu na kontrolu.

Učestalost pušenja bila je približno slična u svim ispitivanim grupama, osim nešto niže učestalosti u grupi sa AIM koja je najverovatnije posledica nešto bolje saradnje ovih bolesnika u procesu prestanka pušenja (tabela 1). Pušenje predstavlja značajan samostalni faktor rizika od pojave kardiovaskularnih oboljenja, i udruženo je sa hroničnom inflamacijom. Čak i umereno često pušenje dovodi do aktivacije monocita i povećanja endotelne ekspresije adhezivnih molekula, što za posledicu ima ubranu transendotelnu migraciju i razvoj ateroskleroze²⁵. Slični rezultati potvrđeni su i kod bolesnika sa stabilnom formom koronarne bolesti²⁶.

U ovom istraživanju proučavana su dva različita solubilna adhezivna molekula iz grupe superfamilije imunoglobulinskih gena. Pokazano je da se koncentracija VCAM-1 molekula ne razlikuje značajnije između bolesnika sa različitim kliničkim prezentacijama koronarne bolesti. Nešto viši nivo nađen je kod bolesnika sa AIM i NAP u odnosu na grupu sa SAP, ali bez postizanja statistički značajnije razlike. Međutim, vrednost VCAM-1 bila je značajno viša u svim ovim grupama u odnosu na kontrolu (slika 1). Ovo je u skladu sa nalazima većeg broja studija koje iznose podatak da koncentracija sVCAM-1 i sICAM-1 raste kod bolesnika sa koronarnom bolešću nezavisno od kliničke slike²⁷. Vrednosti oba adhezivna molekula sICAM-1 i sVCAM-1 značajno su više kod bolesnika sa anginom pektoris nego kod zdravih osoba²⁸. Slična relacija postoji i kod bolesnika sa AIM kod kojih visok nivo VCAM-1 može biti rezultat leukocitima posredovanog miokardnog oštećenja koje prati ishemijsku nekrozu²⁸.

Značaj povišene ekspresije VCAM-1 kod bolesnika sa akutnim koronarnim sindromom ogleda se u postojanju povećanog rizika od nastanka naknadnih kardiovaskularnih događaja u poređenju sa bolesnicima koji su imali niže nivoe VCAM-1¹⁶. Osim toga, pokazano je da je serumski nivo VCAM-1 jako povezan sa budućim kardiovaskularnim događajem i kod bolesnika sa dokumentovanim koronarnom bolešću²⁹. Ovo pokazuje da koncentracija VCAM-1 molekula nije dobar marker kliničkog ispoljavanja KB, ali njegove visoke vrednosti u ispitivanoj grupi mogu da ukažu na vi-

soki rizik od budućeg kardiovaskularnog događaja, jer je on značajno povezan sa agregacijom i akumulacijom leukocita u intimi krvnih sudova³⁰.

U sprovedenom istraživanju nije bilo signifikantne razlike u nivoima ICAM-1 između grupa bolesnika sa različitim kliničkim ispoljavanjem KB. Međutim, sve grupe bolesnika imale su visok nivo ICAM-1 u poređenju sa kontrolom (slika 2). Porast nivoa ICAM-1 kod bolesnika sa koronarnom bolešću, koji navode i drugi autori³¹, u skladu je sa nalazima dobijenim u ovoj studiji. U nekim studijama, sICAM-1 i sVCAM-1 pokazali su značajnu prediktivnu vrednost za pojavu naknadnih koronarnih događaja kod bolesnika sa simptomatskom koronarnom bolešću³². Ova povezanost postoji i u populaciji dijabetičara, pri čemu vrednosti ICAM-1 nisu direktno povezane sa stepenom glikoregulacije³³.

Objašnjenje za slične nivoe ICAM-1 u akutnom koronarnom sindromu i stabilnoj angini pektoris daju Poston i sar.³⁴ koji su našli da se ICAM-1 ispoljava na površini endotelnih ćelija u ranoj leziji u istom opsegu, kao i u već razvijenoj leziji. Ovo je u saglasnosti sa rezultatima nađenim u našem istraživanju, gde nije pokazana značajna razlika između grupa bolesnika sa AIM, NAP i SAP, jer NAP i SAP bolesnici mogu veoma često imati veći stepen izraženosti aterosklerotskih promena od AIM bolesnika. Zbog toga, nivo

ICAM-1 može služiti kao osetljivi marker postojanja niskog stepena vaskularne inflamacije koronarnih arterija i rizika od nastanka kardiovaskularnih komplikacija³³. Međutim, zbog velike razlike u izraženosti aterosklerotskih promena u različitim kliničkim oblicima KB, ICAM-1 nema adekvatnu vrednost u diferencijaciji ovih stanja i merenju aktivnosti bolesti.

Ergometrija kojom je potvrđivano prisustvo koronarne bolesti može često biti lažno pozitivna, tako da neki „bolesnici“ uvršćeni u SAP grupu nemaju ishemijsku. Činjenica da stepen aterosklerotskih promena na koronarnim arterijama ne korelira uvek sa kliničkim ispoljavanjem KB ukazuje da izostanak uvida u koronarografski nalaz predstavlja važno ograničenje studije.

Zaključak

Porast adhezivnih molekula kao markera oštećenja endotela inflamacijom, ukazuje na značaj inflamacijskih procesa u razvoju ateroskleroze i kliničkom ispoljavanju koronarne bolesti.

Određivanje serumskih koncentracija ICAM-1 i VCAM-1 koristan je pokazatelj prisustva aterosklerotskih promena, ali ne i težine kliničkog ispoljavanja koronarne bolesti.

L I T E R A T U R A

- Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340(2): 115–26.
- Patel S, Celermajer DS, Bao S. Atherosclerosis-underlying inflammatory mechanisms and clinical implications. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40(4): 576–80.
- Zhou X, Nicoletti A, Elhage R, Hansson GK. Transfer of CD4(+) T cells aggravates atherosclerosis in immunodeficient apolipoprotein E knockout mice. *Circulation* 2000; 102(24): 2919–22.
- Nyström T, Nygren A, Sjöholm A. Increased levels of tumour necrosis factor- α (TNF- α) in patients with Type II diabetes mellitus after myocardial infarction are related to endothelial dysfunction. *Clin Sci* 2006; 110(6): 673–81.
- Desideri G, Ferri C. Endothelial activation. Sliding door to atherosclerosis. *Curr Pharm Des* 2005; 11(17): 2163–75.
- Tan P, Lusinskas FW, Homer-Vanniasinkam S. Cellular and molecular mechanisms of inflammation and thrombosis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1999; 17(5): 373–89.
- Chamoun F, Burne M, O'Donnell M, Rabb H. Pathophysiologic role of selectins and their ligands in ischemia reperfusion injury. *Front Biosci* 2000; 5: E103–9.
- Montoya MC, Lusinskas FW, del Pozo MA, Aragonés J, de Landázuri MO. Reduced intracellular oxidative metabolism promotes firm adhesion of human polymorphonuclear leukocytes to vascular endothelium under flow conditions. *Eur J Immunol* 1997; 27(8): 1942–51.
- Postadzhiyan AS, Tzontcheva AV, Kebayov I, Finkov B. Circulating soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and their association with clinical outcome, troponin T and C-reactive protein in patients with acute coronary syndromes. *Clin Biochem* 2008; 41(3): 126–33.
- Leeuwenberg JF, Smeets EF, Neefjes JJ, Shaffer MA, Cineke T, Jeunhomme TM, et al. E-selectin and intercellular adhesion molecule-1 are released by activated human endothelial cells in vitro. *Immunology* 1992; 77(4): 543–9.
- Nakai K, Itob C, Kawazoe K, Miura Y, Sotoyanagi H, Hotta K, et al. Concentration of soluble vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) correlated with expression of VCAM-1 mRNA in the human atherosclerotic aorta. *Coron Artery Dis* 1995; 6(6): 497–502.
- Cybulsky MI, Iiyama K, Li H, Zhu S, Chen M, Iiyama M, et al. A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J Clin Invest* 2001; 107(10): 1255–62.
- Tzoulaki I, Murray GD, Lee AJ, Rumley A, Lowe GD, Fowkes FG. C-reactive protein, interleukin-6, and soluble adhesion molecules as predictors of progressive peripheral atherosclerosis in the general population: Edinburgh Artery Study. *Circulation* 2005; 112(7): 976–83.
- Luc G, Arveiler D, Evans A, Aumont P, Ferrieres J, Bard JM, et al. PRIME Study Group. Circulating soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and incident coronary heart disease: the PRIME Study. *Atherosclerosis* 2003; 170(1): 169–76.
- O'Malley T, Ludlam CA, Riemersma RA, Fox KA. Early increase in levels of soluble inter-cellular adhesion molecule-1 (sICAM-1); potential risk factor for the acute coronary syndromes. *Eur Heart J* 2001; 22(14): 1226–34.
- Mulvihill NT, Foley JB, Murphy RT, Curtin R, Crean PA, Walsh M. Risk stratification in unstable angina and non-Q wave myocardial infarction using soluble cell adhesion molecules. *Heart* 2001; 85(6): 623–7.
- Parker C 3rd, Vita JA, Freedman JE. Soluble adhesion molecules and unstable coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2001; 156(2): 417–24.
- Lin CP, Lin WT, Leu HB, Wu TC, Chen JW. Differential mononuclear cell activity and endothelial inflammation in coronary artery disease and cardiac syndrome X. *Int J Cardiol* 2003; 89(1): 53–62.
- Thygesen K, Alpert JS, White HD. Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarc-

- tion. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007; 28(20): 2525–38.
20. Fox K, Garcia MA, Ardissino D, Buzzi P, Camici PG, Crea F, et al. Task Force on the Management of Stable Angina Pectoris of the European Society of Cardiology; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG). Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary: The Task Force on the Management of Stable Angina Pectoris of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2006; 27(11): 1341–81.
 21. Ashen MD. Management of Cardiometabolic Syndrome in the Primary and Secondary Prevention of Cardiovascular Disease. *JNP* 2008; 673–9.
 22. Parisis JT, Venetsanou KF, Mentzidakis DG, Kalantzi MV, Georgopoulou MV, Chrisopoulos N, et al. Plasma levels of soluble cellular adhesion molecules in patients with arterial hypertension. Correlations with plasma endothelin-1. *Eur J Intern Med* 2001; 12(4): 350–56.
 23. Nguyen NT, Magno CP, Lane KT, Hinojosa MW, Lane JS. Association of hypertension, diabetes, dyslipidemia, and metabolic syndrome with obesity: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 to 2004. *J Am Coll Surg* 2008; 207(6): 928–34.
 24. Dai YX, Zhang SY, Tian R, Chen LF, Zhu WL. Clinical manifestations of young and aged patients with coronary artery disease. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi* 2008; 36(7): 586–9. (Chinese)
 25. Bergmann S, Siekmeier R, Mix C, Jaross W. Even moderate cigarette smoking influences the pattern of circulating monocytes and the concentration of sICAM-1. *Respir Physiol* 1998; 114(3): 269–75.
 26. Mizja-Stec K, Zaborska-Markiewicz B, Gasior Z. Cigarette smoking and inflammatory indices in coronary artery disease. *Int J Cardiol* 2004; 93(2-3): 169–74.
 27. Ridker PM, Cannon CP, Morrow D, Rifai N, Rose LM, McCabe CH, et al. Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 (PROVE IT-TIMI 22) Investigators. C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N Engl J Med* 2005; 352(1): 20–8.
 28. Güray U, Erbay AR, Güray Y, Yılmaz MB, Boyacı AA, Sasmaz H, et al. Levels of soluble adhesion molecules in various clinical presentations of coronary atherosclerosis. *Int J Cardiol* 2004; 96(2): 235–40.
 29. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Peetz D, Hafner G, Tiret L, et al. Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104(12): 1336–42.
 30. O'Brien KD, McDonald TO, Chait A, Allen MD, Alpers CE. Neovascular expression of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule-1 in human atherosclerosis and their relation to intimal leukocyte content. *Circulation* 1996; 93(4): 672–82.
 31. O'Malley T, Ludlam CA, Riemersma RA, Fox KA. Early increase in levels of soluble inter-cellular adhesion molecule-1 (sICAM-1); potential risk factor for the acute coronary syndromes. *Eur Heart J* 2001; 22(14): 1226–34.
 32. Stenvinkel P, Lindholm B, Heimbürger M, Heimbürger O. Elevated serum levels of soluble adhesion molecules predict death in pre-dialysis patients: association with malnutrition, inflammation, and cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(10): 1624–30.
 33. Jude EB, Douglas JT, Anderson SG, Young MJ, Boulton AJ. Circulating cellular adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, P- and E-selectin in the prediction of cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Eur J Intern Med* 2002; 13(3): 185–89.
 34. Poston RN, Haskard DO, Coucher JR, Gall NP, Johnson-Tidey RR. Expression of intercellular adhesion molecule-1 in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* 1992; 140(3): 665–73.

Rad primljen 17. VII 2008.



Procena troškova lečenja *diabetes mellitus*-a tip 2 u Republici Srbiji

Assessment of diabetes mellitus type 2 treatment costs in the Republic of Serbia

Nenad Biorac*, Mihajlo Jakovljević[†], Danka Stefanović[‡], Saša Perović[§],
Slobodan Janković[†]

*Dom zdravlja, Svilajnac, Srbija; Medicinski fakultet Kragujevac, [†]Katedra za farmakologiju i toksikologiju, Kragujevac, Srbija; [‡]Agencija za lekove i medicinska sredstva, Beograd, Srbija; [§]Republički zavod za zdravstveno osiguranje, Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Masovnost obolevanja, hroničan tok, visoka stopa komplikacija i mortalitet čine *diabetes mellitus* (DM) tip 2 značajnim opterećenjem za zdravstveni sistem Republike Srbije. Cilj ove studije bio je poređenje stvarnih troškova za ovu bolest, izmerenih na uzorku populacije obolelih i procene troškova na nacionalnom nivou zasnovane na dostupnoj evidenciji vrednosti prodaje oralnih antidijabetika i insulina i njegovih analoga. **Metode.** Troškovi lečenja analizirani su na slučajnom uzorku od 99 odraslih osoba sa DM tip 2 tokom 2007. Evidentirani su ukupni direktni (nabavka lekova, pružene usluge, potrošna medicinska sredstva) i indirektni troškovi bolesnika vezani za njihovo osnovno oboljenje (preвременa smrt, smanjena radna sposobnost, preвременe penzije, apsentizam zaposlenih). S druge strane, izračunata je vrednost prodatih lekova iz grupe oralnih antidijabetika i insulina i analoga, na domaćem tržištu u fiskalnoj 2007. Uzeli smo u obzir i dostupnu procenu Instituta za javno zdravlje Srbije od 475 000 bolesnika sa DM na nacionalnom nivou. Smatrali smo da je naš uzorak bio dovoljno reprezentativan da je struktura troškova bila slična na lokalnom i nacionalnom nivou, tako da smo bili u mogućnosti da izračunamo ukupne troškove vezane za DM. Svi troškovi prikazani su oficijalnom valutom u dinarima (CSD). **Rezultati.** Iznos ukupne vrednosti

troškova na našem uzorku po bolesniku iznosila je za nabavku lekova 20 352,45 RSD, za medicinska sredstva 3 174,46 RSD, za medicinske usluge 24 338,26 RSD, za apsentizam i smanjenu radnu sposobnost 5 547,78 RSD. Prijavljena su dva slučaja prevremenog penzionisanja zbog bolesti. Nije bilo slučajeva terminalne bubrežne slabosti koja bi zahtevala dijalizu, niti prevremenih smrtnih ishoda. Ukupan broj dana bolovanja zaposlenih lica uzrokovanog DM tip 2 iznosio je 1 025, a broj dana lečenja u stacionarnim ustanovama 360. Suma direktnih–indirektnih troškova po bolesniku iznosila je oko 53 412,96 RSD za godinu dana. Na nacionalnom nivou za 2007. godišnja vrednost potrošenih oralnih antidijabetika iznosila je 1 835,32 RSD, a insulina i analoga 2 948,18 RSD po bolesniku. **Zaključak.** Stvarni obim troškova lečenja DM tip 2 u Srbiji odgovara troškovima lečenja ove bolesti u drugim evropskim zemljama, ali je struktura potrošnje sličnija onoj u ekonomijama Trećeg sveta. Poređenje troškova lečenja DM tip 2 određenih na lokalnom nivou sa onima procenjenim na nacionalnom nivou pokazuje da su stvarni troškovi za ovu bolest 2,28 puta viši od procenjenih.

Cljučne reči: *diabetes melitus, insulin-nezavisni; srbija; troškovi i analiza troškova; hipoglikemici; insulin.*

Abstract

Background/Aim. High morbidity and mortality rates, chronic course of disease and numerous clinical complications, make diabetes mellitus (DM) type 2 bear significant financial burden for healthcare system of Serbia. The aim of this study was to compare true disease-related expenses measured in the random sample of patients originating from the Central Serbia in 2007 and national estimate of total expenses based on available evidence on antidiabetic drugs and insulins acquisition costs in the same fiscal year. **Methods.** The study design was prevalence-based, bottom-up cost of illness analysis. It was implemented on a randomized sample of 99 adults with confirmed diagnosis of DM type 2. During

2007 all direct (drug acquisition, medical services, medical devices usage) and indirect costs associated with their primary disease (premature death, impaired working ability, early retirement, absentism), were taken into account. Other approach was to calculate average national rate of antidiabetic drugs and insulin utilization and sales at the domestic market during the mentioned period of time. Taking into consideration available estimate from the Institute of Public Health of Serbia of 475 000 people with this disease at the national level, we were able to compare these data. Assuming that our sample was enough representative and that the structure of costs was approximately similar at the local and national level, we were able to calculate an estimate of total cost of the disease. All costs were expressed in Serbian official currency, di-

nar (CSD). **Results.** Values of costs measured per patient in our sample in a given year were for drug acquisition 20 352.45 CSD, medical services 24 338.26 CSD, medical devices 3 174.46 CSD and loss of productivity and absenteeism 5 547.78 CSD. There were 2 cases of early retirement due to the disease and no cases of dialysis treatment or premature death. A total number of sickness absence days of employed patients, was 1 025 and a total number of hospital treatment days was 360. A total amount of all costs was 53 412.96 CSD per patient per year. According to the National Medicines and Medical Devices Agency an overall value of oral antidiabetic drug sales for 2007 per patient was 1 835.32 CSD and for insulins and analogs 2 948.18 CSD. **Conclusion.** Comparing

true size of national financial burden of DM type 2 with experiences of other authors, we can see that it is comparable with European OECD average. But, if the structure of expenses is taken into account, Serbia is more similar to those countries reported in the Third World economies. Our local findings on a sample of diabetic population show that real patient expenses were even 2.28 times higher than those estimated at the national level.

Key words:
diabetes mellitus, type 2; yugoslavia; costs and cost analysis; hipoglycemic agents; insulin.

Uvod

Analiza troškova vezanih za određenu bolest predstavlja jedan od osnovnih metoda zdravstvene ekonomije. Ona predstavlja vid istraživanja u kome se na osnovu epidemioloških parametara o datoj bolesti i poznavanja cene zdravstvenih usluga lekova i medicinskih sredstava u posmatranom periodu, kao i poznate vrednosti odsustvovanja sa posla, smanjene radne sposobnosti i prevremenih smrtnih ishoda vrednuje finansijsko opterećenje koje ta bolest predstavlja za društvo¹⁻⁵.

Napredovanjem globalne epidemije *diabetes mellitus*-a (DM) tip 2 projekcija Svetske zdravstvene organizacije (SZO) pokazuje da će se do 2025. godine 7–13% svetskog izdvajanja za zdravstvo trošiti na ovu bolest i da će se ukupni troškovi kretati u opsegu od 213 do 396 milijardi američkih dolara^{6,7}.

Pretpostavljena veličina populacije obolelih u našoj zemlji je oko 475 000, uključujući nedijagnostikovani i okultni dijabetes, kao i osobe sa patološkim nalazom na testu tolerancije glukoze (latentni DM)^{8,9}. Oboljenje karakterišu dugotrajna i brojna vaskularna komplikacija zbog ubrzanog mikro- i makroangiopatije. Ovi bolesnici značajni su korisnici zdravstvenih usluga i potrošači značajnog dela raspoloživih resursa iz zdravstvenog budžeta. Na iskustvima zemalja koje su obavile analize ukupnih troškova za ovu bolest, može se reći da se radi o jednom od oboljenja koja najviše opterećuju sistem zdravstvene zaštite¹⁰⁻¹⁶. U našim uslovima do sada nije bilo adekvatne procene visine rashoda i strukture potrošenih sredstava i usluga u zbrinjavanju bolesnika sa dijabetesom.

Cilj naše studije bio je analiza troškova bolesnika sa DM tip 2, čime se stvaraju uslovi za precizniju procenu opterećenja zdravstvenog budžeta Republike Srbije zbog zbrinjavanja tih bolesnika.

Metode

Ova studija predstavlja analizu troškova bolesnika sa DM tip 2, zasnovanu na prevalenciji, pristupom „od dna prema vrhu“. Analiziran je uzorak od 99 odraslih osoba, starosti od 30 do 70 godina, sa potvrđenom dijagnozom DM tip 2 pre uključivanja u studiju. Svi ispitanici bili su bolesnici

Doma zdravlja Svilajnac, koji su započeli lečenje pre 1. januara 2007. god. Tokom fiskalne 2007. godine evidentirani su i obrađeni svi direktni (nabavka lekova, pružene usluge, potrošena medicinska sredstva) i indirektni troškovi (prevremena smrt, smanjena radna sposobnost, prevremene penzije, apsentizam zaposlenih) po osobi, udruženi sa njihovim osnovnim oboljenjem.

Detaljno je zabeležen broj poseta lekaru, broj i vrsta obavljenih dijagnostičkih testova i laboratorijskih analiza, količina i vrsta potrošenih lekova i medicinskih sredstava uključujući i interventne usluge hirurškog lečenja u stacionarnoj ustanovi. Za obračun vrednosti utrošenih resursa korišćeni su važeći cenovnici Doma zdravlja Svilajnac i Zdravstvenog centra Čuprija, ustanova koje su pružile većinu usluga. Cene lekova i potrošnog sanitetskog materijala uzete su u skladu sa cenama koje priznaje Republički zavod za zdravstveno osiguranje (RZZO) i koje su primenjene u maloprodajnoj mreži državnih apoteka¹⁷. Cena apsentizma i izgubljena vrednost rada zaposlenih proračunata je u skladu sa srednjom zaradom u Republici Srbiji u 2007. Visina prosečne zarade u Republici Srbiji u decembru mesecu 2007. godine iznosila je 48 122 dinara, a zarada bez poreza i doprinosa bila je 34 471 dinara¹⁸.

Na osnovu raspoloživih podataka RZZO i zakona o zdravstvenoj zaštiti, možemo pretpostaviti da su naši bolesnici posedovali samo osnovni paket obaveznog zdravstvenog osiguranja i, shodno tome, snosili veliki deo troškova nabavke lekova i medicinskih sredstava i pružanja pomenutih usluga. Većina bolesnika ambulantno su vođeni u Savetovalištu za dijabetes Doma zdravlja u Svilajncu. Mesto prebivališta nalazilo im se u radijusu od 5–15 km od pomenute ambulante, tako da transportni troškovi nisu uzeti u obzir. Ova analiza urađena je iz perspektive društva u celini, jer su praćeni i direktni i indirektni troškovi.

Potrošnja zdravstvenih resursa i gubici proistekli iz smanjene radne produktivnosti naših bolesnika upotrebljeni su da se napravi projekcija očekivane potrošnje na nacionalnom nivou, imajući u vidu procenu Instituta za javno zdravlje od 475 000 obolelih sa DM tip 2 u Srbiji⁸. S druge strane, uz pomoć Sektora za informacije Agencije za lekove i medicinska sredstva Srbije, izračunata je godišnja vrednost prodaje lekova iz grupe oralnih antidijabetika i insulina i analogna na domaćem tržištu u 2007. god. Ovi podaci, odnose se

samo na promet prijavljen od strane apotekarskih ustanova u zemlji u državnom vlasništvu^{19,20} (ukupni promet lekova ostvaren i u privatnom sektoru značajno prevazilazi ove vrednosti).

Svi finansijski parametri iskazani su u nacionalnoj valuti (RSD) koristeći pri obračunu zvaničan kurs Narodne banke Srbije sredinom fiskalne 2007. (02.07.2007, 1 Euro = 78,67 RSD) i uzimajući u obzir realnu stopu inflacije (bazna 5,4% krajem 2007., realna 10,1 % NBS) na domaćem tržištu u istoj godini²¹.

Rezultati

Izmerena struktura pojedinačnih kategorija troškova na našem uzorku po osobi iznosila je za nabavku lekova ukupno 20 352,45 ± 18 154,17 RSD (od 1 392,3 do 100 768,9) (od toga RZZO pokrio snabdevanje lekovima sa pozitivne liste u visini 19 460,93 RSD prosečno po osobi, a sami bolesnici za lekove koji nisu na pozitivnoj listi 891,52 RSD), za medicinska sredstva 3 174,46 RSD ± 19 455,2 RSD (od 1 638 do 193 231,12 RSD), za medicinske usluge 24 338,26 ± 59 604,14 RSD (od toga za ambulantne usluge 1 797,88–93 792,83 RSD, za hospitalne usluge 450–524 831,41 RSD), za apsentizam i smanjenu radnu sposobnost 5 547,78 ± 28 143,27 RSD godišnje (od 3 790 do 195 000 RSD).

Učestalost pojave komplikacija dijabetesa iznosila je 85,85%. Bilo je dva slučaja odlaska u pre vremenu invalidsku penziju. Nije bilo terminalne bubrežne insuficijencije koja bi zahtevala dijalizu, niti prevremenih smrtnih ishoda. Prosečan broj dana bolovanja zaposlenih lica, uzrokovanog DM, iznosio je 10,35, a broj dana lečenja u stacionarnim ustanovama 3,64 po osobi godišnje. Suma direktnih i indirektnih troškova iznosila je po bolesniku oko 53 412,96 ± 83 211,87 RSD (od 5 081,26 do 589 286,79 RSD) za godinu dana.

Istovremeno, RZZO prijavio je iznos potrošnje dela medicinskih sredstava namenjenih merenju glikemije i parenteralnoj primeni insulina u 2007, u visini od 287,83 RSD po bolesniku, što na našem uzorku iznosi 660,31 RSD po bolesniku za istu kategoriju medicinskih sredstava.

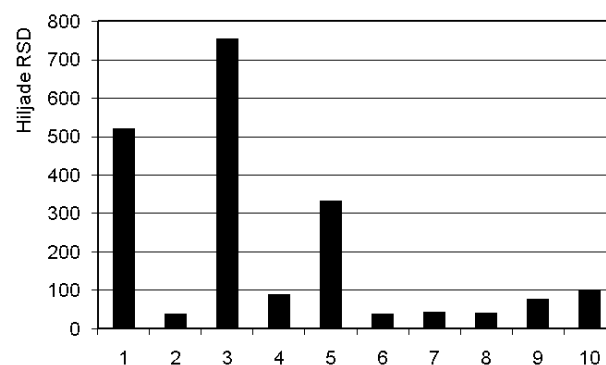
Prema podacima Agencije za lekove i medicinska sredstva Republike Srbije, na nacionalnom nivou 2007, godišnja vrednost potrošenih oralnih antidijabetika iznosila je 1 835,32 RSD a insulina i analoga 2 948,18 RSD po bolesniku^{20,21}. Vrednost ovog dela direktnih medicinskih troškova nabavke lekova, za koje postoji evidencija na nacionalnom nivou, iznosila je 3 327,47 RSD i 7 598,26 RSD po osobi, respektivno.

Ako posmatramo ukupnu strukturu troškova DM tip 2 kao jednu celinu, nabavke lekova, pružene usluge, ostvarena prava na medicinska sredstva i vrednost apsentizma su njene komponente. Pomenuti uzorak bolesnika smatramo dovoljno velikim i heterogenim da bi bio reprezentativan. Strukturu troškova po pacijentu godišnje, ustanovljenu na našem uzorku pretpostavili smo približno validnom i na nacionalnoj populaciji bolesnika. Dakle, pomenuti deo troškova nabavke lekova po osobi, u Republici Srbiji, trebalo bi da obuhvata 20,45% ukupnih troškova. Iz toga rekonstruišemo da bi ukupan procenjen finansijski teret dijabetesa u Republici Srbiji

trebao da iznosi oko 11,11 * 10⁹ RSD ili 23 391,2 RSD po bolesniku godišnje (100%).

Naši rezultati pokazuju da su stvarni izmereni troškovi 2,28 puta viši od procenjenih, na osnovu podataka Agencije za lekove i medicinska sredstva i RZZO. To znači da je stvarna ekonomska cena koštanja DM tip 2 25,33 milijarde dinara godišnje na nacionalnom nivou. Poređenja radi, ukupni zdravstveni budžet Republike Srbije za 2007. iznosio je svega 107,72 milijarde dinara ili 14 366,64 RSD po glavi stanovnika²⁵.

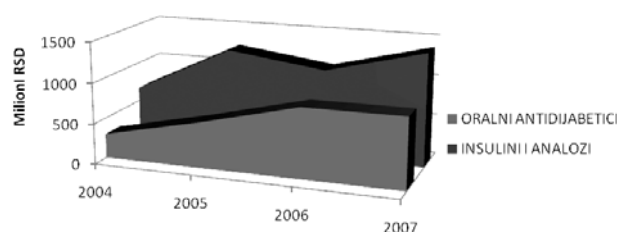
Detaljan grafički prikaz vrste, količine i vrednosti pruženih usluga dat je u tabeli 1. Potrošnju lekova po farmakoterapijskim grupama usklađenim sa Anatomsko-terapijsko-hemijskom (ATC) klasifikacijom dat je na slici 1. Sumarna struktura rashoda uslovljenih bolešću, uključujući i apsentizam iznosila je: troškovi nabavke lekova 38%, troškovi pruženih medicinskih usluga 45%, troškovi nabavke medicinskih sredstava 6% i troškovi apsentizma i smanjene radne sposobnosti obolelih 11%.



Sl. 1 – Ukupna vrednost potrošnje lekova praćene populacije bolesnika u 2007. godini po farmakoterapijskim grupama

1. Lekovi koji deluju na kardiovaskularni sistem; 2. Lekovi koji deluju na oko; 3. Insulini i analozi; 4. Lekovi koji deluju na nervni sistem; 5. Oralni antidijabetici; 6. Lekovi za lečenje bolesti respiratornog sistema; 7. Lekovi za lečenje bolesti digestivnog sistema i metabolizma; 8. Antiinfektivni lekovi za sistemsku primenu; 9. Antiinflamatorni i antireumatski lekovi; 10. Ostali lekovi

Republički trend porasta potrošnje oralnih antidijabetika i insulina i analoga u poslednje četiri godine na domaćem tržištu prikazan je na slici 2 kao ilustrativan za naglašavanje dimenzija rastućih rashoda posmatranog oboljenja.



Sl. 2 – Trend porasta potrošnje oralnih antidijabetika i insulina i analoga u poslednje četiri godine na domaćem tržištu

Tabela 1.

Evidencija troškova pruženih ambulantnih / hospitalnih usluga i potrošenih medicinskih sredstava

Usluge	Ukupni troškovi za godinu dana na nivou grupe
Ambulantne	
Primarni pregled	300 861,3
Primarni specijalistički pregled	40 897,8
Ponovni pregled	80 134,28
Laboratorija	308 250
Elektrokardiografija srca	9 643,76
Privatni pregled	3 000
Kontrola glikemije	71 827,35
Obučavanje bolesnika za samokontrolu glikemije	33 276,32
Određivanje <i>body mass</i> indeksa	2 499,36
Previjanje	35 300,88
Individualna edukacija za insulinsku terapiju	14 283,99
Obučavanje za samodavanje insulina	2 476,56
Pregled za lekarsku komisiju	4 566,96
Pregled za invalidsku komisiju	1 920
Uzimanje brisa	704,34
Sanitet	68 080
Poseta sestre	1 041,4
Ukupno	978 764,3
Hospitalne	
Određivanje optimalne doze insulina	215 998,1
Ultrazvuk abdomena	13 950
Ultrazvuk dojke	590
Urinokultura	1 426,59
Aortokoronarno premošćavanje srca	401 000
Bolničko lečenje	504 000
Obrada gangrena	1 550,71
Kateterizacija srca	18 159,6
Određivanje HbAa1c	28 000
Banjsko lečenje	79 200
Ultrazvuk srca	12 900
Kolonoskopija	3 000
Ultrazvuk štitaste žlezde	471,45
Elektromiografija nogu	4 500
Amputacija prstiju stopala	1 625,48
Test na <i>helicobacter pylori</i>	1 200
Elektroneurografija	9 000
Ukupno	1 296 572
Medicinska sredstva	
PVC špric + igle	9 979,2
Igle za pen špric	19 350
Test trake za aparat	40 642,56
Nadkolena endoskeletna proteza	160 000
Vunene čarape za amputacioni patrljak	10 800
Par podpazušnih štaka	1 500
Ukupno	242 271,8
Svega	2 517 608,1

Diskusija

Obim i struktura zdravstvenih troškova dosta se razlikuju od zemlje do zemlje. Dobar primer je Kraljevina Švedska u kojoj je 1994. finansijski teret DM procenjen na 39,84 milijarde dinara. Dominirali su indirektni troškovi sa 57%, dok su ostalo bili direktni medicinski troškovi. Od toga usluge bolničkog lečenja činile su čak 24,73%, a prevremeno penzionisanje 31,36%. Struktura troškova u ovoj zemlji nije se menjala već deceniju i po (postoji analiza od 1978), ali je obim rastao¹⁰.

Drugu krajnost predstavljaju rezultati istraživanja u zemljama u razvoju poput Pakistana, Indije i Tanzanije. U Tanza-

niji su 1990. god. prosečni direktni troškovi lečenja na godišnjem nivou po bolesniku iznosili oko 14 900 RSD za bolesnike zavisne od insulina, a 5 350 RSD za bolesnike koji ne zavise od insulina. S obzirom da je u pitanju zemlja sa izuzetno niskim izdvajanjem za zdravstvenu zaštitu, troškovi za dijabetes čine najveći deo rashoda zdravstvenog budžeta¹⁶.

Indija u 2005. imala je 21 100 RSD ukupnih troškova za dijabetes po bolesniku godišnje. Međutim, ono što iznenađuje je njihova struktura: 71,25% čine direktni, a samo 28,75% troškovi proistekli iz smanjene radne produktivnosti i apsentizma obolelih. To je radikalno drugačija situacija nego u razvijenoj Švedskoj, što ukazuje na nižu vrednost rada i, samim tim, drugačije posledice¹³.

Ukupni troškovi nege ambulantno lečenih bolesnika u Pakistanu iznosili su oko 10 240 CSD po bolesniku godišnje, a od toga oko 46% otpadalo je na sredstva za nabavku lekova, a 32% na troškove laboratorijskih analiza. Izračunato je da u najsiromašnijem društvenom staležu prosečna porodica troši i do 18% svojih prihoda za negu obolelog člana^{13, 14}.

U populaciji severnoameričkih Indijanaca sa dijabetesom prijavljena je ukupna godišnja vrednost troškova po bolesniku od 188 340 RSD, što je bilo skoro četiri puta više od troškova za medicinske usluge u kontrolnoj grupi sačinjenoj od iste populacije nativnih Amerikanaca bez DM¹².

Ako posmatramo stanje u SAD, uočićemo da osoba sa dijagnostikovanim dijabetesom košta zajednicu oko 345 800 RSD što pokazuje oko 2,3 puta više korišćenje zdravstvenih usluga u odnosu na osobe bez ovog oboljenja. U postojećoj strukturi zdravstvenog budžeta SAD 10–20% sredstava troši se na osobe sa DM. Od sume sredstava namenjenih borbi sa ovom bolešću (9 048 milijardi CSD) 66,67% iznose direktni medicinski troškovi, a 33,3% predstavljaju troškovi za procenjenu vrednost snižene radne produktivnosti. I pored impresivne visine izračunatih troškova uslovljenih bolešću, „nemerljivi troškovi“ nisu bili uključeni u ovu iscrpnu analizu, tako da je stvarna cena bolesti za zajednicu verovatno veća¹¹.

Posmatrajući regionalnu distribuciju visine opterećenja zdravstvenih sistema DM tip 2, uočićemo da Srbija sa svojim sumom troškova od 53 400 dinara po obolelom godišnje (oslanjajući se na vrednost izmerenu u praksi) ipak je najpribližnija stanju u Švedskoj, pre nešto više od jedne decenije. Mada je ukupna visina troškova približnija onoj u razvijenim zemljama, njihova struktura sličnija je ekonomijama u razvoju. Razlog za to treba tražiti u činjenici da su cene lekova i medicinskih sredstava relativno visoke za naše uslove i ujednačene na svetskom tržištu. Međutim, vrednost ljudskog rada u Istočnoj Evropi još uvek je relativno niska. Samim tim i vrednost bolničkog dana i nege stručnog osoblja, kao i vrednost izgubljene radne produktivnosti, malo doprinose ukupnim troškovima bolesti¹⁵.

Pored toga treba uočiti duboku razliku između troškova za DM tip 2 izmerenih na lokalnom nivou i procenjene na makroekonomskom planu. Na republičkom nivou, od podataka koje možemo sa sigurnošću pripisati posmatranom kliničkom entitetu, na raspolaganju je jedino evidencija potrošnje oralnih antidijabetika, insulina i analoga u poslednje četiri godine. Institut za javno zdravlje raspolaže, takođe, približnim procenama broja obolelih s obzirom da nemamo obavezne registre bolesnika u zemlji. Za sve ostale usluge i sredstva koje bi građani sa potvrđenim oboljenjem mogli koristiti, ne postoji centralizovana evidencija, niti mogućnost da razlučimo koji deo utrošenih sredstava odlazi na komorbiditet i zbrinjavanje komplikacija DM^{22–25}.

Suprotno pomenutom, na slučajnom uzorku populacije dijabetičara izmerena je i detaljno evidentirana struktura potrošnje svih resursa i apsentizam tokom posmatranog perioda od godinu dana. Zato je lokalno izmerena, viša vrednost, daleko pouzdanija i približnija stvarnom stanju, iako ne uključuje „nemerljive“ troškove.

Studije ovog tipa imaju veliki značaj za planiranje finansiranja zdravstvene zaštite, posebno u istočnoevropskim zemljama zahvaćenim socioekonomskom tranzicijom iz planirane ekonomije realocijalizma u tržišni kapitalizam.

Zaključak

Izračunavanje stvarnih troškova na uzorku bolesnika sa DM tip 2 koji koriste usluge zdravstvenog sistema Republike Srbije predstavlja najpouzdaniji metod za utvrđivanje stvarnog opterećenja zdravstvenog budžeta Republike Srbije ovom vrstom bolesnika.

Poređenje troškova lečenja DM tip 2 određenih na lokalnom nivou sa onima procenjenim na nacionalnom nivou pokazuje da su stvarni troškovi za ovu bolest 2,28 puta viši od procenjenih.

Stvarni obim troškova lečenja DM tip 2 u Srbiji odgovara troškovima lečenja ove bolesti u drugim evropskim zemljama, ali je struktura potrošnje sličnija onoj u ekonomijama Trećeg sveta.

L I T E R A T U R A

1. *Robert JB*. Pharmacoeconomics in Perspective: a Primer on Research, Techniques, and Information. Toronto: Pharmaceutical Products Press, Haworth; 1984.
2. *Rice DP*. Cost of illness studies: what is good about them? *Inj Prev* 2000; 6(3): 177–9.
3. *Tarricone R*. Cost-of-illness analysis. What room in health economics? *Health Policy* 2006; 77(1): 51–63.
4. *Segel JE*. Cost of illness studies - a primer. RTI-UNC Center of Excellence in Health Promotion Economics. RTI International; 2006.
5. *Byford S, Torgerson DJ, Raftery J*. Economic note: cost of illness studies. *BMJ* 2000; 320(7245): 1335.
6. *World Health Organization*. The World Health Report 2002. Geneva: World Health Organization; 2003.
7. *Preker AS, Carrin G, Dror D, Jakab M, Hsiao W, Arhin-Tenkorang D*. Effectiveness of community health financing in meeting the cost of illness. *Bull World Health Organ* 2002; 80(2): 143–50.
8. *Knežević T*. Health Statistics Almanac of the Republic of Serbia 2006. Beograd: Institut za javno zdravlje Srbije “dr Milan Jovanović Batut”; 2007.
9. *Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, et al*. Finnish Diabetes Prevention Study Group. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 2001; 344(18): 1343–50.
10. *Henriksson F, Jönsson B*. Diabetes: the cost of illness in Sweden. *J Intern Med* 1998; 244(6): 461–8.
11. *American Diabetes Association*. Economic costs of diabetes in the U.S. in 2007. *Diabetes Care* 2008; 31(3): 596–615.
12. *Pohar SL, Johnson JA*. Health care utilization and costs in Saskatchewan's registered Indian population with diabetes. *BMC Health Serv Res* 2007; 7: 126.
13. *Grover S, Avasthi A, Bhansali A, Chakrabarti S, Kulhara P*. Cost of ambulatory care of diabetes mellitus: a study from north India. *Postgrad Med J* 2005; 81(956): 391–5.

14. *Khawaja LA, Khawaja AK, Cosgrove P.* Cost of diabetes care in out-patient clinics of Karachi, Pakistan. *BMC Health Serv Res* 2007; 7: 189.
15. *Massi-Benedetti M.* CODE-2 Advisory Board. The cost of diabetes Type II in Europe: the CODE-2 Study. *Diabetologia* 2002; 45(7): S1–4.
16. *Chale SS, Swai AB, Majanja PG, McLarty DG.* Must diabetes be a fatal disease in Africa? Study of costs of treatment. *BMJ* 1992; 304(6836): 1215–8.
17. Regulations for drugs prices forming criterion. *Služb Glasn* 2004; 117. (Serbian)
18. *Republički zavod za statistiku.* Annual Serbian Statistical Journal. Belgrade: Republički zavod za statistiku 2008. (Serbian)
19. *Radonjić V, Đukić Lj.* Sales and consumption of humane drugs in the Republic Serbia. Belgrade: Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije; 2005. (Serbian)
20. *Radonjić V, Đukić Lj.* Sales and consumption of humane drugs in the Republic Serbia. Belgrade: Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije; 2006. (Serbian)
21. *Narodna banka Srbije.* Report on monetary politics of the National Bank of Serbia for the year 2006. Belgrade: Narodna banka Srbije; 2007. (Serbian)
22. *Oglesby AK, Secnik K, Barron J, Al-Zakwani I, Lage MJ.* The association between diabetes related medical costs and glycemic control: a retrospective analysis. *Cost Eff Resour Alloc* 2006; 4: 1.
23. *Valdmanis V, Smith DW, Page MR.* Productivity and economic burden associated with diabetes. *Am J Public Health* 2001; 91(1): 129–30.
24. *Ng YC, Jacobs P, Johnson JA.* Productivity losses associated with diabetes in the US. *Diabetes Care* 2001; 24(2): 257–61.
25. Budget Low of the Republic of Serbia. *Služb glasn* 2007; 58. (Serbian)

Rad primljen 31. VII 2008.



An approach to malignant mammary phyllodes tumors detection

Pristup otkrivanju malignih filodnih tumora dojke

Ivan Ilić*, Pavle Randelović†, Ratko Ilić*, Vuka Katić*, Maja Milentijević*,
Ljubinka Veličković*, Miljan Krstić*

Medical Faculty, *Institute of Pathology, †Institute of Physiology, Niš, Serbia

Abstract

Background/Aim. Mammary phyllodes tumors (MPT) are uncommon fibroepithelial (biphasic) neoplasms whose clinical behavior is difficult to predict on the basis of histological criteria only. They are divided into benign, borderline malignant and malignant groups. Sometimes it appears difficult to distinguish these tumors from other types of soft tissue sarcomas. Because of the relatively scant data on the role of biological markers in MPT histogenesis, we have decided to undertake the following study, trying to shed more light on the issue by investigating the following elements that make up MPT: their histological patterns, biological behavior, enzymohistochemical, histochemical and immunohistochemical characteristics (ICH) together with the mast cell analysis. **Methods.** We examined the biopsy material of 35 MPT in our laboratory. Enzymohistochemistry was performed on frozen sections (method of Crawford, Nachlas and Seligman). The used methods were classical hematoxylin-eosin (H&E); histochemical Masson-trichrome, Alcian-blue, Periodic acid Schiff and immunohistochemical LSAB2 method (DacoCytomation). Ki-67, c-kit, vimentin, estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR) and Her-2 oncoprotein immunohistochemistry was performed on all tumors. **Results.** The patients were ranged per age from 30–62 years (mean 43.3 years, median 39 years). A total of 35 cases of MPT were included: 20 benign (57%), 6 borderline malignant (17%) and 9 malignant (26%). Twenty-two patients (62.8 %) underwent segmental mastectomy, while 13 (37.2%) had total mastectomies. Twenty-eight patients had negative surgical margins at

original resection. The mean size of malignant MPT (7.8 cm) was larger than that of benign MPT (4.5 cm). Significant features of the malignant MPT were: stromal cellularity, stromal cellular atypism, high mitotic activity, atypic mitoses, stromal overgrowth, infiltrative tumor contour and heterologous stromal elements. Benign MPT showed strong enzymohistochemical Leucine Amino Peptidase (LAP) activity in both epithelial and stromal components while it was weak or absent in the epithelial parts of the malignant tumors. Acid mucopolysaccharides were present in the stromal component of all types of these tumors. Benign MPT had a lower Ki-67 than did borderline malignant MPT (4 versus 28). Malignant MPT had a greater than 8-fold higher Ki-67 activity than did benign tumors (35 versus 4). Intracytoplasmic c-kit expression was associated with a pathological diagnosis of malignant MPT, correlating with increasing grade ($p < 0.05$). In hypercellular stroma of borderline malignant and especially malignant forms of MPT, high activity of ER in mast cells was confirmed. Oncoprotein Her-2 activity, mostly in epithelial components, correlated with the degree of malignant progression of MPT ($p < 0.05$). **Conclusion.** Besides the well-known malignant features additional parameters have been found to be high Ki-67 and c-kit stromal expressions, and weak LAP activity in the epithelial part of malignant MPT, as well as mast cells with a high expression of ER.

Key words:

phyllodes tumor; Ki-67 antigen receptors, estrogen receptors, progesterone; genes, erbB-2; mast cells; leucyl aminopeptidase; breast neoplasms; diagnosis

Apstrakt

Uvod/Cilj. Filodni tumori dojke su retki bifazični tumori, građeni od umnoženog epitela i vretenastoćelijske strome. Teška diferencijalna dijagnoza maligne varijante od drugih sarkoma, kao i retki podaci u literaturi o dijagnostičnom značaju onkogenih markera, opravdavaju proučavanje histoloških osobina, biološkog potencijala, enzymohistohemijskih, histohemijskih i imunohistohemijskih karakteristika filodnih tumora dojke. **Metode.** Histološkom, histohemijskim i

imunohistohemijskom metodom na parafinskim presecima hirurških biopsija, kao i enzymohistohemijskom metodom na kriostatnim presecima, analizirano je 35 filodnih tumora dojke. Za imunohistohemijsko proučavanje korišćena su antitela na Ki-67, c-kit, vimentin, estrogenske receptore (ER), progesteronske receptore (PR) i Her-2 onkoprotein. **Rezultati.** Prosečna starost bolesnika iznosila je 43,3 godine. Od 35 filodnih tumora, bilo je 20 benignih, 6 graničnomalignih a 9 malignih. Kod 22 bolesnika urađena je segmentalna, a kod 13 totalna mastektomija. Kod 28 slučajeva

va, hirurške ivice bile su bez tumora. Prosečna veličina malignih bila je veća od prosečne veličine benignih tumora. Uočene su sledeće maligne karakteristike: povećana gustina stromalnih ćelija, atipija, visoka mitotska aktivnost i prisustvo atipičnih mitozna, bujanje strome, infiltrativne osobine tumora i mešovita stroma. Aktivnost leucin aminopeptidaze (LAP) bila je smanjena ili odsutna samo u epitelu malignih filodnih tumora, dok je u stromi bila intenzivna. Intenzitet Ki-67 i c-kit ekspresije bio je jak u korelaciji sa stepenom maligniteta, pri čemu je Ki-67 ekspresija maligne bila osam puta veća u odnosu na benignu varijantu. Her-2 onkoproteinska aktivnost bila je intenzivna i u korelaciji sa pratećim stepenom hiperplazije epitelne

komponente malignih filodnih tumora. Neočekivan nalaz bio je povećan broj mastocita u stromi granično malignih i malignih tumora uz povećanu ekspresiju ER u njihovoj citoplazmi. **Zaključak.** Pored dobro poznatih karakteristika maligniteta, dodatni parametri su visoka Ki-67 i c-kit ekspresija u stromi, a smanjena LAP aktivnost u epitelnoj komponenti, kao i mastociti sa markantnom ekspresijom estrogenskih receptora.

Key words:

filodni tumor; antigen, Ki-67; receptori, estrogenski; receptori, progesteronski; geni, erbB-2; mast ćelije; dojka, neoplazme; dijagnoza.

Introduction

Mammary phyllodes tumor (MPT) is a specific variant of breast tumor with benign, semi malignant and malignant features. It contains two predominant stromal or parenchymal parts of the tumor, thus phyllodes tumor is classified as biphasic tumor. The tumor was first reported with much more details in 1883 by Johannes Müller, but the first report regarding to its metastases was reported in 1993 by Lee and Pack^{1, 2}. Modern molecular pathology, especially genetic studies, have been pointed out biphasic behavior of some breast tumor (fibroadenomas, phyllodes tumors). These investigations cleared up the first steps of tumorous stromal/epithelial proliferations³. Both histochemical and immunohistochemical examinations of numerous authors confirmed the suggestion that in the pathogenesis of these tumors, very important role have an inactivity of differentiation factors, like the factors in embryogenesis (Wnt signaling) as well as the tumor suppressor genes³. The result of these events is unusual expression of stromal enzymohistochemical parameters, for example an intensive leucine aminopeptidase (LAP) activity⁴. The result of "wondering" in the differentiation during the genesis of phyllodes tumor is true menagerie of ductal form, producing cysts. The "leaf-like" processes of mixoid stromal-epithelial tissue point out to wrong differentiation⁵. The above pointed out facts are the reason for studding histological patterns, biological behavior and enzymohistochemical, histochemical and immunohistochemical characteristics of MPT including stromal mast cells analysis.

Methods

We examined the biopsy material of 35 MPT in our laboratory. Histological, histochemical and immunohistochemical examination was applied on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections from MPT. Enzymohistochemistry was performed on frozen sections. The cases spanned a period from 1997 through 2007. The standard criteria used for distinguishing between benign, borderline malignant, and malignant MPT were applied. In addition to histological features, including the presence of stromal overgrowth, the presence of metaplasia, and mitotic activity,

proximity to the resection margin was recorded as positive when there was tumor at the inked margin; as negative when the tumor was more than 1 cm from the margin; and as close when the tumor was within 1 cm of the margin. The frozen cryostat sections on -20°C were used for the detection of LAP activity. Method of Crawford, Nachlas and Seligman, pH=6.5, by using L-Leucine-alfa-Naphtylamide as substrate, was applied for the examination of LAP activity. Positive reaction had intense red color inside of tumor cell cytoplasm. The following methods were used: classical hematoxylin-eosin (H&E); histochemical Masson-trichrome, Alcian blue-Periodic acid schiff (AB-PAS) (pH 2.5) with and without diastase treatment; immunohistochemical LSAB method (DAKO Cytomation) and counterstaining with hematoxylin was used. Formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections were cut at 5 μm and treated with 0.1 mol/L citrate, pH 6, in an 800-W microwave oven for 15 minutes for antigen retrieval before immunostaining. Monoclonal antibodies to Ki-67, c-kit (CD117), Vimentin, Estrogen receptor (ER), Progesterone receptor (PR) and to Her-2 (DAKO, Glostrup Denmark), 1:100 – 1:400 were used. Endogenous peroxidase activity was blocked with 3% hydrogen peroxide solution. Nonspecific binding was reduced with a 10% normal goat serum block before incubation.

Sections were scored by the three independent reviewers for the proportion and intensity of staining. Intensity was scored as follows: 3+, strong; 2+, moderate; 1+, weak; 0, no staining. The percentage of cells positive was scored by counting at least 50 cells in 10 high-power fields (HPFs, single field area of 0.20 mm^2) and expressed in a 4-point scale (proportion score as follows: 0.4% or less; 1.5% to 33%; 2.34% to 66%; 3.66% or more). The combined immunoreactive score (CIS) was then calculated as the product of the intensity score and the proportion score, as described by Niezabitowski et al⁶. Ki-67 was considered positive if nuclear staining of stromal cells was present. C-kit was considered positive if the cell membrane and cytoplasm of stromal cells were immunoreactive. For the detection ER and PR activity, American Society of Clinical Oncologists (ASCO) scoring system was used (from 0 to + 8) and for HER-2 oncoprotein expression, DAKO's criteria were applied^{7, 8}.

Kruskal-Wallis test was used in testing equality of expression in more than two groups. Wilcoxon test was used in

comparison of marker expression between two groups. Spearman correlation coefficient and the test of independence were calculated to measure the correlation between different variables.

Results

We have shown the clinical and pathologic characteristics of MPT in 35 female patients: 20 (57%) benign, 6 (17%) borderline malignant and 19 (26%) malignant. Patients ranged in age from 30–62 years (mean 43.3 years, median 39 years). Twenty-two patients (62.8 %) underwent segmental mastectomy, while 13 (37.2%) had total mastectomies. Twenty-eight patients had negative surgical margins at original resection (57% benign, 17% borderline malignant, 26% malignant); there was surgical “clearance” on the distance to 2 cm. Seven patients had not data about margins. Follow-up information for seven patients was unavailable. Three patients experienced recurrent disease locally (at follow-up period), from 1 to 2 years from the borderline malignant group. The tumors were reexcised. Two patients (malignant group) had died after 2 years from the time of MPT diagnosis. Other patients are alive and they are followed-up.

Grossly, all of the tumors were well circumscribed, with a yellowish, lobulated, moist, sometimes mixoid nodules with characteristic leaf-like endings of different shape and with rare cystic areas filled with gelatinous-mucinous content (Figure 1). Some of them had areas of necrosis and



Fig. 1 – Mammary phyllodes tumor: gross pattern

punctuate hemorrhage. Malignant MPT were softer than benign tumors. The diameter of the smallest MPT was 1.5 cm but the largest involved the entire breast (18 cm in diameter). The mean size of malignant MPT (7.8 cm) was larger than that of benign MPT (4.5 cm). The histological hallmark of all phyllodes tumors was stromal hypercellularity and overgrowth. Benign MPT were predominantly of fibroadenomatous architecture with a mild cellular stroma and some distortion and elongation of glandular elements. Benign MPT were sometimes difficult to distinguish from fibroadenomas, with or without minimal atypia and up to two stromal mitotic figures per 10 HPF. Mammary phyllodes tumor contained

numerous deformed ducts of unusual bizarre shapes in the depth (known like “animal menagerie” of ductal changes) covered with double-layered epithel (Figure 2). The stromal

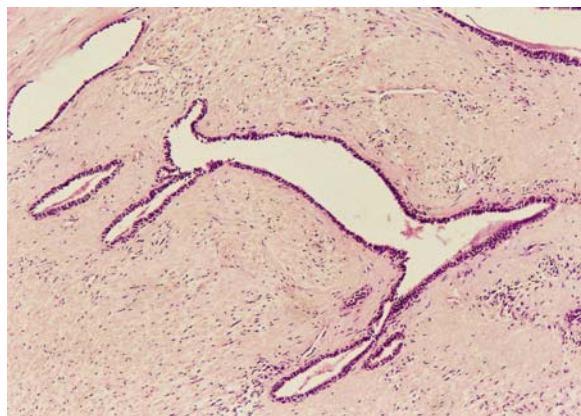


Fig. 2 – “Menagerie” of ductal changes in benign mammary phyllodes tumor (H&E, × 40)

component was prominent and could show morphologic patterns that ranged from fibroadenoma-like to frankly sarcomatous. Metaplastic lipocytic and myxoid foci of the stroma were observed. Neither perineural nor vascular invasion was evident in any MPT. Significant features of the malignant MPT, for example stromal cellularity, stromal cellular atypism, high mitotic activity (in one case signet ring cell pattern) (Figure 3), atypic mitoses, stromal overgrowth, in-

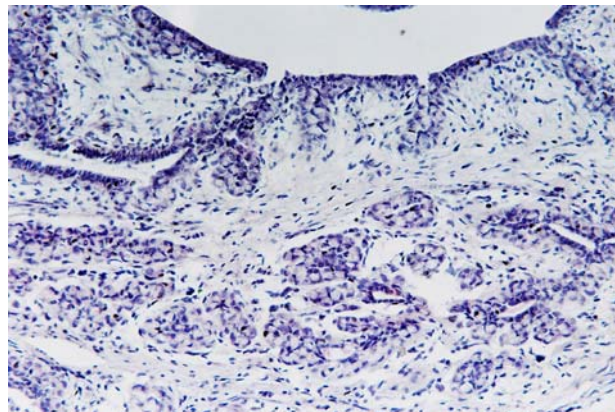


Fig. 3 – Epithel of dilated duct in malignant mammary phyllodes tumor with “signet ring cell” pattern (H&E, × 200)

filtrative tumor contour and heterologous stromal elements, have been found. Apocrine and squamous metaplastic lesions were seen in 12 cases of MPT, in one case forming of real epidermal cyst (Figure 4). In three cases of malignant MPT we found a focal presence of moderate epithelial dysplasia (Figure 5).

Histochemical analysis of MPT showed the presence of acid mucopolysaccharides in the stromal component of all types of these tumors (Figure 6). Benign MPT showed strong LAP activity in both epithelial and stromal components (Figure 7). Activity LAP was weak or absent, especially in the epithelial parts of the malignant tumors.

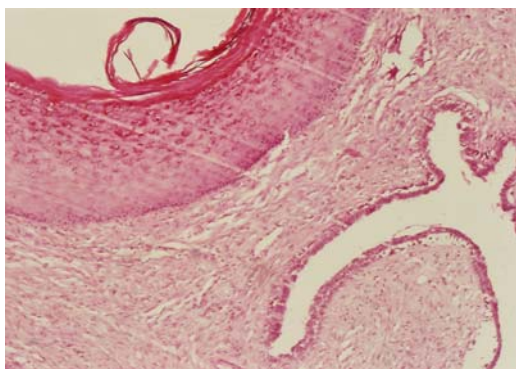


Fig. 4 – Squamous metaplastic lesions with forming of real epidermal cyst (H&E, × 40)

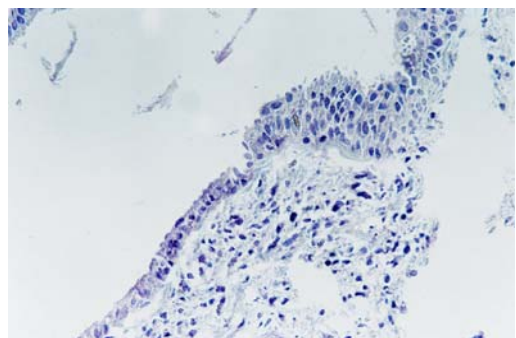


Fig. 5 – Sudden transition of ductal epithel to moderate dysplasia in malignant mammary phyllodes tumor (H&E, × 400)

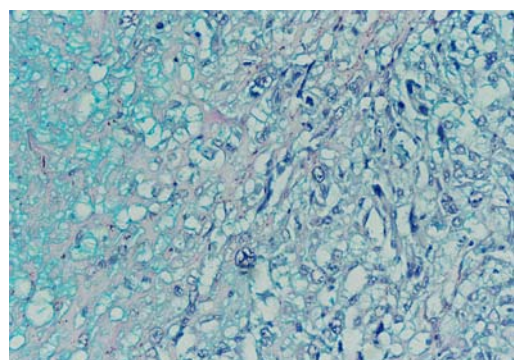


Fig. 6 – Presence of acid mucopolysaccharides in the stromal component of malignant mammary phyllodes tumor (AB-PAS, × 200)

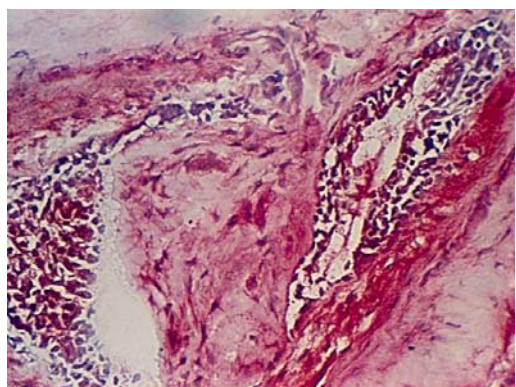


Fig. 7 – Strong enzymohistochemical leucine aminopeptidase (LAP) activity in both epithelial and stromal components in benign mammary phyllodes tumor (MPT) (LAP, Azo dye method, × 250)

Immunohistochemical staining revealed nuclear localization of Ki-67 protein in all groups of the tumors in the epithelial and in the stromal cells. But, analysis of the three groups of MPT showed a significant difference between benign, borderline malignant and malignant ($p < 0.05$). Benign MPT had a lower Ki-67 than did borderline malignant MPT (4 versus 28) (Figure 8). Malignant MPT had a greater than

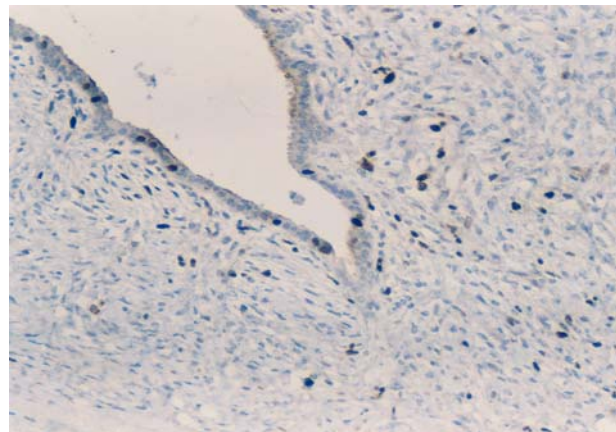


Fig. 8 – Periductal Ki-67 activity in borderline malignant mammary phyllodes tumor (MPT) (LSAB, × 100)

8-fold higher Ki-67 activity than did benign tumors (35 versus 4) (that Ki-67 expression correlates with the histological classification). C-kit stromal cell immunoreactivity was observed in 10% of benign MPT, 55% of borderline malignant MPT, and 69% of malignant MPT. Intracytoplasmatic c-kit expression was associated with the pathologic diagnosis of malignant MPT, correlating with increasing grade ($p < 0.05$) (Figure 9). Expression of epithelial ER was positive only in

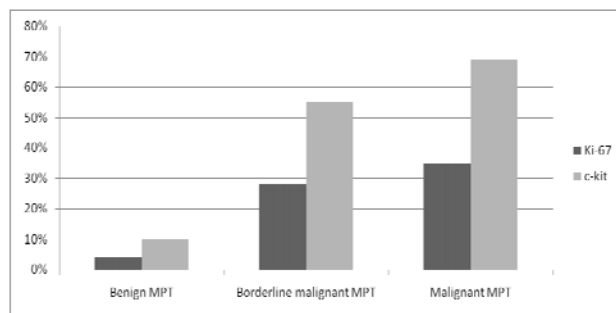


Fig. 9 – Combined immunoreactive score (CIS) of Ki-67 and c-kit activity in mammary phyllodes tumor (MPT)

the ductal epithelium of the benign MPT, by the principle that every active Nul cell of the luminal layer was sharp demarcated from adjacent steroid receptor nonactive epithelial cells (“skip lesion”) (Figure 10). However, when considering borderline malignant MPT, the expression of hormonal PR proteins was high and in continual arrangement, along the whole ductal luminal layer. The stromal hypercellularity of the borderline malignant and malignant tumors have showed high ER activity in hyperplastic mast cells (Figure 11). Oncoprotein HER-2 activity has been observed in the epithelial component of this tumor and it was in correlation with pathologic grade of MPT ($p < 0.05$) (Figure 12).

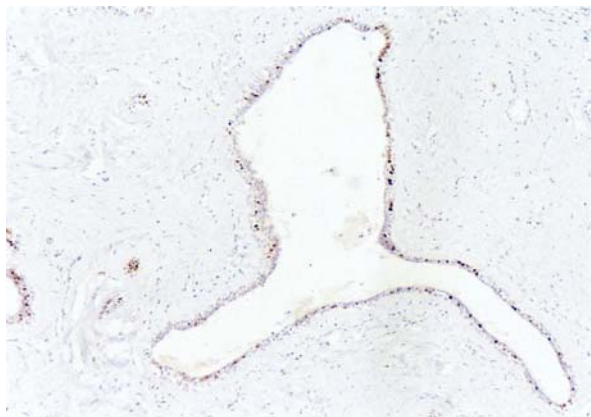


Fig. 10 – High estrogen receptor (ER) expression in some ductal epithelial cells (“skip lesion”) in benign mammary phyllodes tumor (ER, LSAB, × 40)

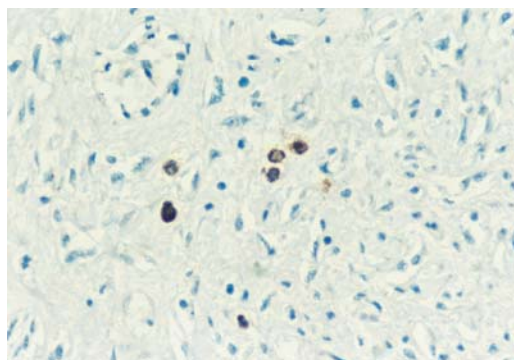


Fig. 11 – High cytoplasmic estrogen receptor (ER) activity in the group of mast cells in the stroma of recurrent mammary phyllodes tumor (ER, LSAB, × 200)

assessment of resection margins; these circumstances cannot account for all clinicopathologic inconsistencies in the literature. Attempts to correlate various gross and microscopical features of MPT with clinical behavior have not been uniformly successful in predicting the clinical outcome of these tumors. Recent studies have suggested that immunohistochemical analyzes of both Ki-67, a proliferation marker, and c-kit proto-oncogene (encodes the tyrosine-kinase receptors) may be implicated in predicting behavior of MPT¹³⁻¹⁸. Our immunohistochemical staining revealed nuclear localization of Ki-67 protein in all groups of tumors in the epithelial and in the stromal cells. Our results support those of the others that Ki-67 protein expression correlates with the histological classification of MPT, but is not in correlation with clinical behavior^{15,16}. The reported finding that both c-kit and Ki-67 proteins were predominantly expressed by the stromal cells immediate beneath the epithelium indicates that this layer contains the proliferative pool of cells resulting in the stromal hypercellularity characteristic of MPT and supports the hypothesis that MPT arise from periductal rather than intralobular stromal cells. We also have discovered the presence of the great quantities of acid mucopolysaccharides (Alcian blue +) in the stroma of the malignant groups of MPT, pointing out their intralobular stromal origin⁵.

In order to overcome the disagreement between the histopathologic finding and clinical behavior, it is important to use “forgotten enzymohistochemical” and histochemical methods. The exopeptidases, especially LAP is capable to show the degree of organization or disorganization of MPT stroma. It is well known that the very strong activity is pri-

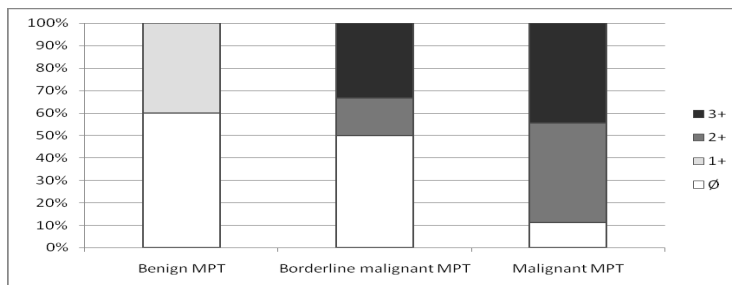


Fig. 12 – Oncoprotein HER-2 activity in various types of mammary phyllodes tumor (MPT)

Discussion

Mammary phyllodes tumor are biphasic neoplasms composed of a double-layered epithelial component arranged in cleftlike ducts surrounded by a hypercellular spindle-cell stroma. Currently, MPT are classified as benign, borderline malignant, or malignant based on histopathologic features. However, prognostic assessment of cellular periductal stromal tumors based solely on the above histological classification continues to be problematic⁹. Histologically, benign MPT have been reported to have metastasized, whereas many histologically malignant tumors have neither recurred nor metastasized¹⁰⁻¹². Although local recurrences or metastases of seemingly benign tumors can be attributed to inadequate sampling for microscopical evaluation or to inadequate

marily the main characteristic of benign MPT group, while its activity disappears completely in the malignant group, especially in the parenchyme parts of the tumors; it seems, like that LAP activity moves itself from the parenchyme to the stromal part of the tumor¹³. The other authors have reported that the stromal endothelin-1, inducing VEGF, is the significant factor in neoangiogenesis, and activating matrix-metalloproteinases it helps the invasiveness of MPT tumors^{17,18}. Additionally, the role of many hormones, especially the estrogen, on the stromal component of the breast tumors, is well known¹⁹. Our results on discontinual ER positive expression in the epithelial ductal normal cells and in the atypical columnar cell lesion (ACCL) proliferations has not been described and explained in the literature that we used. This finding could be explained either by presence of less differ-

entiated ductal epithelial cells (like the stem cells of the ductulobular segment, CAP cells and similar), or by mast cell numerous functions²⁰. Namely, mast cells produce and release various mediators, which in turn affect cell proliferation, desmoplasia and angiogenesis. Mast cell degranulation has been demonstrated to be a common feature in later stages of tumor proliferation. Once tumor-mediated degranulation occurs, mast cells lose their ability to regulate it. We found periductal rather than intralobular mast cell stromal localization which can be linked to the findings of other authors, that c-kit stromal expression is a mast cell phenomenon²¹. Streltsova and Pavlenko-Mikhailov described the highest number of mast cells at the moment of benign tumor formation, a second most intensive rise during malignant transformation of the epithelium, and a decrease in the number of the mast cells following the moment of malignant transformation²².

These findings are in line with our results that only ER + stromal mast cells could be demonstrated, stimulating tumor growth and allowing the benign MPT to progress to malignant. In benign MPT variants we have not demonstrated the positive expression of HER-2, it has not been identified in stromal cells as well, which is in keeping with the above-mentioned data²³.

Conclusion

Positive surgical resection margins are the only parameter which can predict tumor recurrence. Besides well-known malignant features, additional parameters are: high Ki-67 and c-kit stromal expression, and weak LAP activity in epithelial part of malignant MPT, as well as mast cells with high expression of ER.

R E F E R E N C E S

- Muller J. *Über den feinem bau und die formen der krankhaften geschwulste*. Berlin: Reimer; 1838. p. 54-60.
- Lee BJ, Pack GT. Giant intracanalicular myxoma of the breast: the so-called cystsarcoma, a phyllodes mammae of Johannes Muller. *Surg* 1931; 93(1): 250-68.
- Kuijper A, Korsching E, Kersting C, van der Wall E, Burger H, van Diest PJ. Gene expression signatures of breast phyllodes tumor and fibroadenoma 150-165. In: *Kuijper A*, editor. *Pathogenesis and progression of fibroepithelial breast tumors*. Utrecht: Proefschrift Universiteit; 2006.
- Ilić R, Gligorijević J. The importance of Stromal-Parenchym Pathobiology of the Breast Carcinoma in the Determination of Tumor Malignancy. *Eur J Canc* 1994; 30(2): 48.
- Lemvill MF. Biphasic lesions of the breast. *Semin Diagn Pathol* 2004; 21(1): 48-56.
- Niezabitowski A, Lackowska B, Rys J, Kruczak A, Kowalska T, Mitus J, et al. Prognostic evaluation of proliferative activity and DNA content in the phyllodes tumor of the breast: immunohistochemical and flow cytometric study of 118 cases. *Breast Cancer Res Treat* 2001; 65(1): 77-85.
- Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17(5): 1474-81.
- Remmele W, Stegner HE. Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue. *Pathologe* 1987; 8(3): 138-40. (German)
- Esposito NN, Mohan D, Brufsky A, Lin Y, Kapali M, Dabbs DJ. Phyllodes tumor: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 30 cases. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130(10): 1516-21.
- Kapiris I, Nasiri N, A'Hern R, Healy V, Gui GP. Outcome and predictive factors of local recurrence and distant metastases following primary surgical treatment of high-grade malignant phyllodes tumours of the breast. *Eur J Surg Oncol* 2001; 27(8): 723-30.
- Tan PH, Jayabaskar T, Chuah KL, Lee HY, Tan Y, Hilmy M, Hung H, et al. Phyllodes tumors of the breast: the role of pathologic parameters. *Am J Clin Pathol* 2005; 123(4): 529-40.
- de Roos WK, Kaye P, Dent DM. Factors leading to local recurrence or death after surgical resection of phyllodes tumours of the breast. *Br J Surg* 1999; 86(3): 396-9.
- Ilić R. Histochemical investigation of leucine aminopeptidase in pathologic conditions of the breast in women. *Srp Arh Celok Lek* 1979; 107(3): 259-68. (Serbian)
- Tse GM, Putti TC, Lui PC, Lo AW, Scolyer RA, Law BK, et al. Increased c-kit (CD117) expression in malignant mammary phyllodes tumors. *Mod Pathol* 2004; 17(7):827-31.
- Erhan Y, Zekioglu O, Ersoy O, Tugan D, Aydede H, Sakarya A, et al. p53 and Ki-67 expression as prognostic factors in cystosarcoma phyllodes. *Breast J* 2002; 8(1): 38-44.
- Kleer CG, Giordano TJ, Braun T, Oberman HA. Pathologic, immunohistochemical, and molecular features of benign and malignant phyllodes tumors of the breast. *Mod Pathol* 2001; 14(3): 185-90.
- Wülfing P, Diallo R, Kersting C, Wülfing C, Poremba C, Rody A, et al. Expression of endothelin-1, endothelin-A, and endothelin-B receptor in human breast cancer and correlation with long-term follow-up. *Clin Cancer Res* 2003; 9(11): 4125-31.
- Rosanò L, Varni M, Salani D, Di Castro V, Spinella F, Natali PG, et al. Endothelin-1 induces tumor proteinase activation and invasiveness of ovarian carcinoma cells. *Cancer Res* 2001; 61(22): 8340-6.
- Schiff M. the influence of estrogens on connective tissue. In: *Asboe-Hansen G*, editor. *Hormones and connective tissue*. Munksgaard: Scandinavian University Books; 1966.
- Callahan R, Egan SE. Notch signaling in mammary development and oncogenesis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2004; 9(2): 145-63.
- Djordjević B, Hanna WM. Expression of c-kit in fibroepithelial lesions of the breast is a mast cell phenomenon. *Mod Pathol* 2008; 21(10):1238-45.
- Streltsova VN, Pavlenko-Mikhailov IuN. Relationship between the number of mast cells and neoplastic proliferation of the mammary gland epithelium. *Vopr Onkol* 1977; 23(6): 53-7. (Russian)
- Ross JS, Fletcher JA, Bloom KJ, Linette GP, Stec J, Symmans WF, et al. Targeted therapy in breast cancer: the HER-2/neu gene and protein. *Mol Cell Proteomics* 2004; 3(4): 379-98.

The paper received on September 10, 2008.



Doprinos i značaj nalaza Hajdelbergove tomografije retine II u dijagnostikovanju okularne hipertenzije i njene konverzije u primarni glaukom otvorenog ugla

Contribution and significance of Heidelberg Retinal Tomography II in diagnostics of ocular hypertension and its conversion into primary open-angle glaucoma

Vujica Marković, Đorđe Kontić, Paraskeva Hentova-Senčanić, Marija Božić,
Ivan Marjanović, Vera Krstić, Dragana Kovačević

Klinički centar Srbije, Institut za očne bolesti, Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Pod terminom „okularna hipertenzija“ podrazumeva se očni pritisak veći od 21 mmHg ustanovljen prilikom dva uzastopna pregleda, u odsustvu primetnog glaukomnog oštećenja. Cilj rada bio je da se, pomoću nalaza dobijenih Hajdelbergovom tomografijom retine II (*Heidelberg Retinal Tomography II* – HRT II) tokom kontrolnih pregleda, dokaže da u grupi ispitanika sa okularnom hipertenzijom nije došlo do strukturnih promena na papili vidnog živca (nije nađeno povećanje odnosa između prečnika ekscavacije i prečnika papile – C/D, kao ni gubitak neuroretinalnog – NR oboda), dok je u grupi ispitanika sa konverzijom okularne hipertenzije u glaukom (porast C/D odnosa i gubitak NR oboda) došlo do strukturnih promena na papili vidnog živca specifičnih za glaukom. Time bi se doprinelo postavljanju dijagnoze konverzije okularne hipertenzije u glaukom i pre ispada u nalazima kompjuterizovane perimetrije i drugih funkcijskih ispada. **Metode.** Tokom perioda 2002–2007. godine praćeno je 29 bolesnika sa okularnom hipertenzijom. Ritam kontrolnih pregleda utvrđen je na osnovu prisustva i jačine faktora rizika od nastanka glaukoma i sprovodio se na 3–6 meseci. Pregled je podrazumevao i obuhvatao merenje intraokularnog pritiska (IOP) metodom Goldmanove aplanacione tonometrije, određivanje centralne debljine rožnjače metodom pahimetrije, pregled komornog ugla indirektnom gonioskopijom, testiranje vidnog polja primenom kompjuterizovane perimetrije, kao i pregled papile vidnog živca oftalmoskopom i prime-

nom HRT II. Primenom HRT II dobija se veliki broj stereometrijskih parametara optičkog diska, od kojih su najvažniji stanje NR oboda i C/D odnos koje smo pratili tokom kontrolnih pregleda, kako za svaki segment, tako i za papilu u celini. **Rezultati.** U pomenutom periodu praćenja kod 29 ispitanika sa okularnom hipertenzijom, nađena su tri (10,3%) slučaja konverzije okularne hipertenzije u primarni glaukom otvorenog ugla. U grupi ispitanika sa okularnom hipertenzijom, kod kojih nije došlo do konverzije, nalazima HRT II tokom praćenja od šest meseci, nisu utvrđeni značajnije povećanje C/D odnosa, kao ni značajniji gubitak površine i zapremine NR oboda. U tri slučaja konverzije okularne hipertenzije u glaukom, nalazima HRT II rađenim na tri meseca, nađen je porast C/D odnosa kao i značajniji gubitak zapremine NR oboda na poslednjem kontrolnom pregledu u odnosu na prvi. **Zaključak.** Nalazima dobijenim primenom HRT II potvrđena je dijagnoza okularne hipertenzije kada nije bilo gubitka NR oboda, niti povećanja C/D odnosa na poslednjem u odnosu na prvi pregled. U slučajevima konverzije okularne hipertenzije u glaukom dolazilo je do porasta C/D odnosa i gubitka NR oboda na poslednjem kontrolnom pregledu u odnosu na prvi. Rezultati rada dobijeni nalazima HRT II pokazuju da je kod 10 % ispitanika došlo do konverzije okularne hipertenzije u glaukom.

Ključne reči: hipertenzija, okularna; glaukom; dijagnostičke tehnike, oftalmološke.

Abstract

Background/Aim. A term “ocular hypertension” is used when IOP is found to be > 21 mmHg on two consecutive occasions, in the absence of detectable glaucomatous damage. The aim of this study was to determine the significance and contribution of Heidelberg Retinal Tomography II

(HRT II) results that show very early, subtle changes in retinal neurofibre layers (RNFL) in the optic nerve head that are specific for glaucoma itself (the loss of neuroretinal rim area and an increase of Cup/Disc ratio), but are not possible to register by an ophthalmoscope. Also, when the results of the functional tests remain unchanged, that confirms the conversion of ocular hypertension into glaucoma. **Method-**

ods. During a 5-year study period (2002–2007), 29 patients with ocular hypertension were examined. The frequency of control examinations, based on the presence of risk factors for glaucoma development, was 3–6 months. The examination also included IOP measurements with Goldmann Applanation Tonometry (GAT), central corneal thickness (CCT) determination by pachymetry, the examination of chamber angle using indirect gonioscopy, visual field tests by computerized perimetry and also *papillae nervi optici* (PNO) examination by using HRT II. The application of HRT II enables a great number of stereometric parameters of optic disc, the most important being the rim area and Cup/Disc (C/D) ratio, which was followed during the control examination by each segment, as well as PNO in global. **Results.** In the examination period, three cases of conversion of ocular hypertension into a primary open-angle glaucoma were found. In the group of patients with ocular hypertension, HRT II results after six months did not show a significant increase in C/D ratio. No significant loss of rim area or rim volume was found either. In three cases of con-

version, HRT II results after 3 months showed an increase of C/D ratio and also a significant loss in rim volume at first examination (0.413) comparing to the last one. **Conclusion.** In diagnosing ocular hypertension and its conversion to glaucoma, HRT II is used for quantitative evaluation of retinal topography and for quantitative monitoring of topographical changes, especially regarding the increase of C/D ratio and loss of rim volume tissue, which enables to see and register subtle structural changes in optic nerve head and RNFL that are so characteristic for glaucoma, which cannot be seen by an ophthalmoscope. With these results, according to risk factors for glaucoma, one can confirm the diagnosis of ocular hypertension and its conversion to primary open-angle glaucoma. In this study HRT II revealed conversion of ocular hypertension into glaucoma in 10% of the patients.

Key words:
ocular hypertension; glaucoma; diagnostic techniques, ophthalmological.

Uvod

Okularna hipertenzija označava stanje povišenog intraokularnog pritiska (IOP) iznad granica statističke normale (21 mmHg) izmerenog na jednom ili oba oka u dva ili više navrata, a u nedostatku primetnog glaukomnog oštećenja. Klinička slika okularne hipertenzije definisana je kod osoba kod kojih se i pored povišenog IOP nisu ispoljila ostala dva znaka glaukomnog trijasa (ekskavacija papile vidnog živca i ispadi u vidnom polju), niti su zbog toga imale pad vidne oštine¹. Gonioskopski, odlikuje se otvorenim komornim uglom koji nije predisponiran za blok, a bez prisustva drugih očnih bolesti i drugih faktora rizika od nastanka i razvoja glaukoma kao što su pseudoeksfolijacije (PEX) i pigmentni disperzioni sindrom (PDS)².

Za razliku od okularne hipertenzije, glaukom je hronična progresivna optička neuropatija sa karakterističnim promenama na papili vidnog živca i sloju nervnih vlakana i specifičnim rasporedom i oblikom ispada u vidnom polju koji su često, udruženi sa povišenim IOP. Kako je glaukom bez sumnje progresivna bolest, ima smisla, naročito u ranim stadijumima bolesti, pratiti promene tokom vremena i tražiti znakove promena i progresije koje bi poslužile kao dokaz za postavljanje pouzdanije dijagnoze ove bolesti. Precizna opservacija i ostala dokumentacija papile vidnog živca (PNO) već dekadama je esencijalna za postavljanje dijagnoze glaukoma, kao i njegovo lečenje. Razvoj laserskih tehnika prikazivanja je omogućio i unapredio mogućnost oftalmologa da sačini i kvantifikuje konture PNO, tako da se primenom Hajdenbergove tomografije retine II (HRT II) postiže optimum kvantitativne biometrijske evaluacije promena morfologije i topografije papile. Cilj ovog rada bio je da ukaže na doprinos i značaj nalaza HRT II u dijagnostikovanju okularne hipertenzije, kao i konverzije okularne hipertenzije u primarni glaukom otvorenog ugla.

Faktori visokog rizika od konverzije okularne hipertenzije u primarni glaukom otvorenog ugla su vrednosti IOP od

28 mmHg ili više, vrednosti IOP od 22 mmHg i više uz centralnu debljinu rožnjače manju od 555 mikrona, vertikalni odnos ekskavacije i širine diska od 0,4 ili više i defekti u sloju nervnih vlakana i parapapilarne promene^{1,4,5}.

Faktori umerenog rizika od konverzije okularne hipertenzije u primarni glaukom otvorenog ugla su vrednosti IOP od 24–27 mmHg, nedostatak defekata u sloju nervnih vlakana, odnos vertikalne dimenzije ekskavacije i vertikalnog dijalometra diska veći od 0,5 i centralna debljina rožnjače veća od 588 mikrona, porodična anamneza postojanja primarnog glaukoma otvorenog ugla kod rođaka prvog stepena srodstva, kao i visoka miopija^{1,4,5}.

Iako 4–7% populacije starosti preko 40 godina ima IOP > 21 mmHg, osobe sa očnom hipertenzijom dobijaju glaukom po stopi od samo 1% godišnje¹. Rizik od nastajanja glaukoma povećava se porastom IOP. Nema nepogrešivog načina da se predvidi kod koga će se razviti glaukom.

Mnogim bolesnicima sa okularnom hipertenzijom nije potrebno lečenje, a samo one sa visokim rizikom od glaukoma treba lečiti da bi se odložio ili predupredio razvoj primarnog glaukoma otvorenog ugla.

Metode

U proteklih pet godina ispitivano je i praćeno 29 bolesnika sa okularnom hipertenzijom merenjem IOP Goldmannovom aplanacionom tonometrijom primenom dnevne krive IOP. Pregled komornog ugla vršen je indirektnom gonioskopijom. Tokom periodičnih pregleda rađena je kompjuterizovana perimetrija. Svim bolesnicima u momentu postavljanja dijagnoze urađena je pahimetrija (metoda za merenje centralne debljine rožnjače), a pregled i opservacija PNO vršena je oftalmoskopskim i HRT II pregledom periodično na 3–6 meseci.

Hajdenbergova tomografija retine II, nova tehnologija, koristeći konfokalni laser skening oftalmoskop daje i analizira trodimenzionalnu sliku glave vidnog živca, pružajući

kvantitativnu evaluaciju glaukomnih promena na papili, što je od velikog značaja jer obezbeđuje objektivne i reproduktivne procene (slika 1) ⁶⁻⁸.



Sl. 1 – Hajdelbergov retinalni tomograf II (HRT II)

Primena HRT II zasniva se na laseru kao izvoru svetlosti, specijalnoj optici pri odašiljanju laserskih zraka i konfokalnoj detekciji. Laserskim skenerom prave se multipli optički preseki retine, koji se pomoću odgovarajućeg kompjuterskog softvera slažu u trodimenzionalnu sliku papile vidnog živca koja se projektuje na monitor kompjutera i koja se može odštampati i čuvati u istoriji bolesti.

Hajdelbergova tomografija retine II obezbeđuje nekoliko metoda za detekciju abnormalnosti optičkog nerva. Dve najvažnije su multivarijaciona diskriminaciona analiza i regresiona analiza.

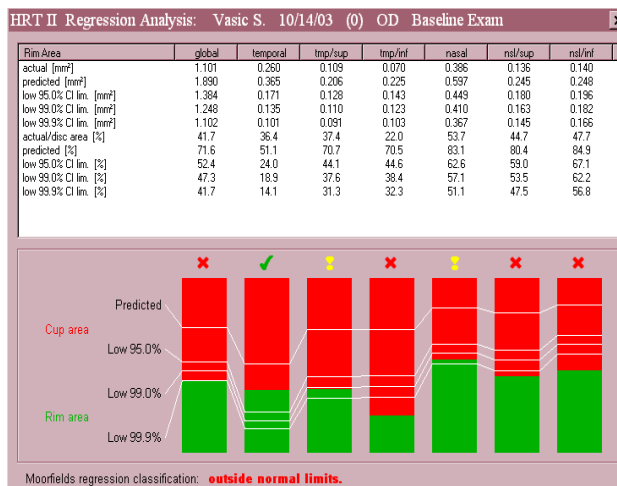
Primenjena tehnika multivarijacione diskriminacione analize obezbeđuje diskriminirajuću funkciju koja je linearna kombinacija stereometrijskih parametara ekskavacije, oblika ekskavacije merenog trodimenzionalno, zapremine neuroretinalnog oboda i varijacije visine neuroretinalne površine duž kontura diska, tako da su u tom smislu najvažnija tri parametra u procenjivanju razlike između normalne i glaukomne glave optičkog nerva: veličina i oblik ekskavacije (CSM), zapremina neuroretinalnog oboda (rim volumen) i varijacije u visini konturne linije (HVC) ⁶⁻⁸.

Softver u okviru HRT II sadrži normalne vrednosti stereometrijskih parametara zajedno sa uporednim vrednostima za rani, srednji i uznapredovali glaukom, koje su numerička prezentacija dobijena normativnom studijom koja je urađena na Univerzitetu u Heidelbergu, pod rukovodstvom Reinharda Burka. Studija je obuhvatila pregled 743 oka, 349 sa normalnim vidnim poljem, 192 sa ranim – početnim ispadima u vidnom polju (2–5 dB), 97 očiju sa umerenim ispadima u vidnom polju (5–10 dB) i 105 očiju sa uznapredovalim i odmaklim ispadima u vidnom polju (iznad 10 dB).

Iako HRT II sadrži dugu listu stereometrijskih parametara, najkorisniji u osnovnom određivanju i praćenju su: *disc area* – površina PNO (mm²); *rim area* – površina (mm²) i *rim volume* – zapremina neuroretinalnog (NR) oboda (mm³); *cup area* (mm²) i *cup volume* (mm³) – površina i zapremina ekskavacije (udubljenja) optičkog diska; odnos prečnika ekskavacije i prečnika papile (*C/D ratio*); oblik ekskavacije

meren trodimenzionalno (*cup shape measure* – CMS); varijacije u dubini ekskavacije – visini konturne linije (*contour height variation* – CHV); prosečna debljina sloja nervnih vlakana (*mean RNFL thickness*) ^{9, 10}. Svi parametri se prate i analiziraju po sektorima i globalno za papilu u celini.

Drugi metod za detekciju ranih glaukomnih promena koji koristi HRT II softver je regresiona analiza koja se oslanja na regresiju *rim aree* u odnosu na *disc areu* i na 99% interval poverenja. Dokazano je da ovaj metod omogućava detekciju glaukomnih promena i pre potvrda i nalaza ispada u vidnom polju u grupi bolesnika sa okularnom hipertenzijom koja se konvertuje u rani glaukom. Softver koji koristi HRT II sadrži u sebi Morfieldsovu analizu regresije, program kojim se porede dobijene vrednosti sa predviđenim vrednostima (onima koje izražavaju normalan nalaz) za dato životno doba i veličinu papile, a nalaze se u bazi podataka aparata. Te predviđene vrednosti izračunate su na osnovu statistički obrađenog (analizom regresije) ispitivanja velikog broja osoba sa normalnim nalazom na očima. Morfieldsova analiza regresije pravi poređenje između površine optičkog diska i površine neuroretinalnog oboda i normalnih vrednosti kako bi napravila početnu analizu i klasifikaciju. Pored numeričke tabele, ova analiza omogućuje i grafičku analizu optičkog nerva i područja neuroretinalnog oboda, tj. topografije, tako što deli nerv-papilu u šest sektora i daje izveštaj o statusu svakog sektora ⁷. Aktuelni softver prema Morfieldsovoj analizi regresije automatski pravi gradaciju sektora definisanih u normalne (označene zelenom kvačicom) gde postoji sumnja na glaukom; granične vrednosti (označene žutim uzvičnikom) i sektore izvan normalnih vrednosti (označenih crvenim krstićem) (slika 2) ⁷.



Sl. 2 – Prikaz nalaza Morfieldsove analize regresije dobijen Hajdelbergovom tomografijom retine II (HRT II)

Morfieldsova analiza regresije takođe obezbeđuje rezultate koji se odnose na ukupnu površinu papile, kao i na konačnu klasifikaciju i oni mogu biti normalni, granični i patološki. Obezbeđivanjem velikog broja stereometrijskih parametara optičkog diska omogućava se kvantitativna analiza promena papile vidnoga živca. Dok su C/D odnos i opis tkiva NR oboda zlatni standard za definisanje fizičkih atri-

buta nerva, dotle su gubitak NR oboda i povećanje C/D odnosa tokom kontrolnih pregleda u periodu praćenja, ključ u potvrđivanju konverzije okularne hipertenzije u glaukom.

Rezultati

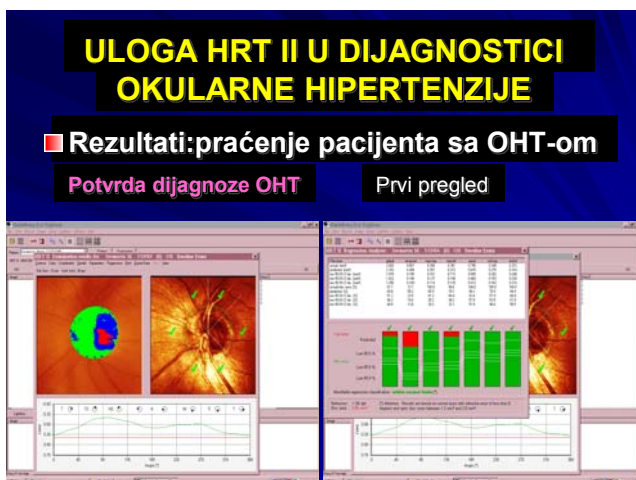
Tokom petogodišnjeg perioda, 2002–2007., praćeno je 29 ispitanika sa dijagnozom okularne hipertenzije potvrđene svim navedenim metodama. Ritam praćenja bio je utvrđen na osnovu prisustva i jačine faktora rizika od nastanka glaukoma i iznosio je 3–6 meseci. Od 29 bolesnika, 16 su bile žene, a 13 muškarci, starosti 42–64 godine. Svi ispitanici su imali vrednosti IOP veće od 22 mmHg, a gornja granica kretanja IOP iznosila je do 30 mmHg. Gonioskopski, imali su otvoren, širok i osrednje pigmentovan komorni ugao, bez prisustva pseudoekfolijacija i pigmentnog disperzionog sindroma. Ispitanici nisu imali ispade u nalazima kompjuterizovane perimetrije, niti promene u morfologiji papile, specifične za glaukom (C/D odnos ni kod jednog bolesnika nije bio veći 0.4 / I) videne oftalmoskopom.

kturnih promena u glavi optičkog živca i u sloju nervnih vlakana, iako su vrednosti pritiska bile iznad granica statističke normale.

Na prvom – osnovnom pregledu nađeno je da C/D odnos iznosi 0,083, sa površinom papile od 3,082 mm². Vrednost površine NR oboda iznosila je 2,826 mm², a vrednost rim volumena 0,861 mm³.

Na poslednjem kontrolnom pregledu, nađena je vrednost C/D odnosa od 0,101, površine NR oboda 2,772 mm², rim volumena 0,757 mm³, čime je dokazano i kvantitativno da nije došlo do povećanja C/D odnosa, do značajnijeg gubitka NR oboda.

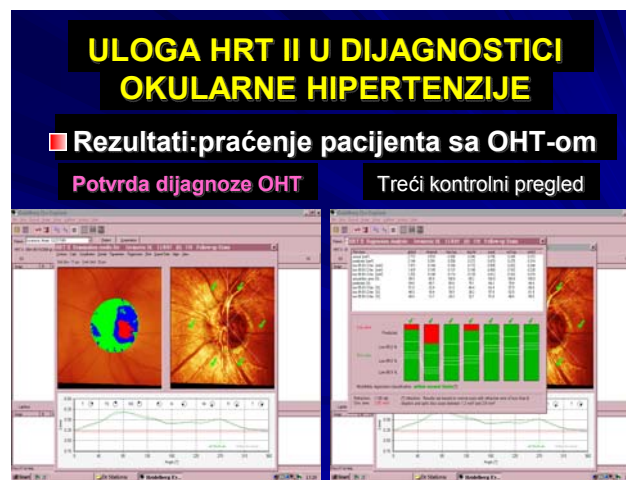
Primenom Moorfieldsove analize regresije nađeno je da je na poslednjem kontrolnom pregledu, kao i na prvom, NR obod sačuvan u svim segmentima kao i papila u celini, pa je tako i poslednji nalaz, kao i prvi, klasifikovan kao nalaz u granicama normale, što se uočava na slikama 3 i 4. Na taj način potvrđena je dijagnoza okularne hipertenzije u skladu sa nalazima dobijenim ispitivanjem, kao i činjenicom da bolesnik nije imao prisutne visoke faktore rizika od nastanka



Sl. 3 – Rezultati Hajdelbergove tomografije retine II (HRT II) na prvom – osnovnom pregledu pokazuju da je nalaz dobijen Moorfieldsovom analizom regresije u granicama normale

U uzorku od 29 ispitanika sa dijagnozom okularne hipertenzije, kod tri (10,3%) bolesnika ustanovljena je konverzija okularne hipertenzije u primarni glaukom otvorenog ugla. Tako su dobijene dve grupe ispitanika, grupa sa okularnom hipertenzijom i druga grupa ispitanika sa konverzijom okularne hipertenzije u glaukom otvorenog ugla.

U grupi bolesnika sa okularnom hipertenzijom nisu nađeni ispadi u nalazima kompjuterizovane perimetrije ni u prvom – osnovnom pregledu, kao ni tokom kontrolnih pregleda. Svi ispitanici su imali vrednosti IOP iznad 22 mmHg, a najveće vrednosti dobijene primenom dnevne krive iznosile su 26 mmHg. Centralna debljina rožnjače merena metodom pahimetrije kod ove grupe ispitanika bila je prosečne vrednosti od 572 mikrona. Kako u kontrolnim pregledima sprovedenim na 6 meseci sa HRT II nije nađeno značajnije povećanje C/D odnosa niti istanjenje – gubitak NR oboda u odnosu na prvi pregled, dokazano je da nije došlo do stru-



Sl. 4 – Rezultat Hajdelbergove tomografije retine II (HRT II) na poslednjem kontrolnom pregledu dobijen Moorfieldsovom analizom regresije pokazuje da je nalaz u granicama normale

glaukoma. Ispitivanje će biti nastavljeno na svakih 6–9 meseci, uključujući sve napred pomenute metode i uz obavezan HRT II pregled.

Od 29 ispitanika sa dijagnozom okularne hipertenzije ustanovljeno je tri slučaja konverzije okularne hipertenzije u glaukom (10,3%). Vrednosti IOP kod svih bolesnika bile su iznad 22 mmHg, a gornja granica IOP kod dva bolesnika dostizala je vrednosti od 28 mmHg, a kod jednog bolesnika i do 30 mmHg. Kompjuterizovanom perimetrijom nisu nađeni ispadi u vidnom polju, a centralna debljina rožnjače merena pahimetrijom iznosila je 545, 542 i 540 mikrona. Vertikalni odnos ekskavacije i širine diska iznosio je 0,4.

Pregledom HRT II na prvom – osnovnom pregledu primenom Moorfieldsove analize regresije (slika 5), kao i nalazom normalnih vrednosti stereometrijskih parametara kako za papilu u celini, tako i u segmentima, ustanovljeno je da je nalaz u granicama normale.



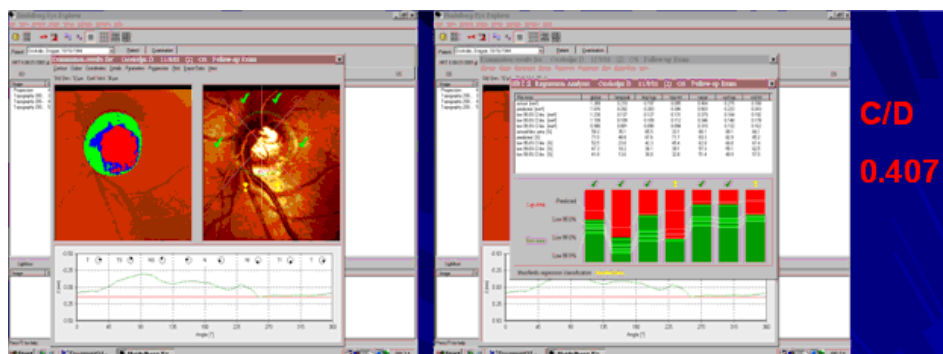
Sl. 5 – Nalaz u granicama normale dobijen Hajdelbergovom tomografijom retine II (HRT II) primenom Morfieldsove analize regresije na prvom pregledu

Tako je C/D odnos iznosio 0,365 pri površini papile (*disc area*) od 2,344 mm². Površina NR oboda (*rim area*) iznosila je 1,487 mm², a zapremina NR oboda (*rim volume*) 0,236 mm³. Primenom Morfieldsove analize regresije nađeno je da je NR obod sačuvan u svim segmentima, kao i papila u celini. U završnoj klasifikaciji, nalaz se definisao kao nalaz u granicama normale. Kako su kod bolesnika bili prisutni visoki faktori rizika od nastanka glaukoma, urađen je prvi kontrolni pregled nakon tri meseca u kome je C/D iznosio 0,407 (slika 6). Površina NR oboda (*rim area*) iznosila je

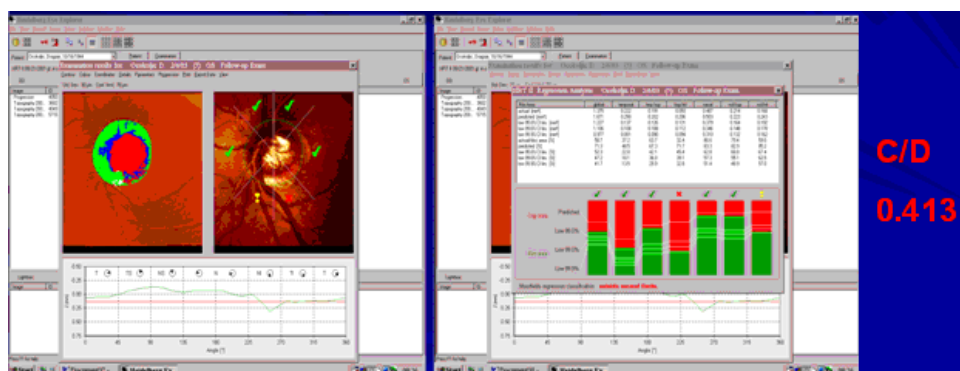
1,341 mm², dok je zapremina NR oboda (*rim volume*) 0,183 mm³. Primenom Morfieldsove analize regresije nađeno je da je NR obod sačuvan u temporalnom (T), temporalno gornjem (Ts), nazalnom (N) i u nazalno gornjem (Ns) segmentu, dok je stanje NR oboda u temporalno donjem (Ti) i nazalno donjem (Ni) segmentu označeno kao preteče oštećenje, tako da je u završnoj klasifikaciji nalaz klasifikovan kao nalaz graničnih vrednosti u odnosu na prvi – osnovni pregled (slika 6). Kompjuterizovanom perimetrijom ni u ovoj fazi pregleda nisu nađeni ispadi u vidnom polju.

Prilikom drugog kontrolnog pregleda, urađenog nakon tri meseca, nađeno je u tabeli stereometrijskih parametara приметно povećanje C/D odnosa na 0,413. Površina NR oboda (*rim area*) iznosila je 1,272 mm², dok je zapremina NR oboda (*rim volumen*) 0,176 mm³, što nesumnjivo govori u prilog gubitka NR oboda. Primenom Morfieldsove regresivne analize ustanovljeno je da je NR obod sačuvan globalno, za papilu u celini (G), u temporalnom segmentu (T), temporalno gornjem (Ts), nazalnom (N) i nazalno gornjem segmentu (Ns), da je graničnih vrednosti u nazalno donjem segmentu (Ni), dok je NR obod u temporalno donjem segmentu (Ti) istanjen i oštećen, tako da je nalaz klasifikovan kao nalaz izvan granica normale (slika 7).

Ovim nalazima potvrđeno je da je došlo do početnih strukturalnih glaukomnih promena na papili vidnog živca, a koje oftalmoskopski nije bilo moguće registrovati i potvrditi, što nesumnjivo govori u prilog konverzije okularne hipertenzije u primarni glaukom otvorenog ugla uz prisustvo visokih faktora rizika (visoke vrednosti IOP do 30 mmHg i vrednosti



Sl. 6 – Vrednosti stereometrijskih parametara (C/D = 0,407) i Morfieldsove analize regresije na prvom kontrolnom pregledu pokazuju da je nalaz graničnih vrednosti



Sl. 7 – Vrednosti stereometrijskih parametara (C/D = 0,413) i Morfieldsove analize regresije na poslednjem kontrolnom pregledu pokazuju da je nalaz izvan graničnih vrednosti

CCT). Iako i u ovoj fazi ispitivanja nisu nađeni ispadi u vidnom polju prema nalazima komjuterizovane perimetrije, odlučeno je da se uvede antiglaukomska terapija.

Diskusija

Poznato je da povišeni IOP predstavlja najznačajniji faktor rizika od nastanka glaukoma, a dugo vremena se smatralo da je on i jedini uzrok nastanka oštećenja kod primarnog glaukoma otvorenog ugla. Ovo ukazuje na veliki značaj utvrđivanja normalnih i tačnih vrednosti IOP u određenoj populaciji. Generalno je prihvaćeno da je normalan IOP 15,5 mmHg, (SD 2,5 mmHg)^{2, 3, 11}. Normalne vrednosti IOP kreću se od 10–21 mmHg. Kod starijih osoba IOP je viši, naročito kod žena, a standardna devijacija je veća nego kod mlađih osoba. Ovo znači da normalan IOP kod starih žena može da ima raspon do 24 mmHg, a ne do 21 mmHg¹. Funkcijski, normalan je onaj IOP koji ne dovodi do glaukomnog oštećenja papile vidnog živca. Prihvaćeno je da vrednost IOP iznad 21 mmHg bude vrednost koja omogućava da se odvoje bolesnici sa sumnjom na glaukom. Već je napomenuto da pritisak veći od 21 mmHg ne znači automatski da se radi o glaukomu, već samo prisustvo jakog faktora rizika, i tada se govori o okularnoj hipertenziji. Rizik od razvoja glaukoma, povećava se sa porastom očnog pritiska. Nema nepogrešivog načina da se predvidi kod kog bolesnika će se razviti glaukom. Prevalencija primarnog glaukoma otvorenog ugla u odnosu na skrining IOP pokazuje da pri vrednostima IOP od 16–21 mmHg prevalencija iznosi 1,5%. Pri vrednostima IOP od 22–29 mmHg prevalencija iznosi 8%, dok pri vrednosti IOP od 30 mmHg ili više, prevalencija iznosi 25%¹. Tako je ostalo otvoreno pitanje koja je gornja granica IOP kod okularne hipertenzije. Ako nije 22 mmHg (x + 3 DS), da li je to onda 30 mmHg ili više? Rezimirajući veliki broj saopštenja, Leydhecker⁵ postavlja granicu od 26 mmHg. Ima autora koji je vide i na 30 mmHg.

Centralna debljina rožnjače je snažan faktor rizika od razvoja glaukoma. Bolesnici, čija je centralna debljina rožnjače manja od 555 mikrona imaju veći rizik u poređenju sa onima čija je debljina veća od 588 mikrona^{4, 12}.

Mnogim bolesnicima sa okularnom hipertenzijom nije potrebno lečenje. Smatra se da svaka osoba sa prisutnim faktorom rizika treba da se podvrgne skriningu na glaukom. *American Academy of Ophthalmology* dala je preporuku za praćenje ovih bolesnika, pri čemu je ritam praćenja utvrđen na osnovu prisustva i jačine faktora rizika i to je u proseku 3–4 puta godišnje⁴. Samo bolesnike sa visokim rizikom od

glaukoma treba lečiti da bi se odložio ili predupredio razvoj primarnog glaukoma otvorenog ugla, tako da većinu bolesnika sa visokim faktorima rizika treba lečiti, jer je tretman efikasan u smislu odlaganja ili prevencije razvoja glaukoma kod značajnog broja bolesnika⁴. Sniženje IOP važnije je nego njegova apsolutna vrednost, a razuman cilj je sniženje IOP za 20%. Možda je zato najprihvatljiviji stav da se osoba sa okularnom hipertenzijom prati i kontroliše bez terapije sve dok se ne dokaže pojava prvih glaukomnih ispada. Detekcija početnih strukturnih promena u glavi vidnog živca kod bolesnika sa okularnom hipertenzijom veoma je važan momenat za potvrdu konverzije okularne hipertenzije u glaukom otvorenog ugla. Prate se promene vrednosti parametara HRT II sa promenama u vidnom polju. U desetogodisnjoj studiji, Phillipin i sar.¹³ pokazali su da su veličina i oblik ekskavacije, izmereni trodimenzionalno i praćeni tokom vremena, značajni i veoma važni parametri koji su u mogućnosti da naprave razliku između glaukomnog i normalnog optičkog diska.

Detekcija glaukomnih promena, pre svega upotrebom sektorskih prikaza nalaza HRT II, u analizi optičkog diska, može obezbediti mnogo objektivnije podatke za procenu i identifikaciju promena na optičkom disku kod bolesnika sa okularnom hipertenzijom od trenutno raspoloživih analiza vidnog polja^{6, 8, 10}. Kamal i sar.^{6, 8, 14} u svojim studijama zaključuju da analiza segmentnih prikaza optičkog diska uz pomoć HRT II omogućuje detekciju glaukomnih promena pre promena u vidnom polju u grupi bolesnika sa okularnom hipertenzijom koji se konvertuju u rani glaukom, što pokazuje prednost nalaza HRT II u odnosu na nalaze vidnoga polja u ranoj fazi glaukomne bolesti.

Zaključak

U postavljanju dijagnoze okularne hipertenzije i konverzije okularne hipertenzije u glaukom, nalazi dobijeni sa HRT II veoma su značajni i dragoceni. Koriste se za kvantitativno praćenje topografskih promena na papili vidnog živca, kako za papilu u celini, tako i po segmentima papile. Nalazima dobijenim primenom HRT II potvrđena je dijagnoza okularne hipertenzije kada nije bilo gubitka NR oboda, niti povećanja C/D odnosa na poslednjem u odnosu na prvi pregled. U slučajevima konverzije okularne hipertenzije u glaukom dolazilo je do porasta C/D odnosa i gubitka NR oboda na poslednjem kontrolnom pregledu u odnosu na prvi. Rezultati rada dobijeni nalazima HRT II pokazuju da je kod 10 % ispitanika došlo do konverzije okularne hipertenzije u glaukom.

L I T E R A T U R A

1. *Kanski JJ*. Ocular hypertension in clinical ophthalmology: a systematic approach. 5th ed. London: Butterworth-Heinemann; 2003.
2. *Cvetković D, Kantić D, Hentova-Sencanac P*. Ocular hypertension in Glaucoma. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 1996. p. 189-92. (Serbian)
3. *Wallace L. M. Abvard*. Glaucoma: the requisites in ophthalmology. New York: Mosby; St. Louis. 2000.
4. *Gordon MO, Beiser JA, Brandt JD, Heuer DK, Higginbotham EJ, Johnson CA, et al*. The Ocular Hypertension Treatment Study: baseline factors that predict the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2002; 120(6): 714–20.
5. *Leydhecker W*. Glaucom. 2. Auflage. Berlin: Springer-Verlag; 1973.
6. *Kamal DS, Viswanathan AC, Garway-Heath DF, Hitchings RA, Poinosawmy D, Bunce C*. Detection of optic disc change with

- the Heidelberg retina tomograph before confirmed visual field change in ocular hypertensives converting to early glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1999; 83(3): 290–4.
7. *Medeiros FA, Zangwill LM, Bowd C, Weinreb RN*. Comparison of the GDx VCC scanning laser polarimeter, HRT II confocal scanning laser ophthalmoscope, and stratus OCT optical coherence tomograph for the detection of glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2004; 122(6): 827–37.
 8. *Wollstein G, Garway-Heath DF, Hitchings RA*. Identification of early glaucoma cases with the scanning laser ophthalmoscope. *Ophthalmology* 1998; 105(8): 1557–63.
 9. *Iester M, Mikelberg FS, Drance SM*. The effect of optic disc size on diagnostic precision with the Heidelberg retina tomograph. *Ophthalmology* 1997; 104(3): 545–8.
 10. *Sibota R, Gulati V, Agarwal HC, Saxena R, Sharma A, Pandey RM*. Variables affecting test-retest variability of Heidelberg Retina Tomograph II stereometric parameters. *J Glaucoma* 2002; 11(4): 321–8.
 11. *Kanski JJ, McAllister JA*. Glaucoma: a colour manual of diagnosis and treatment. London: Butterworth; 1989.
 12. *Kaushik S, Gyatsbo J, Jain R, Pandav SS, Gupta A*. Correlation between retinal nerve fiber layer thickness and central corneal thickness in patients with ocular hypertension: an optical coherence tomography study. *Am J Ophthalmol* 2006; 141(5): 884–90.
 13. *Philippin H, Unsoeld A, Maier P, Walter S, Bach M, Funk J*. Ten-year results: detection of long-term progressive optic disc changes with confocal laser tomography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006; 244(4): 460–4.
 14. *Kamal DS, Garway-Heath DF, Hitchings RA, Fitzke FW*. Use of sequential Heidelberg retina tomograph images to identify changes at the optic disc in ocular hypertensive patients at risk of developing glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2000; 84(9): 993–8.
- Rad primljen 28. XI 2008.



Primena slobodnog radijalnog podlaktnog reznja u rekonstrukciji ekstraoralnih defekata glave i vrata

Application of radial forearm free flap in extraoral soft tissue head and neck reconstruction

Jelena Jeremić*, Živorad Nikolić†, Lazar Drčić†, Aleksandar Petrović†, Katarina Jeremić*, Vladimir Todorović†

Klinički centar Srbije, *Centar za opekotine, plastičnu i rekonstruktivnu hirurgiju, Beograd, Srbija; Stomatološki fakultet, †Klinika za maksilofacijalnu hirurgiju, Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Primena slobodnih mikrovaskularnih reznjeva u pokrivanju defekata glave i vrata postaje zlatni standard u rekonstruktivnoj hirurgiji. Slobodni radijalni reznaj je jedan od pogodnih reznjeva za pokrivanje defekata glave i vrata. Cilj rada bio je da se prikažu rezultati i mogućnosti primene slobodnih mikrovaskularnih radijalnih reznjeva u rekonstrukciji ekstraoralnih defekata kože i mekog tkiva glave i vrata. **Metode.** Tokom perioda od šest godina (2001–2007) u Klinici za maksilofacijalnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta u Beogradu i Centru za opekotine, plastičnu i rekonstruktivnu hirurgiju Kliničkog centra Srbije, ekstraoralni mekotkivni defekti glave i vrata 19 bolesnika, nastali kao posledica radikalne ekscizije tumora, pokriveni su primenom slobodnog radijalnog reznja. **Rezultati.** U prikazanoj seriji bolesnika, postignut je potpuni uspeh u preživljavanju reznja kod 89,5% bolesnika. Kod jednog bolesnika javila se parcijalna nekroza distalnog dela reznja, a kod drugog uspešno je izvedena revizija venske anastomoze, nastale usled tromboze u prva 24 sata. Davajući region podlaktice uspešno je pokriven slobodnim kožnim transplantatom, osim kod jednog bolesnika kod koga je došlo do nekroze transplantata. **Zaključak.** Slobodni fasciokutani reznaj sa volarne strane podlaktice sigurno je rešenje u pokrivanju ekstenzivnih mekotkivnih ekstraoralnih defekata glave i vrata.

Ključne reči:

glava i vrat, neoplazme; hirurgija, rekonstruktivna, procedure; mikrohirurgija; podlaktica; reznjevi, hirurški; lečenje, ishod.

Abstract

Background/Aim. Radial forearm free flap, highly regarded in head and neck reconstructive surgery, is known to be one of the most reliable and versatile flaps. The aim of this study was to illustrate the versatility and reliability of a radial forearm flap in reconstruction of a variety of extraoral head and neck defects. **Methods.** During a period 2001–2007 at the Clinic for Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry and the Center for Burns, Plastic and Reconstructive Surgery in Belgrade, 19 patients underwent microsurgical reconstructions after extraoral tumor ablation in the head and neck region, using fasciocutaneous radial forearm free flap. **Results.** The overall flap survival rate was 89,5%. The complications that appeared were one partial necrosis and one venous thrombosis that in spite of reanastomosis resulted in a complete flap failure. The donor site healed uneventfully in all patients, except one, who had a partial skin graft failure, that ended in a secondary skin grafting. **Conclusion.** For reconstruction in head and neck surgery, with the need for thin, pliable tissues and a long vascular pedicle, radial forearm flap still remains a primary choice. Because of their multiple advantages, free flaps from the radial forearm is a safe method for reconstruction of a variety of extensive extraoral soft tissue defects in the head and neck region.

Key words:

head and neck, neoplasms; reconstructive surgical procedures; microsurgery; forearm; surgical flaps; treatment outcome.

Uvod

Rekonstruktivni zahvati u zbrinjavanju velikih defekata kože i mekog tkiva na glavi i vratu predstavljaju izazov za hirurga. Bez obzira da li je reč o defektu tkiva nastalom kod posledica hirurškog uklanjanja tumora, infekcije ili opekoti-

na, cilj rekonstrukcije je isti: postići što bolji funkcionalni i estetski rezultat, a samim tim, poboljšati kvalitet života bolesnika.

Radijalni fasciokutani reznaj, koji se najčešće primenjuje u pokrivanju defekata glave i vrata, prvi put su opisali Young i Song 1981. godine, te se naziva i „kineski reznaj“¹,

². Zbog svojih osobina i sastava, najčešće se koristi za rekonstrukciju defekata usne duplje i jezika, ali je veoma pogodan i za pokrivanje većih ekstraoralnih defekata kože i mekog tkiva glave i vrata ³⁻⁶.

Cilj ovoga rada bio je retrospektivna analiza rezultata i primene slobodnih mikrovaskularnih radijalnih režnjeva u rekonstrukciji ekstraoralnih defekata kože i mekog tkiva glave i vrata.

Metode

U periodu od 2001. do 2007. godine u Klinici za maksilofacijalnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta i Centru za opekotine, plastičnu i rekonstruktivnu hirurgiju Kliničkog centra Srbije u Beogradu, ekstaoralni defekti glave i vrata, nastali kao posledica uklanjanja tumora, pokriveni su upotrebom slobodnog radijalnog fasciokutanog režnja. Od ukupno 19 bolesnika, 14 je bilo muškog, a pet ženskog pola. Bolesnici su bili životnog doba od 38 do 67 godina, prosečno 52,5 godina.

Indikacije za primenu slobodnog fasciokutanog radijalnog režnja bile su uslovljene veličinom, sastavom i lokalizacijom defekata. Pre svega, to su bili veliki defekti kože i mekog tkiva glave i vrata, koji se nisu mogli pokriti lokalnim i regionalnim peteljkastim režnjevima; zatim, defekti kod kojih je koštano tkivo bilo deperiostirano, te se nisu mogli pokriti slobodnim kožnim transplantatima. Radijalni režnjevi nisu primenjivani kod bolesnika sa složenim defektima, koji su zahtevali trodimenzionalnu nadoknadu tkivnog volumena.

Uklanjanje tumora i pokrivanje nastalog defekta izvedeno je u istom aktu, simultanim radom dve ekipe hirurga.

Preoperativno, primenom Alenovog testa ispitivana je eventualna dominatnost *a. radialis* u odnosu na *a. ulnaris*, da se ne bi ugrozila vaskularizacija šake. Zatim je, u uslovima beskrvnog polja i uz primenu povescke, odizan slobodni fasciokutani radijalni režanj. Nakon planiranja i ocrtavanja kožnog ostrva na volarnoj strani podlaktice, kao i puta *a. radialis* i površnih vena, pristupalo se preparaciji režnja u supfascijalnom sloju. Pri odizanju režnja obavezno je čuvan paratenon tetiva pregibača, kako bi se defekt davajućeg regiona podlaktice mogao pokriti slobodnim kožnim transplantatom.

Nakon radikalne ekscizije tumora u predelu glave i vrata i identifikacije recipijentnih krvnih sudova, pri mikroskopskom uveličanju pristupalo se izvođenju mikrovaskularnih anastomoza i pokrivanju defekta. Mikrovaskularne anastomoze izvođene su tako što su arterijski sudovi spajani terminoterminalnim, dok su venski sudovi spajani i terminolateralnim anastomozama.

Odmah posle uspostavljanja prohodnosti venske anastomoze u toku operacije ordiniran je antikoagulantni režim, intravenskom primenom 5 000 internacionalnih jedinica (IU) heparina, u bolusu. Neposredno postoperativno, u prvih 24 sata, primenjivana je kontinuirana infuzija niskomolekularnog heparina, $2 \times 0,3$ IU, u naredna 72 sata 0,3 IU niskomolekularnog heparina supkutano, a zatim, tokom naredne dve nedelje svakog dana je ordinirana po jedna tableta acetilsalicilne kiseline od 100 mg. Praćenje uspešnosti mikrovaskularne anastomoze izvedeno je intraoperativno, proverom prohodnosti Aclandovim testom, i postoperativno, kliničkom opservacijom svakih 4–6 sati tokom prvih tri postoperativna dana, a zatim na osam sati do osmog dana. Klinička opservacija podrazumevala je kontrolu boje, temperature i turgora režnja, vraćanje krvi nakon primene pritiska na režanj, a ukoliko je to bilo neophodno praćena je i pojava kapilarnog krvarenja nakon testa uboda iglom. Perkutano, mini dopler testom, u prvih tri dana na svakih 4–6 sati, a u kasnijem periodu, do osmog dana, na 12 sati proveravan je protok krvi kroz arterijsku anastomozu.

Defekti davajućeg regiona u podlaktičnoj zoni pokriveni su slobodnim kožnim transplantatom nepotpune debljine kože.

Rezultati

Kod svih bolesnika defekti su zatvarani u istom aktu kada i ekscizije tumora kože i mekog tkiva glave i vrata, osim kod jednog bolesnika kod koga je zbog venske tromboze i sledstvene nekroze režnja defekt pokriven u sekundarnom aktu. Kod 19 bolesnika primenjeno je 20 radijalnih režnjeva.

Slobodni fasciokutani radijalni režanj primenjen je za pokrivanje ekstraoralnih defekata mekog tkiva: temporoparijetalne, frontoparijetalne, orbitozigomatične, parotidne, obrazne i regiona vrata (slike 1a–b; 2a–c i 3a–d).



Sl. 1a – Bazocelularni karcinom leve temporoparijetalne regije



Sl. 1b – Izgled bolesnika šest meseci nakon pokrivanja defekta



Sl. 2a – Bazocelularni karcinom donjeg kapka sa propagacijom u orbitu



Sl. 2b – Defekt nakon radikalne ekscizije tumora i egzenteracije orbite



Sl. 2c – Izled bolesnika nakon šest meseci nakon operacije



Sl. 3a – Bazocelularni karcinom kože obraza



Sl. 3b – Defekt kože i mekog tkiva nakon ekscizije tumora



Sl. 3c – Ekchimoza distalnog kraja radijanog reznja



Sl. 3d – Stanje nakon rekonstrukcije površne nekroze reznja kožnim transplantatom

Veličina najvećeg defekta lokalizovanog na temporoparietookcipitalnom regionu poglavine iznosila je 17×14 cm, a najmanjeg parotidnog regiona 8×7 cm (tabela 1). Dužina vaskularne peteljke iznosila je od 5 do 11 cm (prosečno 6,5 cm). Kao recipijentni arterijski krvni sudovi primenjeni su *a. facialis* kod osam i *a. thyroidea superior* kod 12 bolesnika, a recipijentni venski sudovi bili su *v. jugularis externa* kod sedam bolesnika, *v. jugularis interna* za terminolateralnu anastomozu kod osam, i *v. facialis* kod pet bolesnika. Prohodnost anastomoziranog krvnog suda, proveravana intraoperativno Aclandovim testom, bila je postignuta kod svih bolesnika. U postoperativnom toku samo kod jednog bolesnika primećena je ekchimoza u najdistalnijoj partiji reznja koja se

pojavila nakon 24 časa i nije se dalje širila, te zbog toga nije pristupljeno reviziji anastomoze. Kod ovog bolesnika, inače dugogodišnjeg dijabetičara, došlo je do nekroze kože distalnog kraja reznja, koja je kasnije, nakon nekrektomije, sanirana slobodnim kožnim transplantatom po Wolfu.

U jednom slučaju nadoknade defekta vrata i obraza, unutar 48 sati, registrovani su znaci venske staze i kongestije reznja, te je pristupljeno eksploraciji i konstatovana je tromboza venske anastomoze koja je, i pored izvršene revizije, završila neuspehom. U sekundarnom aktu podignut je radijalni reznj sa suprotne podlaktice i na kontralateralnoj tireoidnoj arteriji i internoj jugularnoj veni uspešno je okončano pokrivanje tog defekta (slika 4a–d).



Sl. 4a – Venska staza radijalnog reznja



Sl. 4b – Defekt nakon nekrektomije reznja



Sl. 4c – Sekundarna rekonstrukcija radijalnim reznjem



Sl. 4d – Definitivni rezultat nakon sekundarne rekonstrukcije radijalnim reznjem

Tabela 1

Demografske karakteristike odlike defekta mekog tkiva i ishod rekonstrukcije slobodnim radijalnim režnjem kod prikazanih bolesnika

Br.	Bolesnik	Životno doba (godine)	Pol	Dijagnoza	Lokalizacija	Dimenzije (cm)	Komplikacije
1	KN	41	m	BCC*	orbitozigomatično	9 × 7	–
2	SP	39	m	BCC	frontotemporalno	13 × 11	–
3	ZP	67	m	SCC [†]	vrat	10 × 8	–
4	SD	65	m	SCC	parotidomaseterično	9 × 7	–
5	ML	56	m	BCC	temporoparijetookcipitalna	17 × 14	–
6	MM	67	ž	SCC	vrat	9 × 7	–
7	SK	50	m	BCC	zigomatičnotemporalno	7 × 6	–
8	OP	58	ž	BCC	orbitozigomatično	8 × 6	–
9	ML	43	m	BCC	frontoparijetalno	11 × 8	–
10	DJ [‡]	57	m	BCC	vrat	11 × 9	nekroza režnja
11	SV	38	m	SCC Marjolin	vrat	7 × 8	–
12	SL	44	m	BCC	zigomatičnotemporalno	8 × 6	–
13	LP	52	ž	Sebacealni karcinom	parijetookcipitalno	6 × 7	–
14	SS	64	ž	BCC	parotidomaseterično	7 × 7	–
15	PD	49	m	BCC	parijetookcipitalno	8 × 7	–
16	LR	63	m	BCC	obrazno	12 × 9	parcijalna nekroza režnja
17	IJ	66	m	Recidivirajući BCC	frontoparijetalno	13 × 11	–
18	SB	43	ž	Recidivirajući dermato-fibro sarkom	temporalno	7 × 6	–
19	AP	39	m	Recidivirajući BCC	orbita	8 × 7	–
20	DJ	57	m	BCC	vrat	10 × 8	–

*bazocelularni karcinom; [†]planoocelularni karcinom; [‡]bolesnik kome je zbog nekroze režnja ponavljana rekonstrukcija

Kod svih ostalih bolesnika, parametri praćeni kliničkom opservacijom ukazivali su na uredan postoperativni tok, bez komplikacija.

U prikazanoj seriji bolesnika potpuni uspeh u preživljavanju režnja postignut je kod 89,5% bolesnika. Uspeh u rekonstrukciji defekta davajućeg regiona podlaktice postignut je kod svih, sem kod jednog bolesnika (1/19), kod kojeg je došlo do propadanja slobodnog kožnog transplantata, što je uspešno sanirano sekundarnom transplantacijom.

Diskusija

Primena lokalnih i regionalnih peteljkastih režnjeva u rekonstrukciji defekata na glavi i vratu ograničena je količinom i sastavom raspoloživog tkiva, kao i dužinom peteljke, odnosno lukom rotacije⁷⁻⁹.

Upotreba slobodnih mikrovaskularnih režnjeva u zatvaranju defekata mekog i koštanog tkiva savremen je i sveobuhvatan pristup u rekonstruktivnoj hirurgiji glave i vrata^{3,4,9-13}. Danas je to široko prihvaćen metod rekonstrukcije, pre svega zbog velikog procenta uspešnosti i mogućnosti da se resekcija tumora i rekonstrukcija nastalog defekta obave u istom aktu^{3,4}.

Takođe, jedna od pogodnosti mikrohirurške rekonstrukcije jeste i to što se pruža mogućnost zatvaranja velikih defekata tkiva koje nije moguće zatvoriti upotrebom lokalnih i regionalnih režnjeva. Time se proširuju indikacije za radikal-

no hirurško lečenje i postiže lokalna kontrola tumora⁷⁻⁹. Izbor sastava tkiva, teksture i boje kože znatno je širi kod primene slobodnih režnjeva.

Za defekte mekog tkiva glave i vrata nakon ekscizije kožnih tumora, ukoliko je očuvana skeletna osnova, najpogodniji za pokrivanje defekata su tanki, fasciokutani režnjevi, sigurne vaskularizacije, kakav je svakako radijalni režanj. Prednost primene radijalnog režnja u odnosu na slobodne kožne transplantate je mogućnost obezbeđivanja odgovarajućeg volumena tkiva, čime se čuvaju kontinuitet kožnog pokrivača i konture rekonstruisanog regiona, a samim tim postižu se i bolji estetski rezultati. Osim što je ovaj režanj jednostavan za odizanje, on ima i značajan lumen krvnih sudova (2,5–3 mm), kao i dužinu peteljke (10–13 cm), zbog čega ima prednost nad ostalim fasciokutanim režnjevima, kakvi su nadlaktični i ingvinalni režanj^{6,10-14}.

Međutim, boja kože prenesenog mikrovaskularnog režnja veoma često ne odgovara boji okolnog regiona, i to može biti i njegov najveći nedostatak u odnosu na lokalne režnjeve. Mora se reći i to da radijalni režanj nema zadovoljavajući volumen za pokrivanje složenih defekata mekog tkiva kao regionalni i slobodni miokutani režnjevi. Još jedan od nedostataka ovog režnja je to što ostavlja defekt davajućeg regiona koji je neophodno zatvoriti slobodnim kožnim transplantatom.

U našoj seriji, radijalni režanj primenjivan je u cilju pokrivanja velikih defekata kože i mekog tkiva, pa su dimenzije režnja dostizale i 14 × 17 cm.

Defekti na poglavini i slepoočnom regionu zahtevali su primenu tankog režnja adekvatne dužine vaskularne peteljke, tako da je najveća dužina vaskularne peteljke u našem uzorku iznosila 11 cm. Defekti ovih regiona nisu se mogli pokriti regionalnim peteljkastim režnjevima zbog ograničene dužine peteljke i luka rotacije.

Kod defekata nastalih nakon egzenteracija orbite, primena tankog i adaptabilnog radijalnog režnja omogućavala je formiranje ležišta za adekvatnu očnu protezu, čime se izbegavala primena masivne orbitalne proteze.

Za rekonstrukciju velikih defekata u parotidnom, obraznom i regionu gornje trećine vrata, radijalni režanj, takođe, pokazao se vrlo pogodnim, pre svega zbog toga što je debljina režnja optimalna za defekte kože i potkožnog tkiva, te ne zahteva sekundarne intervencije radi korigovanja konturnih deformiteta kao što je smanjivanje volumena.

Najčešći uzrok neuspeha mikrovaskularne rekonstrukcije je tromboza na mestu spajanja krvnih sudova. Kod bolesnika kod kojih se sumnja na trombozu arterijskog ili venskog krvnog suda, neophodna je pravovremena revizija anastomoze, jer je tada šansa za uspeh realna¹⁴⁻¹⁶. Tromboza venskih anastomoza

može biti posledica neadekvatnog izbora venskog krvnog suda, tipa anastomoze, kao i tehnike anastomoziranja¹⁷⁻²¹. U našoj seriji, revizija trombozirane terminoterminalne anastomoze na vni *facialis*, nije bila uspešna, iako smo joj pristupili odmah po uočavanju prvih znakova venske staze i početne kongestije režnja. Po izveštajima Spiegela i sar.¹⁷, i pored pravovremene intervencije, samo 33–57% reanastomoza je uspešno izvedeno. Slične rezultate iznose Top i sar.¹⁸, kao i Podrecca i sar.¹⁹.

Zaključak

Rekonstrukcija defekata mikrovaskularnim režnjevima predstavlja sveobuhvatan i savremen pristup u rekonstruktivnoj hirurgiji glave i vrata. Radijalni fasciokutani slobodni režanj omogućava pokrivanje ekstraoralnih mekotkivnih defekata glave i vrata, tako da ima prednost u odnosu na slobodne kožne transplantate, lokalne i regionalne režnjeve.

Slobodni radijalni režanj obezbeđuje dovoljnu površinu i volumen tkivnog pokrivača, čime omogućava zatvaranje obimnih defekata nastalih nakon ekscizije malignih tumora kože glave i vrata.

L I T E R A T U R A

1. Tamai S. History of microsurgery-from the beginning until the end of the 1970s. *Microsurgery* 1993; 14(1): 6–13.
2. Yang GF, Chen PJ, Gao YZ, Liu XY, Li J, Jiang SX, et al. Forearm free skin flap transplantation: a report of 56 cases. *Br J Plast Surg* 1981; 50(3): 162–5.
3. Hurvitz KA, Kobayashi M, Evans GR. Current options in head and neck reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 2006; 118(5): 122e–133e.
4. Brown JS, Magennis P, Rogers SN, Canwood JJ, Howell R, Vaughan ED. Trends in head and neck microvascular reconstructive surgery in Liverpool. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2006; 44(5): 364–70.
5. Medard de Chardon V, Balaguer T, Chignon-Sicard B, Youmes RJ, Ibrahim T, Dannan E, et al. The radial forearm free flap: a review of microsurgical options. *J Plast Reconstr Aest Surg* 2009; 62(1): 5–10.
6. Beasley NJ, Gilbert RW, Gullane PJ, Brown DH, Irish JC, Neligan PC. Scalp and forehead reconstruction using free revascularized tissue transfer. *Arch Facial Plast Surg* 2004; 6(1): 16–20.
7. Vartanian JG, Carvalho AL, Carvalho SM, Mizobe L, Magrin J, Kowalski LP. Pectoralis major and other myofascial/myocutaneous flaps in head and neck cancer reconstruction: experience with 437 cases at a single institution. *Head Neck* 2004; 26(12): 1018–23.
8. Jeremić J, Nikolić Z, Colić M, Jeremić K. The tunneled supraclavicular island flap—a fasciocutaneous flap for head and neck reconstructions. *Acta Chir Jugosl* 2006; 53(1): 67–72. (Serbian)
9. Nikolić Z, Jeremić J, Milosavljević R. Use of free microvascular flaps in the management of the head and neck defects. *Vojnosanit Pregl* 2006; 63(8): 713–20. (Serbian)
10. Eckardt A, Fokas K. Microsurgical reconstruction in the head and neck region: an 18-year experience with 500 consecutive cases. *J Craniomaxillofac Surg* 2003; 31(4): 197–201.
11. Sub JD, Sencar JA, Abemayor E, Calcaterra TC, Rawnsley JD, Alam D, et al. Analysis of outcome and complications in 400 cases of microvascular head and neck reconstruction. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 130(8): 962–6.
12. Eckardt A, Meyer A, Laas U, Hausamen JE. Reconstruction of defects in the head and neck with free flaps: 20 years experience. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2007; 45(1): 11–5.
13. Mateev MA, Beermanov KA, Subanova LK, Novikova TV, Shal-takova G. Shape-modified method using the radial forearm perforator flap for reconstruction of soft-tissue defects of the scalp. *J Reconstr Microsurg* 2005; 21(1): 21–4.
14. Chang SH, Wu TC, Hsiao HT, Tung KY. Single free radial forearm flap for reconstruction of simultaneous head and neck cancers. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2006; 59(5): 541–2.
15. Top H, Sarikaya A, Ayyit AC, Benlier E, Kiyak M. Review of monitoring free muscle flap transfers in reconstructive surgery: role of 99mTc sestamibi scintigraphy. *Nucl Med Commun* 2006; 27(1): 91–8.
16. Yang JC, Kuo YR, Hsieh CH, Jeng SF. The use of radial vessel stump in free radial forearm flap as flap monitor in head and neck reconstruction. *Ann Plast Surg* 2007; 59(4): 378–81.
17. Spiegel JH, Polat JK. Microvascular flap reconstruction by otolaryngologists: prevalence, postoperative care, and monitoring techniques. *Laryngoscope* 2007; 117(3): 485–90.
18. Top H, Sarikaya A, Ayyit AC, Benlier E, Kiyak M. Review of monitoring free muscle flap transfers in reconstructive surgery: role of 99mTc sestamibi scintigraphy. *Nucl Med Commun* 2006; 27(1): 91–8.
19. Podrecca S, Salvatori P, Squadrelli Saraceno M, Fallabdar D, Calabrese L, Cantù G, Molinari R. Review of 346 patients with free-flap reconstruction following head and neck surgery for neoplasm. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2006; 59(2): 122–9.
20. Singh B, Cordeiro PG, Santamaria E, Shaha AR, Pfister DG, Shah JP. Factors associated with complications in microvascular reconstruction of head and neck defects. *Plast Reconstr Surg* 1999; 103(2): 403–11.
21. Chen CM, Lin GT, Fu YC, Shieh TY, Huang IY, Shen YS, et al. Complications of free radial forearm flap transfers for head and neck reconstruction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 99(6): 671–6.
22. Pohlentz P, Blessman M, Heiland M, Blake F, Schmelzle R, Li L. Postoperative complications in 202 cases of microvascular head and neck reconstruction. *J Craniomaxillofac Surg* 2007; 35(6–7): 311–5.
23. Pohlentz P, Blessmann M, Blake F, Li L, Schmelzle R, Heiland M. Outcome and complications of 540 microvascular free flaps: the Hamburg experience. *Clin Oral Investig* 2007; 11(1): 89–92.

Rad primljen 23. IX 2008.



Primarni kolorektalni limfomi

Primary colorectal lymphomas

Goran Stanojević*, Miroslav Stojanović*, Milan Jovanović†, Miodrag Stojanović‡,
Miroslav Jeremić*, Branković Branko*, Nebojša Ignjatović*, Vuka V. Katić§

Klinički centar Niš, *Klinika za opštu hirurgiju, †Klinika za vaskularnu hirurgiju, §Institut za patologiju, Niš, Srbija; ‡Institut za javno zdravlje, Niš, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Kolorektalni limfom je redak tumor koji čini 1,4% limfoma ljudskog organizma, 10–20% gastrointestinalnih limfoma, odnosno 0,2–0,6% svih malignih tumora debelog creva. Cilj rada bio je pregled kliničkih karakteristika primarnih kolorektalnih limfoma i preživljavanje operisanih bolesnika. **Metode.** Detaljnom analizom 16 operisanih bolesnika utvrđeni su životno doba i pol bolesnika, simptomi i znaci oboljenja, lokalizacija tumora, vrsta hirurške intervencije, patohistološki nalaz, način utvrđivanja i stadijum bolesti, tip operacije u odnosu na hitnost stanja (elektivna ili hitna), sprovedena adjuvantna terapija, praćenje bolesnika i ishod lečenja. Preživljavanje je izraženo pomoću Kaplan-Meier krivulje, a razlika u preživljavanju između dve grupe bolesnika pomoću Log-rank testa. **Rezultati.** Svi bolesnici prosečno su praćeni 29 meseci (raspon 2–60 meseci), s tim što je grupa lečena adjuvantnom hemioterapijom praćena 48 meseci (raspon 4–60 meseci). Prosečno vreme preživljavanja bilo je 38,65 meseci. **Zaključak.** Primarni kolorektalni limfomi predstavljaju redak oblik maligne bolesti debelog creva. Optimalno lečenje podrazumeva resekciju zahvaćenog dela kolona ili rektuma i regionalnih limfovaskularnih struktura uz primenu adjuvantne terapije. Vreme preživljavanja je kratko, te je neophodna pravovremena dijagnoza u ranom stadijumu bolesti, kada postoji velika mogućnost izlečenja.

Ključne reči:

kolon, neoplazme; kolorektalne neoplazme; limfomi; dijagnoza; neoplazme, određivanje stadijuma; lečenje; hirurgija digestivnog sistema, procedure; lečenje, ishod; preživljavanje, analiza.

Abstract

Background/Aim. Colorectal lymphoma is a rare tumor representing 1.4% of human lymphomas, 10–20% of gastrointestinal lymphomas, namely 0.2–0.6% of all malignancies in the colon. The aim of this study was to review clinical characteristics of primary colorectal lymphoma and overall survival. **Methods.** A detailed analysis of 16 surgically treated patients included patients age, symptoms and signs, tumor site, type of surgery, histopathologic findings, diagnosis of the disease, disease stage, type of surgery related to the degree of emergency (elective or urgent), applied adjuvant therapy, patient follow-up and treatment outcomes. Survival was expressed by the Kaplan-Meier curve, while the difference in survival among the two groups by the Log-rank test. **Results.** The all patients were on an average followed-up for a median of 29 months (range 2–60 months), while those with chemotherapy 48 months (range 4–60 months). An overall mean survival time was 38.65 months. **Conclusion.** Primary colorectal lymphoma is a rare malignant tumor of the large bowel. Therapy usually involves resection of the affected colon or rectum and regional lymphovascular structures, followed by adjuvant therapy. Survival period is short and, therefore, timely diagnosis is crucial in early disease stages when the probability of cure is high.

Key words:

colonic neoplasms; colorectal neoplasms; lymphomas; diagnosis; neoplasm staging; therapeutics; digestive system surgical procedures; treatment outcome; survival analysis.

Uvod

Kolorektalni limfom je redak tumor koji čini 1,4% limfoma ljudskog organizma, 10–20% gastrointestinalnih limfoma, odnosno 0,2–0,6% svih malignih tumora debelog creva. U odnosu na učestalost svih malignih oboljenja kolona i rektuma zauzima treće mesto, iza adenokarcinoma i karcinoida¹.

Češće se javlja kod osoba muškog pola, starijih od 50 godina. Predilekciona mesta pojavljivanja su cekum i rektum, zbog veće količine limfnog tkiva u ovim delovima debelog creva. Tumor obično ima oblik polipoidne ili ulceriformne mase, a ponekad formira izraštaje na mukozi, slično multipnoadenomatoznoj polipozi. Bolesnici se često jave hirurgu u stadijumu uznapredovale bolesti, sa pojavom ileusa, perfora-

cije i stanja intraabdominalnog apscesa. Savremeno lečenje primarnih kolorektalnih limfoma podrazumeva multimodalni pristup, odnosno strogu indikaciju za hiruršku intervenciju, hemioterapiju i radioterapiju. I pored nesumnjivog napretka ostvarenog tokom zadnje tri decenije u hirurškoj tehnici, anesteziologiji i hemioterapiji, još uvek perzistira nizak nivo petogodišnjeg preživljavanja operisanih bolesnika (42%)^{2,3}. Zbog postojanja različitih stavova u lečenju primarnog limfoma kolona i rektuma, cilj ove studije bio je da se prikažu kliničke karakteristike naših bolesnika i preživljavanje operisanih u periodu od 10 godina.

Metode

Prikazana je serija bolesnika koji su operisani u periodu od 1993. do 2003. godine sa dijagnozom primarnog kolorektalnog limfoma u Hirurškoj klinici Kliničkog centra u Nišu. Bolesnici sa generalizovanom diseminacijom maligne bolesti i sekundarnim zahvatanjem debelog creva nisu uključivani u studiju. Prilikom definisanja primarnih limfoma kolona i rektuma korišćeni su podaci dobijeni definitivnom patohistološkom analizom preparata i kriterijumi koje su predložili Dawson i sar.¹: odsustvo uvećanih površnih limfnih čvorova, odsustvo uvećanih medijastinalnih limfnih čvorova, broj leukocita i leukocitarna formula u granicama normale, postojanje sekundarnih depozita jedino u regionalnim limfnim čvorovima kolona, odnosno rektuma i jetra i slezina bez sekundarnih depozita⁴.

Operisano je 16 bolesnika ili 1% od ukupno 1 561 bolesnika lečenih od malignih bolesti debelog creva u navedenom periodu. Svi bolesnici operisani su klasično, tj. trbuh je otvaran totalnom medijalnom laparotomijom, uz detaljnu eksploraciju trbušne duplje i retroperitonealnog prostora. Posebna pažnja bila je usmerena na eventualno postojanje sekundarnih depozita u jetri i slezini uz pomoć intraoperativnog ultrazvuka. Taktika hirurškog lečenja sastojala se u uklanjanju primarnog tumora sa regionalnim limfnim čvorovima i podvezivanju krvnih sudova odgovarajućeg segmenta debelog creva. Hitna hirurška intervencija podrazumevala je operaciju unutar 24 časa od momenta prijema bolesnika. Analizirani su: životna dob i pol bolesnika, simptomi i znaci bolesti, lokalizacija tumora, vrsta hirurške intervencije, patohistološki nalaz, stadijum bolesti, tip hirurške intervencije (elektivna ili urgentna), način utvrđivanja bolesti, primena adjuvantne terapije, praćenje bolesnika i ishod lečenja. Svi bolesnici bili su obuhvaćeni postoperativnim praćenjem na tri meseca prve dve godine, zatim na šest meseci do pete godine i nakon toga jednom godišnje. U okviru tromesečnih kontrola urađeni su ultrazvučni pregledi abdomena i laboratorijske analize, dok je kolonoskopija izvođena svakih šest meseci prve dve godine nakon operacije, a zatim jednom godišnje. Kompjuterizovana tomografija, odnosno magnetna rezonancija abdomena rađene su u periodu do šest meseci nakon operacije, zatim jednom godišnje, a po potrebi i češće. Za određivanje histopatološke dijagnoze korišćena je klasifikacija Svetske zdravstvene organizacije (SZO), a za klinički stadijum bolesti Musshoff modifikacija *Ann-Arbor* kategorizacije gastrointestinalnih limfoma^{5,6}. Vreme preživljavanja

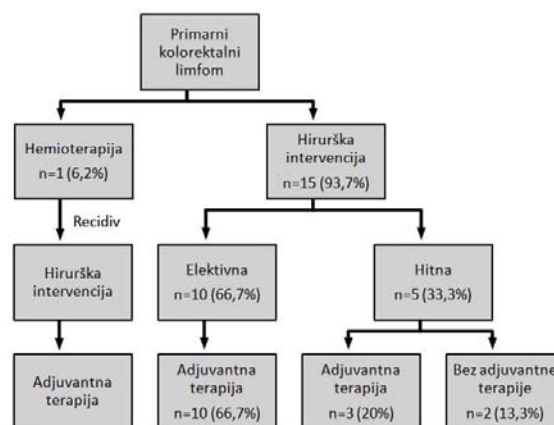
predstavljeno je srednjom vrednošću, 95% intervalom poverenja (CI) i standardnom greškom (SE). Krivulja verovatnoće preživljavanja predstavljena je metodom Kaplan-Meier, a poređenje vremena preživljavanja različitih grupa bolesnika vršeno je *Log-rank* testom. Statistička signifikantnost prihvaćena je na nivou $p < 0,05$. Analiza podataka vršena je softverskim paketom SPSS (verzija 15).

Rezultati

Kliničke karakteristike bolesnika prikazane su u tabeli 1.

Kod devet bolesnika (56%) dijagnoza je utvrđena preoperativnim pregledima, dok je kod sedam (44%) operisanih, tumor dijagnostikovao patohistološkom analizom nakon operacije.

U odnosu na histološki gradus, kod dva bolesnika (12,5%) identifikovan je visoki gradus tumora (mantle i Burkitt), kod 13 (81,2%) umereni ili intermedijarni tip (difuzni limfom krupnih ćelija) i kod jednog bolesnika (6,2%) tumor niskog gradusa, *mucosa-associated lymphoid tissue* (MALT) tip limfoma. Kod 15 bolesnika (93,7%) prvo je sprovedena hirurška intervencija, dok je kod jednog bolesnika (6,2%) sa difuznim promenama u kolonu primenjena hemioterapija sa dobrim kliničkim odgovorom. Nakon 12 meseci došlo je do pojave recidiva tumora na ascedentnom delu i sigmoidnom kolonu, te je urađena suptotalna kolektomija. Od 16 operisanih bolesnika kod 12 (75%) izvedena je resekcija sa primarnom anastomozom, dok je kod troje (18,7%) u prvom aktu urađena resekcija bez primarne anastomoze, a zatim, u drugom, aktu rekonstrukcija. Kod jednog bolesnika (6,2%) je zbog opstruktivnog limfoma sigmoidnog kolona izvedena bipolarna kolostoma u prvom aktu, a zatim u drugom aktu, leva hemikolektomija. Strategiju lečenja, kao i odnos broja elektivnih i urgentnih operacija, prikazuje slika 1.



Sl. 1 – Strategija lečenja primarnih kolorektalnih karcinoma i odnos broja elektivnih i urgentnih operacija

Nakon izvedene hirurške intervencije kod 13 (81,2%) operisanih sprovedena je adjuvantna terapija prema CHOP (ciklofosamid, doksorubicin, vinkristin, prednizon) protokolu, dok kod dva bolesnika (12,5%) to nije bilo moguće

Tabela 1

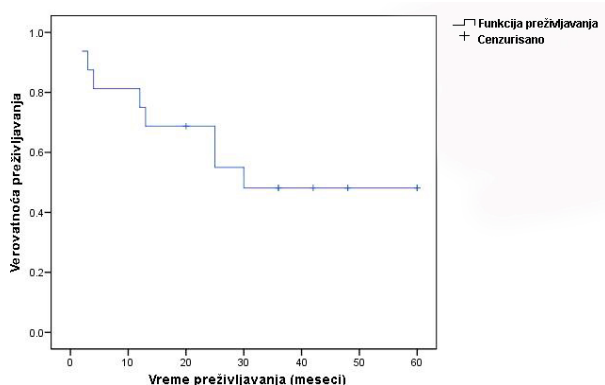
Kliničke karakteristike bolesnika operisanih od primarnog kolorektalnog limfoma

Broj	Godine života	Pol	Simptomi	Lokalizacija tumora	Patohistološki nalaz	Vrsta operacija	Stadijum bolesti	Postoperativno praćenje i ishod
1	17	muški	bolovi u trbuhu, smanjenje telesna mase, prisustvo palpabilnog tumefakta	cecum	B difuzni limfom	desna hemikolektomija	II E	60 meseci, živ
2	69	muški	prisustvo palpabilnog tumefakta	cecum	MALT* limfom	desna hemikolektomija	II E	13 meseci, smrtni ishod
3	53	muški	bolovi u trbuhu, smanjenje telesna mase, krvarenje iz debelog creva	cecum	B difuzni limfom	desna hemikolektomija	IV	12 meseci, smrtni ishod
4	61	muški	zastoj stolice i vetrova, krvarenje iz debelog creva	cecum	B difuzni limfom	desna hemikolektomija	II E	36 meseci, živ
5	77	muški	bolovi u trbuhu, smanjenje telesna mase	transverzium	B difuzni limfom	proširena desna hemikolektomija	III E	4 meseca, smrtni ishod
6	65	muški	bolovi u trbuhu, smanjenje telesna mase, zastoj stolice i vetrova	ascendens I sigma	mantle tip	subtotalna kolektomija	III E	20 meseci, živ
7	32	muški	prisustvo palpabilnog tumefakta	cecum	Burkitt	desna hemikolektomija	II E	25 meseci, živ
8	56	muški	bolovi u trbuhu, smanjenje telesna mase	hepatična fleksura	B difuzni limfom	proširena desna hemikolektomija	III E	30 meseci, smrtni ishod
9	66	muški	bolovi u trbuhu, smanjenje telesna mase	cecum	B difuzni limfom	desna hemikolektomija	II E	48 meseci, živ
10	47	muški	zastoj stolice i vetrova	transverzium	B difuzni limfom	proširena desna hemikolektomija	III E	25 meseci, smrtni ishod
11	73	ženski	prisustvo palpabilnog tumefakta	cecum	B difuzni limfom	desna hemikolektomija	III E	3 meseca, smrtni ishod
12	60	muški	bolovi u trbuhu, smanjenje telesna mase	ascendens	B difuzni limfom	desna hemikolektomija	II E	42 meseca, živ
13	82	muški	zastoj stolice i vetrova	sigma	B difuzni limfom	I akt. kolostomija, II akt. leva hemikolektomija	III E	2 meseca, smrtni ishod
14	51	muški	bolovi u trbuhu, smanjenje telesna mase	cecum	B difuzni limfom	desna hemikolektomija	II E	60 meseci, živ
15	72	ženski	bolovi u trbuhu, smanjenje telesna mase	rektum	B difuzni limfom	desna hemikolektomija resekcija rektuma	II E	48 meseci, živa
16	57	muški	bolovi u trbuhu, smanjenje telesna mase, zastoj stolice i vetrova	transverzium	B difuzni limfom	desna hemikolektomija	II E	36 meseci, živ

*mucosa-associated lymphoid tissue – limfno tkivo pridruženo sluznicama

zbog odbijanja daljeg lečenja. Kod bolesnika sa limfomom rektuma primenjena je kombinovana hemioradioterapija.

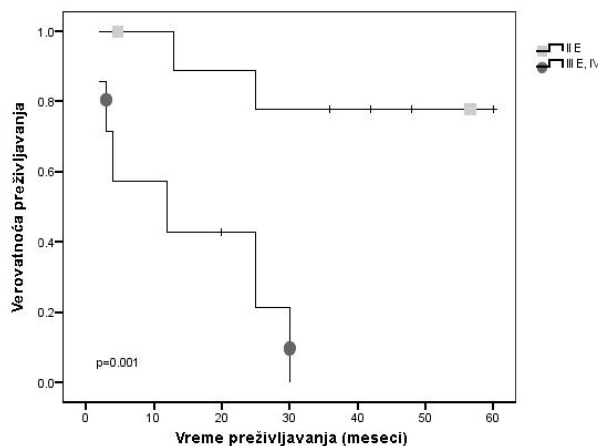
Prosečna dužina praćenja svih bolesnika iznosila je 29 meseci (2–60 meseci), dok je u grupi lečenih adjuvatnom terapijom bila 48 meseci (4–60 meseci). Prosečno vreme preživljavanja bilo je 38,65 meseci (SE = 6,174; 95% CI; 26,548–50,749) (slika 2).



Sl. 2 – Ukupno preživljavanje bolesnika po metodi Kaplan-Meier

U postoperativnom periodu dva bolesnika (28,6%) umrla su sa znacima recidiva bolesti, a pet (71,4%) od drugih uzroka (kardiovaskularna, respiratorna i cerebrovaskularna oboljenja). Ukupno devet bolesnika (56,2%) ima preživljavanje 47 meseci, bez znakova recidiva bolesti.

Univarijantnom analizom testirano je ukupno 12 kliničkih karakteristika primarnih kolorektalnih limfoma: životna dob i pol bolesnika, simptomi bolesti, lokalizacija tumora, vrsta hirurške intervencije, patohistološki nalaz, stadijum bolesti, tip hirurške intervencije (elektivna ili urgentna), način utvrđivanja bolesti, primena adjuvatne terapije, praćenje bolesnika i ishod lečenja. Statistički rezultati prikazani su u tabeli 2. Značaj stadijuma tumora (II E vs III E i IV kao prognostičkog faktora preživljavanja prikazan je slikom 3.



Sl. 3 – Razlika u preživljavanju grupe bolesnika sa tumorom stadijuma II E u odnosu na bolesnike sa tumorom III E ili stadijuma IV prikazana metodom Kaplan-Meier

Diskusija

Primarni kolorektalni limfomi predstavljaju ekstraneodalni oblik *non-Hodgkin* limfoma. Po učestalosti u gastrointestinalnom sistemu odraslih nalaze se na trećem mestu, iza želuca i tankog creva, za razliku od obolelih životne dobi do sedamnaeste godine života kod kojih je predominantna intestinalna lokalizacija. U 2005. godini objavljeni su podaci o ispitivanju kliničkih karakteristika i ishoda lečenja gastrointestinalnih limfoma kod 43 deteta životne dobi od 0,4 do 17 godina, kod kojih je dijagnostikovano 34,9% primarnih limfoma tankog i 27,9% debelog creva⁷. Etiološki faktori u nastanku limfoma debelog creva nepoznati su kao i za ostale oblike malignih bolesti. Međutim, primećena je veća učestalost u stanjima imunosupresije kao što su inflamatorne crevne bolesti – ulcerozni kolitis, infekcija HIV virusom i stanja nakon transplantacije organa⁸. Prema podacima iz literature, ne postoje jasni dokazi o povezanosti inflamatorne crevne bolesti i limfoma, sem kroz pojedinačne prikaze slučajeva^{9–13}.

Tabela 2

Značaj pojedinih kliničkih parametara za preživljavanje obolelih od kolorektalnog limfoma (log-rank test)

Prognostički faktor	Podgrupa	Vreme preživljavanja (meseci)	Standardna greška	Interval poverenja 95%	p
Stadijum tumora	II E	54,78	4,92	45,13–64,49	0,001*
	III E i IV	14,79	4,78	5,38–24,19	
Tip operacije	elektivna	47,48	6,34	35,06–59,89	0,001*
	hitna	13,60	5,11	3,59–23,61	
Godine života	< 64	46,89	6,26	34,62–59,17	0,161
	≥ 65	23,71	8,05	7,94–39,49	
Pol	muški	39,57	6,41	27,02–52,13	0,721
	ženski	25,50	15,91	0,00–56,68	
Histološki gradus tumora	nizak ili srednji	38,923	6,601	25,99–51,86	0,956
	visoki	17,667	5,988	5,93–29,40	
Adjuvatna terapija	da	43,81	0,5	1,52–3,48	< 0,001*
	ne	2,5	5,87	32,29–55,33	

*statistički značajno

U našoj seriji nije bilo bolesnika sa stanjem imunosupresije kao ni inflamatornim crevnim bolestima.

Podaci Kima i sar,¹⁴ u studiji objavljenoj 2005. godine, koja je ispitavala efekte hirurškog lečenja primarnih limfoma kolona kod 95 bolesnika, ukazuju na prosečnu starost ispitanika od 51,1 godina i dvostruko višu zastupljenost osoba muškog pola.

Slične podatke iznose i drugi autori¹⁶. Rezultati naše studije u skladu su sa podacima iz literature. Upoređivanjem citiranih podataka sa rezultatima našeg istraživanja može se utvrditi da primarni kolorektalni limfomi predstavljaju bolest starijih muškaraca.

Analizirajući simptome oboljenja, Cho i sar.¹⁷ izneli su podatke studije objavljene 1997. godine po kojima od 23 bolesnika, 56% ima nespecifične simptome, bolove u trbuhu, gubitak telesne mase i neredovno pražnjenje, odnosno da je 35% ispitanika operisano u uznapređovalom stadijumu bolesti. Podaci istraživanja koje su vršili Fan i sar.¹ pokazuju da je od 37 ispitanika 59% imalo samo abdominalne bolove, a da je 75,7% operisano u stadijumu oboljenja sa prisutnim pozitivnim limfnim nodusima u mezenterijumu kolona. U našem istraživanju, najčešći simptomi bolesti bili su bolovi u trbuhu, gubitak telesne mase i prisustvo palpabilnog tumefakta kod 81,3% ispitanika, što je uslovalo pojavu 43,7% bolesnika u odmaklom stadijumu bolesti III E i IV, kada je mogućnost izlečenja značajno manja. Specifični simptomi, kao što je krvarenje iz debelog creva, bili su prisutni samo kod 12,5% bolesnika. Nespecifičnost simptoma često odlaže odlazak bolesnika doktoru i pravovremeno postavljanje dijagnoze, što dovodi do znatno veće učestalosti uznapređovalih stadijuma oboljenja.

U odnosu na lokalizaciju primarnih limfoma debelog creva, Zigelboim i Larson¹⁸ izneli su 1994. godine podatak da je od 15 operisanih bolesnika u dvadesetogodišnjem periodu kod 73% ispitanika tumor lokalizovan u cekumu, što je u skladu sa zaključcima drugih autora^{1,2}. Podaci o učestalosti limfoma rektuma različiti su i kreću se od 0,1 do 20%, što je posledica neujednačenih kriterijuma za uključivanje bolesnika u studiju. Pojedini autori smatraju da je rektum predilekciono mesto za pojavljivanje limfoma, jer poseduje veću količinu limfnog tkiva. Devin i sar. sa Mayo klinike objavili su do sada najveću seriju bolesnika sa limfomima rektuma koja pokazuje da je od ukupno 61 bolesnika lečenih u periodu od 27 godina, samo 12 imalo primarni oblik *non-Hodgkin* bolesti. U našoj studiji najčešća lokalizacija limfoma je bila u cekumu (50% bolesnika), odnosno desnom kolonu (87,5% ispitanika). Primarni limfom rektuma identifikovan je kod samo jednog bolesnika (6,2%) uz pojavu krvarenja i čestih stolica, što ne potvrđuje podatke iz literature o rektumu kao predilekcionom mestu.

Imajući u vidu podatke iz literature i rezultate našeg istraživanja, može se konstatovati da je cekum najčešće mesto pojavljivanja primarnih limfoma debelog creva.

Kolonoskopija predstavlja zlatni standard u dijagnozi primarnih limfoma debelog creva. Međutim, nije uvek moguće utvrditi ovu vrstu tumora putem endoskopije. Doolabah i sar.¹¹ izneli su podatke iz studije objavljene 2000. godine u kojoj je od sedam operisanih bolesnika zbog primarnih lim-

foma kolona kod samo četiri ispitanika (57%) dijagnoza utvrđena preoperativnom kolonoskopijom. U našoj seriji bolesnika dijagnoza je potvrđena preoperativnom kolonoskopijom kod 56% obolelih. Neadekvatno izvedena biopsija tumora, kao i potreba pravovremenog izvođenja adekvatnih imunohistohemijskih bojenja u okviru obrade uzorka od strane patologa, problemi su koji vrlo često dovode do nemogućnosti korektnih interpretacije patohistološkog nalaza.

U odnosu na učestalost histopatološkog nalaza, Anderson i sar.²² izneli su 1998. godine, podatke tzv. Internacionalne studijske grupe za limfome, kojom je obuhvaćeno 1 378 bolesnika iz osam različitih gradova sa četiri kontinenta. Od ukupnog broja histopatoloških nalaza kod 80% dijagnostikovani su B-ćelijski limfom, s tim što je najučestalija bila forma sa krupnim ćelijama²¹⁻²³. U našoj studiji dijagnostikovani su jedino B-ćelijski limfom, a najčešća histološka forma tumora bila je B-ćelijski limfom krupnih ćelija, kod 75% ispitanika, dok su ostali oblici, kao mantle, Burkitt i MALT tip, bili znatno ređi. U odnosu na histološki gradus kod 75% tumora utvrđen je umereni ili intermedijarni tip (difuzni limfom krupnih ćelija).

Analizom podataka iz literature i naših rezultata, utvrđeno je da je najčešći histološki oblik primarnih limfoma kolona i rektuma B-ćelijski limfom krupnih ćelija²¹⁻²³.

Stadijum bolesti je veoma značajan klinički parametar uznapređovalosti oboljenja. Gonzales i sar.²⁴ su 2008. godine objavili podatke nerandomizovane retrospektivne studije koja je uključivala 15 bolesnika prosečne životne dobi 51,5 godina, sa primarnim limfomima kolona od kojih je 100% bilo u I E i II E stadijumu, kada je mogućnost izlečenja značajna. Slične podatke izneli su Koch i sar.²⁵ 2001. godine, analizirajući rezultate multicentrične studije sprovedene u Nemačkoj kod 371 bolesnika, kod kojih je uočena najveća učestalost I E i II E stadijuma bolesti, što je nalaz i drugih autora²⁶.

Rezultati naše studije pokazuju da je 56,3% bolesnika operisano u II E stadijumu bolesti, dok je 43,7% bolesnika operisano u III E i IV stadijumu bolesti.

Naši rezultati razlikuju se od rezultata drugih autora po znatno većem procentu limfoma u početnom stadijumu bolesti, što je posledica različitih kriterijuma po kojima se bolesnici uključuju u studiju, različite metodologije rada i nivoa zdravstvene kulture ispitivane populacije.

Proučavajući uticaj urgentnih hirurških procedura na pojavu postoperativnog letaliteta, Cai i sar.² objavili su 2007. godine rezultate studije u kojoj su ispitivali 26 operisanih bolesnika sa dijagnozom primarnog limfoma kolona i rektuma. Od ukupnog broja ispitanika zbog ileusa i perforacija debelog creva 53,8% lečeno je hitnom hirurškom intervencijom, a letalitet je iznosio 58%². Naši podaci pokazuju da je kod 33,3% operisanih izvedena hitna hirurška intervencija najčešće zbog ileusa, sa letalitetom od 43,8%. Primarni kolorektalni limfomi su tumori brzog rasta, tako da kasna dijagnostika po pravilu dovodi do urgentnog stanja koje zahteva hitnu hiruršku intervenciju, sa visokim procentom postoperativnog letaliteta. Uporedna analiza podataka iz literature i našeg istraživanja pokazuje visoku učestalost urgentnih operacija i letaliteta u obe studije, a razlike su posledica različitih kriterijuma uključivanja kao i dužine sprovedenog istraživanja.

U odnosu na elektivne hirurške intervencije u literaturi postoje jasni stavovi da je kod limfoma kolona neophodno izvesti resekciju odgovarajućeg segmenta uz odstranjenje regionalnih limfnih nodusa^{1,2,9}, što je preporuka i autora ovog rada. Lečenje limfoma rektuma se po različitim stavovima, od primene samo zračne i hemio- terapije, do izvođenja hirurških procedura razlikuje od lečenje limfoma kolona. Bilsel i sar.¹⁵ objavili su 2005. godine prikaz u kome se opisuje kompletan klinički odgovor primarnog limfoma rektuma nakon lečenja hemio- i radioterapijom. Slične podatke izneli su i drugi autori²⁷.

Pricolo i sar.²⁸, u analizi prikaza bolesnika iz 2002. godine, opisuje tretman limfoma rektuma uz primenu resekcijske procedure, a zatim hemio- i radioterapije, dok Shimono iz Japana preporučuje preoperativnu zračnu terapiju, a zatim hiruršku intervenciju²⁹. U odnosu na vrstu operacije, postoje preporuke da je kod primarnog limfoma rektuma malih dimenzija i niskog malignog potencijala (MALT limfomi), dovoljno uraditi transanalnu ekstirpaciju tumora³⁰. U našoj seriji bolesnika dijagnostikovani su limfom rektuma kod jednog bolesnika koji je lečen resekcijom i adjuvatnom terapijom, uz dobar postoperativni tok i bez znakova recidiva bolesti. Razlike u stavovima posledica su dobijenih rezultata na osnovu prikaza pojedinih bolesnika ili studija sa malim brojem bolesnika i heterogene grupe lečenih bolesnika sa tumorom, različitog stadijuma bolesti, patohistološke dijagnoze, itd. Ipak, na osnovu skromnog iskustva autora preporučuje se kao terapija izbora, kada je to moguće, resekcija rektuma uz primenu neo- ili adjuvatne terapije.

U odnosu na primenu hemioterapije Fan i sar.¹ iznose podatke koji ukazuju na statistički značajno duže preživljavanje bolesnika u II E stadijumu bolesti sa adjuvatnom terapijom od 117,4 meseci, za razliku od grupe bez hemioterapije, gde je preživljavanje iznosilo 47,9 meseci. Slične podatke prikazuju i drugi autori, s tim što primenjuju tzv. preventivnu hemioterapiju kod bolesnika u I E stadijumu sa 10-godišnjim preživljavanjem od 80%³¹. Podaci iz literature o lečenju bolesnika sa primarnim limfomom rektuma ukazuju na mogućnost neoadjuvatnog i adjuvatnog sistema lečenja, ali nema jasnih dokaza o tome da li postoje prednosti jedne u odnosu na drugu metodu. Devin i sar.³¹ pokazali su da je petogodišnje preživljavanje 50% kod bolesnika sa limfomom rektuma koji su lečeni kombinovanom primenom hirurške intervencije i adjuvatne terapije, za razliku od grupe kod koje je primenjena samo hemio- i radioterapija, sa preživljavanjem od 20%²⁰.

U našoj studiji 87,5% bolesnika podvrgnuto je adjuvatnoj terapiji nakon hirurške intervencije, sa prosečnim dužinom preživljavanja od 43,8 meseci, za razliku od dužine preživljavanja bolesnika kod kojih nije sprovedena adjuvatna terapija i koja iznosi 2,5 meseca. Kod bolesnika sa limfomom

rektuma sproveden je adjuvatni tretman hemio- i radioterapijom. Analiza podataka iz literature kao i naših rezultata pokazuje da primena hemioterapije predstavlja standard u lečenju bolesnika sa primarnih limfoma kolona.

Različiti stavovi o lečenju bolesnika sa limfoma rektuma posledica su proučavanja malog broja bolesnika, prikaza samo pojedinih bolesnika i neujednačenih kriterijuma lečenja.

Studije kojima se analiziraju prognostički faktori dužine postoperativnog preživljavanja ukazuju na to da histološki tip tumora predstavlja značajan prognostički faktor¹. U našem istraživanju značajni za ukupno preživljavanje bili su: stadijum bolesti, tip operacije i primena adjuvatne terapije. Uznapredovalo oboljenje u III E i IV E stadijumu često dovodi do urgentnih stanja kao što su opstrukcija, perforacija i krvarenje, koja se mogu rešiti samo hitnom hirurškom intervencijom. Teško opšte stanje bolesnika i urgentnost hirurškog zahvata dovode do značajno veće smrtnosti i učestalije pojave recidiva bolesti, što je zaključak i drugih autora³²⁻³⁴.

Proučavanje podataka iz literature o lečenju primarnih oblika kolorektalnih limfoma predstavlja problem jer je to redak oblik maligne bolesti, broj uključenih bolesnika mali, a karakteristike tumora heterogene. Sve do sada objavljene studije bile su retrospektivnog karaktera, što delimično smanjuje naučnu dokazanost dobijenih rezultata i nameće potrebu organizovanja prospektivnih multicentričnih studija. Međutim, i pored toga, sistematizovana klinička iskustva predstavljaju koristan doprinos znanju i veštini doktora koji se bave lečenjem tog teškog oblika maligne bolesti.

Zaključak

Iz rezultata dobijenih u ovoj retrospektivnoj studiji može se zaključiti da primarni kolorektalni limfom predstavlja retku vrstu tumora, koja se češće javlja kod osoba muškog pola, starijih od 50 godina. Obično se manifestuje nespecifičnim simptomima, kao što su bolovi u trbuhu, smanjenje telesne mase i prisustvo palpabilnog tumefakta, što dovodi do znatno veće učestalosti uznapredovalih stadijuma oboljenja i urgentnih hirurških operacija sa visokim procentom letalitetata. Predilekciono mesto pojavljivanja je cekum. Najčešći histološki oblik je B-ćelijski limfom krupnih ćelija. Metoda izbora u lečenju limfoma kolona i rektuma je resekcija odgovarajućeg segmenta sa regionalnom limfadenektomijom i adjuvatnom terapijom. Prognostički faktori koji značajno utiču na preživljavanje su stadijum bolesti, tip operacije u odnosu na hitnost stanja i primena adjuvatne terapije. Prosečno preživljavanje bolesnika iznosi 38,65 meseci. Neophodno je sprovedenje prospektivnih multicentričnih studija da bi se analizom većeg broja bolesnika utvrdio pravi značaj hirurškog lečenja primarnih kolorektalnih limfoma.

L I T E R A T U R A

1. Fan CW, Changchien CR, Wang JY, Chen S, Hsu K, Tang R, Chiang JM. Primary colorectal lymphoma. Dis Colon Rectum 2000; 43:1277-82.
2. Cai S, Cammisotto F Jr, Bullard Dunn KM, Gibbs JF, Czuczman M, Rajput A. The role of surgical intervention in non-Hodgkin's lymphoma of the colon and rectum. Am J Surg 2007; 193(3): 409-12;

3. Wang MH, Wong JM, Lien HC, Lin CW, Wang CY. Colonoscopic manifestations of primary colorectal lymphoma. *Endoscopy* 2001; 33(7): 605-9.
4. Dawson Im, Cornes Js, Morson Bc. Primary malignant lymphoid tumours of the intestinal tract. Report of 37 cases with a study of factors influencing prognosis. *Br J Surg* 1961; 49: 80-9.
5. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, et al. The World Health Organization classification of hematological malignancies report of the Clinical Advisory Committee Meeting, Airlie House, Virginia, November 1997. *Mod Pathol* 2000; 13(2): 193-207.
6. Musshoff K. Clinical staging classification of non-Hodgkin's lymphomas. *Strahlentherapie* 1977; 153(4): 218-21. (German)
7. Morsi A, Abd El-Ghani Ael-G, El-Shafiey M, Fawzy M, Ismail H, Monir M. Clinico-pathological features and outcome of management of pediatric gastrointestinal lymphoma. *J Egypt Natl Canc Inst* 2005; 17(4): 251-9.
8. Koniaris LG, Drugas G, Katzman PJ, Salloum R. Management of gastrointestinal lymphoma. *J Am Coll Surg* 2003; 197(1): 127-41.
9. Wong MT, Eu KW. Primary colorectal lymphomas. *Colorectal Dis* 2006; 8(7): 586-91.
10. Teare JP, Greenfield SM, Slater S. Rectal lymphoma after colectomy for ulcerative colitis. *Gut* 1992; 33(1): 138-9.
11. Doolabh N, Anthony T, Simmang C, Bieligk S, Lee E, Huber P, et al. Primary colonic lymphoma. *J Surg Oncol* 2000; 74(4): 257-62.
12. Keighley MRB, Williams NS. Rare tumors of the colon and the rectum. In: Keighley MRB, Williams NS, editors. *Surgery of the anus, rectum and colon*. London: WB Saunders, p. 760-829.
13. Bilsel Y, Balik E, Yamaner S, Bugra D. Clinical and therapeutic considerations of rectal lymphoma: a case report and literature review. *World J Gastroenterol* 2005; 11(3): 460-1.
14. Kim YH, Lee JH, Yang SK, Kim TI, Kim JS, Kim HJ, et al. Primary colon lymphoma in Korea: a KASID (Korean Association for the Study of Intestinal Diseases) Study. *Dig Dis Sci* 2005; 50(12): 2243-7.
15. Gordon PH. Malignant neoplasms of the colon. In: Gordon PH, Nivatwongs S, editors. *Principles and practice of surgery for the colon, rectum, and anus*. New York: Informa Healthcare; 2007. p 489-645.
16. Nakamura S, Matsumoto T, Takeshita M, Kurahara K, Yao T, Tsuneyoshi M, et al. A clinicopathologic study of primary small intestine lymphoma: prognostic significance of mucosa-associated lymphoid tissue-derived lymphoma. *Cancer* 2000; 88(2): 286-94.
17. Cho MJ, Ha CS, Allen PK, Fuller LM, Cabanillas F, Cox JD. Primary non-Hodgkin lymphoma of the large bowel. *Radiology* 1997; 205(2): 535-9.
18. Zigelboim J, Larson MV. Primary colonic lymphoma. Clinical presentation, histopathologic features, and outcome with combination chemotherapy. *J Clin Gastroenterol* 1994; 18(4): 291-7.
19. Pandey M, Kotbari KC, Wadhwani MK, Patel HP, Patel SM, Patel DD. Primary malignant large bowel lymphoma. *Am Surg* 2002; 68(2): 121-6.
20. Devine RM, Beart RW Jr, Wolff BG. Malignant lymphoma of the rectum. *Dis Colon Rectum* 1986; 29(12): 821-4.
21. Bairey O, Ruchlemer R, Shpilberg O. Non-Hodgkin's lymphomas of the colon. *Isr Med Assoc J* 2006; 8(12): 832-5.
22. Anderson JR, Armitage JO, Weisenburger DD. Epidemiology of the non-Hodgkin's lymphomas: distributions of the major subtypes differ by geographic locations. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Ann Oncol* 1998; 9(7): 717-20.
23. National Cancer Institute. Summary and description of a working formulation for clinical usage. The Non-Hodgkin's Lymphoma Pathologic Classification Project. *Cancer* 1982; 49(10): 2112-35.
24. Gonzalez QH, Heslin MJ, Davila-Cervantes A, Alvarez-Tostado J, de los Monteros AE, Shore G, et al. Primary colonic lymphoma. *Am Surg* 2008; 74(3): 214-6.
25. Koch P, del Valle F, Berdel WE, Willich NA, Reers B, Hiddemann W, et al. Primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma: I. Anatomic and histologic distribution, clinical features, and survival data of 371 patients registered in the German Multicenter Study GIT NHL 01/92. *J Clin Oncol* 2001; 19(18): 3861-73.
26. List AF, Greer JP, Cousar JC, Stein RS, Johnson DH, Reynolds VH, et al. Non-Hodgkin's lymphoma of the gastrointestinal tract: an analysis of clinical and pathologic features affecting outcome. *J Clin Oncol* 1988; 6(7): 1125-33.
27. Guney N, Basaran M, Aksakalli N, Barbek S, Erseven G. Primary non-Hodgkin's lymphoma of the rectum. *Oncol* 2007; 30: 385-7.
28. Pricolo R, Parziale A, Filosa M, Voltolini F, Zangrandi A. Primary lymphoma of the rectum: a case report and review of the literature. *Chir Ital* 2002; 54(4): 549-54. (Italian)
29. Shimono R, Mori M, Kido A, Adachi Y, Sugimachi K. Malignant lymphoma of the rectum treated preoperatively with hyperthermia and radiation. *Eur J Surg Oncol* 1995; 21(1): 83-4.
30. Terauchi S, Yamamoto K, Fujii H, Koyama F, Sugimori S, Enomoto H, et al. Mantle cell lymphoma of the rectum at an early stage: a case report. *Hepatogastroenterology* 2001; 48(39): 675-7.
31. Devine R, Brand M. Miscellaneous Neoplasms. In: Wolff B, Fleshman J, Beck D, Pemberton J, Wexner S, editors. *The ASCRS textbook of colon and rectal surgery*. Springer; 2007. p. 515-24.
32. Jinnai D, Iwasa Z, Watanuki T. Malignant lymphoma of the large intestine-operative results in Japan. *Jpn J Surg* 1983; 13(4): 331-6.
33. Contreary K, Nance FC, Becker WF. Primary lymphoma of the gastrointestinal tract. *Ann Surg* 1980; 191(5): 593-8.
34. Busch E, Rodriguez-Bigas M, Mamounas E, Barcos M, Petrelli NJ. Primary colorectal non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Surg Oncol* 1994; 1(3): 222-8.

Rad primljen 23. IX 2008.

Fluconal

flukonazol rastvor za infuziju
2 mg/ml
1x100 ml

ATC: J02AC01

Efikasan kod bolesnika sa

- ezofagealnom kandidijazom
- sistemskim kandidijalnim infekcijama
- kriptokoknim meningitisom

oblik	ATC	JKL
Inf. 1x100 ml (2 mg/ml)	J02AC01	0327357

Indikovano za profilaksu posle

- hemioterapije
- terapije zračenjem
- transplantacije organa
- transplantacije kostne srži
- recidiva kriptokoknog meningitisa





The treatment of stage A testicular seminoma by carboplatin monochemotherapy

Lečenje seminomskih tumora testisa u stadijumu A monohemioterapijom karboplatinom

Nebojša Bojanić, Sava Mičić, Aleksandar Vuksanović,
Ivan Vuković, Aleksandar Janjić

Clinical Center of Serbia, Institute of Urology and Nephrology, Belgrade, Serbia

Abstract

Background/Aim. Although radiotherapy is considered to be a standard treatment of stage A testicular seminoma, an increasing number of studies have reported encouraging results of the treatment by carboplatin monochemotherapy (CBDCA). The aim of this study was to analyse the treatment results of patients with clinical stage A seminoma treated by CBDCA on daily basis in the period June 1999 to September 2008. **Methods.** A total of 124 patients, mean age 36.63 years (20–62 years), with stage A testicular seminoma were treated, upon radical orchiectomy, by adjuvant CBDCA (400 mg/m² on day 1 and 22). **Results.** Chemotherapy was well tolerated, except moderate nausea on the day of the drug administration and the following day. No patient had any serious disorders in blood cells count requiring substitutional treatment. During the mean follow-up period of 37.5 (range 6–111) months, three relapses were noted (2.41%) and none neoplasm of contralateral testicle or any other organ. **Conclusion.** Simple and easy carboplatin administration with excellent treatment results, along with good tolerance and absence of comorbidity, poses itself as a new “gold standard” of treatment for stage A testicular seminoma.

Key words:

seminoma; drug therapy; carboplatin; orchiectomy; prognosis.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Iako se radioterapija smatra standardom u lečenju seminomskih tumora testisa u stadijumu A, u literaturi se pojavljuje sve veći broj studija koji iznose ohrabrujuće rezultate lečenja primenom monohemioterapije karboplatinom (CBDCA). Cilj ove studije bila je analiza rezultata lečenja seminomskih tumora testisa u kliničkom stadijumu A tretiranih monohemioterapijom karboplatinom u periodu od juna 1999. do septembra. 2008. godine. **Metode.** Ukupno 124 bolesnika, prosečne starosti 36,63 godine (20–62 godine) sa seminomskim tumorom testisa u kliničkom stadijumu A lečeno je nakon radikalne orhiektomije adjuvantnom monohemioterapijom karboplatinom. Karboplatin je primenjen u dozi 400 mg/m² telesne površine u kratkotrajnoj infuziji 1. i 22. dana. **Rezultati.** Hemioterapija je podneta veoma dobro izuzev blage mučnine koja se javljala na dan terapije i sledećeg dana. Nijedan bolesnik nije imao ozbiljnijih problema sa krvnom slikom koji bi zahtevali primenu supstitucione terapije. Tokom prosečnog perioda praćenja od 37,5 meseci (raspon 6–111 meseci) javila su se tri recidiva bolesti (2,41%), ali nije došlo do pojave neoplazme na drugom testisu ili na drugim organima. **Zaključak.** Jednostavna i laka primena karboplatina sa odličnim rezultatima lečenja, uz dobru toleranciju od strane bolesnika i odsustvo komorbiditeta, nameće se kao novi „zlatni standard“ u lečenju seminomskih tumora testisa u stadijumu A.

Ključne reči:

testis, neoplazme; lečenje lekovima; karboplatin; orhiektomija; prognoza.

Introduction

Standard treatment of clinical stage A testicular seminoma includes radical orchiectomy and adjuvant radiotherapy of ipsilateral pelvic and paraaortic lymph nodes. This treatment has been applied in the past 50 years, and yielded excellent results with low recurrence rate (2–5%), and ex-

cellent tumor-specific survival (over 98%)^{1,2}. However, radiotherapy has its disadvantages. First of all, the duration of therapy itself and stress accompanying it, as well as deterioration of quality of life during its application. In addition, during follow-up period, the appearance of secondary malignancies was recorded, also, gastrointestinal tract disorders (peptic ulcer) and contralateral testicle tumor³. The alterna-

tive to radiotherapy was surveillance, resulting in a rather high relapse rate (15–25%), increased morbidity, related to additional cisplatin chemotherapy followed by nephrotoxicity, ototoxicity, neurotoxicity and marked nausea and vomiting^{4-7, 10}.

Given that seminomas are chemo- and radiosensitive, a new option has emerged – carboplatin⁷. Carboplatin is less toxic cisplatin analogue, which appeared to be effective for the treatment of advanced seminomas. Carboplatin monotherapy proved to be highly efficient for eradication of micrometastatic disease. The results of recently published studies proved almost hundred percent of effectiveness, and in comparison with other therapies, this mode of treatment posed itself as the most effective¹¹⁻¹⁴. However, it has to be taken into account that all the published results have been based on studies with relatively short follow-up period. Nevertheless, the latest results are promising.

We presented the treatment results of patients with stage A testicular seminoma treated with two cycles of carboplatin and the mean follow-up period of 37.5 (range 6–111) months.

Methods

The patients with clinical stage A, histologically verified pT1, pT2 and pT3 testicular seminoma, and negative resection margins following the radical orchiectomy were included in the study. Clinical stage was determined according to physical examination, blood cells count and serum biochemical analysis, tumor markers (AFP, β hCG) levels before surgical intervention and on 7th postoperative day. Also, ultrasonography of the testicles and abdomen, computerized tomography (CT) of the abdomen and pelvis and chest radiography were performed. All the patients had normal AFP values (elevated AFP values excluded the patients from the study). Seventeen patients had elevated β hCG, normalizing following radical orchiectomy. A total of 124 patients with clinical stage A testicular seminoma were treated in the period June 1999 – September 2008. Approximately two weeks after the orchidectomy, on an outpatient basis, carboplatin was administered *iv* in the dose of 400 mg/m² with hydration before and after the infusion in a total period of 150 minutes, along with antiemetics (ondansetron 2 × 8 mg). Chemotherapy was given in two cycles every 21st day. Complete blood cells count analysis was performed every 7 days.

During the first year of follow-up, monthly determination of tumor markers (AFP, β hCG) and ultrasound of the abdomen and contralateral testicle were performed, while chest radiography was performed in three-month intervals. Computerized tomography of the abdomen and pelvis was done once per year. In the second year, the examinations were performed in a two-month intervals (tumor markers, ultrasound, chest radiography every 6 months); in year 3, the patients were examined on a 4-month basis (tumor markers, ultrasound, chest radiography every 6 months). After that the control exams were performed every 6 months until the fifth year. Until now, all the patients presented with normal findings.

Results

In the period June 1999 to September 2008, 124 patients were treated for clinical stage A seminoma of testicles. Mean age of the patients was 36.65 years, the youngest being 20 and the oldest 62 years. Out of them, 29 patients were younger than 30 years of age and 95 patients were over 30 years (Table 1).

Table 1
Age distributions of the treated patients

Age (years)	Patients (n)
20–24	7
25–29	22
30–34	27
35–39	23
40–44	20
45–49	12
≥ 50	13
Total	124

The left testicular tumor was found in 57 patients (45.96%), while tumor of the right testicle was recorded in 67 patients (54.04%). There were 25 cases with histological stage pT1, 79 with pT2 and 20 patients with pT3.

All 124 patients were treated with two cycles of carboplatin chemotherapy. All the patients had normal AFP values before and after the orchiectomy and 17 patients had elevated β hCG normalizing following radical orchiectomy. The therapy was well tolerated by all the patients except for mild nausea (16%) and vomiting (6%) (WHO grade 1). Along with the therapy, an antiemetic (ondansetron 2 × 8 mg) was administered. The therapy with the antiemetic continued for the next two post-treatment days.

Leukocytopenia grade 1 was reported in seven patients, while thrombocytopenia was noted in two of them. There were no episodes of febrile neutropenia. No delayed therapy for any reason was needed in any of these patients.

Three recurrences (2.41%) were reported in the mean follow-up period of 37.5 months (range 6–108). The first, 4 months after the therapy only with elevation of β hCG to 360, the second, 12 months after the therapy with relapse in the retroperitoneal lymph nodes (stage B3) and elevation of β hCG to 68, and the third, 30 months after the therapy with relapse in the retroperitoneal lymph nodes (stage B3). These three patients were treated with 4 cycles of PE protocol (cisplatin and etoposide) and complete remission was obtained. They were in the follow-up period for 20, 24 and 10 months, respectively. Fifty-six patients were followed-up for three or more years, among them 23 patients for more than five years (Table 2).

Out of 124 patients, 72 fathered children before the onset of treatment, 43 patients were single, six patients presented to andrologic clinic for the impaired sperm count parameters and infertility, and five fathered children after the therapy was completed (12 months after the completion in all five patients).

Table 2
Follow-up period of the treated patients

Months	Patients (n)
≥ 60	23
≥ 48	14
≥ 36	19
≥ 24	22
≥ 12	32
≤ 12	14
Total	124

Discussion

Testicular tumors are among the most curable neoplasms. Seminomas account for almost half of all testicular tumors, out of which $\frac{3}{4}$ are in clinical stage A. A total cure of testicular seminomas is achieved in over 95%²². Until cisplatin and carboplatin were introduced in the therapy, a standard treatment of stage A testicular seminomas was radical orchiectomy and adjuvant radiotherapy, without any controversies. However, perennial follow-up of patients treated by conventional radiotherapy revealed late side effects, first of all, to gastrointestinal system, as well as development of secondary malignancy in a high proportion of patients³. Some authors, in search for solution, reduce radiation dose or narrow radiation field with satisfactory effect¹. On the other hand, it is apparent that radiotherapy itself is over treatment for some patients, with potentially unnecessary late effect of radiation.

Due to above-mentioned facts, a new treatment option has arisen that will be equally successful with less toxic effects and less impact on patients daily activities. Surveillance as one of treatment options after radical orchiectomy was a good choice regarding the reduction of complications and side effects of radiotherapy. However, the consequence was high percentage of recurrence (even 33% as reported by some studies)^{19, 23, 24}. In the follow-up period of testicular seminomas, tumor markers (AFP, β hCG) are highly unreliable²⁰. Relapse of tumors are usually detected by imaging techniques (ultrasound, CT), requiring regular control exams. Although the recurrence is successfully treated by combined cisplatin chemotherapy followed by high complete cure rate, toxicity of therapy and the need for retroperitoneal lymphadenectomy increase the morbidity and mortality.

Oliver et al.⁸ first published the treatment results of clinical stage A testicular seminoma, by adjuvant monotherapy with two carboplatin cycles. After 16-month follow-up, one recurrence was reported. Dieckmann et al.¹² reported, in their study of 82 patients who had received 2 carboplatin cycles, no recurrence after monitoring of 16 months, as well as Krege et al.¹³ who followed 43 patients 28 months. Nost et al.¹¹ monitored 36 patients during 52

months and reported no recurrence. In two largest published series, Reiter et al.²⁰ reported no recurrence in 107 patients followed-up approximately 74 months after the administration of 2 carboplatin cycles, and Steiner et al.¹⁶ described two recurrences among 108 patients during mean follow-up period of 59.8 months. Dieckman et al.¹⁴, comparing the effectiveness of one and two carboplatin cycles, noted that there were no recurrence in the group of 32 patients that received 2 cycles, while there was 8.6% of recurrence in the group of 93 patients that had only one cycle (average follow-up period of 48 months). Aparicio et al.²¹ reported 2 recurrences in 60 patients treated by two Carboplatin cycles during follow-up of 52 months. In their latest series, Oliver et al.² treated 560 patients with one carboplatin cycle, and they reported 4.8% of recurring diseases during a 48-month follow-up period, that was almost equal (5.2%) to series of 885 patients treated with radiotherapy.

We analyzed 124 patients cured by 2 cycles of carboplatin (400 mg/m², on the 1st and 21st day). In the mean follow-up period of 37.5 (range 6–111) months, only three recurrences were recorded (2.41%), confirming the effectiveness of two carboplatin cycles for clinical stage A testicular seminoma.

Toxicity profile was presented in mild nausea and vomiting, as well as leukocytopenia. Drug concentration in a dose of 400 mg/m² was sufficient and did not require to be increased or corrected, according to AUC curve allowing application of a higher drug dose. The drug administration interval every 21 days was associated with no side effects that would require delay of therapy which was comparable with the observation of other authors^{16, 20}.

Out of 19 married patients without children before the therapy, seven had no problem having a baby 12 months after the completion of the therapy, while six have presented to andrologic clinic for treatment of the impaired sperm count parameters (mild oligoasthenospermia).

Conclusion

Reviewing the literature data and our experience with administration of two carboplatin cycles as adjuvant monotherapy in patients with clinical stage A testicular seminoma, we believe that two cycles in a dose of 400 mg/m² administered every 21 days are an excellent treatment option. The effectiveness of the therapy, absence of significant toxic effects as well as good tolerance of therapy are the major qualities of a such treatment option. The necessity of long-term follow-up of these patients is significant for evaluation of probable late toxic effects of treatment, although, if any, they are expected to be minimal, affecting the fertility of patients and overall survival.

REFERENCES

1. Fosså SD, Horwich A, Russell JM, Roberts JT, Cullen MH, Hodson NJ, et al. Optimal planning target volume for stage I testicular seminoma: A Medical Research Council randomized trial. Medical Research Council Testicular Tumor Working Group. *J Clin Oncol* 1999; 17(4): 1146–54.
2. Oliver RT, Mason MD, Mead GM, von der Maase H, Rustin GJ, Joffe JK, et al. MRC TE19 collaborators and the EORTC 30982 collaborators. Radiotherapy versus single-dose carboplatin in adjuvant treatment of stage I seminoma: a randomised trial. *Lancet* 2005; 366(9482): 293–300.

3. Akimoto T, Takahashi I, Takahashi M, Yamakawa M, Hayakawa K, Mitsuhashi N, et al. Long-term outcome of postorchidectomy radiation therapy for stage I and II testicular seminoma. *Anticancer Res* 1997; 17(5B): 3781-5.
4. von der Maase H, Specht L, Jacobsen GK, Jakobsen A, Madsen EL, Pedersen M, et al. Surveillance following orchidectomy for stage I seminoma of the testis. *Eur J Cancer* 1993; 29A(14): 1931-4.
5. Germa Lluch JR, Climent MA, Villavicencio H, Gomez de Segura G, Blanco R, Mercedes A, et al. Treatment of stage I testicular tumours. *Br J Urol* 1993; 71(4): 473-7.
6. Horwich A, Alsanjari N, A'Hern R, Nicholls J, Dearnaley DP, Fisher C. Surveillance following orchidectomy for stage I testicular seminoma. *Br J Cancer* 1992; 65(5): 775-8.
7. Oliver RT, Edmonds PM, Ong JY, Ostronski MJ, Jackson AW, Baille-Johnson H, et al. Pilot studies of 2 and 1 course carboplatin as adjuvant for stage I seminoma: should it be tested in a randomized trial against radiotherapy? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 29(1): 3-8.
8. Oliver RT, Lore S, Ong J. Alternatives to radiotherapy in the management of seminoma. *Br J Urol* 1990; 65(1): 61-7.
9. Mason MD, Jones WG. Treatment of stage I seminoma: more choices, more dilemmas. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 1997; 9(4): 210-2.
10. Bayley A, Warde P, Milosevic M, Gospodarowicz M. Surveillance for stage I testicular seminoma. a review. *Urol Oncol* 2001; 6(4): 139-43.
11. Nüst G, Lipsky H, Würschimmel E. Carboplatin monotherapy in clinical stage I of seminoma. An acceptable alternative? *Urologe A* 1998; 37(6): 629-34. (German)
12. Dieckmann KP, Krain J, Küster J, Brüggelboes B. Adjuvant carboplatin treatment for seminoma clinical stage I. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996; 122(1): 63-6.
13. Krega S, Kalund G, Otto T, Goepel M, Rübber H. Phase II study: adjuvant single-agent carboplatin therapy for clinical stage I seminoma. *Eur Urol* 1997; 31(4): 405-7.
14. Dieckmann KP, Brüggelboes B, Pichlmeier U, Küster J, Müllerleile U, Bartels H. Adjuvant treatment of clinical stage I seminoma: is a single course of carboplatin sufficient? *Urology* 2000; 55(1): 102-6.
15. Coleman JM, Coleman RE, Turner AR, Radstone CR, Champion AE. The management and clinical course of testicular seminoma: 15 years' experience at a single institution. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 1998; 10(4): 237-41.
16. Steiner H, Hüttl L, Wirtenberger W, Berger AP, Bartsch G, Hobisch A. Long-term experience with carboplatin monotherapy for clinical stage I seminoma: a retrospective single-center study. *Urology* 2002; 60(2): 324-8.
17. Rütber U, Dieckmann KP, Bussar-Maatz R, Eisenberger F. Second malignancies following pure seminoma. *Oncology* 2000; 58(1): 75-82.
18. Albers P, Perabo FG, Melchior D, Siener R. Adjuvant chemotherapy in stage I and stage II testicular cancer. *World J Urol* 2001; 19(2): 76-81.
19. Warde P, Gospodarowicz MK, Panzarella T, Catton CN, Sturgeon JF, Moore M, et al. Stage I testicular seminoma: results of adjuvant irradiation and surveillance. *J Clin Oncol* 1995; 13(9): 2255-62.
20. Reiter WJ, Brodowicz T, Alavi S, Zielinski CC, Kozak W, Maier U, et al. Twelve-year experience with two courses of adjuvant single-agent carboplatin therapy for clinical stage I seminoma. *J Clin Oncol* 2001; 19(1): 101-4.
21. Aparicio J, García del Muro X, Maroto P, Paz-Ares L, Alba E, Sáenz A, et al. Spanish Germ Cell Cancer Cooperative Group (GG). Multicenter study evaluating a dual policy of postorchidectomy surveillance and selective adjuvant single-agent carboplatin for patients with clinical stage I seminoma. *Ann Oncol* 2003; 14(6): 867-72.
22. Reiter WJ, Kratzik C, Brodowicz T, Haitel A, Pokorny A, Zielinski CC, et al. Sperm analysis and serum follicle-stimulating hormone levels before and after adjuvant single-agent carboplatin therapy for clinical stage I seminoma. *Urology* 1998; 52(1): 117-9.
23. Warde P, Specht L, Horwich A, Oliver T, Panzarella T, Gospodarowicz M, et al. Prognostic factors for relapse in stage I seminoma managed by surveillance: a pooled analysis. *J Clin Oncol* 2002; 20(22): 4448-52.
24. Warde P, Gospodarowicz MK, Panzarella T, Chow E, Murphy T, Catton CN, et al. Long term outcome and cost in the management of stage I testicular seminoma. *Can J Urol* 2000; 7(2): 967-72.

The paper received on September 29, 2008.



Correlation between antibiotic consumption and bacterial resistance as quality indicator of proper use of these drugs in inpatients

Korelacija potrošnje antibiotika i bakterijske rezistencije kao indikator njihove pravilne upotrebe kod hospitalizovanih bolesnika

Radmila Veličković-Radovanović^{*†}, Jasmina Petrović^{*}, Branislava Kocić^{†‡},
Snežana Antić[‡], Gordana Randelović^{†‡}

Clinical Center Niš, ^{*}Department of Clinical Pharmacology, [†]Medical Faculty,
[‡]Institute of Public Health, Niš, Serbia

Abstract

Background/Aim. Antibiotics are the most frequently used medications in Serbian hospitalized patients. Information about antibiotic utilization and sensitivity among inpatients in Serbia is scanty, and there are no available publications on the topic. The aim of this study was to investigate the correlation between antibiotic use and bacterial resistance in the Clinical Center Niš, one of the biggest hospitals in Serbia. **Methods.** The data on antibiotics use in inpatients were obtained from the database of the Department of Pharmacotherapy and expressed as defined daily doses per 100 bed-days (DBD), during 2003–2007. Bacterial resistances were given as percentages of resistant isolates. **Results.** During the investigation period, the overall consumption of antibiotics had a significant decrease in 2007, by 22.99% (62.23 : 47.92 DBD; $p < 0.05$). The most frequently used antibiotics were cephalosporins, followed by penicillins, aminoglycosides and quinolones. Hospital aminoglycosides consumption was reduced in 2007 to 59.9% (13.4 : 5.53 DBD) while the resistance to amikacin was reduced from 40.88% to 32.1%. However, utilization of ciprofloxacin had a significant increase in 2007 (120.7%). There was an alarming increase in the level of resistance to ciprofloxacin in our hospital (from 13.5% to 28.3% in *Escherichia coli* and from 11.1 to 30.09% in *Proteus mirabilis*). Reduction of *E. coli* resistant to amoxicillin+clavulanic acid correlated significantly with their utilization, while the resistance for all isolates decreased from 52.16% to 24.40%. **Conclusions.** These results confirm an association between the use of antibiotics and the prevalence of resistance. This methodology could provide good quality indicators of rational drug use and serve for local monitoring of antibiotics use and resistance, as well as for external comparison.

Key words:

anti-bacterial agents; drug utilization; drug resistance, bacterial; therapeutics; quality control.

Apstrakt

Antibiotici su najčešći među svim lekovima koji se primenjuju za lečenje hospitalizovanih bolesnika u Srbiji. Podaci o korišćenju i osetljivosti na antibiotike kod tih bolesnika oskudni su i nema dostupnih radova o tome u našoj zemlji. Cilj ove studije bio je utvrđivanje korelacije između upotrebe antibiotika i bakterijske rezistencije kod bolesnika hospitalizovanih u Kliničkom centru Niš (KCN) u periodu od 2003 – 2007. **Metode.** Praćenje i analiza upotrebe antibiotika obavljena je u Službi za farmakoterapiju KCN. Korišćenjem *Anatomical Therapeutic Chemical/Defined Daily Dose* metodologije ukupna potrošnja antibiotika izražavana je brojem definisanih dnevnih doza na 100 bolesničkih dana (DBD). Ispitivanje i praćenje osetljivosti bakterija vršeno je u Institutu za zaštitu zdravlja u Nišu. Bakterijska rezistencija izražavana je procentom rezistentnih sojeva bakterija. **Rezultati.** U toku petogodišnjeg perioda praćenja, ukupna upotreba antibiotika redukovana je za 22,99% (62,23 u 2003 : 47,92 DBD u 2007; $p < 0,05$). Najčešće propisivani antibiotici bili su cefalosporini, aminoglikozidi, penicilini i hinoloni. Upotreba aminoglikozida smanjena je za 59,9%, dok je bakterijska rezistencija smanjena sa 40,1% na 32,1%. Utvrđeno je značajno povećanje upotrebe ciprofloksacina u 2007. u odnosu na 2004 (120,7%), što je dovelo do signifikantnog porasta rezistencije (*Escherichia coli* od 11,1% do 30,09% i *Proteus mirabilis* od 15,63% do 28,3%). Nasuprot tome, utvrđeno je da sniženje rezistencije *E. coli* signifikantno korelira sa potrošnjom koamoksiklava, koja je snižena sa 5,09 DBD na 1,19 DBD (ukupna rezistencija svih izolata snižena je sa 52,16% na 24,40%). **Zaključak.** Potvrđena je povezanost između upotrebe antibiotika i prevalencije bakterijske rezistencije. Primenjena metodologija može poslužiti za praćenje pravilnog korišćenja antibiotika i rezistencije na njih, kako u lokalnim okvirima, tako i za komparaciju sa drugim centrima.

Ključne reči:

antibiotici; lekovi, korišćenje; lekovi, rezistencija bakterija; lečenje; kvalitet, kontrola.

Introduction

Antibiotics are the most frequently used medications in hospitalized patients (15–30% of all prescribed drugs). It has been estimated that 30–50% of hospitalized patients receive antimicrobial agents, and that up to 50% of prescribed antimicrobial agents are not prescribed optimally^{1–3}. It has been shown that inappropriate antibiotic use significantly contributes to increasing rates of resistant pathogens^{4,5}. Bacterial resistance is now being recognized as a major factor determining morbidity, mortality and costs in the hospital. It has been generally recognized that the prevalence of bacterial resistance among bacteria is an unavoidable consequence of antibiotics use and that it correlates with the overall use of antimicrobial drugs^{2,5}. Several lines of evidence suggest that there is a causal association between the use of antimicrobial agents and the prevalence of drug resistance in microorganisms^{6–8}. Taking into account this escalation in bacterial resistance and the large body of evidence considering the overuse of antibiotics a rational approach is a strict control of antibiotic use. Factors that promote the emergence of resistance include frequent use of broad-spectrum antimicrobial agents, prolonged use of antimicrobial agents, more frequent use of invasive devices and procedures^{9,10}. However, there are reasons for optimism, as studies in various centers show rapid reversal of resistance^{7,8}. The 1998 European Conference entitled “The Microbial Threat” emphasized the importance of collecting and comparing data of antibiotic use and bacterial resistance from different countries^{11,12}. Information about antibiotic utilization and sensitivity among inpatients in Serbia is scanty, and there are no available publications on the topic. The purpose of this study was to investigate the extent of antimicrobial usage and to evaluate the bacterial resistance in the Clinical Center Niš, one of the biggest hospitals in Serbia. This study generally used the World Health Organization (WHO) Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) Classification System and the volume unit – Defined Daily Doses (DDD)^{13,14}.

Methods

In this survey antibiotic consumption and bacterial susceptibility were monitored in the period 2003–2007. The results were analyzed in the Clinical Center Niš, a 1460-bed, 3rd tertiary health care university hospital in Serbia, that comprises departments covering all major specialties except for infectious diseases, kidney transplantation, hematology, oncology, surgery and tuberculosis. The study period extended from 2003 – 2007. In 2003 – 2005, the Clinical Center had 417 357, 452 993 bed-days per year.

As this study did not collect any data on individual patients and surveillance was a part of quality assurance, an approval by Ethical Committee was not considered necessary.

Utilization of antibiotics in Clinical Center Niš in the period followed was obtained from the computerized database of the Department of Pharmacotherapy and expressed as DDD per 100 bed/days (DBD). Defined Daily Doses of anti-

bacterial agents for systemic use listed in the ATC Index with DDD in the period from 2003 to 2007 were used. Thirty-five different antibiotic drugs were used in our hospital.

Until April 2005, there was no antibiotic restriction policy in the hospital and every physician could prescribe any antibiotic, so misuse or overuse of antibiotics was common. There has been the Pharmacotherapy Department here since 2005. Routine monitoring of the use of antibiotic drugs and antibacterial resistance was started in the Clinical Center Niš in 2005 with the aim to prevent an increase in bacterial resistance and the costs of treatment. Following implementation of restriction policy in 2005, prescription of aminoglycosides, third- and fourth-generation cephalosporins, carbapenems, piperacillintazobactam and vancomycin were placed under the control of the clinical pharmacologist. These agents may only be prescribed after consultation with the clinical pharmacologist or following an approval by the medical director. Some surgical departments have their own guidelines for surgical prophylaxis, which were developed in collaboration with a microbiologist and a clinical pharmacologist. Occasional lectures on rational antimicrobial drug use are given in some departments.

The hospital has three clinical pharmacologists surveying and analyzing drug utilization and bacterial resistance, while one of them is a president of the Drug and Therapeutics Committee (DTC), within the hospital.

The bacteriological laboratory of the Institute for Public Health Niš routinely screens bacterial resistance/sensitivity for all patients requiring antibiotic therapy except for prophylactic use. Bacterial strains were isolated from the clinical material of the hospitalized patients and susceptibility to antibiotics was assessed by the disc diffusion method.

The process of testing the susceptibility of bacteria to antibacterial medicines and the creation of antibiogram are conducted according to recommendations of the American National Committee for Clinical and Laboratory Standards^{14,15} and according to the recommendation of the European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and the European Association of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). For the interpretation of the zones of inhibition the standards were used. Strains were classified as susceptible or resistant (intermediate zones of inhibition were considered resistant). Bacterial resistances were given as percentages of resistant isolates. The hospital specialist in infectious diseases and the clinical pharmacologist analyzed the data provided by the microbiology unit and based on that created a hospital profile.

The number of the assays performed by the bacteriological laboratory was comparable for the years 2003 (2865), 2004 (2968), 2005 (3120), 2006 (2671) and 2007 (3534). The burden of resistance for each antibiotic was calculated as percentage of all resistance + intermediate among all tested isolates from all patients samples (blood, urine, sputum, etc).

For testing the significance of resistance development and changes in antibiotics utilization a linear analysis was used. The Chi-square test was used to compare antibiotic use

in different time periods. Pearson's correlation was used to determine the relationship between the use of antibiotics and the bacterial resistance. A statistical significance was accepted at the 5% level. The WHONET software developed by the WHO was utilized for data management¹⁶. The antibiotic resistance data were obtained and presented with the DBD segment in tables and figures. The data were visualized as a diagram combining drug utilization (DBD) and resistance.

Results

The consumption of antibiotics in our hospital is shown in Table 1. During the investigation period a total consumption of antibiotics had a significant decrease ($p < 0.01$) from 62.23 DBD in 2003 to 47.92 DBD in 2007.

other gram-negative bacilli. The types and frequency of isolated bacterial strains per each year of the followed period are described in Table 2. The rates of resistance of frequently isolated bacteria in our hospital are presented in Table 3.

Hospital aminoglycosides consumption significantly reduced from 2005 (13.4 DBD) to 2007 (5.53 DBD) ($p < 0.001$) (Figure 1). Resistance to gentamycin and amikacin in our study was relatively high, but it significantly decreased during the monitored period. The *E. coli* resistance to amikacin reduced from 40.2% to 19.7% (Table 3).

Reduction of *E. coli* resistant to amoxicillin+clavulanic acid correlated significantly with their utilization ($r = 0,944$, $p < 0.05$), while the resistance for all isolates was reduced from 61.58% to 46.36%. The depend-

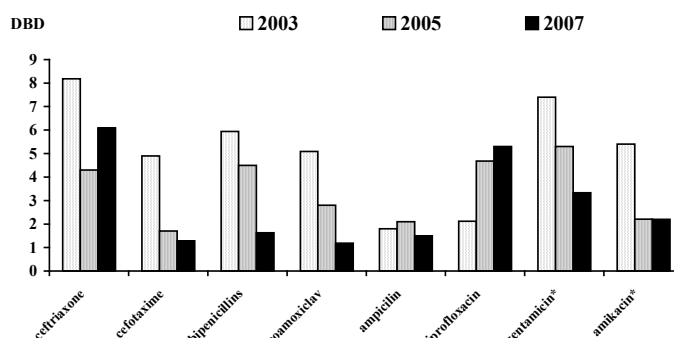
Table 1
Antibiotic consumption in the Clinical Center Niš from 2003 to 2007

Antibiotics	DBD (%)					
	2003		2005		2007	
Ceftriaxone	8.18	(13.14)	3.60	(6.87)	6.09	(12.7)
Gentamicin	7.42	(11.92)	4.21	(8.04)	3.33	(6.95)
Bipenicillins	5.94	(9.55)	2.40	(4.58)	1.63	(3.40)
Ciprofloxacin	2.12	(3.41)	4.68	(10.84)	5.30	(11.06)
Amikacin	5.47	(8.79)	2.21	(4.22)	2.20	(4.59)
Coamoxiclav	5.09	(8.18)	2.80	(5.35)	1.19	(2.48)
Cefotaxime	4.94	(7.94)	1.65	(3.15)	1.28	(2.67)
Cotrimoxazole	4.26	(6.85)	2.26	(4.32)	1.87	(3.96)
Ampicillin	3.69	(5.93)	4.79	(9.14)	1.57	(3.28)
Cefuroxime	0.96	(1.54)	3.82	(7.29)	5.97	(12.40)
Other	14.16	(22.75)	18.96	(36.90)	13.76	(28.71)
Total	62.23	(100)	51.38	(100)	47.92*	(100)

*Consumption of antibiotics had a significant decrease from 2003 to 2007 ($p < 0.01$)
DBD – defined daily doses per 100 bed-days

The most frequently used antibiotics were cephalosporins, followed by penicillins, aminoglycosides and quinolones. In 2003, ceftriaxone was the most frequently prescribed antibiotic and made up a quarter of the use (Figure 1).

ence of the reduction of *E. coli* resistance to amoxicillin+clavulanic on their utilization in Clinical Center Niš is shown in Figure 2. A significant correlation was found ($r = 0.924$; $p < 0.05$).



*Hospital aminoglycosides consumption was significantly reduced from 2003 to 2007 ($p < 0.001$).

Fig. 1 – Trends in antibiotic consumption in defined daily doses per 100 bed-days (DBD) in the Clinical Center Niš from 2003 to 2007

Escherichia coli was a most frequently isolated bacteria (15.71–19.19%), followed by *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* and

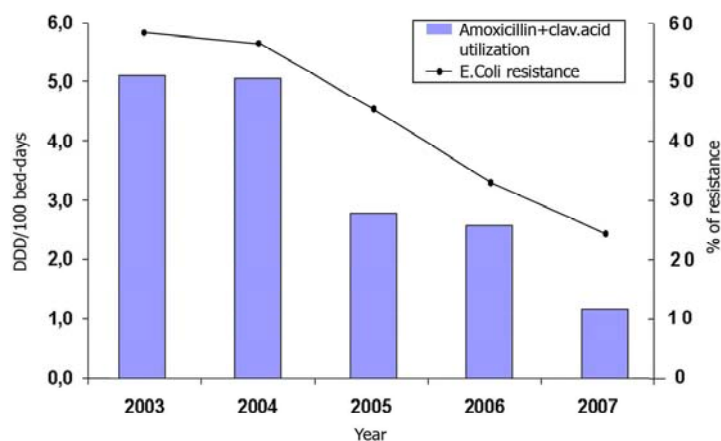
During the same period, there was a substantial decrease in the use of ceftriaxone, while the resistance for all isolates was reduced from 58.2% to 48.86%.

Table 2
Types and frequency of appearance of bacterial strains in the Clinical Center Niš
from 2005 to 2007

Bacterials strains	Number of bacterial strains (%)					
	2003		2005		2007	
<i>Echerichia coli</i>	490	(15.71)	500	(18.70)	678	(19.19)
<i>Staphylococcus aureus</i>	450	(14.42)	370	(13.85)	264	(7.47)
<i>Staphylococcus epid.</i>	410	(13.14)	236	(8.84)	241	(6.82)
<i>Enterococcus</i>	290	(9.29)	142	(5.32)	342	(9.68)
<i>Proteus mirabilis</i>	210	(6.73)	154	(5.77)	177	(5.01)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	200	(6.41)	198	(7.41)	304	(8.80)
<i>Klepsiella</i>	160	(5.13)	118	(4.42)	201	(7.11)
<i>Eneterobacter</i>	215	(6.78)	146	(5.46)	142	(4.08)
<i>Citrobacter</i>	132	(4.23)	132	(4.94)	138	(3.91)
<i>Acinetobacter</i>	120	(3.85)	83	(3.11)	106	(3.74)
Other	443	(14.19)	592	(22.16)	941	(26.62)
Total	3120	(100)	2671	(100)	3534	(100)

Table 3
Resistance of bacterial strains isolated in inpatients in the Clinical Center Niš in 2003 and 2007

Antibiotics	Resistant bacterial strains (%)											
	<i>E.coli</i>		<i>Klebsiella sp.</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>Eneterobacter sp.</i>		<i>Acinetobacter sp.</i>		<i>P. mirabilis</i>	
	2003	2007	2003	2007	2003	2007	2003	2007	2003	2007	2003	2007
Ampicillin	73.08	57.61	–	–	–	–	–	–	–	–	77.27	51.47
Amoxicillin+ clavulanic acid	52.16	24.40	80.00	73.47	83.33	–	81.18	79.22	–	78.86	42.74	28.57
Cefuroxime	27.50	23.88	–	69.74	80.00	–	73.20	64.93	–	–	38.67	27.56
Cefotaxime	26.46	22.42	66.67	77.62	–	76.19	68.21	69.57	85.71	90.48	18.99	24.19
Ceftriaxone	29.14	46.08	–	75.59	85.46	91.50	61.21	62.71	87.84	92.80	31.34	26.32
Imipenem	2.50	1.92	0	6.98	8.97	9.77	8.57	–	3.95	12.71	12.50	10.53
Meropenem	3.70	3.7	0	1.66	15.72	11.37	0	2.7	4.41	13.22	0	5.26
Gentamicin	30.34	20.10	71.13	57.14	75.97	53.49	70.23	50.64	83.12	80.30	35.04	27.68
Amikacin	40.20	19.74	58.94	39.56	54.32	43.19	53.10	28.7	78.38	70.42	17.60	14.46
Ciprofloxacin	15.63	28.33	40.00	69.74	44.20	58.64	40.52	52.94	75.32	77.48	11.01	30.09
Number of isolates	490	678	160	201	200	304	215	142	120	106	210	177



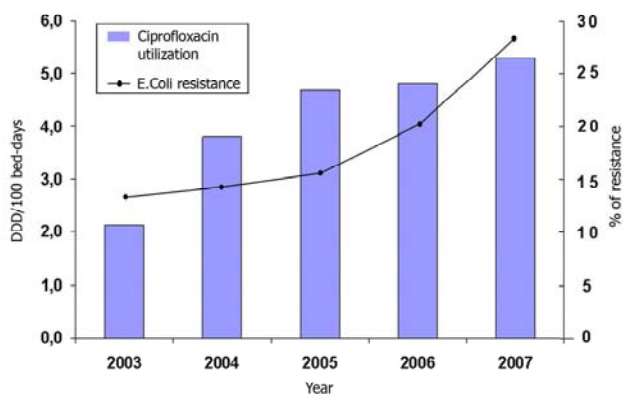
DDD – defined daily doses

Fig. 2 – Correlation between the consumption of amoxicillin+clavulanic acid and the resistance to *E. coli*

There was an alarming increase in the level of resistance to ciprofloxacin in our hospital (from 13.5% to 28.3% to *E. coli* and from 11,1 to 30.09% to *P. mirabilis*). The dependence of the

development of *E. coli* resistance to ciprofloxacin on their utilization in the Clinical center Niš is shown in Figure 3. A significant correlation was found ($r = 0.827$, $p = 0,025$).

S. aureus resistant to vancomycin and the vancomycin-resistant enterococcus were not detected.



DDD – defined daily doses

Fig. 3 – Correlation between the consumption of ciprofloxacin and the resistance to *E. coli*

Discussion

Utilization of antibiotics in Serbia is among the highest in Europe, mostly due to overuse of cephalosporines and aminoglycosides. The European Surveillance of Antibiotic Consumption (ESAC) found large differences in antibiotic use in inpatients. Utilization of antibiotics in the world varied greatly, from the extremely high in Croatia and Greece, next rate in France and to the lowest one was in the Netherland. In this study we found high antibiotic utilization and high resistance rates in our hospital compared with other countries^{1, 11, 12, 18}. A survey carried out at three university hospitals, in another country, showed lower total antibiotic consumption to that found at our hospital^{16, 19}. Unfortunately, no resistance data were included in these studies.

We found high rate of resistance among the most commonly used antibiotics (aminoglycosides, cephalosporines, fluoroquinolones)²⁰. Here it was found that resistance of *P. aeruginosa* to gentamicin, was changed from 75.9% of resistant strains in 2005, to 53.5% in 2007. This means that for *P. aeruginosa* infections change led to improved sensitivity, though it is clear that gentamicin cannot be used for this kind of infection^{1, 17}. Goryachkina et al.¹¹ showed the decreased resistance level for gentamicin (80% to 40%) in Russia from 2003–2005.

At the same time, we showed a decreased resistance level for amoxicillin+clavulanic acid (61.58 to 46.36%; same strains were tested). This provides an overall impression on coincidence of resistance and antibiotic overuse. The resistance of *E. coli* was decreased significantly from 52.16% of resistant strains in 2005, to 24.40% in 2007.

At the beginning of this study, utilization of ciprofloxacin was low in our hospital (2.12 DBD). The resistance of *E. coli* in inpatients was at a level of 15.5%. In the study period ciprofloxacin utilization increased significantly ($p < 0.001$). Bacte-

rial resistance followed this trend very closely and reached 28.3% in 2007. This is a result of the increased consumption of ciprofloxacin from 2005–2007, the single most prescribed drug. Now, the increased levels of resistance to fluoroquinolones among nosocomial isolates like *P. aeruginosa*, *Serratia species* and *Klebsiella species* have been reported worldwide.

The influence of hospital antibiotic policy is responsible for this delay. Ciprofloxacin was not placed on restricted antibiotics list in the same period in our hospital. Fluoroquinolone resistance to *E. coli* is emerging as a significant problem in hospitals. Urbanek et al.⁵ have shown a correlation between the increased use of fluoroquinolones and the increase in *E. coli* resistance. Results of numerous studies show the impact of fluoroquinolone utilization on bacterial resistance and support the need for controlled use of these effective antibiotics^{5, 19, 21}. Periods of extensive ciprofloxacin use were associated with a significant increases in resistance. Similarly to our results, the resistance of *E. coli* to ciprofloxacin in Spain was increased from 13.8% in 2001, to 23.4% in 2005^{10–12}. A total ciprofloxacin use was an independent predictor of the burden of ciprofloxacin resistance in *E. coli* in hospitals^{21–23}. Our data support the concept that a written antibiotic policy which balances the use of various antibiotic classes may help to avoid disturbances of a hospital's microbial sensitivity patterns^{21–25}. As antibacterial resistance is a multifactorial problem, a multisectoral effort is needed to control it. The problem of antibacterial resistance needs to be addressed in a continuous process of actions. The key areas of community recommendations for the control of bacterial resistance are surveillance of antibiotic consumption and resistance rates, optimizing antibiotic use, education, prevention and control^{2, 3, 26, 27}.

Conclusion

These results confirm an association between the prevalence of bacterial resistance and use of antibiotics. Monitoring of bacterial resistance can serve as an indicator of quality of antibiotic use. A combined presentation of antibiotic utilization and bacterial resistance provides clear indication on both problems in relation to each other. This methodology seems to be beneficial for external comparisons as well as local regulation of antibiotics use and resistance. Programs for the management of bacterial resistance usually include modifications of antibiotic use, especially in the decreased use of ciprofloxacin and the third-generation cephalosporins. Physicians training should be an important part of efforts against antibiotic resistance. National guidelines on this topic, as well as good diagnostic and therapeutic protocols are important. A rational and strict antibiotic policy is, thus, of great importance for the optimal use of these agents.

The obtained results are the basis for further analysis of bacterial resistance in correlation with antibiotic consumption in the Clinical Center Niš in Serbia.

R E F E R E N C E S

1. *Vlaborić-Palčevski V, Morović M, Palčevski G, Betica-Radić L.* Antimicrobial utilization and bacterial resistance at three different hospitals. *Eur J Epidemiol* 2001; 17(4): 375–83.
2. *Raymond DP, Pelletier SJ, Sanyer RG.* Antibiotic utilization strategies to limit antimicrobial resistance. *Semin Respir Crit Care Med* 2002; 23(5): 497–501.
3. *Willemsen I, Groenhuijzen A, Bogaers D, Stuurman A, van Keulen P, Khytmans J.* Appropriateness of antimicrobial therapy measured by repeated prevalence surveys. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(3): 864–7.
4. *Ballow CH, Schentag JJ.* Trends in antibiotic utilization and bacterial resistance. Report of the National Nosocomial Resistance Surveillance Group. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1992; 15(2 Suppl): 37S–42S.
5. *Urbánek K, Kolár M, Strojil J, Koukalová D, Cekanová L, Hejnar P.* Utilization of fluoroquinolones and *Escherichia coli* resistance in urinary tract infection: inpatients and outpatients. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2005; 14(10): 741–5.
6. *Gulbinovic J, Myrbäck KE, Bytautienė J, Wettermark B, Struwe J, Bergman U.* Marked differences in antibiotic use and resistance between university hospitals in Vilnius, Lithuania, and Huddinge, Sweden. *Microb Drug Resist* 2001; 7(4): 383–9.
7. *Yates RR.* New intervention strategies for reducing antibiotic resistance. *Chest* 1999; 115(3 Suppl): 24S–27S.
8. *Rice LB.* Controlling antibiotic resistance in the ICU: different bacteria, different strategies. *Cleve Clin J Med* 2003; 70(9): 793–800.
9. *Patterson JE, Hardin TC, Kelly CA, Garcia RC, Jorgensen JH.* Association of antibiotic utilization measures and control of multiple-drug resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000; 21(7): 455–8.
10. *Kivret RA, Dabl ML, Llerena A, Maimets M, Wettermark B, Berecz R.* Antibiotic use in 3 European university hospitals. *Scand J Infect Dis* 1998; 30(3): 277–80.
11. *Goryachkina K, Babak S, Burbello A, Wettermark B, Bergman U.* Quality use of medicines: a new method of combining antibiotic consumption and sensitivity data-application in a Russian hospital. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2008; 17(6): 636–44.
12. *Goossens H, Ferech M, Vander Stichele R, Elseviers M.* ESAC Project Group. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *Lancet* 2005; 365(9459): 579–87.
13. WHO. ATC index with DDDs. World Health Organisation: World Health Organisation Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology; 2003–2005. [accessed 2008 June 28]. Available from: www.whooc.no/atcddd.
14. WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. [accessed 2008 June 28]. Available from: <http://www.who.int/csr/drugresit/guidance/en>
15. *National Committee for Clinical Laboratory Standards.* Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2007.
16. *Mochizuki T, Okamoto N, Yagishita T, Takahiro K, Mashiko K, Ogawa F, et al.* Analysis of antimicrobial drug resistance of *Staphylococcus aureus* strains by WHONET 5: microbiology laboratory database software. *J Nippon Med Sch* 2004; 71(5): 345–51.
17. *Hussein A Bataineh, Khalid M Alrashed.* Resistant gram-negative bacilli and antibiotic consumption in Zarqa, Jordan. *Pak J Med Sci* 2007; 23 (1): 59–63.
18. *Hermosilla Nájera L, Canut Blasco A, Ulibarrena Sanz M, Abasolo Osinaga E, Abecia Inchaurregui LC.* Trends in antimicrobial utilization at a Spanish general hospital during a 5-year period. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2003; 12(3): 243–7.
19. *Vlaborić-Palčevski V, Dumpis U, Mitt P, Gulbinovic J, Struwe J, Palčevski G, et al.* Benchmarking antimicrobial drug use at university hospitals in five European countries. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13(3): 277–83.
20. *Veličković Radovanović R, Kocić B, Lilić R, Petrović J, Antić Š.* Antibiotic utilization and the development of bacterial resistance. Amsterdam: International Proceedings Division; 2007. pp 153–56.
21. *Willemsen I, Groenhuijzen A, Bogaers D, Stuurman A, van Keulen P, Khytmans J.* Appropriateness of antimicrobial therapy measured by repeated prevalence surveys. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(3): 864–7.
22. *Polk RE, Fox C, Mahoney A, Letcavage J, MacDougall C.* Measurement of adult antibacterial drug use in 130 US hospitals: comparison of defined daily dose and days of therapy. *Clin Infect Dis* 2007; 44(5): 664–70.
23. *MacDougall C, Powell JP, Johnson CK, Edmond MB, Polk RE.* Hospital and community fluoroquinolone use and resistance in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in 17 US hospitals. *Clin Infect Dis* 2005; 41(4): 435–40.
24. *Lepper PM, Grusa E, Reichl H, Högel J, Trautmann M.* Consumption of imipenem correlates with beta-lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(9): 2920–5.
25. *Paterson DL, Muto Ca, Gross P, Ndirangu Mw, Kuznetsov D, Harrison Lh.* Does the "Defined Daily Dose" (DDD) Adequately Measure Antibiotic Utilization in Hospitalized Patients in Tertiary Medical Centers? *Abstr Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother* 2002; 42.
26. Antimicrobials and antimicrobial therapy. Available from: <http://www.antibiotic.ru/index.php?newlang=eng>
27. *Davey P, Brown E, Fenelon L, Finch R, Gould I, Hartman G, et al.* Interventions to improve antibiotic prescribing practices for hospital inpatients. *Cochrane Database Syst Rev* CD003543; 2005.

The paper received on October 3, 2008.



Effects of acute exercise on atherogenic lipids in untreated mild hypertensive patients

Uticaj akutne fizičke aktivnosti na aterogene lipide kod nelečenih bolesnika sa blagom hipertenzijom

Zorica Čaparević*, Nada Kostić*, Vera Ćelić†, Zoran Ćosić†, Đorđe Marina*, Sanja Ilić*, Biljana Penčić†

University Clinical Centre „Dr Dragiša Mišović-Dedinje“, *Department of Endocrinology, †Department of Cardiology, Belgrade, Serbia

Abstract

Background/Aim. Exercise can positively influence risk factors associated with cardiovascular disease. The mechanisms by which exercise reduces atherogenic risk remain unknown. The aim of the present study was to investigate the effect of acute exercise (cardiopulmonary exercise cycle ergometer test) on atherogenic lipids in untreated mild hypertensive patients with or without hypercholesterolemia. This testing allows determination of exercise capacity, peak heart rate, and ventilation per minute (VE), peak oxygen uptake (pVO_2) and exercise time (ET). **Methods.** The study group included 85 untreated mild hypertensive patients (according to VII Joint National Committee – JNC 7) divided into two subgroups: hypertensive hypercholesterolemic and hypertensive normocholesterolemic. The control group included 35 normotensive subjects divided into two subgroups: normotensive hypercholesterolemic and normotensive normocholesterolemic. Lipid profiles to determine were oxidized LDL (OxLDL) – a marker of oxidative stress, triglycerides, total cholesterol, LDL cholesterol, and HDL cholesterol, which were measured at rest and 30 minutes after the acute bout of cardiopulmonary exercise cycle ergometer test. Lipids profiles were measured by enzymatic methods. Oxidized LDL was determined by a commercially available sandwich ELISA (Mercodia AB, Uppsala, Sweden). C-reactive protein (CRP) was measured using chemiluminiscent methods (Immulate-DPC). **Results.** In our study OxLDL was significantly higher in hypertensive patients with atherogenic lipid profiles in basal condition, compared to the hypertensive patients without atherogenic

lipid profiles and controls. There was a significant difference in CRP ($p < 0.001$) between hypercholesterolemics (hypertensive and normotensive) and normocholesterolemics (hypertensive and normotensive). We found increased OxLDL after exercise in both groups (hypertensive patients and normotensive), but only in the hypertensive hypercholesterolemic patients the difference was statistically significant (90.47 ± 15.31 vs. 105.94 ± 14.17 IU/L, $p < 0.001$). Systolic and diastolic blood pressures were significantly higher during exercise only in the hypertensive patients. There were significantly lower values of pVO_2 only in hypertensive hypercholesterolemic patients. There were no significant differences between hypertensive and normotensive ones for ET and VE. In hypertensive ones we found after exercise a negative correlation between pVO_2 and OxLDL ($r = -0.473$; $p < 0.05$), and pVO_2 and CRP ($r = -0.478$; $p < 0.05$). We also found in normotensive normocholesterolemic patients a positive correlation between VE and systolic blood pressure ($r = 0.420$; $p < 0.05$), a negative correlation between VE and OxLDL ($r = -0.421$; $p < 0.05$), and VE and CRP ($r = -0.561$; $p < 0.05$). **Conclusion.** This study showed that acute exercise induces and increases oxidative stress only in untreated mild hypertensive patients with atherogenic lipid profiles. These results imply the need to normalize atherogenic lipid profile in untreated patients with mild hypertension in order to prevent an increased lipid peroxidation under acute exercise.

Key words: cardiovascular diseases; risk factors; exercise; hypertension; hyperlipidemias; cholesterol; spirometry.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Fizička aktivnost može pozitivno uticati na faktore rizika koji su udruženi sa kardiovaskularnim oboljenjima. Još uvek su nepoznati mehanizmi koji smanjuju aterogeni rizik. Cilj studije bio je da se ispita uticaj akutne fizičke aktivnosti (kardiopulmonalna vežba uz pomoć ergometarskog testa)

na aterogene lipide kod nelečenih bolesnika sa blagom hipertenzijom i sa ili bez hiperholesterolemije. **Metode.** Grupa ispitanika sastojala se od 85 bolesnika sa blagom hipertenzijom koji su bili podeljeni u dve podgrupe: hipertenzivni bolesnici sa hiperholesterolemijom i hipertenzivni bolesnici sa normocholesterolemijom. U kontrolnoj grupi bilo je 35 normotenzivnih ispitanika podeljenih u dve podgrupe: sa hiperholesterole-

lemijom i sa normoholesterolemijom. Određivani su oksidovani LDL (OxLDL) kao marker oksidativnog stresa, trigliceridi, ukupni holesterol, LDL holesterol i HDL holesterol koji su mereni u stanju mirovanja i 30 minuta posle perioda kardiopulmonalne vežbe na ergometarskom testu. Za merenje ovih parametara korišćeni su komercijalni aparati. Vrednost OxLDL određivana je komercijalnim ELISA testom. Vrednost CRP merena je hemiluminescentnim metodama. **Rezultati.** Najveće vrednosti OxLDL nađene su kod hipertenzivnih bolesnika sa aterogenim lipidnim profilom u bazalnim uslovima. Postojala je statistički značajna razlika u vrednostima CRP između bolesnika sa hiperholesterolemijom (hipertenzivni i normotenzivni) i onih sa normoholesterolemijom (hipertenzivni i normotenzivni). Posle fizičke aktivnosti vrednosti OxLDL rasle su u obe grupe (hipertenzivni i normoten-

zivni), ali samo kod bolesnika sa hipertenzijom i hiperholesterolemijom ova razlika je bila statistički značajna. Nađene su statistički značajno niže vrednosti preuzimanja kiseonika samo kod hipertenzivnih bolesnika sa hiperholesterolemijom. **Zaključak.** Fizička aktivnost izaziva i povećava nivo oksidativnog stresa samo kod neležanih bolesnika sa blagom hipertenzijom i aterogenim lipidnim profilom. Dobijeni rezultati ukazuju na potrebu normalizacije lipidnog profila bolesnika sa netretiranom blagom hipertenzijom u cilju sprečavanja lipidne peroksidacije u uslovima akutnog fizičkog naprezanja.

Ključne reči:
kardiovaskularne bolesti; faktori rizika; vežbanje; hipertenzija; hiperlipidemija; holesterol; spirometrija.

Introduction

Exercise can positively affect risk factors that are associated with cardiovascular disease such as diabetes mellitus, obesity, increased plasma lipids, hypertension, and endothelial dysfunction¹. However, the mechanisms by which exercise reduces atherogenic risk remain unknown. It is known that acute physical exercise-induced oxidative stress could promote plasma oxidation of circulating LDL and its clearance by the liver²⁻⁴. One notable factor in the development of arteriosclerosis is OxLDL, a marker of oxidative stress⁵. Moreover, studies showed that exercise could also induce antioxidant enzymes in different tissues: heart, liver, blood or muscle^{6,7}. This induction of antioxidant enzymes would not only minimize oxidative damage but also reduce the generation of oxidants *in situ*. Exercise-induced plasma oxidative stress could be responsible for the prevention of arteriosclerosis by stimulating arterial antioxidant response. There is some evidence that adequate physical training may increase antioxidant defenses of the body, which is explained by the adapted response of exercise. These observations alerted us to the possibility that extracellular oxidative stress could be potentially beneficial for arteriosclerosis through the induction of arterial antioxidant response^{8,9}.

Limited information is available on the relationships between physical activity and oxidative status grade in untreated mild hypertensive patients. The aim of this study was to investigate effects of acute exercise (cardiopulmonary exercise cycle ergometer test) on atherogenic lipids in untreated mild hypertensive patients with or without hypercholesterolemia, and normotensive subjects with or without hypercholesterolemia.

Methods

The patients included in the study were selected from an outpatient list of the Endocrinology and Cardiology Department, University Clinical Centre "Dr Dragiša Mišović", Belgrade, Serbia. The study population consisted of 85 untreated mild essential hypertensive patients clinically diagnosed according to the criteria of VII Joint National Com-

mittee¹⁰. The study group was divided into two subgroups: hypertensive hypercholesterolemic (n = 35), and hypertensive normocholesterolemic (n = 50). All the subjects were admitted to the study if they were not on any medication or antioxidant therapy at the time of their participation in the study, they drank alcohol less than once a week but only small amount, they had not been involved in any regular physical activity for at least a year, and they had never smoked or taken birth control pills. Exclusion criteria were previously treated essential hypertension, cardiovascular disease (myocardial infarction, angina pectoris, stroke, intermittent claudication, and aortic disease), body mass index (BMI) > 30 kg/m², diabetes mellitus, chronic obstructive lung disorder, acute or chronic inflammatory disease, immunological disease, history or the presence of neoplastic disease, or severe renal failure. Secondary hypertension was excluded by means of clinical and biochemical assessment. Coronary heart disease was excluded on the basis of clinical history, electrocardiography (ECG), and echocardiography. The control group included 35 normotensive subjects divided into two subgroups: normotensive hypercholesterolemic (n = 20) and normotensive normocholesterolemic (n = 55). The same exclusion criteria were applied to the control group.

The study protocol was approved by the local Ethics Committee. Informed consent was obtained from each subject.

After overnight fasting blood samples were drawn for the determination of serum values of lipids. Blood samples were withdrawn into heparinized tubes from a cubital vein before and 30 minutes after to measure lipid parameters. Triglycerides and total cholesterol were measured by enzymatic colorimetric methods. High-density lipoprotein (HDL) cholesterol was measured after precipitation of LDL and very low-density lipoprotein (VLDL) by phosphotungstic acid (Serbolab). LDL cholesterol was calculated using the Friedewald formula¹¹. C-reactive protein (CRP) was measured using hemiluminiscent methods (Immulate – DPC). OxLDL was determined by a commercially available sandwich ELISA (Mercodia AB, Uppsala, Sweden).

The patients did exercises on a cycle ergometer (Jaeger Oxycon Delta ER - 900) after four minutes of warming-up and then with a progressively increased load (25W increments each three minutes) up to the symptom limitation. Accurate monitoring of clinical signs and electrocardiogram for arrhythmias and ischemic changes such as ST significant depression or T-wave changes were carried out during exercise and recovery time. There was breath by breath gas exchange (O_2 uptake and CO_2 output) and spirometric analysis during exercise and recovery time. This testing allowed determination of exercise capacity, peak heart rate, and ventilation per minute (VE), peak oxygen uptake (pVO_2) and exercise time (ET). Amount of oxygen (VO_2) was defined as the highest VO_2 made at rest and during exercise testing without requirement to reach additional VO_2 .

The obtained values were expressed as means \pm SD. The data were analyzed with Statistical Package for the Social Sciences Program - version 10 (SPSS) or Windows software. Comparisons between groups in clinical, biochemical characteristics were performed using the one-way ANOVA methods. Bivariate analysis of the associations between each risk factor and oxidative parameters was performed with Pearson's correlation coefficient. Statistical significance was considered at $p < 0.05$.

Results

Clinical characteristics of the participants are shown in Table 1. Biochemical parameters of the hypertensive participants of the study before and after the acute exercise test are shown in Table 2. The value of OxLDL was significantly higher in hypertensive patients with atherogenic lipid profiles in basal condition, compared with the hypertensive patients without atherogenic lipid profiles and controls. We showed significantly higher levels of OxLDL after the acute exercise only in hypertensive hypercholesterolemics ($p < 0.001$). In basal condition the levels of CRP were also significantly higher ($p < 0.001$) in hypertensive hypercholesterolemic group. Changes of other lipids after the exercise were not significantly different in the hypertensive group ($p > 0.05$).

Biochemical parameters of the normotensive participants of the study before and after acute exercise test are shown in Table 3. In basal condition the levels of CRP were also significantly higher ($p < 0.001$) in the normotensive hypercholesterolemic group. Changes of other lipids after the exercise were not significantly different in the normotensive group ($p > 0.05$).

Table 1

Clinical characteristics of patients before the exercise

Parameter	Hypertensive patients		Normotensive patients	
	hypercholesterolemics (n = 35)	normocholesterolemics (n = 50)	hypercholesterolemics (n = 20)	normocholesterolemics (n = 35)
Age (years), $\bar{x} \pm SD$	52 \pm 3.5	48 \pm 3.5	49 \pm 5.5	46 \pm 2.5
Female/male (n)	25/10	35/15	15/5	20/15
Body mass index (kg/m ²), $\bar{x} \pm SD$	23.45 \pm 1.8	23.30 \pm 1.5	23.80 \pm 1.3	23.18 \pm 1.4
Systolic blood pressure (mmHg), $\bar{x} \pm SD$	144.3 \pm 8.3* [†]	139.3 \pm 6.7* [†]	116.0 \pm 5.2	113.8 \pm 5.5
Diastolic blood pressure (mmHg), $\bar{x} \pm SD$	94.4 \pm 11.3* [†]	92.9 \pm 11.1* [†]	75.5 \pm 9.0	75.1 \pm 8.3

* $p < 0.001$ values statistically significantly different from normotensive hypercholesterolemic patients; [†] $p < 0.001$ values statistically significantly different from normotensive normocholesterolemic patients

Table 2

Biochemical parameters ($\bar{x} \pm SD$) of hypertensive patients before and after the exercise

Parameters	Hypertensive patients			
	hypercholesterolemics		normocholesterolemics	
	before exercise	after exercise	before exercise	after exercise
TC (mmol/L)	6.48 \pm 0.42	6.66 \pm 0.75	5.76 \pm 0.72	5.89 \pm 0.84
HDL-C (mmol/L)	1.10 \pm 0.23	1.11 \pm 0.24	1.18 \pm 0.37	1.20 \pm 0.39
LDL-C (mmol/L)	4.28 \pm 0.54	4.47 \pm 0.63	3.81 \pm 0.62	3.86 \pm 0.63
TG (mmol/L)	1.80 \pm 0.47	1.92 \pm 0.52	1.37 \pm 0.40	1.57 \pm 0.50
TC: HDL-C ratio	6.19 \pm 1.23	6.35 \pm 1.18	5.26 \pm 1.66	5.37 \pm 1.61
LDL-C: HDL-C ratio	4.14 \pm 1.04	4.09 \pm 0.79	3.44 \pm 1.25	3.42 \pm 1.19
TG: HDL-C ratio	1.75 \pm 0.63	1.87 \pm 0.53	1.33 \pm 0.68	1.49 \pm 0.68
OxLDL (IU/L)	90.47 \pm 15.31	105.94 \pm 14.17*	85.56 \pm 18.19 [†]	87.93 \pm 16.07
CRP (mg/ml)	2.57 \pm 1.23		1.81 \pm 1.06 [‡]	

TC = total cholesterol; HDL-C = HDL cholesterol; LDL-C = LDL cholesterol; TG = triglyceride; OxLDL = oxidized LDL cholesterol; CRP = C-reactive protein; * $p < 0.001$ values statistically significantly different after exercise; [†] $p < 0.001$ values statistically significantly different from hypertensive hypercholesterolemics in basal condition; [‡] $p < 0.001$ values statistically significantly different from hypertensive hypercholesterolemics in basal condition

Table 3

Parameters	Normotensive patients			
	hypercholesterolemics		normocholesterolemics	
	before exercise	after exercise	before exercise	after exercise
TC (mmol/L)	6.20 ± 0.93	6.56 ± 1.28	5.47 ± 0.61	5.50 ± 0.76
HDL-C (mmol/L)	1.11 ± 0.33	1.18 ± 0.42	1.21 ± 0.33	1.24 ± 0.36
LDL-C (mmol/L)	4.20 ± 0.67	4.29 ± 0.96	3.63 ± 0.65	3.75 ± 0.84
TG (mmol/L)	1.82 ± 0.69	1.93 ± 0.79	1.35 ± 0.42	1.49 ± 0.51
TC: HDL-C ratio	5.96 ± 1.19	5.78 ± 0.96	4.90 ± 1.47	4.74 ± 1.63
LDL-C: HDL-C ratio	4.24 ± 0.96	3.90 ± 0.98	3.25 ± 1.31	3.03 ± 1.30
TG: HDL-C ratio	1.84 ± 0.70	1.89 ± 0.76	1.27 ± 0.62	1.31 ± 0.70
OxLDL (IU/L)	86.35 ± 15.79	87.90 ± 13.97	77.23 ± 15.85	80.26 ± 15.57
CRP (mg/ml)	2.14 ± 1.16		1.35 ± 0.71*	

TC = total cholesterol; HDL-C = HDL cholesterol; LDL-C = LDL cholesterol; TG = triglyceride; OxLDL = oxidized LDL cholesterol; CRP = C-reactive protein; * $p < 0.05$ values statistically significantly different from normotensive hypercholesterolemics

Only in the hypertensive patients systolic blood pressure ($p < 0.001$) and diastolic blood pressure ($p < 0.05$) were significantly higher during the exercise (Table 4) but not in the normotensive participants (Table 5).

Table 6 shows a comparison of mean values of cardiopulmonary capacity during exercise between the participants. Hy-

and normotensive normocholesterolemics ($p < 0.001$). There were no significant differences between the hypertensive and normotensive subjects for ET and VE.

A significant positive correlation between CRP and OxLDL was found only in normotensive normocholesterolemics ($r = 0.585$; $p < 0.001$). There was no relationship

Table 4

Blood pressure (BP)	Hypertensive patients			
	hypercholesterolemics		normocholesterolemics	
	rest	during exercise	rest	during exercise
Systolic BP	144.3 ± 8.36	206.8 ± 22.9 [†]	139.3 ± 6.75	177.6 ± 13.6 [†]
Diastolic BP	94.4 ± 11.33	103.75 ± 11.89*	92.9 ± 11.15	99.12 ± 6.18*

* $p < 0.05$; [†] $p < 0.001$

Table 5

Blood pressure (BP)	Normotensive patients			
	hypercholesterolemics		normocholesterolemics	
	rest	during exercise	rest	during exercise
Systolic BP	116.0 ± 5.28	125.0 ± 8.64	113.8 ± 5.56	121.9 ± 6.90
Diastolic BP	75.5 ± 9.01	76.6 ± 8.56	75.1 ± 8.35	76.2 ± 5.72

Table 6

Variable	Respiratory and cardiovascular post-exercise data ($\bar{x} \pm SD$) in the participants of the study			
	Hypertensive patients		Normotensive patients	
	hypercholesterolemics	normocholesterolemics	hypercholesterolemics	normocholesterolemics
pVO ₂ (mL/kg/min)	20.54 ± 6.72 [†] * [‡]	23.20 ± 6.58	25.55 ± 5.88	26.84 ± 6.32
VE (L/min)	53.04 ± 13.27	52.96 ± 13.31	52.57 ± 13.50	52.19 ± 13.85
ET (min)	13.47 ± 4.75	13.05 ± 2.58	11.08 ± 1.48	11.05 ± 1.57

pVO₂ - peak oxygen uptake; VE = ventilation per minute; ET-exercise time in minutes; [†] $p < 0.001$ values statistically significantly different from hypertensive normocholesterolemics; * $p < 0.001$ values statistically significantly different from normotensive hypercholesterolemics; [‡] $p < 0.001$ values statistically significantly different from normotensive normocholesterolemics

pertensive hypercholesterolemics had significantly lower values of pVO₂ compared with hypertensive normocholesterolemics ($p < 0.001$), normotensive hypercholesterolemics ($p < 0.001$),

between the blood pressure values and the OxLDL. In the hypertensive hypercholesterolemic patients we found a negative correlation between pVO₂ and OxLDL ($r = -0.473$;

$p < 0.05$). In hypertensive normocholesterolemics pVO_2 was negatively correlated with CRP ($r = -0.478$; $p < 0.05$). In normotensive normocholesterolemics we found a positive correlation between VE and SBP ($r = 0.420$; $p < 0.05$), and a negative correlation between VE and OxLDL ($r = -0.421$; $p < 0.05$), and VE and CRP ($r = -0.561$; $p < 0.05$).

Discussion

Numerous studies documented a relation of increased physical activity with an improved cardiovascular risk factors, especially arterial blood pressure levels¹²⁻¹⁵. It is widely accepted that exercise also affects atherogenic lipid in a positive way, by regulating the metabolism of all lipids in the blood^{16,17}. In this study we evaluated the effect of acute exercise on lipids in the patients with untreated mild hypertension with or without atherogenic lipid profiles. The results of the present study show that OxLDL and CRP were significantly higher in the hypertensive patients with atherogenic lipid profiles in basal condition, compared to the hypertensive patients without atherogenic lipid profiles and normotensive ones. These results fit into the concept that circulating OxLDL is associated with proinflammatory CRPs which are risk factors for development of arteriosclerosis¹⁸. Elevated high-sensitivity CRP levels have been linked to future cardiovascular events as was shown in several cohort studies around the world¹⁹⁻²³. Finally, there are also data relating CRP levels to prevalent hypertension and incident hypertension^{24,25}.

We showed that acute exercise slowly increased total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides, ratio of total cholesterol: HDL cholesterol, ratio of triglyceride: HDL cholesterol in both hypertensive subgroups, while ratio of LDL cholesterol: HDL cholesterol decreased in study groups and controls. We found that OxLDL was statistically significantly increased ($p < 0.01$) after the exercise test only in hypertensive subjects with atherogenic lipid profiles.

Atherogenic lipids, particularly OxLDL, are responsible for a wide range of cellular dysfunctions within the vessel wall²⁶⁻³². The mechanisms by which elevated levels of OxLDL cause an acceleration of atherogenesis are only incompletely understood. Many animal experiments or *in vitro* studies in humans support the hypothesis that increased oxidative stress may be one of the initial triggers of vascular remodeling and elevated blood pressure³³⁻³⁵. In humans, hypertension is considered a state of oxidative stress that can contribute to the development of arteriosclerosis and other hypertension-induced organ damage³⁶⁻³⁷. Oxidative stress

produces oxidative damage in cells, which is caused by an overabundance of reactive oxygen species or a decline in antioxidant ability against them. Oxidized LDL, as a stimulator of oxidative stress, facilitates monocyte-related atherogenesis. Oxidized LDL has been identified as a potent chemoattractant and oxidative stressor of atherogenesis, typically causing endothelium dysfunction and facilitating monocyte emigration into the subendothelial space. Previous studies indicated that acute exercise increases OxLDL-induced suppression of anti-oxidative capacity of monocyte³⁸. However, mild and moderate exercise likely protect individuals against suppression of antioxidative capacity of monocyte by OxLDL. Whether physical exercise influences oxidant production and antioxidative capacity of monocyte mediated by OxLDL remains unclear. It is probable that exercise impacts OxLDL-mediated redox status of monocytes, with reactions determined by exercise intensity.

This study also showed that untreated mild hypertension without atherogenic lipid profiles are not associated with increased lipid peroxidation after an acute exercise³⁹. A possible explanation for these findings is that oxidative stress is not implicated in the pathogenesis of human essential hypertension alone, at least in the early stages, although this study does not rule out the possibility that lipid peroxidation is increased in later stages of essential hypertension.

As we expected, untreated mild hypertensive patients with atherogenic lipid profile had decreased cardiopulmonary capacity during exercise compared with mild hypertensive patients without lipid disturbances and the control. In mild hypertensive patients pVO_2 was negatively correlated with OxLDL and with CRP. These findings may have important implications for exercise training in rehabilitation programs and future studies on hypertensive patients⁴⁰. Lifestyle change is the only intervention recommended for most mild hypertensive.

Conclusion

An acute exercise induces an increase of oxidative stress only in untreated mild hypertensive patients with atherogenic lipid profiles. A therapeutic approach to untreated mild hypertension could be pharmacological correction of atherogenic lipid profiles in order to prevent an increased lipid peroxidation during acute exercise. These results should be completed with effects of regular physical activity on atherogenic lipids in untreated mild hypertensive patients to precise our observations.

REFERENCES

1. Shephard RJ, Balady GJ. Exercise as cardiovascular therapy. *Circulation* 1999; 99(7): 963-72.
2. Leaf DA, Kleinman MT, Hamilton M, Deitrick RW. The exercise-induced oxidative stress paradox: the effects of physical exercise training. *Am J Med Sci* 1999; 317(5): 295-300.
3. Shern-Brewer R, Santanam N, Wetzstein C, White-Welkley J, Price L, Parthasarathy S. The paradoxical relationship of aerobic exercise and the oxidative theory of atherosclerosis. In: Sen CK, Packer L, Hanninen O, editors. *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. New York: Elsevier; 2000. pp. 1053-67.
4. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev* 2008; 88(4): 1243-76.
5. Ishigaki Y, Katagiri H, Gao J, Yamada T, Imai J, Uno K, et al. Impact of plasma oxidized low-density lipoprotein removal on atherosclerosis. *Circulation* 2008; 118(1): 75-83.

6. Kanter MM, Hamlin RL, Umverferth DV, Davis HW, Merola AJ. Effect of exercise training on antioxidant enzymes and cardiotoxicity of doxorubicin. *J Appl Physiol* 1985; 59(4): 1298–303.
7. Atalay M, Sen CK. Physical exercise and antioxidant defenses in the heart. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 874: 169–77.
8. Parthasarathy S, Santanam N, Ramachandran S, Meilbac O. Oxidants and antioxidants in atherogenesis. An appraisal. *J Lipid Res* 1999; 40(12): 2143–57.
9. Wetzstein CJ, Shern-Brewer RA, Santanam N, Green NR, White-Welkley JE, Parthasarathy S. Does acute exercise affect the susceptibility of low density lipoprotein to oxidation? *Free Radic Biol Med* 1998; 24(4): 679–82.
10. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izgo JL Jr, et al. National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003; 289(19): 2560–72.
11. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972 18(6): 499–502.
12. Carnethon MR, Gidding SS, Nehme R, Sidney S, Jacobs DR Jr, Liu K. Cardiorespiratory fitness in young adulthood and the development of cardiovascular disease risk factors. *JAMA* 2003; 290(23): 3092–100.
13. Clarkson P, Montgomery HE, Mullen MJ, Donald AE, Powe AJ, Bull T, et al. Exercise training enhances endothelial function in young men. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33(5): 1379–85.
14. Hambrecht R, Wolf A, Gielen S, Linke A, Hofer J, Erbs S, Schoene N, et al. Effect of exercise on coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000; 342(7): 454–60.
15. Lewis TV, Dart AM, Chin-Dusting JP, Kingwell BA. Exercise training increases basal nitric oxide production from the forearm in hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19(11): 2782–7.
16. Hardman AE. The influence of exercise on postprandial triacylglycerol metabolism. *Atherosclerosis* 1998; 141 Suppl 1: S93–100.
17. Tran ZV, Weltman A, Glass GV, Mood DP. The effects of exercise on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis of studies. *Med Sci Sports Exerc* 1983; 15(5): 393–402.
18. Tabuchi M, Inoue K, Usui-Kataoka H, Kobayashi K, Teramoto M, Takasugi K, et al. The association of C-reactive protein with an oxidative metabolite of LDL and its implication in atherosclerosis. *J Lipid Res* 2007; 48(4):768–81.
19. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002; 347(20): 1557–65.
20. Ridker PM, Silvertonn JD. Inflammation, C-reactive protein, and atherothrombosis. *J Periodontol* 2008; 79(8 Suppl): 1544–51.
21. Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation* 2001; 103(9): 1194–7.
22. Blaschke F, Bruemmer D, Yin F, Takata Y, Wang W, Fishbein MC, et al. C-reactive protein induces apoptosis in human coronary vascular smooth muscle cells. *Circulation* 2004; 110(5): 579–87.
23. Roman MJ, Devereux RB, Schwartz JE, Lockshin MD, Paget SA, Davis A, et al. Arterial stiffness in chronic inflammatory diseases. *Hypertension* 2005; 46(1): 194–9.
24. Lakoski SG, Cushman M, Palmas W, Blumenthal R, D'Agostino RB Jr, Herrington DM. The relationship between blood pressure and C-reactive protein in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *J Am Coll Cardiol* 2005; 46(10): 1869–74.
25. Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM, Ridker PM. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *JAMA* 2003; 290(22): 2945–51.
26. Witztum JL. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* 1994; 344(8925): 793–5.
27. Chisolm GM, Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radic Biol Med* 2000; 28(12): 1815–26.
28. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res* 2000; 87(10): 840–4.
29. Steinberg D, Witztum JL. Is the oxidative modification hypothesis relevant to human atherosclerosis? Do the antioxidant trials conducted to date refute the hypothesis? *Circulation* 2002; 105(17): 2107–11.
30. Rietzschel ER, Langlois M, De Buyzere ML, Segers P, De Bacquer D, Bekaert S, et al. Asklepios Investigators. Oxidized low-density lipoprotein cholesterol is associated with decreases in cardiac function independent of vascular alterations. *Hypertension* 2008; 52(3): 535–41.
31. Imazu M, Ono K, Tadebara F, Kajiwara K, Yamamoto H, Sumii K, et al. Plasma levels of oxidized low density lipoprotein are associated with stable angina pectoris and modalities of acute coronary syndrome. *Int Heart J* 2008; 49(5): 515–24.
32. Matsuura E, Hughes GR, Khamashta MA. Oxidation of LDL and its clinical implication. *Autoimmun Rev* 2008; 7(7): 558–66.
33. Zalba G, San José G, Moreno MU, Fortuño MA, Fortuño A, Beaumont FJ, et al. Oxidative stress in arterial hypertension: role of NAD(P)H oxidase. *Hypertension* 2001; 38(6): 1395–9.
34. Lerman LO, Nath KA, Rodriguez-Porcel M, Krier JD, Schwartz RS, Napoli C, et al. Increased oxidative stress in experimental renovascular hypertension. *Hypertension* 2001; 37(2 Part 2): 541–6.
35. Dobrian AD, Davies MJ, Schriener SD, Lauterio TJ, Previtt RL. Oxidative stress in a rat model of obesity-induced hypertension. *Hypertension* 2001; 37(2 Part 2): 554–60.
36. Redón J, Oliva MR, Tormos C, Giner V, Chaves J, Iradi A. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertension* 2003; 41(5): 1096–101.
37. Berry C, Brosnan MJ, Fennell J, Hamilton CA, Dominiczak AF. Oxidative stress and vascular damage in hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001; 10(2): 247–55.
38. Wang JS, Lee T, Chow SE. Role of exercise intensities in oxidized low-density lipoprotein-mediated redox status of monocyte in men. *J Appl Physiol* 2006; 101(3): 740–4.
39. Cracowski JL, Baguet JP, Ormezzano O, Bessard J, Stanke-Labesque F, Bessard G, et al. Lipid peroxidation is not increased in patients with untreated mild-to-moderate hypertension. *Hypertension* 2003; 41(2): 286–8.
40. Egan BM, Nesbitt SD, Julius S. Prehypertension: should we be treating with pharmacologic therapy? *Ther Adv Cardiovasc Dis* 2008; 2(4): 305–14.

The paper received on October 20, 2008.



Uticaj epiduralne anestezije na prvo i drugo porođajno doba i na novorođenčce

Effects of epidural anesthesia on I and II delivery stage and on a newborn

Neđo Čutura, Vesna Soldo, Aleksandar Ćurković,
Branko Tomović, Tanja Mitrović

Ginekološko-akušerska klinika „Narodni front“
Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Epiduralna anestezija (EA) je najefikasniji način neutralizacije porođajnog bola u savremenom akušerstvu. Cilj ove studije bio je da se ispita uticaj EA na vreme trajanja prvog i drugog porođajnog doba, na učestalost primene vakuma i forcepsa za završavanje porođaja, kao i uticaj na stanje novorođenčeta na rođenju. **Metode.** Ispitivanu grupu sačinjavalo je 360 porodilja porođenih vaginalnim putem u EA korišćenjem anestetika bupivakaina (0,25% ili 0,125%). Bupivakain je dat putem Braunove ili Vigonove kanile promera 18 G (gauge) u visini L2-L3 (drugi ili treći lumbalni epiduralni prostor). Kontrolnu grupu sačinjavalo je 130 porodilja porođenih vaginalnim putem bez EA. Kod obe grupe porođaji su stimulisani oksitocinom. **Rezultati.** Porođaji u ispitivanoj grupi trajali su kraće, ali su 2,5 puta češće završavani vakuumom ili forcepsom u odnosu na porođaje iz kontrolne grupe. Prosečne vrednosti Apgar skora novorođenčadi bile su veće u ispitivanoj grupi multiparih porodilja. Međutim, prosečan Apgar skor svih novorođenčadi iz ispitivane grupe nije se razlikovao od Apgar skora novorođenčadi kontrolne grupe porodilja. **Zaključak.** Primena EA skraćuje trajanje porođaja i ne izaziva neželjene efekte na novorođenčad.

Ključne reči:

anestezija, epiduralna; porođaj; hirurški instrumenti; apgar skala.

Abstract

Background/Aim. Epidural anaesthesia (EA) is the most efficient method of pain reduction and its total elimination during delivery. The aim of this study was to establish an influence of EA on the first and the second part of delivery process, frequency of vacuum extractor and forceps appliance, and the effect of EA on the newborn. **Methods.** A total of 360 patients with EA were analysed at delivery and 130 controls without EA. Both groups had vaginal delivery. In both groups deliveries were stimulated by 10 IU of oxytocin in 500 mL of crystalloid solvent, with 15–20 drops per minute. As anaesthetic, Bupivacain (0,25% or 0,125%) was used by the 18 G catheters Braun and Wigon. Level of application was L2-L3 part of spine. **Results.** The results of this study indicate that deliveries with EA were shorter in duration, but also had much more vacuum extractor and forceps appliance (over 2.5 times) than those without EA. Apgar score was significantly higher in the experimental group with multiple deliveries. However, there was no significant difference between average Apgar score of newborns of patients with EA and that of newborns of patients without EA. **Conclusion.** Application of EA decreases duration of delivery, and has no any adverse effects on newborns.

Key words:

anesthesia, epidural; delivery, obstetric; surgical instruments; apgar score.

Uvod

Epiduralna anestezija (EA) je najefikasniji način za uklanjanje porođajnog bola u savremenom akušerstvu. Za neutralizaciju ili ublažavanje porođajnog bola koriste se i druga analgetička sredstva data intravenski ili intramuskularno, kao i psihofizička priprema. Upotrebu EA prvi put predstavili su Grifonjin i Slejer 1935. godine, a kontinuirana EA uvedena je u praksu 1942. godine¹⁻³.

Eksperimentalno je dokazano da porođajni bol nastaje usled senzitivacije na tri nivoa: periferno na nivou uterusu, centralno na nivou spinalnih nerava i na nivou psiholoških faktora⁴.

Tehnički, epiduralna anestezija sprovodi se tako što se nakon dezinfekcije i izolacije operativnog polja u epiduralni prostor plasira kateter u nivou L-2 (drugog lumbalnog pršljenja) do L-3 (trećeg lumbalnog pršljenja). Taj nivo aplikacije određen je rasporedom nervnih vlakana,

jer su nervna vlakna od T-10 (desetog torakalnog pršljena) do L-1 (prvog lumbalnog pršljena) odgovorna za bol u fazi dilatacije, a nervna vlakna od L-2 do S-4 (četvrtog sakralnog pršljena) odgovorna za bol u fazi ekspanzije. Pri dilataciji grlića od 4 cm, uz postojanje efikasnih kontrakcija materice na 3 min, nakon odobrenja akušera, kroz kateter se aplikuje analgetik. Analgezija nastupa 10–15 minuta nakon aplikacije analgetika i zahvata prvo vlakna za temperaturu i senzibilitet, a na kraju motorna vlakna. U kliničkoj praksi koriste se bolus i kontinuirana tehnika primene analgetika.

Cilj ovog rada bio je da se utvrdi kako epiduralna anestezija utiče na dužinu prvog (I) i drugog (II) porođajnog doba, učestalost završavanja porođaja primenom vakuum ekstraktora (VE) ili forcepsa i stanje novorođenčeta na rođenju, procenjeno petominutnim Apgar skorom.

kod poređenja vremena porođaja, pri čemu je normalna raspodela vremena potvrđena testom po Kolmogorov Smirnovu. Kod poređenja učestalosti upotrebljen je Pirssov χ^2 test.

Rezultati

Primenom EA kod 98% porodilja ispitivane grupe postignuto je potpuno obezbojavanje ili neutralizacija porođajnog bola. Oko 2% porodilja žalile su se da osećaju bol i dalje kao i pre aplikacije EA.

U odnosu na paritet porodilja, nađeno je da su prvotrotke (primipare - PP) nešto češće zastupljene u ispitivanoj nego u kontrolnoj grupi, ali ta razlika nije bila statistički značajna ($\chi^2 = 1,741$; $df = 1$; $p > 0,05$) što je prikazano u tabeli 1.

Tabela 1

Struktura ispitivane i kontrolne grupe porodilja po paritetu

Paritet	Ispitivana grupa		Kontrolna grupa		Ukupno	
	Broj	%	Broj	%	Broj	%
Primipare	215	59,8	630	55,8	360	100,0
Multipare	145	40,2	500	44,2	1130	100,0

Metode

U 2005. godini u Ginekološko-akušerskoj klinici „Narodni front“ bilo je ukupno 6 915 porođaja, od čega je 1 461 (21,13%) završeno carskim rezom. U epiduralnoj anesteziji porođena je 1 321 (19,1%) porodilja. Ispitivanu grupu sačinjavalo je 360 porodilja koje su se porodile vaginalnim putem u EA. Kontrolnu grupu sačinjavalo je 1 130 porodilja porođenih vaginalnim putem bez EA. Sve porodilje iz obe grupe ispunjavale su kriterijum porođaja započetog spontano i primanja stimulacije u toku porođaja, 10 I.J. oksitocina u 500 mL kristaloidnog rastvora, intravenski (*iv*), sa prosečnim brojem kapi 15–20/min.

Iz analize bile su isključene porodilje porođene carskim rezom, bilo da jesu ili nisu primile EA. Za izvođenje EA korišćeni su kateteri od 18 gauge (G), marke Braun ili Vigon. Kao anestetik primenjen je 0,25 % rastvor bupivakaina za bolus tehniku i 0,125 % rastvor bupivakaina za kontinuiranu tehniku aplikacije.

Nakon dezinfekcije i izolacije operativnog polja, a potom lokalne infiltracije sa 4 mL 2% rastvora lidokaina, pristupilo se identifikaciji epiduralnog prostora u nivou L-2 i L-3, tehnikom gubitka otpora. Kroz iglu kojom je identifikovan prostor plasiran je kateter u dužini 2–3 cm, koji je služio za aplikaciju anestetika.

Epiduralna anestezija kod porodilja ispitivane grupe primenjena je radi neutralizacije porođajnog bola, isključivo na zahtev porodilje koji je overen potpisom. Porodilje su prethodno bile upoznate sa pozitivnim i neželjenim efektima EA, i mogućim komplikacijama.

Za statističku obradu podataka upotrebljeni su Studentov *t*-test i Fišerova analiza varijanse za proporcije

U toku primene EA dolazilo je brzo do efekta ubrzanja dilatacije grlića materice, što je imalo za posledicu skraćanje trajanja porođaja.

U ispitivanoj grupi porodilja najveći broj porođaja (86,1%) trajao je do 6 h, a kod preostalih 13,9% do 8 h. U kontrolnoj grupi 77,51% porođaja trajalo je do 6 h, 17,16% porođaja do 8 h, a preostalih 5,3% preko 8 h. Broj porodilja u ispitivanoj grupi sa porođajima koji su trajali do 6 sati bio je značajno veći nego u kontrolnoj grupi ($F = 6,855$; $df = 2$; $p < 0,01$). Prosečno trajanje porođaja kod porodilja ispitivane grupe bilo je 4,9 sati, a kod porodilja kontrolne grupe 6,2 sata, što predstavlja statistički visoko značajnu razliku ($t = 5,284$; $df = 1488$; $p < 0,01$). Ovi rezultati prikazani su u tabeli 2.

Što se tiče načina završavanja porođaja rezultati prikazani u tabeli 3 pokazuju da je u ispitivanoj grupi 3,05% porođaja završeno primenom VE ili forcepsa, dok je u kontrolnoj grupi taj procenat bio 1,23%. Ova razlika statistički je značajna ($\chi^2 = 4,416$; $df = 1$; $p < 0,05$). Primena VE ili forcepsa u završavanju porođaja 2,5 puta češća je kod porođaja sa EA, nego kod porođaja bez EA.

U tabeli 4 prikazana je vitalnost novorođenčadi procenjena Apgar skorom pet minuta nakon porođaja. Prosečne vrednosti Apgar skora nisu pokazale postojanje statistički značajne razlike u okviru ispitivane grupe između novorođenčadi porodilja PP i MP (multipare) ($t = 0,881$; $df = 368$; $p > 0,05$). Prosečne vrednosti Apgar skora pokazale su postojanje statistički visoko značajne razlike u okviru kontrolne grupe između novorođenčadi porodilja PP i MP ($t = 6,107$; $df = 1128$; $p < 0,01$) a ova razlika je posledica većih vrednosti Apgar skora kod novorođenčadi porodilja PP.

Tabela 2

Prosečno trajanje porođaja kod ispitivane i kontrolne grupe porođilja							
Grupa	Paritet	Trajanje porođaja (sati)					Ukupno
		< 2	2–4	4–6	6–8	> 8	
Ispitivana	Primipare	8	27	135	45	0	215
	Multipare	20	45	75	5	0	145
	Broj	28	72	210	50	0	360
	%	7,8	20,0	58,4	13,8	0,0	100,0
		86,2*			13,8	0,0	100,0
Kontrolna	Primipare	0	40	360	180	50	630
	Multipare	0	286	190	14	10	500
	Broj	0	326	550	194	60	1130
	%	0,0	28,8	48,7	17,2	5,3	100,0
		77,5			17,2	5,3	100,0

* $p < 0,01$ prema kontrolnoj grupi

Tabela 3

Učestalost primene vakuuma ekstraktora (VE) i forcepsa kod porođilja			
Grupa	Broj porođaja (%)		
	Sa VE i forcepsom	Bez VE i forcepsa	Ukupno
Ispitivana	11 (3,1)	349 (96,9)	360 (100,0)
Kontrolna	14 (1,2)	1 116 (98,8)	1130 (100,0)

Tabela 4

Vrednost Apgar skora na rođenju kod ispitivane i kontrolne grupe porođilja

Grupa	Paritet	Statistički parametri			
		Broj	\bar{x}	SD	CV (%)
Ispitivana	Primipare	215	9,20	0,10	1,10
	Multipare	145	9,35*	0,10	1,06
Kontrolna	Primipare	630	9,30	0,60	6,50
	Multipare	500	8,80	0,90	10,20

* $p < 0,01$ prema kontrolnoj grupi

Nađena je statistički značajno veća prosečna vrednost Apgar skora novorođenčadi porođilja MP iz ispitivane grupe u odnosu na kontrolnu grupu ($t = 8,193$; $df = 643$; $p < 0,01$).

Međutim, prosečne vrednosti Apgar skora svih novorođenčadi nisu se statistički značajno razlikovale između ispitivane i kontrolne grupe ($t = 1,977$; $df = 1 488$; $p > 0,05$).

Diskusija

Naša prva iskustva nisu jasno ukazivala na povoljan učinak EA na skraćivanje trajanja porođaja. Ovo se može objasniti nedovoljnim iskustvom ekipe akušera i anesteziologa i davanjem prekomernih doza anestetika koje su dovelo do blokade ne samo senzitivnih, već i motornih vlakna, što je značajno uticalo na intezitet materičnih kontrakcija pa, samim tim, i na efekte porođaja koje one proizvode, sa čime se slažu i drugi autori⁵.

Intenzivno vođen porođaj u EA od strane akušera i anesteziologa podrazumeva ostvarenje dobre komunikacije sa

porođiljom, tako da ordinirana doza neutrališe bol, ali se zadrži blagi osećaj kontrakcija.

Ovakav stepen analgezije nije jednostavno ostvariti, pogotovo ako je ekipa lekara nedovoljno iskusna⁶.

U ispitivanoj grupi bila je 2,5 puta češća primena vakuuma ekstraktora i forcepsa u završavanju porođaja nego u kontrolnoj grupi, što se slaže sa nalazima drugih autora⁷.

Ovo povećanje primene vakuuma ekstraktora i forcepsa pri završavanju porođaja može se delimično objasniti slabijim naponima zbog negativnog efekta EA na napone, a delom zbog nepripremljenosti porođilja za drugu fazu porođaja.

Prosečne vrednosti petominutnog Apgar skora kod novorođenčadi u ispitivanoj grupi bile su nešto veće nego u kontrolnoj grupi, ali te razlike nisu bile značajne. Ispoljena depresija respiratornog centra novorođenčeta nakon porođaja obično je posledica slabije koordinacije između akušera i anesteziologa ili neočekivano brzog završetka porođaja nakon davanja poslednje doze anestetika. Da bi se to izbeglo, preporučuje se kontinuirana tehnika EA, jer se tom tehnikom izbegava povremeni pojačan stres na organizam majke i plo-

da koji se javlja kod bolus tehnike, a i doza anestetika za održavanje daleko je manja⁸.

Uvek bi trebalo imati na umu da metabolizam svake porodilje nije isti, pa ni reakcija na istu dozu datog leka. Neonatološka istraživanja pokazala su statistički značajno ređe prisustvo hipoksične encefalopatije kod novorođenčadi iz porođaja sa EA, u odnosu na novorođenčad iz porođaja bez EA. Objašnjenje ovoga leži u eliminaciji straha, te izostanku hiperventilacije i acidoze⁹⁻¹¹.

Zaključak

Primena EA u porođaju skraćuje vreme trajanja porođaja. Češće završavanje porođaja vođenih u EA primenom vakuuma ili forcepsa ne umanjuje korist od EA, ako je intervencija bila pravovremena i stručno izvedena. Veće prosečne vrednosti Apgar skora kod novorođenčadi iz porođaja sa EA pokazuju da EA nema štetno dejstvo na stanje novorođenčeta na rođenju.

L I T E R A T U R A

1. Hill JG, Presito J, Valderada J. Epidural analgesia in breech delivery. In: *Doughty A*. Epidural analgesia in obstetrics. London: Medical Books; 2006.
2. Fuster JJ, Krustner W, Clammer F. Epidural Analgesia for Delivery of Infants Weighing Less than 2500 grams. In: *Doughty A*. Epidural Analgesia in Obstetrics. London: Medical Books; 2005. p. 70–6.
3. Johnson C, Oriol N. The role of epidural anesthesia in trial of labor. *Reg Anesth* 1990; 15(6): 304–8.
4. Kojić Z, Kojić D. Physiology of labour pain – news. *Medicinska istraživanja* 2004; 38(3): 88–9. (Serbian)
5. Cheek TG, Gutsche BB. Epidural analgesia for labor and vaginal delivery. *Clin Obstet Gynecol* 1987; 30(3): 515–29.
6. Moir DD, Willocks J. Management of incoordinate uterine action under continuous epidural analgesia *Br Med J* 1967; 3(5562): 396–400.
7. Crawford J S. Observations on one thousand epidural blocks given in labour. In: *Doughty A*, editor. Proceedings of the symposium on epidural analgesia in obstetrics. *Anesth Analg* 1984; 63: 421–28.
8. Abboud TK, Afrasiabi A, Sarkis F, Dastarian F, Nagappala S, Noueibed R, et al. Continuous infusion epidural analgesia in parturients receiving bupivacaine, chloroprocaine, or lidocaine-maternal, fetal, and neonatal effects. *Anesth Analg* 1984; 63(4): 421–8.
9. *Doughty A, Scheridan P, Neuhausson W*. Analgesia: indications and contraindications. In: *Doughty A*. Epidural analgesia in obstetrics. London: Medical Books; 2006.
10. Moir DD, Neumann B, Johnson M, Kalwell A. Indications for epidural analgesia with special reference to the Management of Preeclampsia. *Epidural Analgesia in Obstetrics*. London: HK Lewis and Co Ltd; 2002. p. 99–107.
11. Alahubta S, Räsänen J, Jouppila R, Jouppila P, Kangas-Saarela T, Hollmen AI. Uteroplacental and fetal haemodynamics during extradural anaesthesia for caesarean section. *Br J Anaesth* 1991; 66(3): 319–23.

Rad primljen 11. XI 2008.



Agregacija trombocita, disfunkcija endotela i akutni infarkt miokarda

Thrombocyte aggregation, endothelial dysfunction and acute myocardial infarction

Predrag Pavlović, Dragan Tavčioski, Emina Stamenković

Vojnomedicinska akademija, Klinika za kardiologiju, Beograd, Srbija

Ključne reči:

trombociti; agregacija; krv, koagulacija; endotel; arterioskleroza; faktori rizika; infarkt miokarda; motorna aktivnost.

Key words:

platelet aggregation; blood coagulation; endothelial cells; atherosclerosis; risk factors; myocardial infarction; motor activity.

Trombociti – funkcija i aktivacija

Trombociti su ovalne ili okrugle pločice prečnika oko 2 μm koji nastaju fragmentacijom megakariocita u koštanoj srži, jetri, slezini i plućima, odakle se otpuštaju u krvotok. Najznačajnija fiziološka funkcija trombocita jeste aktivno učestvovanje u svim fazama hemostaze i to kako fizičko-hemijskim procesima, tako i oslobađanjem i aktivnošću posebnih trombocitnih činilaca. Pored toga, oni imaju ulogu i u procesima održavanja integriteta endotela, fagocitoze, detoksikacije organizma i transportu materija¹⁻³. Endotelne ćelije u normalnim okolnostima poseduju mehanizme kojima se sprečava adhezija, aktivacija i agregacija trombocita¹⁻⁴. To su dejstvo elektrostatskih sila, ali i sinteza medijatora od strane intaktnog endotela kao što su azot oksid (NO) – endotelni relaksirajući faktor (*endothelial derived relaxing factor*), prostaciklin I₂ (PGI₂) i enzim ADP-aza^{3,4}. U endotelnim ćelijama sintetiše se i trombocitni aktivirajući faktor – (*platelet activated factor* – PAF), koji ostaje vezan za membranu endotela i stimuliše aktivaciju trombocita⁵. Adheziju trombocita za neoštećen endotel sprečava i delovanje aktivnog mehanizma, čije funkcionisanje zahteva stalnu sintezu dovoljne količine PGI₂. Delovanjem ciklooksigenaze iz arahidonske kiseline nastaje labilni ciklični endoperoksid - prostaglandin G₂ (PG₂), a iz njega posredstvom prostaglandin-hidroperoksidaze, prostaglandin H₂ (PGH₂). Antiagregacioni efekat PGI₂ ispoljava se delovanjem na metabolizam trombocita. On stimuliše sintezu cikličnog adenozin monofosfata (cAMP) iz adenozin trifosfata (ATP) i redukuje intracelularnu koncentraciju jona Ca²⁺ (1, 3, 4). Sintaza NO takođe inhibira funkciju trombocita. S obzirom na to da se i NO i PGI₂ brzo inaktiviraju, sinteza enzima ADP-aze verovatno je najvažnija zaštita endotela od aktiviranih trombocita⁵. Zahva-

ljujući navedenim mehanizmima, trombociti ne adheriraju za zidove zdravog krvnog suda, niti ih aktivira vaskularni endotel. U uslovima disfunkcije endotela, npr. kod pušača, dijabetičara, hipertoničara, ili kod osoba sa hiperholesterolemijom, dolazi do smanjene sinteze inhibitora agregacije trombocita, što sa oštećenjem endotela (mehaničkim, hemijskim, imunološkim mehanizmima) dovodi do interakcije trombocita sa endotelom i subendotelnim strukturama i posleđične aktivacije, adherencije i agregacije trombocita⁵⁻⁸.

Snažni induktori agregacije trombocita (kolagen, trombin) stvaraju signalne molekule u količini koja je dovoljna za podsticanje kompletnog odgovora trombocita. Slabi induktori (ADP, adrenalni, tromboksan A₂ – TXA₂) izazivaju promenu oblika ćelije i/ili ekspresiju fibrinskih receptora, te delimično aktiviraju trombocite⁹. Ova promena oblika trombocita povećava kontaktnu površinu između trombocita i zida krvnog suda sprečavajući izmeštanje trombocita sa površine krvnog suda.

Tokom promene oblika trombocita dolazi i do ekspresije i strukturnih promena specifičnih trombocitnih receptora među kojima je jedan od najvažnijih integrin GP IIB-IIIa koji na jednom trombocitu ima oko 50 000 kopija. Promena ovih receptora od ligand-nereagujućih (nevezujućih) u ligand reagujuće, omogućuje vezivanje molekula fibrinogena sa stvaranjem mostova između trombocita, što podstiče njihovu dalju agregaciju^{9,10}. Nakon aktivacije trombocita sledi sekretorni odgovor, odnosno dolazi do degranulacije trombocita i oslobađanja supstanci iz organela. U gustim granulama nalaze se (ADP, TXA₂) aktivatori trombocita, ATP, guanozin difosfat (GDP), guanozin trifosfat (GTP), serotonin (izaziva snažnu vazokonstrikciju), joni Ca²⁺ i Mg²⁺¹¹. Trombociti iz svojih granula oslobađaju i hemokine, interleukin-8 (IL-8) i RANTES (*regulated on activation normal T cell expressed*

and secreted) koji dovode do hemotakse monocita, neutrofila i T-limfocita¹². Anjonski fosfolipidi, koji su na neaktivnim trombocitima smešteni na unutrašnjoj strani membrane, u toku aktivacije prelaze na spoljašnju stranu i predstavljaju odličnu podlogu za aktivaciju sistema koagulacije, jer se za njih vezuju kofaktori koagulacije Va i VIIa koji su vrlo značajni u aktivaciji tenaza i protrombinaza kompleksa. Aktivacijom trombocita na mestu oštećenja intime postiže se velika koncentracija pomenutih faktora koji učestvuju u koagulaciji i inhibiciji antikoagulantnog i fibrinolitičkog sistema. Tako nastaje jedno hiperkoagulabilno stanje koje pogoduje nastanku tromba.

Važno je napomenuti da se proces aktivacije, adhezije i agregacije trombocita odigrava paralelno sa aktivacijom sistema koagulacije, s tim što u arterijskoj cirkulaciji dominira proces aktivacije trombocita, a u venskoj, proces koagulacije. Aktivirani trombociti, takođe, deluju na endotel, ali i na leukocite i glatke mišićne ćelije što objašnjava njihovu ulogu kako u procesu tromboze, tako i procesu ateroskleroze¹³.

Endotel – funkcija i disfunkcija

Endotel je jednoslojni ćelijski pokrov, koji funkcioniše kao metabolički veoma aktivna i visokoselektivna, propustljiva membrana. Normalna funkcija endotela omogućena je mnogobrojnim aktivnim principima koji zajedno doprinose vazodilatacijskoj, antriagregacijskoj, antikoagulantnoj, profibrinolitičkoj, antiproliferativnoj i antioksidativnoj ulozi endotelne ćelije. Mnogobrojni faktori rizika od razvoja ateroskleroze, zajedno sa oštećenjem endotela, dovode do aktivacije i disfunkcije endotelne ćelije koja vodi ka aterosklerozi i aterotrombozi¹⁴. Normalne endotelne ćelije sintetišu s jedne strane NO i PGI₂ koji su snažni vazodilatatori, a sa druge strane endotelin-I, PAF, angiotenzin II (AT II) i serotonin koji su snažni vazokonstriktori. Pored vazodilatatorne uloge, NO ima antiinflamatornu (sprečava ekspresiju adhezionih molekula na membrani endotelne ćelije i interakciju sa leukocitima, sprečava sintezu proinflammatoryh citokina od strane endotelne i glatkomišićne ćelije GMC), antiproliferativnu ulogu (sprečava sintezu nekih faktora rasta) i sprečava agregaciju trombocita.

Vezivanjem za angiotenzin receptore tip 1 (AT-1), AT II reguliše tonus krvnih sudova (stimuliše stvaranje AT-1 receptora, oslobađa endotelin, smanjuje dejstvo NO), deluje prokoagulantno (pojačava aktivaciju, adheziju i agregaciju trombocita, stimuliše produkciju inhibitora aktivacije plazminogena-1 – PAI-1), proinflammatoryh (indukuje ekspresiju adhezionih molekula i citokina u endotelnim ćelijama, GMC i makrofagima), a stimulacijom sinteze faktora rasta i matriksnih metaloproteinaza dovodi do migracije i proliferacije GMC i remodeliranja tkiva. Aktivacijom AT-1 receptora dolazi i do aktivacije protein kinaze C, kao i aktivacije enzima nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH) oksidaze i stvaranja reaktivnih kiseoničnih radikala (ROS)¹⁵⁻¹⁹. Stimulacijom AT-2 receptora, koji se uglavnom nalaze na fibroblastima, AT II ispoljava potencijalno korisne efekte, odnosno dovodi do vazodilatacije, podsticanja apoptoze i inhibicije proliferacije ćelija²⁰. Oštećenjem endotela, umesto vazodilatacije krvnog suda dolazi do vazokonstrukcije posredovane endotelinom-1, AT II i

PAF. Međutim, oštećenjem endotela i dejstvom mnogobrojnih faktora rizika, dolazi do ekspresije adhezionih molekula na membrani endotelne ćelije i sinteze proinflammatoryh citokina i hemokina, što zajedno pokreće inflamatornu reakciju koja je u osnovi ateroskleroze i aterotromboze^{21,22}. Endotelne ćelije u aktiviranom stanju sintetišu proinflammatoryh citokine, IL-1 i IL-6, koji su glavni pokretači sinteze angiotenzinogena, C reaktivnog proteina (CRP) i fibrinogena u jetri, dovode do ekspresije adhezionih molekula – *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1), *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1), E-selektina, i sinteze hemokina u endotelnim ćelijama, dovode do sinteze faktora rasta, proteina ekstracelularnog matriksa kao i enzima koji učestvuju u remodeliranju ekstracelularnog matriksa²³⁻²⁶. Zbog ekspresije adhezionih molekula i sinteze proinflammatoryh citokina i hemokina, endotelne ćelije imaju značajnu ulogu u pokretanju i održavanju inflamatorne reakcije u procesima ateroskleroze^{27,28}. Destrukcijom endotelne ćelije dolazi do oslobađanja tzv. tkivnog faktora (TF) koji zajedno sa drugim faktorima koagulacije (VII, IX, X) i fosfolipidima ćelijskih membrana, pokreće proces koagulacije²⁹. Glavni fiziološki inhibitor TF i koagulacionog puta TF je inhibitor puta tkivnog faktora – *tissue factor pathway inhibitor* (TFPI), koji se, osim u endotelnim, sintetiše i u trombocitima, GMC, fibroblastima. Inhibitor puta tkivnog faktora je protein vezan za membranu endotela, koji stvara kompleks sa TF, aktiviranim VII i X faktorom koagulacije, dovodeći do njihove ireverzibilne inaktivacije i na taj način ispoljava antikoagulantno dejstvo³⁰. Membrana endotelne ćelije je i mesto vezivanja receptora za protein C i trombomodulin koji vezivanjem trombina za sebe, dovodi do njegovog pretvaranja u aktivator proteina C. Protein C, inače, sintetiše se u jetri (u prisustvu vitamina K), bubrezima, muškim reproduktivnim organima, a uz pomoć receptora za protein C i trombin trombomodulin kompleksa aktivira se i ispoljava svoja antikoagulantna, ali i profibrinolitička svojstva. Delujući na Va i VIIa faktor koagulacije, koji su značajni u tenazi i protrombinazu kompleksu stvaranja trombina, protein C ispoljava antikoagulantna, a inhibicijom PAI-1 i trombinom aktiviranog inhibitora fibrinolize (TAFI) ispoljava i svoje profibrinolitičko dejstvo³¹.

Patofiziologija ateroskleroze

Ateroskleroza je dugotrajan i progresivan patološki proces lokalizovan u intimi arterijskih krvnih sudova i predstavlja osnovu patofizioloških zbivanja karakterističnih za mnoga kardiovaskularna, cerebrovaskularna i periferna vaskularna oboljenja. Aterosklerotske lezije, čije formiranje počinje još tokom prvih godina života, posledica su dinamičkog uzajamnog dejstva poligeneske osnove, imunoloških, metaboličkih i hemostaznih procesa koji su potencirani mnogobrojnim faktorima rizika. Faktore rizika od nastanka ateroskleroze možemo podeliti na one koji su pod snažnim genetskim uticajem (poremećaj metabolizma lipida, ugljenih hidrata, arterijska hipertenzija, sistemske inflamatorne bolesti, povećan nivo i aktivnost faktora hemostaze) i na faktore spoljašnje sredine (način ishrane, pušenje, nedovoljno unošenje antioksidanata, sedentarni način života, upotreba antikontraceptiva, hronične infekcije, hroničan stres)³². Faktori rizika

za nastanak ateroskleroze, na manje ili više sličan način, dovode do disfunkcije endotela, narušavaju vaskularnu homeostazu i iniciraju inflamatorne procese. Na taj način inflamatorni i hemostazni poremećaji dovode do inicijacije i progresije ateroskleroze. U osnovi inflamatornih procesa je aktivacija protein kinaze C i redoks senzitivnih transkripcionih faktora koji povećavaju ekspresiju gena za enzime oksidativnog stresa, sa stvaranjem ROS, gena za angiotenzin-konvertujući enzim kao i gena koji ekspimiraju adhezione molekule na membrani endotelne ćelije³³. Treba reći da, pored hiperholesterolemije, i arterijska hipertenzija i hiperglikemija dovode do povećane ekspresije glavnog endotelijalnog receptora za oksidirane lipoproteine niske gustine (oxLDL) – LOX-1 receptora³⁴. Dolazi do prevage vazokonstriktornih, proinflamatornih, proagregatornih, prokoagulantnih, proliferativnih i prooksidativnih mehanizama koji udruženo iniciraju promene u zidu arterijskog krvnog suda. Diferenciranjem monocita u makrofage, koji na svojoj membrani takođe imaju LOX-1 receptor, dolazi do preuzimanja i degradacije oxLDL-a, čime se makrofagi pretvaraju u tzv. penaste ćelije. Na ovaj način nastaju inicijalne aterosklerotske lezije, masne pruge³⁴. Endotelne ćelije i makrofagi ponašaju se kao antigen prezentujuće ćelije, dovode do aktivacije T-limfocita koji produkuju IL-1 i faktor tumorske nekroze α (TNF α). Interakcija CD40 na aktiviranim T-limfocitima, endotelu, GMC i CD40L na makrofagima, dovodi do dalje aktivacije endotelne ćelije (sinteza citokina IL-1, IL-6, hemoikina IL-8, monocitnog hemoatraktantnog proteina – MCP-1, RANTES, TF, faktora rasta – *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *fibroblast growth factor* (FGF), *platelet derived growth factor* (PDGF), endotelne metaloproteinaze), monocita i makrofaga (IL-6, TNF α , MCP-1, PAI-I, matriksnih metaloproteinaza – MMP), i GMC (IL-6, MCP-1, PAI-I, TF). Na ovaj način dolazi do progresije stadijuma masne pruge ka kompleksim lezijama³⁵.

Pod uticajem IL-1, TNF α , IL-18, IL-1 β , oxLDL, ROX, dolazi s jedne strane do aktivacije MMP₉, a s druge do aktivacije receptora za trombin PAR-1 i 4 (na membrani trombocita sa produkcijom faktora rasta iz trombocita – PDGF), i PAR-2 na membrani GMC.

Na ovaj način, pod uticajem MMP, dolazi do razgradnje bazalne membrane GMC i njihove migracije u intimu, a PDGF dovodi do njihove proliferacije, stvaranja kolagena i fibrozne kape. Krvarenjem iz neovaskularnih struktura, stvaraju se uslovi za dalji rast plaka i pokretanja procesa aktivacije trombocita unutar plaka. Njihovom degranulacijom, oslobađaju se citokini, TF, PAI-1, PAI-3, XIII faktori koagulacije, fibrinogen, PDGF, TXA₂, serotonin, što dalje stvara uslove za inflamaciju, trombozu *in situ* i proliferaciju GMC s posledičnom destabilizacijom plaka, erozijom i/ili rupturom, a potom i intrakoronarnom trombozom³⁵.

Akutni infarkt miokarda kao posledica ateroskleroze

Akutni infarkt miokarda (AIM) zajedno sa anginom pektoris nestabilnog tipa i iznenadnom srčanom smrću spada u grupu akutnih manifestacija ishemijske bolesti srca - „akutni

koronarni sindromi“, čija je patofiziološka osnova akutna ishemija dela srčanog mišića uzrokovana insuficijentnom arterijskom cirkulacijom³⁶. Najčešći uzrok AIM je ruptura i/ili fisura plaka na terenu ateroskleroze. Pored ovog, AIM može biti uzrokovan traumom koronarnih arterija, koronarnim spazmom, embolijom koronarnih arterija, arteritisom, disekcijom aorte i koronarne arterije, hematološkim poremećajima, kongenitalnim anomalijama koronarnih arterija, usled disproporcije između potrebe za kiseonikom i dopremanja kiseonika ili, pak, bez promena na koronarnim krvnim sudovima. Plakovi podložni rupturi nazivaju se „nestabilnim plakovima“. Oni imaju veliko lipidno nekrotično jezgro bogato tkivnim faktorom, tanku fibroznu kapu i nerazvijenu potku ekstracelularnog matriksa.

Disrupcija (ruptura, erozija ili fisura) nestabilnog aterosklerotskog plaka, dovodi, paralelno, do aktivacije trombocita i koagulacionog sistema, spazma arterijskog krvnog suda sa posledičnom trombozom u epikardnoj koronarnoj arteriji i razvoju akutnog koronarnog sindroma³⁷. Nakon rupture ili erozije plaka dolazi do kontakta između TF koji se nalazi u intimi i VIIa faktora koagulacije koji se nalazi u cirkulaciji. Tkivni faktor je inicijator procesa koagulacije, a sintetišu ga endotelne ćelije i monociti pod uticajem proinflamatornih citokina (IL-6, TNF- α), oxLDL, faktora rasta (FGF, PDGF, EGF), infekcije, i imunih kompleksa. Kompleksu TF VIIa faktor, pridružuju se Xa i Va faktori koji zajedno sa fosfolipidima na ćelijskim membranama i jonima kalcijuma, čine protrombinazu kompleks koji pretvara protrombin u trombin (inicijalna faza). Trombin, potom, dovodi do aktivacije ostalih faktora koagulacije (faza aktivacije faktora koagulacije trombinom). On je kofaktor u tenazi i protrombinazu kompleksu, čiji je krajnji efekat stvaranje velike količine trombina, koji delujući na fibrinogen odvaja fibrinopeptide A i B, pri čemu nastaju fibrinski monomeri (završna faza)³⁸.

Rupturom ili erozijom plaka dolazi do kontakta između trombocita i njihovih agonista (ADP, vWF, kolagen, trombin, trombospondin, laminin itd), adhezije, aktivacije i agregacije trombocita, degranulacije i oslobađanja sadržaja trombocitnih granula. Stvara se hiperkoagulabilno stanje sa dominacijom vazokonstriktorskih, proinflamatornih, prokoagulantnih, proagregatornih, antifibrinolitikih i proliferativnih mehanizama, što zajedno vodi aterosklerozi. Pri eroziji plaka dominantnu ulogu imaju aktivirani trombociti sa stvaranjem neokluzivnih trombocitnih tromba, dok se rupturom plaka pokreću koagulacioni mehanizmi sa stvaranjem okluzivnih fibrinskih tromba³⁸.

Fizičko opterećenje kao uzrok ponovnih ishemijskih događaja

Jedan od važnih faktora rizika koji, posredno, može biti uzrok AIM je i fizička aktivnost. Efekat fizičke aktivnosti zavisi od vrste opterećenja (akutno ili hronično), intenziteta, trajanja, pola i fizičke utreniranosti³⁹. Zdrave osobe, ili osobe sa koronarnom bolešću koje upražnjavaju neki oblik fizičke aktivnosti kroz duži vremenski period, izložene su manjem riziku od akutnih koronarnih događaja. Mnoge studije pokazale su da dozirana fizička aktivnost tokom dužeg vre-

menskog perioda smanjuje disfunkciju endotela, broj i aktivnost trombocita, oksidativni stres na nivou endotela, nivo fibrinogena, vWF, VIII i IX faktora koagulacije, a pojačava aktivnost fibrinolitičkog sistema, što zajedno smanjuje učestalost arterijskih i venskih tromboza^{35,37}. Iako se nagađalo da je to tačno, pre svega na osnovu iskustava kliničara, postoji samo jedno značajno kliničko istraživanje na 1 228 bolesnika sa AIM, koje pokazuje da povećana fizička aktivnost može neposredno prethoditi infarktu, tj. da predstavlja njegov uzrok. To naročito važi za bolesnike koji su prethodno vodili sedentaran način života³⁹. Kod bolesnika sa koronarnom arterijskom bolešću postoji disfunkcija endotela, ali i poremećaj cirkulacije, kako na nivou epikardnih arterija, tako i na nivou mikrocirkulacije. Tokom fizičkog napora dolazi do povećane aktivnosti kateholamina, povećane potrošnje i potrebe miokarda za kiseonikom, što u uslovima smanjenog koronarnog protoka dovodi do hipoksije, anaerobnih metaboličkih uslova i acidoze na nivou miokarda. Sve to zajedno potencira hiperkoagulabilno stanje. Osim toga, akutno fizičko opterećenje dovodi do izraženih promena u hemostazi koje mogu na odgovarajućem terenu koronarne bolesti prouzrokovati i akutni koronarni sidrom. Tokom izražene fizičke aktivnosti dolazi do povećanja broja trombocita, i njihove povećane agregabilnosti, a mogu se detektovati i brojne promene u funkciji trombocitnih receptora čiji se broj i aktivnost značajno povećavaju^{38,39}. Osim promena u trombocitnoj funkciji, izražen fizički stres povećava i aktivnost trombina, tkivnog faktora, kao i VII i VIII faktora koagulacije, a registruje se i povećanje koncentracije i aktivnost markera aktivirane fibrinolize. Odgovor hemostaznog sistema na fizički ili neki drugi oblik stresa veoma je varijabilan, pa se kao što postoji vulnerabilan plak, može govoriti i o „vulnerabilnoj hemostazi“, u kojoj je narušena ravnoteža između proagregatornih i antriagregatornih mehanizama, koagulationog i fibrinolitičkog sistema, kao i brojnih regulatornih mehanizama. Ovaj poremećaj ravnoteže je najizraženiji kod bolesnika sa preležanim AIM, manje kod onih koji nisu imali infarkt, a najmanje kod zdravih osoba³⁹.

Mnogi među faktorima rizika od koronarne arterijske bolesti modifikuju funkciju hemostaznog sistema deluju sinergistički, i zajedno sa fizičkim stresom mogu biti uzrok ponovnih koronarnih događaja. Različiti autori prikazuju različiti stepen uticaja fizičkog stresa na trombocitnu funkciju.

Tako, Ahmadizad i sar.³⁸ zaključili su da tokom fizičke aktivnosti ne dolazi do povećane agregabilnosti trombocita, bez obzira na intenzitet opterećenja, ali da je agregabilnost nakon opterećenja značajno povećana. Ovim nalazima suprotstavljaju se rezultati drugih autora koji navode da u toku umerene fizičke aktivnosti, ali i daljim povećanjem intenziteta, dolazi do pojačane aktivacije trombocita³⁶.

I pored opsežnih istraživanja iz ove oblasti, nema radovala o kliničkom značaju aktivacije trombocita i ostalih hemostaznih sistema kod bolesnika sa koronarnom bolešću, u uslovima različitih oblika stresa, pa se očekuju nova istraživanja u ovoj oblasti.

Zaključak

Akutni infarkt miokarda u razvijenim i srednje razvijenim zemljama jedan je od najčešćih uzroka mortaliteta i morbiditeta, pa poznavanje patofiziologije ateroskleroze i aterotromboze predstavlja najveći izazov savremenoj medicini.

Najčešći uzrok AIM je ateroskleroza epikardnih koronarnih arterija sa posledičnom rupturom i/ili erozijom aterosklerotskog plaka, nastajanjem intrakoronarne tromboze i prekida cirkulacije arterijske krvi u predelu irigacije infarktne arterije. Sklonost ka aterosklerozi ne znači po pravilu i sklonost ka trombozi, i obrnuto. Mnogobrojni faktori rizika od ishemijske bolesti srca modifikuju funkciju hemostaznog sistema, remete ravnotežu između proagregatornih i antiagregatornih, prokoagulantnih i antikoagulantnih, profibrinolitičkih i antifibrinolitičkih mehanizama. Na taj način genetski uslovljena sklonost ka trombozi potencira se faktorima rizika, što zajedno vodi ka aterotrombozi i akutnom koronarnom sindromu. Fizičko opterećenje je jedan od faktora rizika od ishemijske bolesti srca. Efekat zavisi od vrste opterećenja, dužine trajanja i stepena utreniranosti bolesnika. Umerena fizička aktivnost kroz duži vremenski period ima protektivni značaj kod bolesnika sa ishemijskom bolešću srca, jer poboljšava funkciju endotela, smanjuje oksidativni stres na nivou endotela, smanjuje broj i aktivnost trombocita kao i aktivnost mnogih faktora koagulacije i na taj način smanjuje učestalost ponovnih koronarnih događaja. Nasuprot tome, akutna fizička aktivnost dovodi do izraženog prokoagulantnog stanja što na terenu disfunkcije endotela i specifičnosti hemostaznog sistema može provocirati ponovnu koronarnu trombozu.

L I T E R A T U R A

1. *Anderson KC, Ness PM.* Scientific Basis of Transfusion Medicine: Implications for Clinical Practice. 2nd. ed. Philadelphia: PA, W.B. Saunders; 1999.
2. *Walker RH.* Technical Manual. 11th ed. Arlington: American Association of Blood Banks; 1993.
3. *Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M.* Blood Transfusion in Clinical Medicine. 9 th ed. Oxford: Blackwell Sci Publ; 1993.
4. *Rossi E, Simon T, Moss G.* Principles of transfusion medicine. London: Williams; 1991.
5. *Marcus A, Broekman M, Drosopoulos J, Pinsky D, Islam N, Gayle R 3rd, et al.* Thromboregulation by endothelial cells: significance for occlusive vascular diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21(2): 178–82.
6. *Su Y, Kondrikov D, Block ER.* Beta-actin: a regulator of NOS-3. *Sci STKE* 2007; (404): pe52.
7. *Balint B, Radović M, Ciko Z, Milenković L, Durić D, Duricković V.* Hemotherapy of hemorrhagic syndromes. *Vojnosanit Pregl* 1985; 42(1): 39-43. (Serbian)
8. *Perk J.* Minoroty of CHD patients do recommended exercise. *Am J Cardiol* 2008; 101: 557–61.
9. *Lefkovits J, Plow EF, Topol EJ.* Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine. *N Engl J Med* 1995; 332(23):1553–9.
10. *Kaufman RJ, Pipe SW.* Regulation of factor VIII expression and activity by von Willebrand factor. *Thromb Haemost* 1999; 82(2): 201–8.

11. *Bliden KP, DiChiara J, Tantry US, Bassi AK, Chaganti SK, Gurbel PA.* Increased risk in patients with high platelet aggregation receiving chronic clopidogrel therapy undergoing percutaneous coronary intervention: is the current antiplatelet therapy adequate? *J Am Coll Cardiol* 2007; 49(6): 657–66.
12. *Schober A, Manka D, von Hundelsbausen P, Huo Y, Hanrath P, Sarembock IJ, et al.* Deposition of platelet RANTES triggering monocyte recruitment requires P-selectin and is involved in neointima formation after arterial injury. *Circulation* 2002; 106(12): 1523–9.
13. *Ganvaz M, Neumann FJ, Dickfeld T, Koch W, Laugwitz KL, Adelsberger H, et al.* Activated platelets induce monocyte chemotactic protein-1 secretion and surface expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells. *Circulation* 1998; 98(12):1164–71.
14. *Bruno O, Brullo C, Bondavalli F, Ranise A, Schenone S, Tognolini M, et al.* 2-Amino/azido/hydrazino-5-alkoxy-5H-[1] benzopyrano [4,3-d] pyrimidines: synthesis and pharmacological evaluation. *Med Chem* 2007; 3(2): 127–34.
15. *Collins P, Ford I, Ball D, Macanlay E, Greaves M, Brittenden J.* A preliminary study on the effects of exercising to maximum walking distance on platelet and endothelial function in patients with intermittent claudication. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2006; 31(3): 266–73.
16. *Moser M, Nieswandt B, Ussar S, Pozgajova M, Fässler R.* Kindlin-3 is essential for integrin activation and platelet aggregation. *Nat Med* 2008; 14(3): 325–30.
17. *Harrison D, Griendling KK, Landmesser U, Hornig B, Drexler H.* Role of oxidative stress in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 2003; 91(3A): 7A–11A.
18. *McEver RP.* Adhesive interactions of leukocytes, platelets, and the vessel wall during hemostasis and inflammation. *Thromb Haemost* 2001; 86(3): 746–56.
19. *Montrucchio G, Alloati G, Camussi G.* Role of platelet-activating factor in cardiovascular pathophysiology. *Physiol Rev* 2000; 80(4): 1669–99.
20. *Rollins BJ.* Chemokines. *Blood* 1997; 90(3): 909–28.
21. *Ruggeri ZM.* Structure and function of von Willebrand factor. *Thromb Haemost* 1999; 82(2): 576–84.
22. *May AE, Kälsch T, Massberg S, Herouy Y, Schmidt R, Ganvaz M.* Engagement of glycoprotein IIb/IIIa (alpha(IIb)beta3) on platelets upregulates CD40L and triggers CD40L-dependent matrix degradation by endothelial cells. *Circulation* 2002; 106(16): 2111–7.
23. *Mann KG.* Biochemistry and physiology of blood coagulation. *Thromb Haemost* 1999; 82(2): 165–74.
24. *Kato H.* Regulation of functions of vascular wall cells by tissue factor pathway inhibitor: basic and clinical aspects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22(4): 539–48.
25. *Yamamoto K, Loskutoff DJ.* Extrahepatic expression and regulation of protein C in the mouse. *Am J Pathol* 1998; 153(2): 547–55.
26. *Obradović S.* Soluble fibrin, D-dimer and factor XIII in acute myocardial infarction [Master thesis]. Belgrade: Military Medical Academy; 2002. (Serbian)
27. *Antman EM, McCabe CH, Gurfinkel EP, Turpie AG, Bernink PJ, Salein D, et al.* Enoxaparin prevents death and cardiac ischemic events in unstable angina/non-Q-wave myocardial infarction. Results of the thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) 11B trial. *Circulation* 1999; 100(15): 1593–601.
28. *Antman EM, Anbe DT, Armstrong PW, Bates E R, Kuschner FG, Lamas GA.* A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines: Developed in Collaboration With the Canadian Cardiovascular Society Endorsed by the American Academy of Family Physicians: 2007 Writing Group to Review New Evidence and Update the ACC/AHA 2004 Guidelines for the Management of Patients With ST-Elevation Myocardial Infarction, Writing on Behalf of the 2004 Writing Committee *Circulation* 2004; 117: 296-329.
29. *Furie B, Furie BC.* The molecular basis of blood coagulation. *Cell* 1988; 53(4): 505–18.
30. *Cadroy Y, Pillard F, Sakariassen KS, Thalamos C, Boneu B, Riviere D.* Strenuous but not moderate exercise increases the thrombotic tendency in healthy sedentary male volunteers. *J Appl Physiol* 2002; 93(3): 829–33.
31. *Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, et al.* American College of Cardiology; American Heart Association. Committee on the Management of Patients With Unstable Angina. ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction-summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol* 2002; 40(7): 1366–74.
32. *Choi NK, Park BJ, Jeong SW, Yu KH, Yoon BW.* Nonaspirin nonsteroidal anti-inflammatory drugs and hemorrhagic stroke risk: the Acute Brain Bleeding Analysis study. *Stroke* 2008; 39(3): 845–9.
33. *Perneby C, Wallén NH, Hu H, Li N, Hjemsdahl P.* Prothrombotic responses to exercise are little influenced by clopidogrel treatment. *Thromb Res* 2004; 114(4): 235–43.
34. *Ficičlar H, Zergeroglu AM, Tekin D, Ersoz G.* The effects of acute exercise on plasma antioxidant status and platelet response. *Thromb Res* 2003; 111(4–5): 267–71.
35. *El-Sayed MS, Sale C, Jones PG, Chester M.* Blood hemostasis in exercise and training. *Med Sci Sport Exerc* 2000; 32(5): 918–25.
36. *Kauramaa R, Li G, Väisänen SB.* Dose-response and coagulation and hemostatic factors. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33(6 Suppl): S516–20.
37. *Wannamethee SG, Lowe GD, Whincup PH, Rumley A, Walker M, Lennon L.* Physical activity and hemostatic and inflammatory variables in elderly men. *Circulation* 2002; 105(15): 1785–90.
38. *Ahmadizad S, El-Sayed MS.* The effects of graded resistance exercise on platelet aggregation and activation. *Med Sci Sport Exerc* 2003; 35(6): 1026–32.
39. *Peterson PN, Magid DJ, Ross C, Ho PM, Rumsfeld JS, Lauer MS, et al.* Association of exercise capacity on treadmill with future cardiac events inpatients referred for exercise testing. *Arch Intern Med* 2008; 168(2): 174–9.

Rad primljen 08. IV 2008.



Značaj primene testova za procenu efekta antiagregacijske terapije kod bolesnika sa rekurentnom trombozom intrakoronarnog stenta

The importance of tests applied to evaluate the effectiveness of antiplatelet therapy in patients with recurrent coronary stent thrombosis

Aleksandra Grdinić*, Danilo Vojvodić†, Vesna Ilić†, Zvonko Magić†,
Nina Đukanović‡, Mina Radovanović‡, Predrag Miljić§, Slobodan Obradović†,
Ivana Majstorović†, Bojana Cikota†, Miodrag Ostojić‡

Kliničko bolnički centar „Dragiša Mišović“, *Klinika za internu medicinu, Beograd, Srbija; Vojnomedicinska akademija, †Institut za medicinska istraživanja, Beograd, Srbija; Klinički centar Srbije, ‡Institut za kardiovaskularne bolesti, §Institut za hematologiju, Beograd; Srbija

Apstrakt

Uvod. Tromboza intrakoronarnog stenta je potencijalno letalna komplikacija sa velikim ekonomskim značajem. Neadekvatan odgovor na antiagregacijsku terapiju nedovoljno je rasvetljen uzrok te komplikacije. **Prikaz bolesnika.** Prikazan je bolesnik u dobi od 54 godine sa rekurentnom trombozom stenta četvrtog, devetog i dvanaestog dana posle primarne perkutane koronarne intervencije, uprkos primene dvojne antiagregacijske terapije (aspirin+klopidogrel). S obzirom na to da su isključeni svi proceduralni uzroci, kao i na nemogućnost da se reimplantacijom stenta bolesnik klinički stabilizuje, primenjeni su testovi za procenu efekta antiagregacijske terapije: test protočne citometrije, *Platelet Function Analyzer* – PFA-100, agregometrijski test, određivanje genskog polimorfizma za P2Y12 receptor preko koga deluju tienopiridini (klopidogrel i tiklopidin) i za GPIIb/IIIa receptor, finalni receptor u agregaciji trombocita. Bolesnik je bio nosilac major haplotipa H1H1 za P2Y12 receptor i minor A1A2 za GPIIb/IIIa receptor. Rezultati svih navedenih testova pokazali su da je bolesnik imao nedovoljan odgovor na aspirin, zadovoljavajući na tienopiridin (nakon zamene klopidogrela tiklopidinom, bolesnik je bio stabilan). **Zaključak.** Testovi za procenu efekta antiagregacijske terapije neophodni su kod bolesnika sa neželjenim kardiološkim događajem, naročito trombozom stenta, posle implantacije intrakoronarnog stenta.

Ključne reči:

infarkt miokarda; lečenje; angioplastika, translumenska, perkutana, koronarna; stentovi; stentovi obloženi lekom; koronarna restenoza; antiagregaciona sredstva; aspirin; lečenje, ishod; lekovi, rezistencija.

Abstract

Background. Stent thrombosis is potentially lethal complication with huge economic burden. The role of insufficient response to antiplatelet therapy is still unclear reason for its occurrence. **Case report.** We presented 54-year-old man with recurrent stent thrombosis on the 4th, 9th and 12th day after the primary percutaneous coronary intervention in spite of double antiaggregation therapy (aspirin+clopidogrel). All possible procedural causes were excluded and reimplantation of intracoronary stent was insufficient to resolve the problem, so four platelet tests were performed: flow cytometry, Platelet Function Analyzer-100 test, aggregometry, and determination of gene polymorphism for P2Y12 receptor (directly involved in the mechanism of thienopyridine), and GPIIb/IIIa receptor (final receptor in aggregation). The patient was the carrier of the major haplotype H1H1 for P2Y12 receptor and minor A1A2 for GPIIb/IIIa receptor. The results of all the performed tests showed insufficient antiplatelet effect of aspirin and sufficient response to thienopyridin (not to clopidogrel, but to ticlopidine). **Conclusion.** Performance of platelet function tests is necessary in the case of major adverse cardiac events especially stent thrombosis, after implantation of intracoronary stent.

Key words:

myocardial infarction; therapeutics; angioplasty, transluminal, percutaneous coronary; stents; drug eluting stents; coronary restenosis; platelet aggregation inhibitors; aspirin; treatment outcome; drug resistance.

Uvod

Učestalost tromboze stenta (TS) zbog primene kombinovane antiagregacijske terapije, ali i savršenije tehnike perkutane koronarne intervencije (PCI) smanjila se drastično. Ipak, još uvek iznosi 0,9%, sa mortalitetom od 8,9%¹.

Prema periodu proteklom od implantacije stenta do njeve pojave, TS može biti akutna (javlja se u roku od 24 sata), subakutna (od 24 sata do 30 dana), kasna (posle 30 dana) i veoma kasna (od 30 dana do 12 meseci), a primenom stentova obloženih lekom – *drug eluding stents* (DES) primećeno je da se može javiti i do tri godine nakon ugradnje stenta.

Faktori koji predisponiraju TS mogu se podeliti na proceduralne karakteristike, karakteristike bolesnika i karakteristike same lezije¹.

Postoje kontroverzna mišljenja o neadekvatnom odgovoru na antiagregacijsku terapiju kao mogućem uzroku TS. Takođe, još uvek ne postoji stav o testu za procenu efekta antiagregacijske terapije u smislu postavljanja indikacije za primenu testa, vrste testa, *cut off* vrednosti i mogućnosti izmene terapije na osnovu vrednosti tih testova^{2,3}.

U radu je prikazan bolesnik kome je urađena primarna PCI uz standardnu dvojnju antiagregacijsku terapiju, ali je PCI bila komplikovana rekurentnom trombozom istog stenta čija etiologija je rasvetljena primenom testova za procenu efikasnosti antitrombotične terapije.

Prikaz bolesnika

Muškarac, star 54 godine primljen je februara 2007. godine u Koronarnu jedinicu Urgentnog centra Srbije nakon urađene primarne PCI desne koronarne arterije (RCA) sa implantacijom dva intrakoronarna stenta tipa *Flexmaster* iz grupe stentova neo-

U kliničkom toku, četvrtog dana hospitalizacije bolesnik je dobio jak restrosternalni bol, a na elektrokardiogramu otkrivena je elevacija ST segmenta u odvodima D2,3 i AVF koji su ukazali na ponovnu okluziju RCA. Laboratorijske analize pokazale su porast biohemijskih markera za nekrozu miokarda: kreatin kinaza (CK) 290 IJ/L, miokardni izoenzim CK (CKMB) 33 IJ/L, troponin 8,7 IJ/L, a koronarografski nalaz potvrdio je okluziju RCA proksimalno. Zbog nađene TS urađena je ponovna PCI (rePCI) RCA sa implantacijom stenta *Flexmaster*, primenjen je tirofiban i otklonjeni su svi mogući proceduralni uzroci TS. Međutim, devetog dana hospitalizacije ponovila se klinička slika i elektrogradiografske promene u smislu rekurentne TS (jak restrosternalni bol i elevacija ST segmenta u odvodima D2,3 i AVF na elektrokardiogramu), sa ponovnim porastom biohemijskih markera za nekrozu miokarda (CK 512 IJ/L, troponin I 11,69 IJ/L) i koronarografskim dokazom ponovne TS. Izvršena je, ponovna rePCI RCA sa implantacijom stenta *Driver* u proksimalni deo RCA. Radi prevencije ponovne TS, duplirana je doza klopidogrela na 2 × 75 mg, a doza aspirina ostavljena na 100 mg, što se pokazalo kao nedovoljna antiagregacijska terapija za ovog bolesnika. Treći put, 12. dana hospitalizacije bolesnik je dobio jak restrosternalni bol praćen elevacijom ST segmenta u D2,3 i AVF odvodima, kao i porast biohemijskih markera za nekrozu miokarda (CK 424 IJ/L, troponin I 10,19 IJ/L).

S obzirom da testovi procene antiagregacijskog efekta lekova ni u svetu, ni u našoj kliničkoj praksi još uvek nisu u rutinskoj primeni, tek posle rekurentne TS pristupilo se njihovoj primeni. Urađen je brzi, tzv. *point of care*, *Platelet Function Analyser* (PFA-100) test, senzitivnan na preparate acetilsalicilne kiseline, koji je pokazao nedovoljnu supresiju agregacije trombocita dozom aspirina od 100 mg (tabela 1), zbog čega je doza aspirina povećana na 300 mg, uz nastavak

Tabela 1
Rezultat procene efekta aspirina testom *Platelet Function Analyser* (PFA-100)

Agonist	Dobijena vrednost (sekunde)		Referentni opseg (sekunde)
	100 mg aspirina	300 mg aspirina	
Col/EPI (ASP)	102	104	82–150
Col/ADP	61	61	62–100

Col/EPI (ASP) – kolagen/epinefrin
Col/ADP – kolagen/ADP

bloženih lekom (*bare metal stent* – BMS), zbog akutnog infarkta miokarda inferoposteriorne lokalizacije. Anamnestički podaci pokazali su da je 5 godina ranije bolesnik hospitalizovan zbog infarkta miokarda dijafragmalne lokalizacije posle čega je primenjena medikamentna terapija. Faktori rizika od ishemijske bolesti srca bili su pušenje i hiperlipoproteinemija tip IIa. Objektivno, bio je kompenzovan, stabilan, bez bolova u grudima posle PCI RCA. Koronarografski nalaz pokazao je jednosudovnu bolest (glavno stablo – *left main*, bez stenoze, cirkumfleksna arterija bez stenoze, dominantna RCA u početnom delu bila je okludirana), zbog čega su implantirana dva stenta *Flexmaster* u proksimalnom segmentu RCA. Posle PCI primenjena je standardna terapija: preparat sa 100 mg acetilsalicilne kiseline (aspirin), klopidogrel 75 mg, metoprolol 2 × 25 mg, heparin intravenski (iv), atrovastatin 20 mg, omeprazol 20 mg.

lečenja dvostrukom dozom klopidogrela od 150 mg. Rezultat ponovljenog testa PFA-100 pri dozi od 300 mg aspirina i dalje je pokazivao nedovoljnu supresiju agregacije trombocita aspirinom. Kao jedino moguće rešenje *ex juvanibus*, klopidogrel u dozi od 150 mg zamenjen je tiklopidinom u standardnoj dozi od 2 × 250 mg. Posle navedene terapije, bolesnik je bio bez anginoznih tegoba i promena na elektrokardiogramu, hemodinamski stabilan.

U cilju definitivnog razjašnjenja etiologije neadekvatnog antiagregacijskog efekta ovih lekova urađeno je merenje reaktivnosti P2Y₁₂ receptora iz grupe adenozin difosfat (ADP) receptora, protočnom citometrijom, koje je pokazalo reaktivnost od 43,1% što je ukazivalo na dobru suprimiranost tog receptora tiklopidinom (preostala aktivnost P2Y₁₂ receptora – ADPr = 43,1%). Rezultat agregometrijskog testa,

još uvek najšire upotrebljavanog testa za procenu agregabilnosti trombocita, potvrdio je dobru supresiju agregacije trombocita tiklopidinom, a ne aspirinom (tabela 2). Da li je

Genomska dezoksiribonukleinska kiselina (DNK) izolovana je iz periferne krvi pomoću *Blood Prep™ Chemistry* za ABI PRISM™ 6100 *Nucleic Acid PrepStation* (Applied

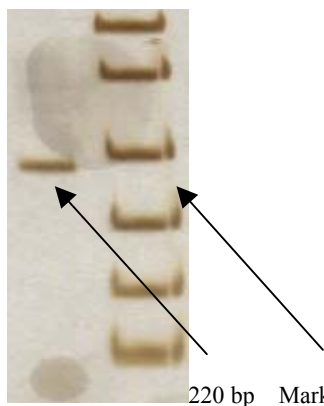
Tabela 2
Rezultat procene efekta kombinacije aspirina i tiklopidina
agregometrijskim testom (svetlosna agregometrija)

Agonist	Dobijena vrednost* (%)
ADP 10 µmL/L	4
Ag COL 10 µg/L	15
Ag ADR 10 mm/L	30
Ag RIS 1,25 mg/L	90

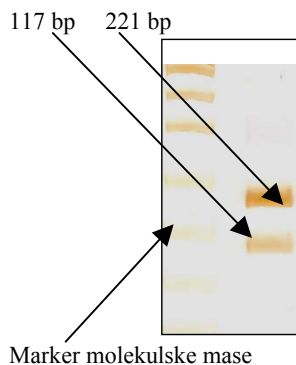
COL – kolagen; ADR – adrenalin; RIS – ristocetin

* Referentni opseg: 60–90 %

uzrok neadekvatnog antiagregacijskog odgovora na lek genetski polimorfizam za receptore preko kojih lekovi deluju provereno je analizom genetskog polimorfizma za receptor P2Y₁₂ preko koga deluju tienopiridini (tiklopidin i klopido-grel). Utvrđeno je prisustvo učestalijeg haplotipa H1H1 (slika 1), koji se u dosadašnjim radovima povezuje sa predispozicijom za zadovoljavajući odgovor na tienopiridine. Analiza genetskog polimorfizma za receptor GPIIb/IIIa, koji je finalni receptor u procesu agregacije trombocita, pokazala je prisustvo minornog A1A2 polimorfizma (slika 2), koji se u dosadašnjim radovima povezuje sa nezadovoljavajućim odgovorom na jedan od antiagregacijskih lekova.



Sl. 1 – Prikaz rezultata analize polimorfizma gena za P2Y₁₂ receptor nakon elektroforeze na 10% poliakrimidnom gelu i bojenja srebronitratom; bolesnik je bio homozigot H1H1 gena za P2Y₁₂ receptor



Sl. 2 – Prikaz rezultata analize polimorfizma gena za GPIIb/IIIa receptor; bolesnik je bio heterozigot P (A1A2)

Biosystems, USA). Za lančanu reakciju polimeraze (PCR) amplifikaciju (*Mastercycler gradient*, Germany) P2Y₁₂ (94° C u trajanju od 30 sec, 50° C/30 sec, 72° C/30 sec; 35 ciklusa) korišćeni su sledeći oligonukleotidni prajmeri: 5'-TCT GGT GAA ATA AAA AGA TTA CGT A-3' i 5'-GTC AGA AAT GGC CTG TGT NATANTAT G-3'. Produkt 220 *base pair* (bp) podvrgnut je digestiji pomoću RsaI restriktivne endonukleaze (MBI *Fermentas*, Litvanija). Produkti digestije izdvojeni su elektroforezom na 10% poliakrilamidnom gelu i vizualizovani posle bojenja srebronitratom. Prisustvo 196 bp i 24 bp traka indikovalo je H2 haplotip, dok je traka od 220 bp indikovala H1 haplotip. GPIIb-IIIa amplifikacija (94° C u trajanju od 45 sec, 53° C/45 sec, 72° C/1 minut; 37 ciklusa) urađena je sa sledećim oligonukleotidnim prajmerom: 5'-TTC TGA TTG CTG GAC TTC TCT T-3' i 5'-TCT CTC CCA TGG CAA AGA GT-3'. Produkt 266 bp PCR digestiran je pomoću MspI (MBI *Fermentas*, Litvanija). Produkti digestije izdvojeni su elektroforezom na 10% poliakrilamidnom gelu i vizualizovani posle bojenja srebronitratom. Prisustvo 221 bp i 24 bp traka indikovalo je P1^{A1} alel, dok je prisustvo 117 bp, 50 bp i 45 bp traka indikovalo P1^{A2} alel.

U daljem toku, do otpusta bolesnik je bio klinički i hemodinamski stabilan, a testom za neinvazivnu procenu koronarne rezerve dipiridamolom utvrđeno je adekvatno povećanje protoka u RCA, bez znakova ishemijske miokarda.

Diskusija

Učestalost TS je 0,9%, ne računajući kasnu TS o kojoj ne postoje precizni podaci. Oštećenje endotela, povećana reaktivnost trombocita prilikom implantacije stenta kao stranog tela dovodi do aktivacije trombocita i pokretanja koagulacione kaskade. Od faktora vezanih za samu proceduru na njenu pojavu najviše mogu uticati dužina stenta, nedovoljna ekspanzija i rezidualna stenoza. Kompleksnije lezije podložnije su ovoj komplikaciji, a stariji bolesnici, niža ejakciona frakcija (EF) leve komore, dijabetes melitus, akutni koronarni sindrom – infarkt miokarda, naročito predisponiraju njenu pojavu¹.

Da bi se smanjila pre svega pojava restenoze stenta osmišljeni su DES, ali s obzirom da su obloženi lekovima koji utiču na povećanu ekspresiju faktora nekroze tumora i trombina, oni dovode do protrombogenog efekta. Takođe, doka-

zana je usporena ili čak prekinuta reendotelizacija pri upotrebi ovih stentova u odnosu na BMS, gde do nje dolazi u potpunosti posle 3–4 meseca od implantacije. Potvrđeno je, na osnovu nalaza autopsije bolesnika lečenih sa obe vrste stenta, da je incidencija TS veća kod DES¹.

Iako je procenat TS oko 0,9%, neophodno je rasvetliti i otkloniti sve moguće uzroke njenog nastanka, između ostalih i rezistenciju (neadekvatan antiagregacijski efekat) na klopidogrel koja se procenjuje na 4–30%⁴. Tri studije nedvosmisleno su povezale rezistenciju na klopidogrel sa najvažnijom kliničkom implikacijom TS^{5–7}.

S obzirom na to da je prikazani bolesnik bio mladi, nije bio dijabetičar, imao očuvanu EF, proceduralni uzroci isključeni, kao i da do stabilizacije kliničkog stanja nije došlo posle udvostručavanja doze klopidogrela i aspirina, ali jeste posle zamene jednog tienopiridina drugim (klopidogrela tiklopidinom), naš rad pošao je od hipoteze da je uzrok TS bio neadekvatan odgovor na standardnu, dvojni antiagregacijsku terapiju posle PCI (tienopiridin, i acetilsalicilna kiselina).

Mehanizam dejstva ovih lekova razlikuje se, zbog čega su i razlozi neodgovarajućeg antiagregacijskog odgovora na njih kao i testovi koji se u tu svrhu primenjuju različiti. Aspirin u dozi od 100–300 mg ireverzibilno inhibira enzim ciklo-oksigenazu 1, stvaranje tromboksana A₂, što dovodi do smanjenja agregabilnosti trombocita. Tienopiridini (tiklopidin i klopidogrel) posle *per os* primene metabolišu se u jetri, ali različitim enzimskim putem (klopidogrel pomoću enzima CYP3A4, a tiklopidin pomoću CYP2A19 i CYP2D6), posle čega nastaje aktivni metabolit koji se vezuje za P2Y₁₂ receptor (grupa ADP receptora) na trombocitima koji regulišu adenilat ciklazu preko inhibitorynog G proteina. Zbog toga se nivo trombocitnog cikličnog adenzin monofosfata (cAMP) smanjuje, te se inhibira ADP-indukovana sekrecija alfa granula i ADP-zavisna agregacija trombocita. Ovo smanjenje cAMP vodi ka smanjenju aktivacije specifične protein kinaze, što uzrokuje izostanak fosforilacije vazodilatatornog stimulanog fosfoproteina (VASP) čija fosforilacija je ključni događaj za GPIIb/IIIa receptorsku inhibiciju. Koncentraciju VASP moguće je direktno meriti citometrijski i odgovarajućom formulom izračunati ADPrr⁸. To je razlog što je u ovom radu, pored zlatnog standarda za procenu agregacije trombocita (agregometrija) i brze PFA-100 metode, primenjeno i merenje ADPrr protočnom citometrijom zbog procene efikasnosti tienopiridina, kao i utvrđivanje polimorfizma gena za receptore preko kojih lekovi deluju na GPIIb/IIIa i P2Y₁₂, direktno.

Naime, tienopiridini deluju preko svog aktivnog metabolita direktno na P2Y₁₂ receptor, čija aktivacija/blokada utiče na aktivnost GPIIb/IIIa receptora koji je najznačajniji u finalnom procesu agregacije trombocita. Trombociti imaju brojne glikoproteine (GP) na svojoj površini i mnogi od njih su polimorfni, stoga je polimorfizam gena za ove receptore u poslednje vreme česta tema istraživača. Rezultati većine dosadašnjih radova slažu se sa tim da je PA1A2 i PA2A2 gen na GPIIb/IIIa receptoru povezan sa povećanim stvaranjem

trombina i nižim pragom za aktivaciju trombocita⁹. Polimorfizam PA2 pojedinačni je nukleotidni polimorfizam gde se umesto citozina (PA1) u obliku PA2 nalazi timin koji se javlja u poziciji 1 566 egzona 2, kodirajućeg regiona za GPIIIa lociranog na hromozomu 17, što sve dovodi do izmene aminokiseline leucin u prolin. Smatra se da alelni PA2 polimorfizam doprinosi povećanoj ekspresiji GPIIb/IIIa receptora i povećanom afinitetu za fibrinogen, stoga i povećanoj mogućnosti za kardiovaskularni događaj. Takođe, dosta pažnje posvećeno je i sekvencijalnoj varijaciji P2Y₁₂ receptora koji je ciljno mesto aktivnog metabolita klopidogrela. Identifikovana su dva haplotipa H1 i H2 u P2Y₁₂ receptorskom genu. Pojava H2 haplotipa povezana je sa neželjenim kardiovaskularnim događajem¹⁰. Sam PA2A2 uzrokuje povećanu ekspresiju receptora posle ADP stimulacije, tako da su ova dva gena i njihovi polimorfizmi isprepleteni u pogledu uticaja na aktivaciju i agregaciju trombocita.

Bolesnik prikazan u ovom radu imao je ponovljenu TS na standardnoj dvojni antiagregacijskoj terapiji, i posle primene udvostručenih doza. Neadekvatan odgovor potvrdili su testovi PFA-100, koji se pokazao u dosadašnjim radovima kao senzitivniji za procenu dejstva aspirina, i svetlosna agregometrija, još uvek zlatni standard za procenu agregabilnosti trombocita posle primene i aspirina i tienopiridina^{11, 12}. Rezultati polimorfizma za GPIIb/IIIa receptor pokazali su da je zbog prisustva minorog polimorfizma za ovaj receptor, P(A1A2), moguć neadekvatan odgovor na jedan antiagregacijski lek, u našem slučaju preparat acetilsalicilne kiseline, jer je prisustvo major haplotipa H1H1 receptora za P2Y₁₂ receptora preko koga deluju aktivni metaboliti tienopiridina pokazao da bi antiagregacijski odgovor na jedan tienopiridin trebalo da bude zadovoljavajući (tiklopidin ili klopidogrel), što opravdava zamenu klopidogrela tiklopidinom u ovom slučaju. Konačno, da je odgovor na tiklopidin bio dobar, pored stabilizacije kliničkog stanja bolesnika, to su potvrdili i rezultati agregometrije i nalaz citometrije, koja je, za sada, najpreciznija u proceni aktivnosti P2Y₁₂ receptora^{13, 14}. Aleil i sar.¹⁵ nedavno su prikazali tri bolesnika kod kojih je neefikasan antiagregacijski efekat klopidogrela rešen zemenom za tiklopidin, ali nisu radili genetske analize receptora.

Ograničenje ovog rada je u tome što nije postojala mogućnost da se ispituje aktivnost metabolita tienopiridina (klopidogrela i tiklopidina) i genski polimorfizam za ove proteine, što bi bila još jedna potvrda ključne uloge aktivnog metabolita kod ovih bolesnika.

Zaključak

Ovaj rad ukazuje na potrebu primene testova za procenu efekta antiagregacijskih lekova kod bolesnika sa TS. Najverovatnije objašnjenje uspešne zamene nedovoljno efikasnog klopidogrela efikasnijim tiklopidinom su različiti aktivni metaboliti ova dva leka koji se ireverzibilno vezuju za isti P2Y₁₂ receptor, koji je u ovom slučaju imao očuvanu aktivnost.

L I T E R A T U R A

1. *Lüscher TF, Steffel J, Eberli FR, Joner M, Nakazawa G, Tanner FC, et al.* Drug-eluting stent and coronary thrombosis: biological mechanisms and clinical implications. *Circulation* 2007; 115(8): 1051–8.
2. *Patrono C, Rocca B.* Drug insight: aspirin resistance—fact or fashion? *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007; 4(1): 42–50.
3. *Wang TH, Bhatt DL, Topol EJ.* Aspirin and clopidogrel resistance: an emerging clinical entity. *Eur Heart J* 2006; 27(6): 647–54.
4. *Gurbel PA, Tantry US.* Clopidogrel Resistance? *Thromb Res* 2006.
5. *Barragan P, Bouvier JL, Roquebert PO, Macaluso G, Commeau P, Comet B, et al.* Resistance to thienopyridines: clinical detection of coronary stent thrombosis by monitoring of vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation. *Catheter Cardiovasc Interv* 2003; 59(3): 295–302.
6. *Ajzenberg N, Aubry P, Huisse MG, Cachier A, El Amara W, Feldman LJ, et al.* Enhanced shear-induced platelet aggregation in patients who experience subacute stent thrombosis: a case-control study. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45(11): 1753–6.
7. *Gurbel PA, Bliden KP, Guyer K, Cho PW, Zaman KA, Kreutz RP, et al.* Platelet reactivity in patients and recurrent events post-stenting: results of the PREPARE POST-STENTING Study. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46(10): 1820–6.
8. *Schwarz UR, Geiger J, Walter U, Eigenthaler M.* Flow cytometry analysis of intracellular VASP phosphorylation for the assessment of activating and inhibitory signal transduction pathways in human platelets—definition and detection of ticlopidine/clopidogrel effects. *Thromb Haemost* 1999; 82(3): 1145.
9. *Macchi L, Christiaens L, Brabant S, Sorel N, Ragot S, Allal J, et al.* Resistance in vitro to low-dose aspirin is associated with platelet PIA1 (GP IIIa) polymorphism but not with C807T(GP Ia/IIa) and C-5T Kozak (GP Ibalph) polymorphisms. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42(6): 1115–9.
10. *Fontana P, Dupont A, Gandrille S, Bachelot-Loza C, Reny JL, Aiach M, et al.* Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation is associated with P2Y12 gene sequence variations in healthy subjects. *Circulation* 2003; 108(8): 989–95.
11. *Andersen K, Hurlen M, Arnesen H, Seljeflot I.* Aspirin non-responsiveness as measured by PFA-100 in patients with coronary artery disease. *Thromb Res* 2002; 108(1): 37–42.
12. *Holchholzer W, Trenk D, Frudi D, Neumann FJ.* Whole blood aggregometry for evaluation of the antiplatelet effects of clopidogrel. *Bad Krozingen: Thromb Res*; 2006.
13. *Camoin-Jau L, Bonello L, Paganelli F, Arpin M., Sampol J, Dignat-George F, et al.* VASP phosphorylation analysis prior to percutaneous coronary intervention for exclusion of post-procedural major adverse cardiovascular events. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*; 2007.
14. *Michelson AD, Barnard MR, Krueger LA, Frelinger AL 3rd, Furman MI.* Evaluation of platelet function by flow cytometry. *Methods* 2000; 21(3): 259–70.
15. *Aleil B, Rochoux G, Monassier JP, Cazenave JP, Gachet C.* Ticlopidine could be an alternative therapy in the case of pharmacological resistance to clopidogrel: a report of three cases. *J Thromb Haemost* 2007; 5(4): 879–81.

Rad primljen 8. VIII 2008.



Acute myocardial infarction following a hornet sting

Akutni infarkt miokarda posle ujeda stršljena

Danica Cvetković-Matić*, Milika Ašanin*, Dragan Matić*,
Branislava Ivanović*, Dragan Simić*, Nevena Kalezić†, Vesna Stojanov*

Clinical Center of Serbia, *Institute for Cardiovascular Diseases,

†Institute for Endocrinology, Diabetes and Metabolic Diseases, Belgrade, Serbia

Abstract

Background. The occurrence of an acute myocardial infarction following a hornet sting has been very rarely reported in the previous literature. Pathogenetic mechanisms include direct action of the venom components on the coronary endothelium and allergic reaction with mediators released from mast cells. The anaphylactic reaction and venom components can produce acute coronary artery thrombosis. **Case report.** We reported a 45-year-old man with acute myocardial infarction after a hornet sting in the presence of anaphylaxis. We also discussed clinical implications and pathophysiological mechanisms of acute myocardial infarction caused by hymenoptera sting. **Conclusion.** A case report of this unusual acute myocardial infarction highlights the potential acute myocardial ischemia associated with hymenoptera sting which requests early diagnosis, thorough cardiovascular evaluation and appropriate treatment.

Key words:

myocardial infarction; anaphylaxis; bites and stings.

Apstrakt

Uvod. Nastanak akutnog infarkta miokarda posle ujeda stršljena retko je opisivani u dosadašnjoj literaturi. Patogenetski mehanizmi obuhvataju direktan uticaj sastojaka otrova na koronarni endotel i alergijsku reakciju pod dejstvom medijatora oslobođenih iz mastocita. Anafilaktička reakcija i komponente otrova mogu da izazovu akutnu trombozu koronarne arterije. **Prikaz slučaja.** Prikazan je muškarac, star 45 godina, sa akutnim infarktom miokarda posle ujeda stršljena i kliničkom slikom anafilakse. Prodiskutovani su, takođe, klinički tok i patofiziološki mehanizmi akutnog infarkta miokarda izazvanog ujedom insekta iz roda himenoptera. **Zaključak.** Prikaz ovog neobičnog akutnog infarkta miokarda skreće pažnju na moguću akutnu ishemiju miokarda udruženu sa ujedom insekta iz roda himenoptera koji zahteva ranu dijagnozu, temeljnu kardiovaskularnu evaluaciju i odgovarajuće lečenje.

Ključne reči:

infarkt miokarda; anafilaksija; ujedi i ubodi insekata.

Background

Allergic reactions to wasp or honeybee stings are seen in up to 5% of the total population in Europe and USA¹. These reactions vary greatly in severity with manifestations ranging from skin reactions (rash, itching) to respiratory, cardiovascular and gastrointestinal reactions. It is well known that systemic anaphylaxis with bronchospasm, larynx edema and hypotension may ensue following hymenoptera sting. In the most severe cases, the symptoms of cardiovascular system are predominant; therefore, stenocardial troubles and accelerated and irregular heart rate may develop². The electrocardiographic (ECG) changes³⁻⁵ as well as chest pain⁶ were described. The acute myocardial infarction following an insect sting of *Hymenoptera* (bees, wasps, hornets) occurs rarely⁷⁻¹².

The case of acute myocardial infarction as the complication of a European hornet (*Vespa crabro linnaeus*) sting in Serbia was presented in this paper.

Case report

A 45-year-old previously healthy man was stung in the neck by a hornet, while he was cutting the grass. Considering that he was a beekeeper and that he saw the insect, he could have recognized the hornet. Within the following 15 minutes, the extensive itching all over the body arouse. He felt a severe asphyxiation and oppression of the lungs, and the acute pain appeared behind the sternum associated with perspiration and nausea. Two hours later he was admitted to the Intensive care unit (ICU) of the regional Health Center in the town of Kraljevo. He had no history of ischemic heart dis-

ease, hypertension, diabetes, or allergy. However, he recalled that he had been stung several times, in the past, by honeybees and wasps, without any sequelae, but had no previously experienced a hornet sting. He had a good exercise tolerance and was a smoker. He denied myocardial infarction and stroke in the family history.

On examination in ICU, the patient complained of severe retrosternal pain accompanied by nausea, diaphoresis and dizziness. He had generalized urticarial rash, with neck and head edema. His heart rate was 56/min, blood pressure 100/70 mmHg, respirations 23/min, axilar temperature 36.3 °C. Cardiac auscultation revealed normal heart sounds without murmurs. Respiratory and abdominal examination were normal. The neurological examination did not reveal any neurological damage. A 12-lead electrocardiogram (ECG) at presentation showed sinus rhythm, and 1-mm ST-segment elevations in leads V1-V4. The amplitude of R waves decreased running from V1-V3 leads (Figure 1). Later ECG recorded the evolution of acute myocardial infarction of anterolateral wall with QS wave from V2-V4 and negative T wave in DI and aVL, V2-V6 leads (Figure 2). After admission nasal oxygen therapy was started at 2–4 l/min. After that

the patient was given aspirin 300 mg orally, morphine 5mg intravenously and heparin infusion 1 000 unit/hour after intravenous 5 000 unit bolus. He was given neither adrenalin nor hydrocortisone or antihistaminic (H1-blocker). The following hours the patient became asymptomatic. The results of blood examination showed that hemoglobin, hematocrit and platelet count were in the normal range. The leukocyte count was 13 800/mm³ and eosinophils were raised to 11%. Erythrocyte sedimentation rate was 20 mm/h. The biochemical results revealed increased values of troponins and cardiac enzymes confirming the diagnosis of an anterior wall myocardial infarction. The pick level for troponin-I was 20.2 µg/L (normal values < 0.1 µg/L), and for creatine phosphokinase (CPK), and creatine phosphokinase-MB (CPK-MB) were 1 852, and 282 Units/L, respectively. Creatine phosphokinase-MB decreased gradually in the next few days to the normal range. Serum creatinine and electrolyte panel were normal. A total cholesterol level was 7.2 mmol/L and the triglyceride level was 4.95 mmol/L.

The patient was treated with coronary vasodilators, antiarrhythmics, antiaggregation drugs and sedatives. Thrombolysis was not attempted because ST-segment eleva-

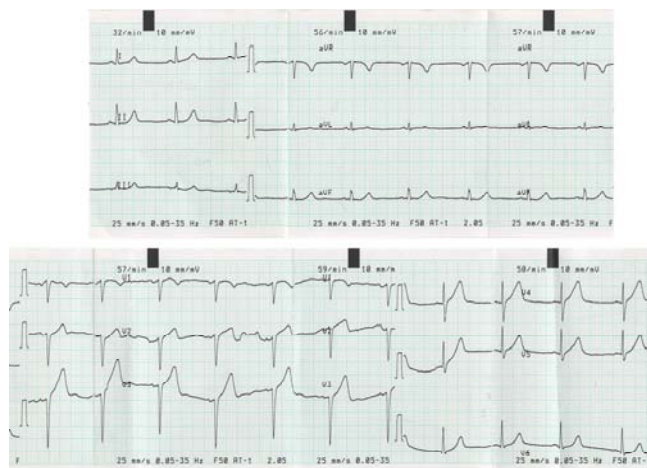


Fig. 1 – Electrocardiogram on admission shows ST segment elevation in V1-V4 leads



Fig. 2 – Electrocardiogram 3 days after admission shows QS wave in V2-V4 and negative T wave in DI and aVL, V2-V6 leads

tions in V1-V4 were borderline and without reciprocal depression. The patient had a good hospital course and was discharged from local hospital on the day 20. At the same day he was admitted to the Institute of Cardiovascular Diseases in Belgrade because of the further diagnostic evaluation. Electrocardiogram on admission confirmed Q wave anterolateral myocardial infarction. Transthoracic echocardiography showed a dyskinetic distal ventricular septum and apex with the organized thrombus of 1.6 x 1.8 cm (Figure 3).

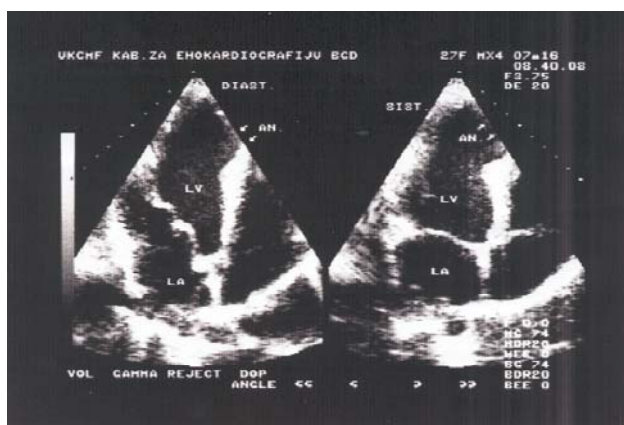


Fig. 3 – Echocardiographic images of the apical 2-chamber views (A) and 4-chamber views (B) in the systole and diastole show the apical aneurysm (arrows) with thrombus

The ejection fraction of the left ventricle was 50%. Coronary angiography revealed the recanalized thrombus with narrowing of 70–80% of distal left anterior descending (LAD) artery (Figure 4). There were no significant atherosclerotic lesions at the other coronary arteries. The left ventriculography showed anteroapical dyskinesia with an estimated ejection fraction of 40%. Because of the asymptomatic status and absence of any viable myocardium a decision was taken not to revascularize LAD artery in this patient.

The patient underwent the epicutaneous (prick) skin tests with insect venoms. Sensibility to bee, wasp and hornet venom was not confirmed in this case. A total serum immunoglobulin E level was in normal values. However, considering the convincing anamnestic data referring to severe systemic reaction to hornet venom, the specific immunotherapy was initiated.

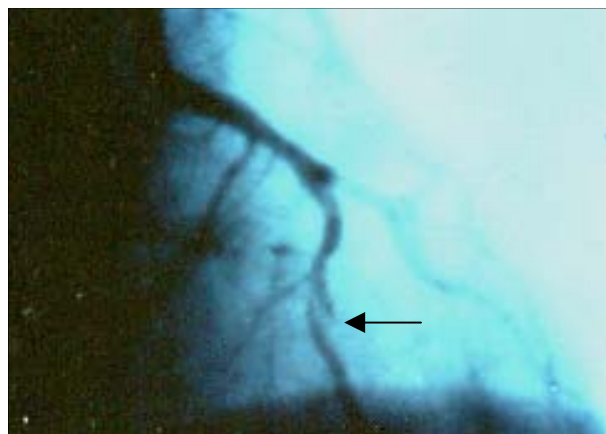


Fig. 4 – The coronarographic imaging shows 70–80% narrowing of the distal segment of left anterior descending artery with recanalized thrombus (arrow)

Discussion

Insects of the order *Hymenoptera* have a stinging apparatus at the tail end of their abdominal segment and are capable of delivering between 100 ng and 50 µg of venom¹³. There are three families of stinging insects in the order of *Hymenoptera*: *Apidae*, *Vespidae* and *Formicidae*¹⁴. Honeybees and bumblebees belong to *Apidae* family (apids), wasps, yellow jackets and hornets belong to *Vespidae* family (vespids), and stinging ants belong to *Formicidae* family (formids).

Anaphylactic reactions after different insects sting may induce cardiovascular events, including acute myocardial infarction, even in patients with normal coronary arteries^{15,16}.

Flying hymenoptera venoms contain peptides, proteins, and vasoactive amines including norepinephrine, histamine, serotonin, bradykinin, acetylcholine, dopamine, phospholipase, leukotrienes, thromboxanes. These substances are responsible for direct venom cardiotoxicity causing vasoconstriction and platelet aggregation^{7,14}. It has been estimated that about 1 500 stings would be required to deliver a lethal dose of hymenoptera venom for a nonallergic adult who weighs 70 kg¹⁷. Several of the venom proteins and peptides are allergenic. These allergens, especially phospholipase A₂, can cause endogenous amine release from mast cells during anaphylactic reaction. Some of these mediators released from mast cells cause vasodilatation that can lead to paradoxical coronary vasoconstriction, especially in the presence of coronary artery disease and endothelial dysfunction^{8,9,18–20}. These vasoactive mediators can induce myocardial ischemia either *via* hypotension or by increasing myocardial oxygen demand through direct inotropic or chronotropic effects. Serotonin, epinephrine and thromboxanes induce platelet aggregation accelerating thrombus formation^{8,9,18–22}. Finally, epinephrine that is often administered in the setting of anaphylaxis can aggravate myocardial ischemia, especially in elderly patients with coronary heart disease.

The main mechanisms responsible for myocardial infarction might be coronary arterial spasm and/or secondary *in situ* thrombosis^{9,15,23–25}. Therefore, the management strat-

egy of choice for the final diagnosis is urgent coronary angiography. It was reported that the treatment with primary percutaneous coronary intervention (PCI) was applied in patients with acute myocardial infarction with ST-segment elevation after a bee sting²⁵.

Acute myocardial infarction after a hornet sting is very rare; only two cases have been reported in the literature^{26, 27}. Our case is important because the patient had no signs of previous ischemic heart disease. The sequences of events suggest that anaphylaxis was the triggering factor of acute myocardial infarction. The patient's symptoms immediately after a hornet sting are attributable to anaphylaxis. Nevertheless, epicutaneous (prick) skin tests with hymenoptera venoms were negative. Negative skin tests, such as in this case, could exist in small group of sting-sensitive persons²⁸. More sensitive intradermal skin tests with insect venoms were not performed in this patient. However, subsequent typical retrosternal pain during an anaphylaxis accompanied with ECG abnormalities, confirmed that he had an acute Q anterolateral myocardial infarction. Subsequent coronary angiography suggested that the infarction was caused by thrombosis of the LAD artery, although the formerly existing atherosclerotic plaque could not be ruled out. The appearance of recanalized thrombus in the infarct related artery and left ventricle anteroapical dyskinesis suggest that the spontaneous thrombolysis occurred too late, namely, at the time when the irreversible necrosis of myocardial tissue had already developed.

"The allergic angina syndrome" which could progress to acute myocardial infarction ("allergic myocardial infarction") was firstly described in 1991 by Kounis and Zavras²⁹. Allergic angina and allergic myocardial infarction are now referred as "Kounis syndrome"³⁰⁻³². This syndrome is associated with mast cell degranulation and it is caused by mediators released during degranulation. The key mediator is tryptase, short lived protease (half-live of about 90 min). There are several causes capable of inducing this syndrome. In addition to environmental exposures such as hymenoptera stings, viper venom and poison ivy, other causes inducing Kounis syndrome include several drugs and a number of conditions (angioedema, bronchial asthma, food allergy, serum sickness, after drug-eluting stent implantation et al.). Blood samples for tryptase, histamine and IgE immunoglobulins were not taken after the precipitating event so the confirm of Kounis syndrome don't exist in this case.

Conclusion

Acute myocardial infarction after a hornet sting is a previously very rarely reported complication. It should be considered in subjects with chest pain or hemodynamic compromise in order to diagnose it early and apply an appropriate treatment. In the above case, the thrombotic coronary occlusion was a possible cause of anaphylaxis related acute myocardial infarction.

R E F E R E N C E S

1. *Ludolph-Hauser D, Ruzéff F, Fries C, Schöpf P, Przybilla B.* Constitutively raised serum concentrations of mast-cell tryptase and severe anaphylactic reactions to Hymenoptera stings. *Lancet* 2001; 357(9253): 361–2.
2. *Fisher BA, Antonios TF.* Atrial flutter following a wasp sting. *J Postgrad Med* 2003; 49(3): 254–5.
3. *Castberg T, Schwartz M.* Changes in the electrocardiogram during allergic shock. *Acta Med Scand* 1974; 126: 459–71.
4. *Brasher GW, Sanchez SA.* Reversible electrocardiographic changes associated with wasp sting anaphylaxis. *JAMA* 1974; 229(9): 1210–1.
5. *Epelde F, Sáenz Cusi L, Alvarez Auñón A.* Myocardial ischemia after a wasp sting. *An Med Interna* 2001; 18(4): 219. (Spanish)
6. *Milne MD.* Unusual case of coronary thrombosis. *Br Med J* 1949; 1(4616): 1123.
7. *Levine HD.* Acute myocardial infarction following wasp sting. Report of two cases and critical survey of the literature. *Am Heart J* 1976; 91(3): 365–74.
8. *Jones E, Joy M.* Acute myocardial infarction after a wasp sting. *Br Heart J* 1988; 59(4): 506–8.
9. *Wagdi P, Mehan VK, Bürgi H, Salzmann C.* Acute myocardial infarction after wasp stings in a patient with normal coronary arteries. *Am Heart J* 1994; 128(4): 820–3.
10. *Larsen SL.* Acute myocardial infarction following a wasp sting in a patient with normal coronary vessels. *Ugeskr Laeger* 2000; 162(36): 4819–20.
11. *Calveri G, Bertelli Y, Caico SI, Ermolli NC, Torretta M, Lattanzio M, et al.* Acute myocardial infarction after wasp sting. *Ital Heart J Suppl* 2002; 3(5): 555–7. (Italian)
12. *Ceyhan C, Ercan E, Tekten T, Kirilmaç B, Onder R.* Myocardial infarction following a bee sting. *Int J Cardiol* 2001; 80(2-3): 251–3.
13. *Freeman TM.* Clinical practice. Hypersensitivity to hymenoptera stings. *N Engl J Med* 2004; 351(19): 1978–84.
14. *Moffitt JE.* Allergic reactions to insect stings and bites. *South Med J* 2003; 96(11): 1073–9.
15. *Massing JL, Bentz MH, Schlessner P, Dumitru C, Louis JP.* Myocardial infarction following a bee sting. Apropos of a case and review of the literature. *Ann Cardiol Angeiol* 1997; 46(5–6): 311–5. (French)
16. *Engraw MB, Zimmerman M.* Electrocardiographic changes associated with anaphylaxis in a patient with normal coronary arteries. *West J Med* 1994; 161(6): 602–4.
17. *A.L. Lopata.* Insect allergies-facts, gaps and future directions. *Curr Allergy Clin Immunol*; 2005. pp. 54–56.
18. *Lombardi A, Vandelli R, Cerè E, Di Pasquale G.* Silent acute myocardial infarction following a wasp sting. *Ital Heart J* 2003; 4(9): 638–41.
19. *Habermann E.* Bee and wasp venoms. *Science* 1972; 177(46): 314–22.
20. *Bach MK.* Mediators of anaphylaxis and inflammation. *Annu Rev Microbiol* 1982; 36: 371–413.
21. *McMillan R, Bakich MJ, Yelenosky RJ.* The adrenalin binding site on human platelets. *Br J Haematol* 1979; 41(4): 597–604.
22. *Baumgartner HR, Born GV.* Effects of 5-hydroxytryptamine on platelet aggregation. *Nature* 1968; 218(5137): 137–41.
23. *Wong S, Greenberger PA, Patterson R.* Nearly fatal idiopathic anaphylactic reaction resulting in cardiovascular collapse and myocardial infarction. *Chest* 1990; 98(2): 501–3.
24. *Antonelli D, Koltun B, Barzilay J.* Transient ST segment elevation during anaphylactic shock. *Am Heart J* 1984; 108(4 Pt 1): 1052–4.

25. *Erbilen E, Gulcan E, Albayrak S, Ozgeren O.* Acute myocardial infarction due to a bee sting manifested with ST wave elevation after hospital admission. *South Med J* 2008; 101(4): 448.
26. *Korantzopoulos P, Kountouris E, Voukelatou M, Charaktisis I, Dimitroula V, Singas K,* et al. Acute myocardial infarction after a European hornet sting—a case report. *Angiology* 2006; 57(3): 383–6.
27. *Quercia O, Foschi FG, Marsigli L, Rafanelli S, Stefanini GF.* Immunotherapy despite anaphylaxis-induced myocardial infarction. *Allergy* 2001; 56(1): 89–90.
28. *Biló BM, Rueff F, Mosbech H, Bonifazi F, Oude-Elberink JN.* The EAACI Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity. Diagnosis of Hymenoptera venom allergy. *Allergy* 2005; 60(11): 1339–49.
29. *Kounis NG, Zavras GM.* Histamine-induced coronary artery spasm: the concept of allergic angina. *Br J Clin Pract* 1991; 45(2): 121–8.
30. *Zavras GM, Papadaki PJ, Kokkinis CE, Kalokairinov K, Kouni SN, Batsolaki M,* et al. Kounis syndrome secondary to allergic reaction following shellfish ingestion. *Int J Clin Pract* 2003; 57(7): 622–4.
31. *Kogias JS, Sideris SK, Anifadis SK.* Kounis syndrome associated with hypersensitivity to hymenoptera stings. *Int J Cardiol* 2007; 114(2): 252–5.
32. *Kounis GN, Habalis G, Soufras GD, Mazarakis A, Niarchos C, Kounis NG.* Kounis syndrome and simultaneous multivessel acute coronary syndromes after successful drug-eluting stent implantation. *Int J Cardiol* 2008; 127(1): 146–8.

The paper was on October 21, 2008.



ERRATA

1. Uvodnik/Editorial

Ristanović E. Vojnomedicinska akademija: 165 godina tradicije i napretka/Military Medical Academy: 165 years of tradition and progress. Vojnosanit Pregl 2009; 66(3): 183–188.

U Uvodniku, citiranom gore potkrala se greška na strani 188, u prvoj rečenici, drugog pasusa, treći red: umesto prvog načelnika saniteta srpske vojske, treba da stoji prvog **ratnog** načelnika saniteta srpske vojske (1876).

2. Letter to the editor/Pismo uredniku

Žižić-Borjanović S, Vučković-Dekić Lj. An act of humanity/Primer humanosti. Vojnosanit Pregl 2009; 66(3): 253–4.

In the Letter to the editor cited above in the last sentence, the last line, instead year 1985 it should put 1885.

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 prilozi.

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 (CD) 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**, **titulatura** 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.

Aboud 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, metaanalyses 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 metaanalyses 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 reported.

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, Efinanska-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: Lippincot, 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.

Aboud 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 prinadležnosti 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 prinadležnosti obustavlja iznos mesečne rate (preplate).	
3. Virmanom po prijemu profakture.	
Datum _____	Potpis _____

