

YU ISSN 0042-8450

ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

Часопис лекара и фармацеутика Војске Србије

Military Medical and Pharmaceutical Journal of Serbia



Vojnosanitetski pregled

Vojnosanit Pregl 2009; May vol. 66 (No. 5): pp. 343-414.



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

Editorial staff

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

Technical editor

Milan Perovanović

Proofreading

Ljiljana Nikolić

Technical editing

Svetlana Stajić, Vesna Totić, Jelena Vasilj



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

ORIGINALNI ČLANCI / ORIGINAL ARTICLES

Snežana Đorđević, Vesna Kilibarda, Tomislav Stojanović

Determination of carbamazepine in serum and saliva samples by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection

Određivanje karbamazepina u uzorcima seruma i salive primenom tečne hromatografije visokih performansi sa ultravioletnom detekcijom 347

Snežana Andrić Filipović, Ljiljana Janošević, Vukašin Andrić, Aleksandar Ugrinović

Kliničko ispitivanje funkcije i prohodnosti Eustahijeve tube kod bolesnika sa različitim oblicima povišene nosne rezistencije

Clinical evaluation of Eustachian tube transience and function in patients with different types of increased nasal resistance 353

Sonja Radaković, Jelena Marić, Maja Šurbatović, Nađa Vasiljević, Mladen Milivojević

Uticaj aklimatizacije na promene koncentracija enzima u serumu vojnika izloženih toplotnom stresu usled fizičkog napora

Influence of acclimatization on serum enzyme changes in soldiers during exertional heat stress 359

Sonja Šalinger Martinović, Zoran Perišić, Dragan Milić, Svetlana Apostolović, Miloje Tomašević, Tomislav Kostić, Nenad Božinović, Dragana Stanojević

Ehokardiografska procena akutnog hemodinamskog odgovora tokom optimizacije resinhronizacionog pejsmejкера korišćenjem različitih modaliteta pejsinga i atrioventrikularnog kašnjenja

Echocardiographic estimation of acute haemodynamic response during optimization of multisite pace-maker using different pacing modalities and atrioventricular delays 365

Bojana Kisić, Dijana Mirić, Lepša Žorić, Ilija Dragojević, Aleksandra Stolić

Uloga lipidne peroksidacije u patogenezi senilne katarakte

Role of lipid peroxidation in pathogenesis of senile cataract 371

Nevena Kalezić, Radoje Milosavljević, Ivan Paunović, Vladan Živaljević, Aleksandar Diklić, Danica Matić, Branislava Ivanović, Vojislava Nešković

The incidence of difficult intubation in 2 000 patients undergoing thyroid surgery – a single center experience

Incidencija otežane intubacije kod 2 000 bolesnika podvrgnutih hirurškom lečenju štitne žlezde – iskustvo jednog centra 377

Milovan Dimitrijević, Vera Beljin, Vladan Petrović, Vojko Đukić

Gastroesophageal reflux disease correlation with posterior laryngitis

Povezanost gastrointestinalne reluksne bolesti sa posteriornim laringitisom 383

Slobodan Grebeldinger, Branka Radojčić, Igor Meljnikov, Svetlana Balj

Modaliteti lečenja vezikoureternog refluksa kod dece

Treatment of vesicourethral reflux in pediatric patients 388

Dragan Pucar, Zoran Janković, Sanja Dugonjić, Zoran Popović

Estimation of ^{99m}Tc -ciprofloxacin accumulation indexes in bone and joint bacterial infections

Procena indeksa akumulacije ^{99m}Tc -ciprofloksacina u bakterijskim infekcijama kostiju i zglobova 395

KAZUISTIKA / CASE REPORTS

Branislav Baškot, Miodrag Živković, Sandra Tepić, Slobodan Obradović

Procena terapijskog efekta hiperbarične oksigenacije i eritropoetina u lečenju hronične srčane insuficijencije primenom perfuzione scintigrafije miokarda G-SPECT metodom

Evaluation of the therapeutic effect of hyperbaric oxygenation and erythropoietin in the treatment of chronic heart failure using myocardial perfusion scintigraphy G-SPECT 399

Marijan Novaković, Ivanka Baralić, Nenad Stepić, Milica Rajović, Vladimir Stojiljković

Denonvilliers' advancement flap in congenital alar rim defects correction

Denonvilerov *advancement* režanj za korekciju kongenitalnog defekta ruba nosnog krila 403

ISTORIJA EDICINE / HISTORY OF MEDICINE

Rade R. Babić

Povodom 155 godina od rođenja Mihajla Idvorskog Pupina

On the occasion of the 155th anniversary of Michael Idvorsky Pupin's birth 407

UPUTSTVO AUTORIMA / INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS 411



Mihajlo Idvorski Pupin (4. oktobar 1858–12. mart 1935) svetski poznat fizičar srpskog porekla, zaslužan je za uvođenje X-zraka u medicinsku praksu u Sjedinjenim Američkim Državama (vidi str. 407–410)

Michael Idvorsky Pupin (October 4, 1858 – March 12, 1935), a world-known physicist born in Serbia, was meritorious for introducing X-rays into medical practice in the United States (see p. 407–410)



Determination of carbamazepine in serum and saliva samples by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection

Određivanje karbamazepina u uzorcima seruma i salive primenom tečne hromatografije visokih performansi sa ultravioletnom detekcijom

Snežana Đorđević*, Vesna Kilibarda*, Tomislav Stojanović†

Military Medical Academy, *National Poison Control Centre, Belgrade, Serbia; Clinical Center of Serbia, †Clinic for Neurology and Psychiatry for Children and Youth, Belgrade, Serbia

Abstract

Background/Aim. Carbamazepine is antiepileptic drug widely used for the treatment of epilepsy. Due to low therapeutic index of carbamazepine there is a need for routine measuring its concentrations in biological fluids. The aim of the study was to describe a method for concomitant determination of carbamazepine in the serum and saliva. **Methods.** Separation of the drug from matrix is achieved by reversed-phase chromatography on a C18 column, with a mobile phase of methanol-water-acetic acid (65:34:1) at a flow-rate of 1.0 ml/min. Detection was effected by ultra-violet absorption at 285 nm. The total run time was 5 min. Samples were prepared by alkaline extraction (pH 10) using chloroform. **Results.** Calibration curves were in the range 0.1–5 µg/mL for serum and saliva samples. Mean recoveries of spiked serum and saliva were 97.59 and 92.30%, respectively. Limits of detection (LOD) of carbamazepine in serum and saliva were 0.166 and 0.178 µg/mL, respectively. Limits of quantification (LOQ) in the serum and saliva were 0.237 and 0.226 µg/mL, respectively. The method precision was carried out with coefficient of variation of 2.10% and 4.03% for the serum and saliva, respectively. The obtained data showed that there was a strong correlation between saliva and serum concentrations ($r = 0.9481$, $p < 0.001$). **Conclusion.** The method described here is rapid, precise, accurate and simple, and can be used for quantitative determination of carbamazepine in human serum and saliva after therapy applying. Saliva samples could be used as an alternative matrix for therapeutic drug monitoring of this antiepileptic drug.

Key words: carbamazepine; saliva; serum; chromatography, high pressure liquid.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Karbamazepin pripada grupi antiepileptika koji se široko koriste za lečenje epilepsije. Zbog niskog terapijskog indeksa karbamazepina neophodno je rutinski određivati njegove koncentracije u telesnim tečnostima. Cilj rada bio je da se opiše metoda za određivanje karbamazepina u uzorcima seruma i salive. **Metode.** Razdvajanje leka od komponenti matriksa vršeno je reverznofaznom hromatografijom na C18 koloni, sa mobilnom fazom sastavljenom od metanola, vode i sirćetne kiseline u odnosu 65:34:1. Protok mobilne faze bio je 1 mL/min. Detekcija karbamazepina vršena je na 285 nm. Ukupno vreme trajanja analize bilo je 5 min. Uzorci su pripremani alkalnom ekstrakcijom na pH 10 sa hloroformom. **Rezultati.** Kalibracione krive konstruisane su u opsegu od 0,1 do 5 mg/L i za serum i za salivu. Srednji prinos ekstrakcije za serum iznosio je 97,59%, a za salivu 92,30%. Limit detekcije (LOD) za karbamazepin u uzorcima seruma bio je 0,166 mg/L, a u uzorcima salive 0,178 mg/L. Limit kvantifikacije (LOQ) za serum bio je 0,237 mg/L, a za salivu 0,226 mg/L. Koeficijent varijacije metode za određivanja koncentracije leka u serumu bio je 2,10%, a 4,03% za uzorke salive. Dobijeni podaci pokazuju da postoji dobra korelacija koncentracija u salivi i serumu ($r = 0,9481$, $p < 0,001$). **Zaključak.** Opisana metoda je brza, precizna, tačna i jednostavna i primenjena je za kvantitativno određivanje karbamazepina u serumu i salivi bolesnika nakon terapijske primene leka. Uzorci salive mogu se koristiti kao alternativa serumu u praćenju terapijskih koncentracija ovog antiepileptika.

Ključne reči: karbamazepin; pljuvačka; serum; hromatografija, tečna, pod vp.

Introduction

Carbamazepine is an iminostilbene derivative used for more than three decades as the drug of first choice for the

treatment of trigeminal neuralgia and also for both generalized and partial seizures, due to rapid control of excessive cerebral electrical discharges and the low incidence of acute and chronic toxicity¹.

Carbamazepine is almost entirely metabolized by the CYP450 enzyme system in the liver. It induces cytochrome P450 isoenzymes as well as UDP-glucuronyltransferase and may also inhibit CYP2C19. Carbamazepine undergoes autoinduction (via CYP3A4). Certain drugs (cimetidine, diltiazem, verapamil, erythromycin) can increase carbamazepine serum levels. On the other hand, drugs that accelerate hepatic metabolism (phenytoin, phenobarbital, primidone, oxcarbazepine) will decrease serum concentrations of carbamazepine. Taking carbamazepine simultaneously with lamotrigine may increase the likelihood of neurotoxic side effects². Because of its low therapeutic index and increasing number of carbamazepine intoxications there is a need for routine measuring of carbamazepine concentration in serum samples.

The most applying methods for determination of carbamazepine in biological materials use high performance liquid chromatography with ultraviolet or photodiode detection (HPLC-UV, HPLC-PDA) and immunoassay (FPIA)^{1,3-11}. Gas chromatography with mass spectrometry and liquid chromatography with mass spectrometry methods have been described in the literature^{12,13}.

The aim of this paper was to describe a simple, accurate and precise HPLC-UV method for determination of carbamazepine in serum and saliva samples.

Methods

Analytical standard of carbamazepine (100% s.s.) was obtained from Sigma.

Methanol and glacial acetic acid were of HPLC and p.a. purity, obtained from MERCK. Ammonium hydroxide 25% was p.a. purity and obtained from J. T. Baker. Water was purified by Millipore Milli-Q system.

The method used was a high performance liquid chromatograph LKB 2150 binary pump with Waters 2487 dual λ Absorbance Detector and Clarity Lite Software.

The mobile phase was a mixture of methanol-demineralized water-glacial acetic acid (65:34:1 v/v/v), filtered and degassed by membrane degasser.

Flow rate of mobile phase was 1 mL/min through column Lichrospher 100 RP-8 (5 μ m) 250-4, (Merck) with guard column Lichrochart 4-4 RP-8, at the room temperature, with injector loop volume of 175 μ L. Detection of carbamazepine was performed on 285 nm. Retention time of carbamazepine was 3.9 minutes.

Stock standard solution of carbamazepine was prepared by dissolving 10 mg in 10 mL methanol and stored at -4°C. Other concentrations of carbamazepine were made by diluting stock standard solutions with mobile phase to achieve calibration concentrations expected to meet the therapeutic levels in serum of patients.

To 0.2 mL serum and 1 mL saliva samples, 50 μ L of 25% ammonium hydroxide and 5 mL of chloroform was added. The samples were mixed in a mechanical shaker for 20 minutes and centrifuged at 3 000 rpm for 10 min. After centrifugation, organic layer was separated and evaporated in a stream of air. Dry extracts were reconstituted in mobile phase and analyzed by HPLC-UV method on 285 nm.

Calibration and quality control samples were prepared by adding carbamazepine solution in blank ("drug-free") human serum and saliva. The amounts corresponded to the serum and saliva concentrations of carbamazepine ranged from 0.1 to 5 μ g/mL. The calibration curves for the saliva and serum spiked by carbamazepine were obtained by plotting carbamazepine peak areas for the concentrations range 0.1, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2.5 and 5 μ g/mL.

The concentrations of quality control samples were 0.1, 1 and 5 mg/L.

Results

Carbamazepine concentrations were determined using weighed linear regression function. Table 1 shows a calibration curve for carbamazepine in the serum and saliva.

The correlation coefficients for the saliva and serum spiked by carbamazepine were 0.9969 and 0.9996, respectively. Figure 1 shows a calibration curve for spiked serum and saliva.

Unknown concentrations of carbamazepine in serum and saliva samples of the patients were calculated using a corresponding factor from the calibration curve. A factor is calculated from the mean value peak-area of carbamazepine for each mentioned concentration. Recovery was determined for each concentration, as the mean of three samples by comparing the peak areas of the extracted and non-extracted samples.

Figures 2a to 2d show chromatograms of drug-free serum and saliva and serum and saliva spiked by carbamazepine solution concentration of 1 mg/L.

A precision of the method was assessed by calculating coefficient of variation (CV) for a measured parameter of the

Table 1
Parameters of calibration curve for carbamazepine in the serum and saliva

Concentration (mg/L)	AUC for spiked serum (mg/L/h)	AUC for spiked saliva (mg/L/h)
0.1	184.54	248.64
0.5	918.60	934.87
0.75	1512.34	1428.94
1.0	1777.60	2197.66
1.5	2796.15	2917.68
2.5	4638.16	5039.79
5.0	9384.69	9223.09

AUC – Area under the concentration – time curve

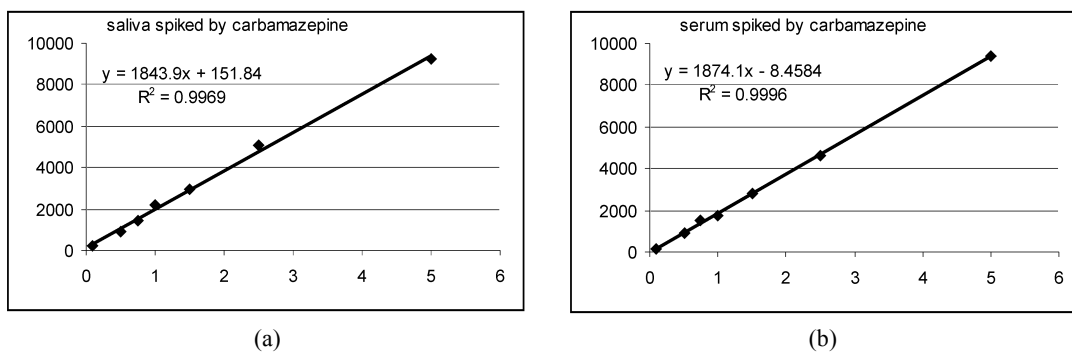


Fig. 1 – Calibration curve for spiked saliva (a) and serum (b)

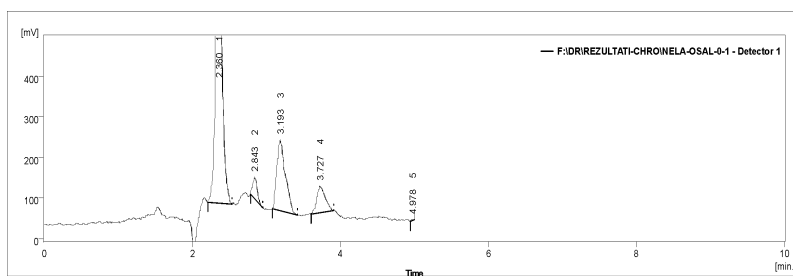


Fig. 2a – Chromatogram of blank saliva

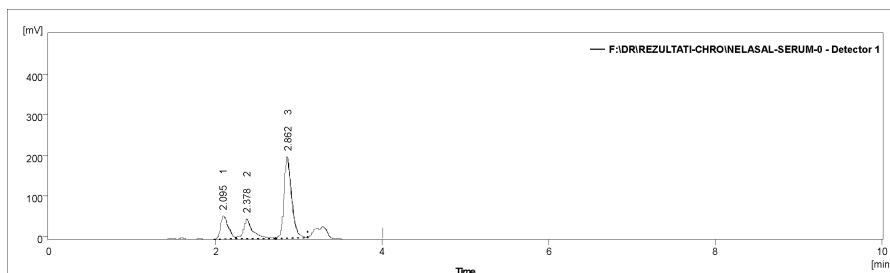


Fig. 2b – Chromatogram of blank serum

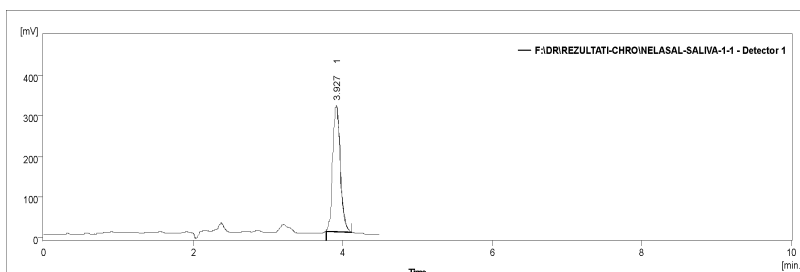


Fig. 2c – Chromatogram of spiked saliva (1mg/L)

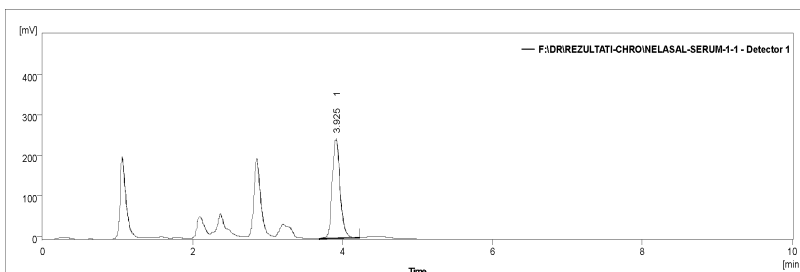


Fig. 2d – Chromatogram of spiked serum (1mg/L)

method (peak area of carbamazepine) and determined on the same day (n = 7). The inter- and intra-day coefficients of variation (CV) for spiked serum and saliva are shown in Table 2.

The spiked saliva and serum extracts were stable when kept in a refrigerator for 48 hours; mean 97.36% (95.35 –

103.02%). Carbamazepine in serum and saliva was stable following 3-fold freezing and thawing (F&T) procedure. The results are shown in Table 3.

Analytical recovery for serum and saliva spiked by carbamazepine were 97.59% (from 87.85% to 102.49%) and

Table 2
Inter- and intra-day coefficients of variation (CV) for spiked serum and saliva

Concentration (mg/L)	Intra-day CV (%)		Inter-day CV (%)	
	serum	saliva	serum	saliva
0.1	1.94	3.84	0.52	2.49
1.0	1.25	1.72	1.02	0.51
5.0	0.73	1.13	0.69	0.66

Table 3
Concentrations (C) of carbamazepine in the serum and saliva and recoveries after 3-fold freezing and thawing

C (mg/L)	C in the serum (mg/L)	Recovery (%)	C in the saliva (mg/L)	Recovery (%)
0.1	0.098	97.68	0.095	95.44
1.0	1.059	105.95	0.962	96.21
5.0	4.761	95.22	5.062	101.24

92.30 % (from 89.25 to 96.84%), respectively. Table 4 shows limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), standard deviation (SD) and coefficient of variation (CV) for spiked saliva and serum.

Discussion

There are different methods for sample preparation for carbamazepine determination. Precipitation of proteins from

Table 4
Limits of detection (LOD), limits of quantification (LOQ), standard deviations (SD) and coefficients of variation (CV) for spiked saliva and serum

Biological fluid	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	SD	CV (%)
Saliva	0.054	0.168	57.59	4.03
Serum	0.055	0.173	31.78	2.10

Calculation of carbamazepine concentration was done on the basis of the calibration curve obtained after analysis of saliva and serum spiked by carbamazepine standard solution ranged from 0.1 to 5 mg/L. Linear regression for spiked saliva and serum were $Y = 1843.9 \cdot X + 151.84$ and $Y = 1874.1 \cdot X - 8.46$, respectively.

Serum and saliva constituents did not interfere in the carbamazepine assay.

The method was applied to determine a concentration of carbamazepine in the patient's serum or saliva samples. We calculated serum/plasma (S/P) ratio on the basis of the determined salivary and serum carbamazepine concentrations.

Table 5 shows salivary and serum carbamazepine concentrations and S/P ratio of 23 patients on the anti-epileptic therapy.

serum samples preparation has been cited in the literature¹⁴. Also, liquid-liquid extraction of carbamazepine by methyl tert-butyl ether, ethyl acetate and ether have been described^{8, 15, 16}.

Carbamazepine could be determined by the HPLC-UV method after solid phase extraction on C18 or Oasis HLB cartridges¹⁷⁻¹⁹.

We performed liquid-liquid method for the extraction of carbamazepine from serum and saliva samples by chloroform at pH 10. This extraction gave very good recoveries for serum and saliva spiked by carbamazepine: 97.59% (from 87.85% to 102.49%) and 92.30% (from 89.25 to 96.84%), respectively. Liquid-liquid extraction is necessary for preparation of saliva samples because of its high viscosity. So, in that case solid phase extraction is not possible. The same ex-

Table 5
Carbamazepine serum and salivary concentrations (C) and S/P ratio in patients receiving the drug

Patient	C (mg/L)		S/P ratio	Patient	C (mg/L)		S/P ratio
	serum	saliva			serum	saliva	
1	4.71	1.65	0.35	13	5.74	2.54	0.44
2	1.80	0.70	0.39	14	7.52	2.54	0.34
3	2.10	1.10	0.52	15	3.87	1.69	0.44
4	5.20	1.99	0.38	16	5.84	1.98	0.34
5	4.98	1.90	0.38	17	2.99	0.86	0.29
6	2.89	1.40	0.48	18	5.45	2.37	0.43
7	6.89	2.82	0.41	19	2.85	1.00	0.35
8	5.65	2.10	0.37	20	6.01	2.33	0.39
9	4.58	1.69	0.37	21	1.51	0.61	0.41
10	6.92	2.74	0.40	22	2.47	1.13	0.46
11	4.50	2.12	0.47	23	2.42	0.58	0.24
12	4.44	1.58	0.36				

S/P – saliva/plasma ratio

traction was performed for serum preparation because of further comparison salivary and serum carbamazepine concentration.

We had performed separation of carbamazepine from matrix compound on C18 column as many other authors¹⁴⁻²¹.

The HPLC-UV method mostly used mobile phase with phosphate buffer²¹⁻²³. Six antiepileptic drugs were eluted from C18 column with mobile phase consisting of a 0.01 M phosphate buffer-methanol-acetonitrile (65:18:17 v/v) adjusted to pH 7.5 with phosphoric acid. The effluent was monitored at 220 nm¹⁶.

Shimoyama et al.¹⁸ described chromatographic separation on C8 column using a mobile phase of potassium dihydrogenphosphate (pH 2.5) and acetonitrile (67:33 v/v) with UV detection on 254 nm.

We used mobile phase contained methanol-water-glacial acetic acid (65:34:1). The content of our mobile phase was similar to the mobile phase that contained methanol-water-glacial acetic acid (67 : 33 : 1) applied in the HPLC-UV method for determination of carbamazepine described by Kishore et al.¹⁵. Applying this mobile phase we obtained good sensitivity. The compounds of matrix did not interfere with analyte (Figures 2a and 2b).

Different wavelengths for detection of carbamazepine such as 210 nm^{8, 20, 21}, 220 nm¹⁶, 230nm¹⁵ or 254 nm¹⁸ have been reported in the literature.

We used the wavelength of 285 nm allowing carbamazepine maximum of absorbance and the best sensitivity of the method. Moreover, the compounds of matrix could be interfering with carbamazepine at the lower wavelengths such us 220 or 230 nm.

Limit of quantitation for carbamazepine described by Levert at al. was 0.66 mg/L¹⁴. Quantification limit for carbamazepine after single-step protein precipitation procedure and detection on 215 nm was 0.5 mg/L²¹.

Limits of detection of the described HPLC-UV method in the serum and saliva were 0.055 and 0.054 mg/L, respectively. Limits of quantification of carbamazepine in the serum and saliva were 0.168 and 0.173 mg/L, respectively. In comparison with HPLC methods cited in the literature our method showed higher sensitivity with a lower limit of quantification²¹.

Leuert et al. developed a HPLC method for simultaneous determination of oxcarbazepine, carbamazepine and metabolites, phenobarbital and phenytoin in the serum. Mean recovery of this method after precipitation of serum samples was 96.52%⁵.

The recoveries of HPLC method for determination of carbamazepine and carbamazepine-10,11-epoxide in the plasma after solid-phase extraction on C18 cartridges were 88.9-104.0%¹⁸. Our data were similar with the data in the literature. Analytical recoveries for the serum and saliva

spiked by carbamazepine in the method that we developed were 97.59% (from 87.85% to 102.49%) and 92.30 % (from 89.25 to 96.84%), respectively.

The HPLC-UV method for simultaneous determination of carbamazepine, lamotrigine, primidone, phenobarbital and phenytoin used mobile phase consisting of water/ACN/methanol/triethylamine in the ratio 72 : 23 : 5 : 0.1 adjusted to pH 7.0. UV detection was carried out on 220 nm. The method was linear in the range of 1.25 – 25 mg/L for carbamazepine. Within-day CV% and between-day CV% were within 10%⁶.

A HPLC assay with UV detection developed for the simultaneous determination of the anti-epileptic drugs lamotrigine, carbamazepine and zonisamide in human plasma and serum was linear at the range of 2 – 20 mg/L for carbamazepine⁷.

Our method was linear in the range of 0.1 to 5 mg/L of carbamazepine in both serum and saliva. This range was in compliance with therapeutic range of the drug in serum and saliva samples.

The method was found to be reproducible with the coefficient of variation of 2.10% and 4.03 % for the serum and saliva, respectively.

The method was applied to analyze serum and saliva samples of patients on carbamazepine therapy and to determine if a correlation of drug concentrations between the saliva and serum exists. Our results show that a mean S/P ratio is 0.39 (from 0.24 to 0.52) and that there is a strong correlation ($r = 0.9481$, $p < 0.001$) between the saliva and serum.

The mean ratio of salivary to serum free carbamazepine concentrations of 1.02 ± 0.11 has been reported²². However, other authors, similarly to us, have reported the saliva/plasma ratio for carbamazepine of 0.13 to 0.33 and intra-individual variation about 5%²². We consider that our results are acceptable because we measured no free, but total carbamazepine concentration in the serum (free carbamazepine and carbamazepine bounded to serum proteins).

The findings of this study demonstrate that monitoring of salivary carbamazepine concentrations, the most used anti-epileptic drug, proved to be a realistic alternative in routine clinical analysis after therapy applying especially in pediatric patients, because saliva collection is painless, non-invasive and simpler than blood taking.

Conclusion

The HPLC-UV method described here is rapid, sensitive and simple for determination of carbamazepine in human serum and saliva samples. Saliva samples could be used as an alternative matrix for therapeutic drug monitoring of this antiepileptic drug.

R E F E R E N C E S

1. Tsatsakis AM, Psillakis TK, Tzatzarakis M, Kourtopoulos H, Parisis N. Carbamazepine levels in the hair of patients under long-

term treatment: a preliminary study. Clin Chim Acta 1997; 263(2): 187-95.

2. Carbamazepine. Interactions with other medications. Available from: professionals.epilepsy.com/medications/p_carbamazepine_interaction.html
3. *Mieczkowski T.* Is a "color effect" demonstrated for hair analysis of carbamazepine? *Life Sci* 2000; 67(1): 39–43.
4. *Williams J, Patsalos PN, Wilson JF.* Hair analysis as a potential index of therapeutic compliance in the treatment of epilepsy. *Forensic Science International* 1997; 84: pp. 113–122.
5. *Lever H, Odon P, Robert H.* Simultaneous determination of four antiepileptic drugs in serum by high-performance liquid chromatography. *Biomedical Chromatography* 2001; 16(1): pp. 19–24.
6. *Budakova L, Brozomanova H, Grundmann M, Fischer J.* Simultaneous determination of antiepileptic drugs and their two active metabolites by HPLC. *J Sep Sci* 2008; 31(1): 1–8.
7. *Greiner-Sosanko E, Lower DR, Virji MA, Krasowski MD.* Simultaneous determination of lamotrigine, zonisamide, and carbamazepine in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Biomed Chromatogr* 2007; 21(3): 225–8.
8. *Ob E, Ban E, Woo JS, Kim CK.* Analysis of carbamazepine and its active metabolite, carbamazepine-10,11-epoxide, in human plasma using high-performance liquid chromatography. *Anal Bioanal Chem* 2006; 386(6): 1931–6.
9. *Wilimowska J, Gomółka E, Pasich A, Jenner B, Szpak D.* Comparison of fluorescence polarization immunoassay and high performance liquid chromatography for determination of carbamazepine concentration in blood of poisoned patients. *Przegl Lek* 2005; 62(6): 595–8.
10. *Hermida J, Bóveda MD, Vadillo FJ, Tutor JC.* Comparison between the Cobas Integra immunoassay and high-performance liquid chromatography for therapeutic monitoring of carbamazepine. *Clin Biochem* 2002; 35(3): 251–4.
11. *Steijns LS, Bouw J, van der Weide J.* Evaluation of fluorescence polarization assays for measuring valproic acid, phenytoin, carbamazepine and phenobarbital in serum. *Ther Drug Monit* 2002; 24(3): 432–5.
12. *Minkova G, Getova D.* Determination of carbamazepine and its metabolite carbamazepine-10,11-epoxide in serum with gas-chromatography mass spectrometry. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2001; 23(9): 481–5.
13. *Miao XS, Metcalfe CD.* Determination of carbamazepine and its metabolites in aqueous samples using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Anal Chem* 2003; 75(15): 3731–8.
14. *Yoshida T, Imai K, Motobashi S, Hamano S, Sato M.* Simultaneous determination of zonisamide, carbamazepine and carbamazepine-10,11-epoxide in infant serum by high-performance liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal* 2006; 41(4): 1386–90.
15. *Kishore P, Rajnarayana K, Reddy MS, Sagar JV, Krishna DR.* Validated high performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of phenytoin, phenobarbital and carbamazepine in human serum. *Arzneimittelforschung* 2003; 53(11): 763–8.
16. *Matar KM, Nicholls PJ, Tekle A, Bawazir SA, Al-Hassan MI.* Liquid chromatographic determination of six antiepileptic drugs and two metabolites in microsamples of human plasma. *Ther Drug Monit* 1999; 21(5): 559–66.
17. *Franceschi L, Furlanut M.* A simple method to monitor plasma concentrations of oxcarbazepine, carbamazepine, their main metabolites and lamotrigine in epileptic patients. *Pharmacol Res* 2005; 51(4): 297–302.
18. *Shimoyama R, Ohkubo T, Sugawara K.* Monitoring of carbamazepine and carbamazepine 10,11-epoxide in breast milk and plasma by high-performance liquid chromatography. *Ann Clin Biochem* 2000; 37 (Pt 2): 210–5.
19. *Mandrioli R, Albani F, Casamenti G, Sabbioni C, Raggi MA.* Simultaneous high-performance liquid chromatography determination of carbamazepine and five of its metabolites in plasma of epileptic patients. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2001; 762(2): 109–16.
20. *Patil KM, Bodhanekar SL.* Simultaneous determination of lamotrigine, phenobarbitone, carbamazepine and phenytoin in human serum by high-performance liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal* 2005; 39(1-2): 181–6.
21. *Bhatti MM, Hanson GD, Schultz L.* Simultaneous determination of phenytoin, carbamazepine, and 10,11-carbamazepine epoxide in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Pharm Biomed Anal* 1998; 16(7): 1233–40.
22. *Miles MV, Tennison MB, Greenwood RS.* Intraindividual variability of carbamazepine, phenobarbital, and phenytoin concentrations in saliva. *Ther Drug Monit* 1991; 13(2): 166–71.

The paper received on March 24, 2008.



Kliničko ispitivanje funkcije i prohodnosti Eustahijeve tube kod bolesnika sa različitim oblicima povišene nosne rezistencije

Clinical evaluation of Eustachian tube transience and function in patients with different types of increased nasal resistance

Snežana Andrić Filipović*, Ljiljana Janošević*, Vukašin Andrić†, Aleksandar Ugrinović*

Klinički centar Srbije, *Institut za otorinolaringologiju i maksilofacijalnu hirurgiju, Beograd, Srbija; †Medicinski fakultet Priština, Kosovska Mitrovica, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Eustahijeva tuba spaja ždrelo i srednje uvo, odnosno nos i uvo. Zapaljenski procesi i malformacije nosne šupljine mogu dovesti do disfunkcije celog gornjeg respiratornog trakta zbog čega je procena funkcije Eustahijeve tube važna, ne samo u hirurgiji već i u medicini uopšte. Cilj studije bio je ispitivanje funkcije Eustahijeve tube timpanometrijskom metodom sa različitim oblicima povišene nosne rezistencije. **Metode.** Ispitivanje je obuhvatilo 102 ispitanika sa različitim oblicima povišene nosne rezistencije, a rezultati su poređeni sa kontrolnom grupom, 41 ispitanikom sa normalnom nazalnom rezistencijom. Ispitana grupa bila je podeљena u tri podgrupe, u zavisnosti od toga da li su ispitanici imali morfološke, inflamatorne ili i jedne i druge promene nosne sluznice (mešovite). Nosna rezistencija ispitivana je konstantnim telesnim pletizmografom, marke *Jaeger*. Prolaznost i funkcionalnost Eustahijeve tube ispitivana je timpanometrijskom metodom *Toynbee*-degluticija/*Valsalva*-degluticija testom. Rezultati su poređeni sa kontrolnom grupom parametrijskim i neparametrijskim testovima, Pirsonovim χ^2 testom, Fišerovim testom tačne verovatnoće i analizom varijanse. **Rezultati.** Podgrupa sa inflamatornim promenama imala je značajno češće timpanometrijsku krivu karakteristično ravnu ili pomerenu u levo, za razliku od ostalih podgrupa i kontrolne grupe. Nefunkcionalnost Eustahijeve tube bila je značajno češće prisutna u svim podgrupama u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0,05$). Prohodnost Eustahijeve tube nije se značajno razlikovala između kontrolne grupe i podgrupa. **Zaključak.** Patološki oblik statičkog timpanograma češći je kod čisto inflamatornih promena u nosnom kavumu praćenih povišenom nosnom rezistencijom nego kod opstrukcije zbog morfoloških promena. Svi oblici povišene nosne rezistencije značajno češće praćeni su disfunkcijom Eustahijeve tube, ali malo utiču na njenu prohodnost.

Ključne reči:

eustahijeva tuba; nos; zapaljenje; nos, bolesti; akustička impedanca, testovi.

Abstract

Background/Aim. Eustachian tube is a connection between throat and the middle ear. Inflammatory processes and malformations of nasal cavity could lead to dysfunction of the whole upper respiratory tract, thus emphasizing the evaluation of the Eustachian tube function both in surgery and in medicine in general. The aim of this study was to evaluate the Eustachian tube passage and function by tympanometry in different types of nasal resistance. **Methods.** Eustachian tube passage and function was tested in 102 patients with different types of nasal pathology and nasal resistance and compared to the results of 41 healthy persons with normal values of nasal resistance included in the control group. The patients with nasal pathology were divided into three subgroups: with mechanical, inflammatory and mixed alterations. Nasal resistance was carried out with constant body plethysmography (*Jaeger*). The test of Eustachian tube passage and function was performed using tympanometric *Toynbee*-deglutition/*Valsalva*-deglutition test. The results of measurements were compared with those in the healthy control group and analyzed by means of parametric and nonparametric statistic tests, Pearson χ^2 test, Fisher test of exact probability and variance analysis. **Results.** The subgroup with inflammatory alterations had significantly higher values of pathological tympanograms than other subgroups and the control group ($p < 0,05$). The dysfunction of the Eustachian tube was significantly more present in all subgroups than in the control group ($p < 0,05$). **Conclusion.** Pathological form of tympanograms is more often present in purely inflammatory changes of nasal cavities with higher nasal resistance than in mechanical nasal obstruction. All forms of higher nasal resistance are more often accompanied with Eustachian tube dysfunction. There was no significant differences in Eustachian tube passage between the subgroups and the control group.

Key words:

eustachian tube; nose; inflammation; nose diseases; acoustic impedance tests.

Uvod

Eustahijeva tuba spaja gornji sprat ždrela sa prostorom srednjeg uva. Ona omogućava prolaz vazduha u srednje uvo i izjednačavanje pritiska u srednjem uvu sa atmosferskim pritiskom. Prekrivena je respiratornim epitelom, kao i ceo gornji respiratorni trakt kome pripada. Zapaljenski procesi i malformacije koje pogađaju nosnu šupljinu mogu dovesti do disfunkcije preostalog dela gornjeg respiratornog trakta. Glavne funkcije Eustahijeve tube su ventilacija kavuma timpani, klirensna funkcija i protektivna funkcija¹⁻⁴.

Cilj rada bio je utvrđivanje oblika statičnog timpanograma kod različitih patoloških stanja nosne šupljine praćenih povišenom nosnom rezistencijom. Posebno je meren uticaj povišene nosne rezistencije kod patoloških promena nosne šupljine na prohodnost i funkcionalnost Eustahijeve tube.

Metod

Ova prospektivna i kontrolisana studija sprovedena je u tercijarnoj univerzitetskoj ustanovi, Kliničko-bolničkom centru Priština u Otorinolaringološkoj klinici, u dvogodišnjem periodu (1996–1998). Studijom je bilo obuhvaćeno ukupno 143 ispitanika životne dobi od 18 do 50 godina, pri čemu su 102 bolesnika činila ispitivanu grupu, a 41 ispitanik kontrolnu grupu. Kriterijumi za ulazak ispitanika u ispitivanu grupu bili su subjektivni i objektivni. Subjektivni kriterijum bio je otežano disanje kroz nos, a objektivni hronične inflamatorne promene nosne sluznice, morfološke promene ili udružene inflamatorne i morfološke promene praćene povišenim vrednostima nosne rezistencije. Na osnovu objektivnih kriterijuma, ispitivana grupa bila je podeljena na tri podgrupe: M (morfološke promene nosne šupljine), I (samo hronične inflamatorne promene) i MI (morfološke i hronične inflamatorne promene zajedno). Kriterijumi za ulazak ispitanika u kontrolnu grupu bili su nesmetano disanje kroz nos, odsustvo morfoloških, hroničnih inflamatornih i mešovutih promena nosne sluznice i normalne vrednosti nosne rezistencije.

Nazalna prohodnost dijagnostikovana je na osnovu: anamneze (otežano disanje na nos), kliničkog pregleda – morfološke promene nosne šupljine (deformacije nosne pregrade: *spina septi nasi*, devijacija nosnog septuma, kriste *septi nasi*, rinoliti, konha buloza), hronične zapaljenske promene nosne sluznice (hiperemija, sekrecija, lividna sluznica, hipertrofična ili atrofična sluznica) ili postojanje mešovutih promena (morfološke promene udružene sa zapaljenskim promenama) i pletizmografija (konstantnim telesnim pletizmografom marke *Jaeger* (*body pletismography*, *Erich Jaeger*, *Wuerzburg*, *Germany*). Merenje je vršeno u sedećem

položaju ispitanika, upotrebom odgovarajuće maske koja tesno prijanja uz kožu lica i udisanjem vazduha kroz nos i usta. Vrednost nosne rezistencije dobijana je kao razlika rezistencije vazdušnih puteva pri disanju kroz nos sa zatvorenim ustima i rezistencije pri disanju kroz usta sa zatvorenim nosom. Lako povišen nosni otpor L , iznosio je 0,67–1,50 kPa/cm/s. Značajna i teška nosna opstrukcija, $Z + T$, iznosila je 1,50–2,50 kPa/cm/s². Svi ispitanici imali su povišene vrednosti nosne rezistencije – preko 0,67 kPa/cm/s.

Ispitivanje funkcije i prohodnosti Eustahijeve tube rađeno je timpanometrijskom metodom. Svim ispitanicima rađeno je statički timpanogram. Tumačenje oblika i položaja statičkog timpanograma vršeno je po metodi *Jaeger*: A – normalan zvonast timpanogram sa vrhom u rasponu –50–50 daPa (decaPascala), C oblik, gde je vrh timpanograma pomećen ulevo ka negativnijim vrednostima pritiska ispod –50 daPa i B timpanogram – zaravnjen oblik timpanograma.

Prohodnost i funkcija Eustahijeve tube merene su *Toynbee*-degluticija-*Valsalva*-degluticija manevrom. Najpre je rađeno *Toynbee* test, u kome bolesnik sa zatvorenim nosom i ustima guta 4–5 puta i kada očekujemo nazofaringealnu depresiju i, naravno, kod normalno funkcionalne Eustahijeve tube intratimpaničnu depresiju koja se razlikuje od početnih vrednosti statičkog timpanograma za manje od 50 daPa. Nakon *Toynbee* testa, od bolesnika se zahteva da proguta pet puta sa otvorenim nosom čime se pritisak izjednačuje sa atmosferskim i vrh vraća ka normalnim vrednostima pritiska. *Valsalva* manevrom (nakon duboke inspiracije bolesnik sa zatvorenim nosom i ustima duva vazduh tako da stvara povišeni pritisak u epifaringusu) stvara se intratimpanična hipertenzija i pomera se vrh timpanograma ka pozitivnim pritisacima koji se razlikuju od početne vrednosti za 50 daPa. Time se dokazuje tubarna prohodnost. Dobijene vrednosti grupisane su u tri grupe: prohodna i funkcionalna (P+/F+); prohodna, nefunkcionalna (P+/F-) i neprohodna i nefunkcionalna P-/F-).

Dobijeni podaci obrađeni su prema metodologiji deskriptivne i analitičke statistike. Primenjeni su parametrijski i neparametrijski statistički testovi, *Pearson's* χ^2 test, *Fisher's* test tačne verovatnoće i analiza varijanse.

Rezultati

Bolesnici ispitivane grupe imali su prosečno 33, a ispitanici kontrolne grupe 35 godina. Prosečna starost bolesnika podgrupe M bila je 32, podgrupe I 35, a podgrupe MI 35 godina. Između kontrolne i grupe, kao i podgrupa i kontrolne grupe nije bilo statistički značajne razlike u prosečnom životnom dobu ($F = 0,809$, $p = 0,491$). Distribucija ispitanika prema godinama prikazana je u tabeli 1.

Tabela 1

Distribucija ispitanika prema godinama života

Grupa ispitanika*	Životno doba (god.)	Interval poverenja (95%)
Kontrolna	35,71 ± 14,79	31,04–40,38
Morfološke (M)	31,48 ± 10,45	28,38–34,58
Inflamatorne (I)	34,36 ± 14,54	24,60–44,13
Mešovite i inflamatorne (MI)	34,91 ± 15,11	30,37–39,45

*formirana na osnovu promena nosne sluznice

Takođe nije bilo statistički značajne razlike u polu između ispitanika kontrolne grupe bolesnika. Distribucija ispitanika prema polu prikazana je u tabeli 2.

hodnom i funkcionalnom Eustahijevom tubom (P+/F+), dok su bolesnici sa prohodnom i nefunkcionalnom Eustahijevom tubom (P+/F-) i neprohodnom i nefunkcionalnom Eustahije-

Tabela 2
Distribucija ispitanika prema polu u podgrupama sa promenama nosne sluznice i bez promena

Grupa ispitanika*	Muški pol		Ženski pol		Ukupno	
	n	%	n	%	n	%
Kontrolna	19	29,70	22	27,85	41	28,67
Morfološke (M)	20	31,25	26	32,81	46	32,17
Inflamatorne (I)	5	7,80	6	7,59	11	7,69
Mešovite i inflamatorne (MI)	20	31,25	25	31,65	45	31,47
Ukupno	64	100,0	79	100,00	143	100,00

*formirana na osnovu promena nosne sluznice

Svi bolesnici u podgrupama imali su povišene vrednosti nosne rezistencije koja je merena konstantnim telesnim pletizmografom i iznosila je od 0,67 kPa/cm/s pa naviše. Svi ispitanici kontrolne grupe imali su normalne vrednosti nosne rezistencije (od 0,38 kPa/cm/s do 0,67 kPa/cm/s).

Timpanometrija je svim ispitanicima rađena obostrano. Distribucija timpanometrijskih rezultata kod ispitivanih podgrupa i kontrolne grupe prikazana je u tabeli 3. Ispitanici u podgrupi sa inflamatornim promenama nosne sluznice imali su u statistički značajno većem procentu timpanometrijsku krivu koja je ravna ili pomerena u levo od ispitanika ostalih podgrupa, kao i od ispitanika kontrolne grupe ($p < 0,05$ podgrupe sa inflamatornim promenama vs kontrolna grupa; $p < 0,01$ podgrupa sa inflamatornim vs morfološkim promenama; $p < 0,05$ podgrupa ispitanika sa inflamatornim vs morfološkim i inflamatornim promenama istovremeno). Prikaz poređenja podgrupa i kontrolne grupe u odnosu na timpanometrijsku krivu dat je u tabeli 3.

Testovi prohodnosti i funkcionalnosti Eustahijeve tube rađeni su obostrano. Posebno su izdvojeni ispitanici sa pro-

vom tubom (P-/F-) gruisani zajedno. Rezultati su zbirno prikazani u tabeli 4. Nije bilo statistički značajne razlike između kontrolne grupe i ispitivanih podgrupa, kao ni između pojedinačnih podgrupa u odnosu na njenu prohodnost. Nefunkcionalnost Eustahijeve tube javljala se u značajno većem procentu kod svih ispitivanih podgrupa u odnosu na kontrolnu grupu (podgrupa M – kontrolna grupa; $\chi^2 = 5,83$; $p < 0,05$; podgrupa I – kontrolna grupa $\chi^2 = 5,94$; $p < 0,05$; podgrupa MI – kontrolna grupa $\chi^2 = 6,53$; $p < 0,05$).

Diskusija

Uticaj inflamatornih promena na funkcionalnost Eustahijeve tube navode mnogi autori. Takve promene remete mukocilijarni transport i dovode do metaplazije epitela tube i njene funkcijske opstrukcije⁴. Takođe, takve promene remete admitansu (lakoća provodljivosti zvuka) srednjeg uva što u svojim radovima navodi Haapaniemi⁵, Bremond⁶ i Bernstein⁷, slično našim merenjima gde su vrednosti statičke komplijanse značajno češće pomerene ulevo kod podgrupe

Tabela 3
Vrednosti statičkog timpanograma u zavisnosti od prisustva opstrukcije (morfološke promene nosne sluznice – M, inflamatorne – I mešovite – MI) ili bez nje (kontrolna grupa)

Timpanometrijska kriva	Kontrolna grupa		Vrsta opstrukcija					
			M		I		MI	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Zvonasta-normalna	34	82,9	37	80,4	4	36,4	35	77,8
Ravna ili pomerena ulevo	7	17,1	9	19,6	7	63,6	10	22,2
Ukupno	41	100,0	46	100,0	11	100,0	45	100,0

Tabela 4
Distribucija rezultata testiranja prohodnosti (P) i funkcionalnosti (F) Eustahijeve tube kod ispitanika bez opstrukcije (kontrolna grupa) i sa opstrukcijom zbog morfoloških promena (podgrupa M), inflamatornih promena (podgrupa I) ili i jednih i drugih promena istovremeno (podgrupa MI)

Eustahijeva tuba	Kontrolna grupa		Vrsta opstrukcija					
			M		I		MI	
	n	%	n	%	n	%	n	%
P+/F+	23	56,1	13	28,3	1	9,1	12	26,7
P+/F- i P-/F-	18	43,9	33	71,7*	10	90,9†	33	73,3‡
Ukupno	41	100	46	100,0	11	100	45	100

* $p < 0,05$ vs kontrolna grupa; † $p < 0,05$ kontrolna grupa; ‡ $p < 0,05$ kontrolna grupa

P+ – prohodna tuba; P- – neprohodna tuba; F+ – funkcionalna tuba; F- – nefunkcionalna tuba.

sa inflamatornim promenama u odnosu na druge podgrupe. Uticaj akutne inflamacije izazvane influenza A-virusom na funkciju Eustahijeve tube eksperimentalno je dokazan i publikovan u više radova^{8,9}. Naši rezultati pokazuju da inflamatorne promene često dovode do disfunkcije Eustahijeve tube što nalazimo i u radovima drugih autora. Wayoff¹⁰ smatra da se inflamatorne promene odigravaju po jedinstvenoj šemi: hiperemija, povećana permeabilnost kapilara, migracija leukocita i makrofaga, prepoznavanje stranih antigena i oslobađanje citokina, restauracija tkiva sa ili bez ožiljaka ili prolongiranje zapaljenja do hroniciteta. Alergijski rinitis često se dovodi u vezu sa sekretornim otitisom i razvojem disfunkcije Eustahijeve tube. Neki autori ne nalaze značajnu razliku u funkciji Eustahijeve tube kod dece sa alergijskim rinitisom i kontrolne grupe¹¹. Ulogu leukotriena u inflamatornim procesima prikazao je Ganbo¹² ističući da leukotrieni i prostaglandini pogađaju mukocilijarni transport. Osim alergijskih i infektivnih inflamatornih stanja poznato je da fizička, hemijska i termalna stimulacija senzornih završetaka nervus trigeminusa aktivira refleksne puteve i dovodi do kijanja, bola i svraba u nosu. Njihovom stimulacijom dolazi do oslobađanja neuropeptida kao što su supstanca P, kalcitoninu sličan peptid, kao i neuroleukin A Schuil¹³ je našao da supstanca P povećava nosnu rezistenciju i blokira cilijarnu aktivnost gornjeg respiratornog trakta. Peterson¹⁴ je pokazao da supstanca P može stimulisati sekreciju žlezda gornjeg respiratornog trakta.

Uloga povišene nosne rezistencije na porast pritiska zatvaranja i otvaranja Eustahijeve tube eksperimentalno je pokazao Downs¹⁵ nakon intranazalnog i intratimpaničnog davanja histamina. Keck i sar.¹⁶ nalaze značajnu redukciju nosnog protoka pre i nakon nosne provokacije histaminom merene prednjom rinomanometrijom, ali nije bilo značajne razlike u nosnom protoku merenom akustičkom rinometrijom. Slično našim rezultatima mnogi autori među kojima i Maurizi i sar.¹⁷ smatraju da deformiteti septuma i ostale anatomske abnormalnosti nosnog kavuma dovode do „mor-

fološkog sindroma“ važnog u patologiji gornjeg respiratornog trakta i disfunkciji Eustahijeve tube. Naši rezultati pokazuju da morfološke promene utiču na funkcionalnost Eustahijeve tube, a rede na njenu prohodnost. Eksperimentom je pokazan uticaj nosne opstrukcije na mukocilijarni transport, razvoj Eustahijeve tube i baze lobanje kod mladih pacova¹⁷. Takav eksperiment ukazuje na teškoće u klasifikaciji osnovnih faktora povišene nosne rezistencije. Oni se međusobno prepliću i teško razdvajaju u posebne kategorije. Može se reći da su često mehaničke promene, uzrokovane morfološkim faktorima, praćene inflamatornim promenama koje sinergistički menjaju mukocilijarni transport i ostale funkcije gornjeg respiratornog trakta, pa i Eustahijeve tube. Ulogu septuma u razvoju disfunkcije Eustahijeve tube nalazimo u radu koji je publikovao Abhinandana¹⁸ kao i u radovima mnogih autora koji ukazuju da morfološke promene mogu dovesti do sindroma opstrukcije srednjeg nosnog hodnika i hronične inflamacije¹⁹. Eksperimentalno zatvaranje faringealnog otvora Eustahijeve tube kod pacova dovelo je do hroničnog sekretornog otitisa sa promenama sluznice srednjeg uva²⁰. U novijim istraživanjima u razvoju sekretornog otitisa ističe se uloga akvaporina, proteina specifičnih za transport vode. Raspoored podtipova tih proteina u pojedinim delovima Eustahijeve tube i sluznice srednjeg uva mogao bi biti u vezi sa razvojem sekretornog otitisa²¹.

Zaključak

Patološki oblik statičkog timpanograma češći je kod opstrukcije zbog inflamatornih promena nosne šupljine nego kod opstrukcije nosa nastale usled morfoloških promena. Svi oblici povišene nosne rezistencije značajno češće praćeni su disfunkcijom Eustahijeve tube bez obzira na vrednost statičkog timpanograma, ali ne utiču bitno na njenu prohodnost. Timpanometrijski *Toynbee*-degluticija/*Valsalva* degluticija test dobar je pokazatelj funkcije Eustahijeve tube.

L I T E R A T U R A

- Martin Ch, Magnan J, Bebear JP, Bobin S. La trompe auditive (la trompe d'Eustache). Arnette Blackwell; Paris: 1996.
- Clarke RW, Jones AS, Richardson H. Peak nasal inspiratory flow-the plateau effect. J Laryngol Otol 1995; 109(5): 399–402.
- Adali MK, Uzun C. Comparison of effects of dry versus wet swallowing on Eustachian tube function via a nine-step inflation/deflation test. J Laryngol Otol 2005; 119(9): 704–8.
- Bluestone CD. Eustachian tube function: physiology, pathophysiology, and role of allergy in pathogenesis of otitis media. J Allergy Clin Immunol 1983; 72(3): 242–51.
- Haapaniemi JJ, Salmivalli AJ, Touminen J. The influence of tympanosclerotic and atrophic changes of the tympanic membrane on the impedance and audiometric findings in school children. The Eustachian tube, clinical aspects. Kugler et Ghedini; Amsterdam: 1991.
- Bremond G, Magnan J, Chays A, Florence A, Gignac D, Lebreuil G. Retraction pockets, pathological entity? Ann Otolaryngol Chir Cervicofac 1990; 107(6): 386–92. (French)
- Bernstein JM, Steger R, Back N. The fibrinolysin system in otitis media with effusion. Am J Otolaryngol 1979; 1(1): 28–33.
- Doyle WJ, Skoner DP, Hayden F, Buchman CA, Seroky JT, Fireman P. Nasal and otologic effects of experimental influenza A virus infection. Ann Otol Rhinol Laryngol 1994; 103(1): 59–69.
- Tong HH, Fisher LM, Kosunick GM, DeMaria TF. Effect of adenovirus type 1 and influenza A virus on Streptococcus pneumoniae nasopharyngeal colonization and otitis media in the chinchilla. Ann Otol Rhinol Laryngol 2000; 109(11): 1021–7.
- Wayoff M. La rection inflammatoire de l'oreille moyenne. In: Magnan J. L'otite chronique. Arnette Blackwell; Paris: 1995.
- Yeo SG, Park DC, Eun YG, Cha CI. The role of allergic rhinitis in the development of otitis media with effusion: effect on eustachian tube function. Am J Otolaryngol 2007; 28(3): 148–52.
- Ganbo T, Hisamatsu K, Shimomura S, Nakajima T, Inoue H, Murakami Y. Inhibition of mucociliary clearance of the eustachian tube by leukotrienes C4 and D4. Ann Otol Rhinol Laryngol 1995; 104(3): 231–6.
- Schuil PJ, Ten Berge M, Van Gelder JM, Graamans K, Huijzing EH. Substance P and ciliary beat of human upper respiratory cilia in vitro. Ann Otol Rhinol Laryngol 1995; 104(10 Pt 1): 798–802.

14. *Petersson G, McCaffrey TV, Malm L.* Substance P and nasal secretion in dog, rat, and man. *Ann Allergy* 1989; 62(5): 410–4.
15. *Downs BW, Butehorn HF 3rd, Prazma J, Rose AS, Stamat JC, Pillsbury HC 3rd.* Action of histamine on eustachian tube function. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 124(4): 414–20.
16. *Keck T, Wiesmiller K, Lindemann J, Rożsasi A.* Acoustic rhinometry in nasal provocation test in perennial allergic rhinitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2006; 263(10): 910–6.
17. *Maurizj M, Scarano E, Frusoni F, Deli R, Paludetti G.* Clinical-morphological correlation of nasal obstruction with skull base development and otitis media. An experimental study ORL. *J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1998; 60(2): 92–7.
18. *Bhattacharjee A, Purkaystha P, Uddin S.* Deviated nasal septum in the newborn – a 1 - year study. Source: *Indian Journal of Otolaryngology and Head and Neck Surgery* 2005; 57(4): p304–8.
19. *Perić A, Sotirović J, Baletić N, Kožomara R, Bijelić D, Rasić D.* Concha bullosa and the nasal middle meatus obstructive syndrome. *Vojnosanit Pregl* 2008; 65(3): 255–8. (Serbian)
20. *Vicente J, Trinidad A, Ramírez-Camacho R, García-Berrocal JR, González-García JA, Ibáñez A, et al.* Evolution of middle ear changes after permanent eustachian tube blockage. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 133(6): 587–92.
21. *Kang SH, Chang KH, Obcho S, Lee HY, Cha K, Moon SK, et al.* Expression of water channel proteins (aquaporins) in the rat Eustachian tube and middle ear mucosa. *Acta Otolaryngol* 2007; 127(7): 687–92.

Rad primljen 25. VII 2008.

Sapphirex

sumatriptan

2 x 50 mg
film tableta

2 x 100 mg
film tableta

ATC N02CC01



- indikovano u monoterapiji akutnog napada migrene sa ili bez aure
- selektivni agonist 5-HT_{1D} receptora bez afiniteta za druge podtipove 5-HT receptora
- podjednako efikasan na početku i u toku akutnog napada migrene





Uticaj aklimatizacije na promene koncentracija enzima u serumu vojnika izloženih toplotnom stresu usled fizičkog napora

Influence of acclimatization on serum enzyme changes in soldiers during exertional heat stress

Sonja Radaković*, Jelena Marić†, Maja Šurbatović‡, Nada Vasiljević¶, Mladen Milivojević§

Vojnomedicinska akademija, *Zavod za preventivnu medicinu, †Klinika za nefrologiju, ‡Klinika za anesteziologiju i intenzivnu terapiju, §Klinika za očne bolesti, Beograd, Srbija; Klinički centar Srbije, ¶Institu za transfuziologiju, Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Toplotni stres usled fizičkog napora čest je problem u vojsci. Cilj istraživanja bio je da se ispita promena koncentracije enzima u serumu vojnika izloženih toplotnom stresu usled fizičkog napora, kao i uticaj desetodnevne pasivne, odnosno aktivne aklimatizacije. **Metode.** Ispitivanjem je bilo obuhvaćeno 40 vojnika muškog pola, visoke aerobne sposobnosti, koji su bili izloženi fizičkom naporu submaksimalnog intenziteta: vojnici K grupe u termoneutralnoj sredini: 20° C, ili 16° C in WBGT (indeks vlažnog i globus termometra), a ostali u toploj sredini (40° C, 25° C WBGT), i to neaklimatizovani, ili nakon 10-dnevne pasivne ili aktivne aklimatizacije u klimatskoj komori. Fiziološko opterećenje određivano je preko timpanične temperature i frekvencije srčanog rada. Serumske koncentracije alanin aminotransferaze (ALT) i aspartat aminotransferaze (AST), laktat dehidrogenaze (LDH) i kreatin kinaze (CK) određivane su iz uzoraka krvi uzetih pre testa i odmah nakon testa. **Rezultati.** Fizički napor u toploj sredini izazvao je značajno povećanje koncentracije svih ispitivanih enzima u neaklimatizovanoj grupi: ALT (sa 42,5 ± 4,2 na 48,1 ± 3,75 U/L, $p < 0,01$), AST (sa 24,9 ± 5,1 na 33,4 ± 4,48 U/L, $p < 0,01$), LDH (sa 160,6 ± 20,2 na 195,7 ± 22,6 U/L, $p < 0,001$) i CK (sa 215,5 ± 91,2 na 279,1 ± 117,5 U/L, $p < 0,05$). Aklimatizovani ispitanici nisu pokazali značajne promene koncentracije ALT i AST ali je koncentracija CK značajno porasla. Koncentracija LDH porasla je značajno u svim grupama, bez obzira na toplotne uslove. **Zaključak.** Desetodnevna pasivna ili aktivna aklimatizacija u veštačkim uslovima kod utreniranih vojnika dovodi do ublažavanja porasta serumskih koncentracija ALT i AST, u toku toplotnog stresa. Do povećanja koncentracije CK i LDH dolazi usled fizičkog napora, bez dodatnog uticaja toplotnog stresa.

Ključne reči:

aklimatizacija; vojnici; enzimi; serum; toplotni stres; napor, fizički.

Abstract

Background/Aim. Exertional heat stress is common problem in military services. The aim was to examine changes in serum concentrations of some enzymes in soldiers during exertional heat stress test (EHST) as well as the effects of 10-days passive or active acclimatization in climatic chamber. **Methods.** Forty male soldiers with high aerobic capacity, performed EHST either in cool (20 °C, 16 °C *Wet bulb globe temperature* – WBGT), or hot (40 °C, 25 °C WBGT) environment, unacclimatized, or after 10 days of passive or active acclimation. Physiological strain was measured by tympanic temperatures (Tty) and heart rates (HR). Concentrations of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), and creatine-kinase (CK) were measured in blood samples collected before and immediately after EHST. **Results.** Exertional heat stress test in hot conditions induced physiological heat stress (increase in Tty and HR), with significant increase in concentrations of all enzymes in unacclimatized group: ALT (42.5 ± 4.2 before *vs* 48.1 ± 3.75 U/L after EHST, $p < 0.01$), AST (24.9 ± 5.1 *vs* 33.4 ± 4.48 U/L, $p < 0.01$), LDH (160.6 ± 20.2 *vs* 195.7 ± 22.6 U/L, $p < 0.001$) and CK (215.5 ± 91.2 *vs* 279.1 ± 117.5 U/L, $p < 0.05$). In acclimatized soldiers there were no significant changes in concentrations of ALT and AST, while concentration of CK was significantly higher. Concentrations of LDH were significantly higher in all investigated groups, regardless of temperature conditions. **Conclusion.** In trained soldiers, 10-days passive or active acclimatization in climatic chamber can prevent increase in serum concentrations of ALT and AST, induced by exertional heat stress. Increase of serum concentrations of CK and LDH was induced by physical strain itself, with no additional effect of heat stress.

Key words:

acclimatization; military personnel; enzymes; serum; heat stress disorders; exertion.

Uvod

Fizička aktivnost doprinosi nagomilavanju telesne topline, što otežava održavanje nepromenjene unutrašnje temperature tokom boravka i rada u toploj sredini. Kombinaciji tople sredine i naporne fizičke aktivnosti, odnosno „aktivnoj“ hipertermiji, naročito su izloženi sportisti i vojnici. Najčešći oblik toplotne bolesti kod vojnika je toplotna iscrpljenost (*heat exhaustion*), dijagnostikovana kod 70% obolelih, dok je njen najteži oblik toplotni udar usled fizičkog napora (*exertional heat stroke*)¹. Mada se razlikuju prema težini i ishodu, ti dijagnostički entiteti imaju zajednička obeležja i posmatraju se kao različiti stadijumi istog patogenetskog procesa, a ne kao dva različita poremećaja. Aktuelni podaci navode da svake sedmice među vojnicima širom sveta od posledica toplotnog udara usled fizičkog napora umire 1,5–5/100 000 osoba². U odnosu na klasični toplotni udar, toplotni udar usled fizičkog napora praćen je znatno većom smrtnošću, uz intenzivniji sistemski inflamacijski odgovor i rabdomiolizu, pored česte pojave sindroma multiorganske disfunkcije (MODS)³.

Pošto ishod toplotnog udara zavisi upravo od stepena oštećenja tkiva i organa, analiza tkivnih enzima u serumu tih bolesnika koristan je prognostički pokazatelj. U literaturi je najčešće opisano povećanje koncentracije alanin aminotransferaze (ALT) i aspartat aminotransferaze (AST), laktat dehidrogenaze (LDH) i kreatin fosfokinaze (CK). Većina tih enzima nalazi se u skeletnim mišićima i srčanom mišiću, i kod rabdomiolize dolazi do porasta njihovih vrednosti tako da njihovo povećanje pouzdano ukazuje na intenzitet i raširenost oštećenja tkiva usled toplotne povrede⁴.

Aklimatizacija na toplotu pokazala se kao efikasna procedura za povećanje termotolerancije i umanjeње negativnog efekta toplotnog stresa na fizičku i radnu sposobnost, bilo da se izvodi pasivno, ponavljanim boravkom u toploj sredini, ili aktivno, uz dodatnu fizičku aktivnost^{5–7}. Aklimatizacija se može izvoditi u prirodnoj sredini, ili u klimatskoj komori, pošto je fiziološki odgovor organizma sličan. Međutim, do sada nisu sprovedena istraživanja uticaja aklimatizacije na enzimski status čoveka i promene tog statusa u toplotnom stresu.

S obzirom na značaj aktivne hipertermije u vojnoj sredini i moguću prognostičku vrednost biohemijskih pokazatelja, cilj našeg ispitivanja bio je da se u populaciji mladih, zdravih i utreniranih muškaraca ispita uticaj toplotnog stresa usled fizičkog napora na koncentraciju enzima u serumu, kao i efekat desetodnevne pasivne, odnosno aktivne aklimatizacije u veštačkim uslovima na izabrane pokazatelje.

Metode

Ispitivanjem je bilo obuhvaćeno ukupno 40 muškaraca, studenata iste klase i odseka Vojne akademije u Beogradu, životne dobi 19–21 godine, podeljenih metodom slučajnog izbora u četiri jednake grupe. Od svakog ispitanika je dobijena pismena saglasnost u skladu sa standardima medicinskog obezbeđenja pri ispitivanju dejstva ekstremne topline ili hladnoće, pri čemu se svaki ispitanik

obavezao da će se do završetka ispitivanja pridržavati uputstva o neunošenju lekova, vitaminskih preparata, kafe, alkohola i energetskih napitaka⁸.

Najpre su izvršena standardna antropometrijska ispitivanja, kao i indirektno određivanje maksimalne potrošnje kiseonika (VO_{2max})⁹. Ispitanici iz prve, kontrolne grupe (K) podvrgnuti su testu toplotnog stresa usled fizičkog napora u komfornim uslovima: 20 °C, ili WBGT 16° C (*web globe temperature* – indeks vlažnog i globus termometra). Druga, grupa neaklimatizovanih ispitanika (N) vršila je isti test u toplim uslovima (40° C, WBGT 25° C), kao i preostale dve grupe, koje su prethodno podvrgnute desetodnevnoj aklimatizaciji u klimatskoj komori (po tri sata dnevno, pri temperaturi od 35° C, relativnoj vlažnosti vazduha od 40%, strujanju vazduha ispod 0,1 m/s); aklimatizacija je u jednoj grupi sprovedena pasivno, uz mirovanje (P), a u drugoj aktivno, uz jednosatno hodanje po pokretnoj traci brzinom od 5,5 km/h (A).

Test toplotnog stresa usled fizičkog napora sastojao se od hodanja po pokretnoj traci (*Quinton Instruments*) brzinom 5,5 km/h, u izabranim temperaturnim uslovima. Ispitanici su nosili vojničku letnju uniformu, a dodatno su bili opterećeni težinom koja simulira opremu i lično naoružanje (ranac na leđima napunjen vrećicama sa peskom, ukupne mase 20 kg). Svaki ispitanik je za vreme testa pio običnu vodu *ad libitum*. Test je trajao maksimalno 90 minuta, a kriterijumi za prekid bili su dekompenzacija termoregulacije, odnosno dostizanje vrednosti timpanične temperature (Tty) od 39,5° C, ili frekvencije srčanog rada od 190 otkucaja/min, ili subjektivni osećaj nepodnošljivog napora¹⁰. Zdravstveno stanje ispitanika praćeno je tokom testa i pet sati nakon završetka testa, u skladu sa standardima medicinskog obezbeđenja, a nakon dva dana kontrolisani su EKG i krvni pritisak⁸.

Tokom testa mereni su mikroklimatski uslovi (*Light Laboratories* – Brighton, England, Type MiniLab). Unutrašnja temperatura tela merena je na bubnoj opni (Tty), tako što je termoelemenat (*Ellab Instruments*, Elektrolaboratoriet, Kopenhagen) svakih pet minuta uvođen u ušni kanal i plasiран što bliže bubnoj opni¹¹. Rad srca praćen je neprekidno, telemetrijski (*Biotel 33*). Koncentracija ALT, AST, LDH i CK određivana je u serumu svakog ispitanika pre i posle testa standardnim komercijalnim reagensima (*Hitachi 921 Roche Diagnostics*).

Sva antropometrijska, ergometrijska i termofiziološka ispitivanja, kao i aklimatizacija izvedeni su u klimatskoj komori Instituta za higijenu Sektora za preventivnu medicinu vojnomedicinske akademije (VMA), a laboratorijske analize u Institutu za medicinsku biohemiju VMA. Ispitivanje je sprovedeno tokom decembra 2004. godine.

Podaci su predstavljeni aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom. Normalnost raspodele testirana je Šapiro-Vilksovim testom. Značajnost razlike između grupa testirana je Studentovim *t* testom za nezavisne uzorke, a razlike u istoj grupi pre i posle toplotnog stresa istim testom za vezane uzorke, ili Vilkoksonovim neparametarskim testom, sve iz statističkog paketa SPSS, verzija 10.0, uz nivo statističke značajnosti od 0,05.

Rezultati

Antropometrijske i ergometrijske karakteristike ispitanika pokazane su u tabeli 1. Grupe se nisu statistički značaj-

je prekinut nakon 60–80 minuta zbog dostizanja granične vrednosti Tty.

Tokom prvih 20 minuta testa (dok se nije uspostavilo znojenje), došlo je do porasta prosečne vrednosti Tty (slika 2), na-

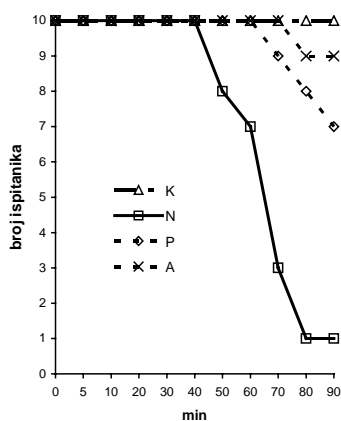
Tabela 1

Antropometrijske i ergometrijske karakteristike ispitanika ($\bar{x} \pm SD$)

Grupa	Telesna visina (cm)	Telesna masa (kg)	Indeks telesne mase (kg/m^2)	Sadržaj masti (%)	$\text{VO}_{2\text{max}}$ (ml/min/kg)
Kontrolna	179,6 ± 4,6	78,13 ± 5,32	24,29 ± 1,95	17,06 ± 4,47	56,6 ± 5,91
Neaklimatizovana	181,9 ± 3,1	75,87 ± 6,61	22,9 ± 1,88	16,84 ± 2,44	62,9 ± 10,08
Pasivno aklimatizovana	183,7 ± 3,7	73,96 ± 3,4	21,9 ± 1,3	15,7 ± 1,9	55,1 ± 5,1
Aktivno aklimatizovana	179,2 ± 5,0	73,72 ± 9,4	22,9 ± 2,2	16,9 ± 3,8	56,2 ± 7,7

$\text{VO}_{2\text{max}}$ – maksimalna potrošnja kiseonika

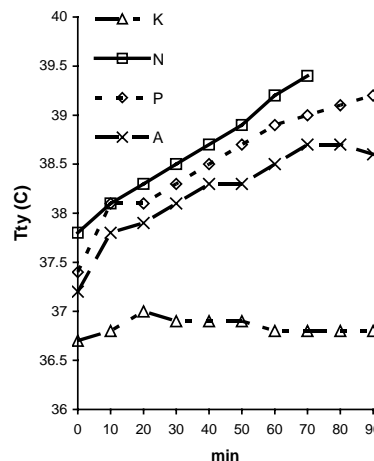
no razlikovale ni prema jednom pokazatelju. Nijedan ispitanik nije u toku ili posle testa pokazao bilo koji simptom toplotnog udara, kao ni bilo kakvog drugog poremećaja vezanog za ozbiljne oblike toplotne bolesti. Prema ranije objavljenim rezultatima ispitivanja vođeno elektrolitske homeostaze, ni u jednom slučaju nije došlo do dehidracije, koja bi prouzrokovala hemokonzraciju. U grupi K svi ispitanici završili su 90-minutni test, dok je u grupi N to uspeo samo jedan ispitanik (slika 1). Kod ostalih ispitanika iz grupe N,



Sl. 1 – Broj ispitanika u svakoj grupi tokom testa toplotnog stresa

K – kontrolna grupa; N – grupa neaklimatizovanih ispitanika; P – pasivno aklimatizovani ispitanici; A – aktivno aklimatizovani ispitanici

test je prekinut nakon 45–70 minuta, kod većine usled dostizanja granične vrednosti Tty ($39,5^{\circ}\text{C}$), a kod manjeg broja usled subjektivnog doživljaja nepodnošljivog napora. U aklimatizovanim grupama, većina ispitanika završila je kompletan test; kod tri ispitanika u grupi P i jednog u grupi A test



Sl. 2 – Prosečne vrednosti timpanične temperature (Tty) tokom testa toplotnog stresa

K – kontrolna grupa; N – grupa neaklimatizovanih ispitanika; P – pasivno aklimatizovani ispitanici; A – aktivno aklimatizovani ispitanici

kon čega je u grupi K zabeležen blag pad, dok je u grupama koje su test izvodile u toploj sredini Tty ravnomerno rasla, uz nešto niže vrednosti u aklimatizovanim grupama (bez statističke značajnosti). Frekvencija srčanog rada imala je obrazac sličan obrascu Tty, s tim da granica od 190 otkucaja/min ni kod jednog ispitanika nije dostignuta (slika 3).

U grupi N došlo je do značajnog povećanja serumskih koncentracija svih ispitivanih enzima (tabela 2). Koncentracija ALT porasla je sa $42,5 \pm 4,2$ na $48,1 \pm 3,75$ U/L ($p < 0,01$), AST sa $24,9 \pm 5,1$ na $33,4 \pm 4,48$ U/L ($p < 0,01$), LDH sa $160,6 \pm 20,2$ na $195,7 \pm 22,6$ U/l ($p < 0,001$), a CK sa $215,5 \pm 91,2$ na $279,1 \pm 117,5$ ($p < 0,05$). Ni pasivno ni aktivno aklimatizovani ispitanici nisu pokazali značajne promene koncentracije ALT i AST ($p > 0,05$), za razliku od kon-

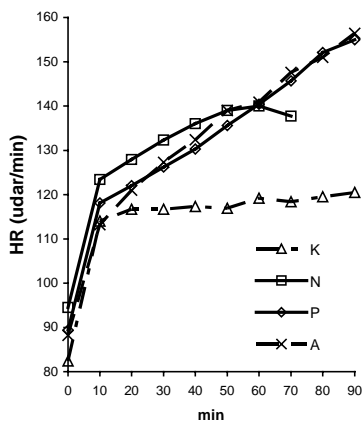
Tabela 2

Koncentracije enzima u serumu pre i posle testa toplotnog stresa ($\bar{x} \pm SD$)

Grupa	ALT (U/L)		AST (U/L)		LDH (U/L)		CK (U/L)	
	pre testa	posle testa	pre testa	posle testa	pre testa	posle testa	pre testa	posle testa
Kontrolna	49,9 ± 9,5	44,1 ± 8,9	34,2 ± 7,4	32,3 ± 5,6	190 ± 15,4	201,9 ± 12,3**	212,7 ± 76,8	272,5 ± 114,8
Neaklimatizovana	42,5 ± 4,2	48,1 ± 3,72**	24,9 ± 5,1	33,4 ± 4,48**	160,6 ± 20,2	195,7 ± 22,6***	215,5 ± 91,2	279,1 ± 117,5*
Pasivno aklimatizovana	44,4 ± 6,6	45,9 ± 10,1	29,8 ± 4,5	32,6 ± 5,2	180,6 ± 19,6	205,5 ± 24,5**	190,5 ± 27,8	306,7 ± 131,2*
Aktivno aklimatizovana	46,0 ± 7,1	49,0 ± 7,6	25,0 ± 3,1	31,0 ± 6,2	166,6 ± 15,2	215,1 ± 13,7***	163,7 ± 47,6	310,4 ± 162,1**

ALT – alanin aminotransferaza; AST – aspartat aminotransferaza; LDH – laktat dehidrogenaza; CK – kreatin kinaza;

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ prema vrednostima pre testa



Sl. 3 – Prosečna vrednost frekvencije srčanog rada (HR) tokom testa toplotnog stresa

K – kontrolna grupa; N – grupa neaklimatizovanih ispitanika; P – pasivno aklimatizovani ispitanici; A – aktivno aklimatizovani ispitanici

centracije CK koja je značajno porasla i u ovim grupama: u P grupi sa $190,5 \pm 27,8$ na $306,7 \pm 131,2$ U/l ($p < 0,05$), a u A grupi sa $163,7 \pm 47,6$ na $310,4 \pm 162,1$ U/l ($p < 0,05$). Serumna koncentracija LDH bila je u svim grupama statistički značajno veća nakon testa, bez obzira na to da li je test izvođen u termoneutralnim ili u toplim uslovima (tabela 2).

Diskusija

Smanjena fizička, kognitivna i radna sposobnost predstavlja dobro poznatu posledicu toplotnog stresa^{12, 13}. Ova pojava je naročito značajna za vojnu službu. Vodiči za vojnu obuku upućuju na to da aklimatizovani pojedinci, uz adekvatnu nadoknadu tečnosti, u toku neprekidnog fizičkog rada mogu tolerisati visoke vrednosti unutrašnje telesne temperature, čak nivoa 40°C , a tokom borbenih dejstava i više². Utrenirane osobe poseduju veliku termotoleranciju što pokazuju i rezultati ispitivanja sprovedenog u populaciji mladih takmičara u tenisu (14 godina), kod kojih su u toku takmičenja zabeležene vrednosti unutrašnje temperature i do 39°C , bez pojave subjektivnih tegoba¹⁴. Vojnici i sportisti često su izloženi toplotnom stresu produženog trajanja (a toplotno opterećenje organizama ne zavisi samo od porasta unutrašnje temperature, već i od trajanja izloženosti), pri čemu visoka motivacija dovodi do toga da se simptomi toplotne bolesti ne prepoznaju na vreme. Sve to, u kombinaciji sa subjektivnom tolerancijom visoke unutrašnje temperature, paradoksalno povećava podložnost ove populacije za razvoj težih oblika toplotne bolesti. Zato se nameće potreba za pronalaženjem lako dostupnih serumskih pokazatelja, koji bi adekvatno odražavali stepen oštećenja tkiva usled toplotne povrede.

Kada je u pitanju klasična hipertermija, odnosno klasičan toplotni udar, autori se slažu da se koncentracija LDH može koristiti kao pouzdan serumski pokazatelj ishoda; međutim, u slučaju hipertermije usled fizičkog napora, taj enzim gubi svoju prognostičku vrednost¹⁵. Sličan problem pouzdanosti javlja se i kod CK, pošto u slučaju klasičnog toplotnog udara vrednosti CK iznad 200 U/l na prijemu sa dosta velikom pouzdanošću ukazuju na razvoj MODS-a^{16, 17}. Međutim, pri fizičkom naporu, čak i bez toplotnog stresa, koncentracija CK preko 200 U/l nije nikakva retkost, već redovna pojava koja nije udružena sa toplotnom bolešću, a posebno ne sa MODS-om, što potvrđuju i naši rezultati.

tracija CK preko 200 U/l nije nikakva retkost, već redovna pojava koja nije udružena sa toplotnom bolešću, a posebno ne sa MODS-om, što potvrđuju i naši rezultati.

Za razliku od biohemijskih promena kod bolesnika sa toplotnim udarom, u literaturi se retko mogu naći radovi koji opisuju promene pri toplotnoj iscrpljenosti, iako je ona najčešći oblik toplotne bolesti u vojsci¹. Ima autora koji navode da se profil enzima u plazmi gotovo ne razlikuje pri toplotnom udaru i toplotnoj iscrpljenosti usled fizičkog napora¹⁸. Naročito je interesantno istraživanje Costrinija i sar.¹⁹, pošto su rezultati dobijeni ispitivanjem neaklimatizovanih regruta tokom osnovne obuke u toploj sredini. Na prijemu su vrednosti ALT i AST i u grupi sa toplotnim udarom i sa toplotnom iscrpljenošću bile normalne, dok su koncentracije LDH i CK u obe grupe bile povišene i to bez razlike. Međutim, u toku daljeg praćenja obolelih, autori su uočili da se koncentracija ovih enzima u grupi vojnika sa toplotnom iscrpljenošću smanjuje, a u grupi sa toplotnim udarom nastavlja da raste, tako da se nakon 12 sati uočava statistički značajna razlika između njih.

U populaciji australijskih rudara sprovedeno je 2005. godine još jedno ispitivanje promena serumskih enzima u toplotnoj iscrpljenosti²⁰. Ispitanici u toj studiji takođe su bili muškarci, ali su u odnosu na naše vojnike bili stariji (prosečno 33 godine), slabije utrenirani ($\text{VO}_{2\text{max}}$ prosečno 43 ml/kg/min) i nešto gojazniji (indeks telesne mase $29,6 \text{ kg/m}^2$). Indeks vlažnog i globus termometra WBGT iznosio je $31,5^\circ\text{C}$, a intenzitet fizičkog napora nije poznat. Koncentracije serumskih enzima bile su potpuno normale, uprkos postavljenoj dijagnozi toplotne iscrpljenosti (ALT $30 \pm 18,2$, AST $30 \pm 8,8$, LDH 180 ± 40 i CK 180 ± 167 U/l).

Merenje koncentracije enzima u serumu naših ispitanika pre početka testa ukazuje na to da su vrednosti LDH i CK kod njih nešto veće od očekivanih vrednosti u celoj populaciji, ali ni kod jednog ispitanika nisu bile izvan normalnog opsega. Slično povećanje bazalnih vrednosti Kew i sar.²¹ izmerili su u populaciji rudara iz Južnoafričke republike, što su objasnili njihovom svakodnevnom izloženošću fizičkom naporu i minornoj traumi mišića.

Uslovi našeg eksperimenta podrazumevaju kombinovani uticaj toplotnog stresa i fizičkog napora, karakterističan za vojnu službu. Međutim, to komplikuje tumačenje dobijenih rezultata, pošto treba razjasniti obrazac oslobađanja enzima pod uticajem hipertermije, fizičkog napora i ukupnog stresa.

Razlika u frekvenciji srčanog rada između grupe K i grupa koje su ga izvodile u toploj sredini, približno opisuje razliku u intenzitetu ukupnog stresa koja se može pripisati dejstvu toplote. Pošto je fizički napor u svim grupama imao isti intenzitet, a u svim grupama takođe bez razlike, zabeležen je porast koncentracije LDH nakon testa, to znači da porast koncentracije LDH ukazuje isključivo na nivo stresa usled fizičkog napora.

Za razliku od LDH, koncentracija CK u toku testa povećala se samo u grupama koje su dodatno izložene i toplotnom stresu, a izmerene vrednosti prevazilaze normalan opseg. Naše ispitivanje u tom smislu potvrđuje rezultate koji su dobijeni u eksperimentalnom modelu dejstva različitih kombinacija toplotnog stresa i fizičkog napora kod životinja, gde

se vrednosti LDH, u odnosu na izmerene u termoneutralnoj sredini bez fizičkog napora, značajno povećavaju kako prilikom fizičkog napora, tako i prilikom kombinacije fizičkog napora i toplotnog stresa²². Međutim, i u ovoj studiji vrednosti CK porasle su samo kada su životinje bile izložene fizičkom naporu u toploj sredini.

Kreatin kinaza, koja se pojačano oslobađa u toplotnom stresu, uglavnom je iz skeletnih mišića, a moguće i iz jetre. U slučajevima toplotnog udara CK može nastati i zbog rabdomiolize i mioglobinurije, koje se javljaju naročito u kombinaciji hipertermije i fizičkog napora. Međutim, serumska koncentracija CK povećava se i nakon intenzivnog fizičkog napora, naročito kod neutreniranih osoba, što je sasvim razumljivo, pošto do oslobađanja CK dolazi usled oštećenja sarkomere skeletnih mišićnih ćelija. Naporna sportska aktivnost koja izaziva ta oštećenja (na primer maratonska trka ili trening koji uključuje snažne ekscentrične mišićne kontrakcije) može da dovede do povećanja serumske koncentracije CK koja traje oko 24 sata i tokom odmora se postepeno vraća na bazalni nivo²³.

Koncentracija CK, prema našim rezultatima, odražava nivo ukupnog stresa, odnosno simultano opterećenje fizičkim naporom i toplotom. Izmerene vrednosti CK nakon testa u aklimatizovanim grupama bile su značajno veće nego u grupi N. Iako je u sve tri grupe nametnut jednak intenzitet ukupnog stresa (fizički napor i toplota), ispitanici u grupama P i A bili su 20–50 minuta duže izloženi stresu od vojnika iz grupe N, tako da je njihovo opterećenje zbog tog činioca bilo značajno veće, što se odrazilo na konačnu koncentraciju CK.

Međutim, koncentracije ALT i AST bile su samo u grupi N značajno veće posle testa u odnosu na koncentracije pre njega, uz napomenu da ni jedan rezultat nije izvan normalnog opsega. Izrazito povećanje transaminaza redovno je prisutno u serumu obolelih od toplotnog udara. Podaci iz literature ukazuju na to da 2/3 bolesnika sa klasičnim toplotnim udarom ima dvostruko veće vrednosti ALT i AST od normalnih vrednosti, a smatra se da koncentracija preko 80 U/L izmerena kod osoba sa hipertermijom, ukazuje na razvoj toplotnog udara^{17, 24}. Toplota nesumnjivo oštećuje hepatocite, a Rowell i sar.²⁵ još 1968. godine ukazali su na to da je kod dobrovoljaca podvrgnutim kombinaciji fizičkog napora i hipertermije temperatura izmerena u hepatičnoj venskoj krvi čak za 1,5° C veća nego unutrašnja telesna temperatura, i da

to povećanje može da doprinese oštećenju hepatocita. Prema našim rezultatima, aklimatizacija u potpunosti sprečava povećano oslobađanje ALT i AST u toplotnom stresu usled fizičkog napora, a taj uticaj se može objasniti sporijim porastom unutrašnje temperature kod aklimatizovanih ispitanika, uz dostizanje niže konačne vrednosti. U literaturi je opisano da visina unutrašnje temperature između 41,6 i 42° C predstavlja „kritični toplotni maksimum“ koji dovodi do znatnog povećanja serumske koncentracije AST, ALT i alkalne fosfataze²⁶. Pokazano je da se takav enzimski porast može javiti i kao posledica intenzivnog fizičkog napora, s tim da utrenirani pojedinci pokazuju bitno manji porast većine serumskih enzima^{27, 28}.

Prema rezultatima našeg rada, toplotni stres je doveo do blagog poremećaja enzimskog sistema kod neaklimatizovanih ispitanika, koji se ogledao u statistički značajnom povećanju serumske koncentracije ALT, AST, LDH i CK. Međutim, uprkos visokom nivou toplotnog opterećenja, ni kod jednog ispitanika nije došlo do pojave ozbiljnijeg enzimskog ekscesa. Naši rezultati takođe ukazuju na to da je desetodnevna aklimatizacija dovela do delimične prevencije nepovoljnog uticaja toplotnog stresa usled fizičkog napora na enzimsku aktivnost vojnika. Uprkos skoro jednakom stepenu toplotnog opterećenja, merenog kroz Tty i frekvenciju srčanog rada, aklimatizovani vojnici nisu pokazivali nikakve promene koncentracije ALT i AST. Međutim, statistički značajno povećanje koncentracije CK kod aklimatizovanih vojnika ukazuje na to da se ovaj enzim pojačano oslobađa prilikom fizičkog napora u toploj sredini, bez obzira na stanje aklimatizacije. Koncentracija LDH je statistički značajno povećana u svim grupama, uključujući i onu grupu koja je test izvodila u termoneutralnoj sredini.

Zaključak

Rezultati ovog eksperimenta sugerišu da među ispitivanim enzimima koncentracija LDH ukazuje isključivo na intenzitet fizičkog napora, a ne na intenzitet toplotnog stresa. Do porasta ostalih enzima dolazi kada se fizički napor kombinuje sa toplim uslovima sredine, s tim da se desetodnevnom aklimatizacijom, bilo aktivnom, bilo pasivnom, sprečava povećano oslobađanje ALT i AST, ali ne i CK.

L I T E R A T U R A

1. *Technical bulletin*. (TB MED) 507/AFPAM. Medical Surveillance System 2003. p. 48–152.
2. Epstein Y, Hadad E, Shapiro Y. Pathological factors underlying hyperthermia. *J. Thermal Biol* 2004; 29: 487–94.
3. Yan YE, Zhao YQ, Wang H, Fan M. Pathophysiological factors underlying heatstroke. *Med Hypotheses* 2006; 67(3): 609–17.
4. Deutsch M, Koskinas J, Emmanuel T, Kountouras D, Hadziyannis S. Heat stroke and multi-organ failure with liver involvement in an asylum-seeking refugee. *J Emerg Med* 2006; 31(3): 255–7.
5. Wendt D, van Loon LJ, Lichtenbelt WD. Thermoregulation during exercise in the heat: strategies for maintaining health and performance. *Sports Med* 2007; 37(8): 669–82.
6. Patterson MJ, Stocks JM, Taylor NA. Sustained and generalized extracellular fluid expansion following heat acclimation. *J Physiol* 2004; 559(Pt 1): 327–34.
7. Radaković SS, Marić J, Rubežić V, Surbatović M, Raden S. Effect of acclimation on changes in water and electrolyte homeostasis in soldiers during exertional heat stress. *Vojnosanit Pregl* 2007; 64(3): 199–204. (Serbian)
8. Ergonomics of the thermal environment - Medical supervision of individuals exposed to extreme hot or cold environments. ISO 12894:2001E. Geneva: International Organisation for Standardisation; 2001.
9. Bruce RA. Exercise testing of patients with coronary heart disease. Principles and normal standards for evaluation. *Ann Clin Res* 1971; 3(6): 323–32.
10. Selkirk GA, McLellan TM. Influence of aerobic fitness and body fatness on tolerance to uncompensable heat stress. *J Appl Physiol* 2001; 91(5): 2055–63.

11. Evaluation of thermal strain by physiological measurements. ISO 9886:2004 E. Geneva: International Organisation for Standardisation; 2004.
12. Donaldson GC, Keatinge WR, Saunders RD. Cardiovascular responses to heat stress and their adverse consequences in healthy and vulnerable human populations. *Int J Hyperthermia* 2003; 19(3): 225–35.
13. Radaković SS, Marić J, Surbatović M, Radjen S, Stefanova E, Stanković N, et al. Effects of acclimation on cognitive performance in soldiers during exertional heat stress. *Mil Med* 2007; 172(2): 133–6.
14. Bergeron MF, McLeod KS, Coyle JF. Core body temperature during competition in the heat: National Boys' 14s Junior Championships. *Br J Sports Med* 2007; 41(11): 779–83.
15. Alzgeer AH, el-Hazmi MA, Warys AS, Ansari ZA, Yrkendi MS. Serum enzymes in heat stroke: prognostic implication. *Clin Chem* 1997; 43(7): 1182–7.
16. Broessner G, Beer R, Franz G, Lackner P, Engelhardt K, Brenneis C, et al. Case report: severe heat stroke with multiple organ dysfunction - a novel intravascular treatment approach. *Crit Care* 2005; 9(5): R498–501.
17. Varghese GM, John G, Thomas K, Abraham OC, Mathai D. Predictors of multi-organ dysfunction in heatstroke. *Emerg Med J* 2005; 22(3): 185–7.
18. Noakes TD, Kotzberg G, McArthur PS, Dykman J. Elevated serum creatine kinase MB and creatine kinase BB-isoenzyme fractions after ultra-marathon running. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1983; 52(1): 75–9.
19. Costrini AM, Pitt HA, Gustafson AB, Uddin DE. Cardiovascular and metabolic manifestations of heat stroke and severe heat exhaustion. *Am J Med* 1979; 66(2): 296–302.
20. Donoghue AM, Sinclair MJ, Bates GP. Heat exhaustion in a deep underground metalliferous mine. *Occup Environ Med* 2000; 57: 165–74.
21. Kew M, Bersohn I, Seftel H. The diagnostic and prognostic significance of the serum enzyme changes in heatstroke. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1971; 65(3): 325–30.
22. van der Linde A, Kielblock AJ, Rex DA, Terblanche SE. Diagnostic and prognostic criteria for heat stroke with special reference to plasma enzyme and isoenzyme release patterns. *Int J Biochem* 1992; 24(3): 477–85.
23. Brancaccio P, Maffulli N, Limongelli FM. Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br Med Bull* 2007; 81(82): 209–30.
24. LoVecchio F, Pizzon AF, Berrett C, Balls A. Outcomes after environmental hyperthermia. *Am J Emerg Med* 2007; 25(4): 442–4.
25. Rowell LB, Brengelmann GL, Blackmon JR, Twiss RD, Kusumi F. Splanchnic blood flow and metabolism in heat-stressed man. *J Appl Physiol* 1968; 24(4): 475–84.
26. Bynum GC, Pandolf KB, Schnette WH. Induced hyperthermia in sedated humans and the concept of critical thermal maximum. *Am J Physiol* 1978; 235: 228–36.
27. Griffiths PD. Serum levels of ATP: creatine phosphotransferase (creatine kinase). The normal range and effect of muscular activity. *Clin Chim Acta* 1966; 13(4): 413–20.
28. Hunter JB, Critz JB. Effect of training on plasma enzyme levels in man. *J Appl Physiol* 1971; 31(1): 20–3.

Rad primljen 1. IX 2008.



Ehokardiografska procena akutnog hemodinamskog odgovora tokom optimizacije resinhronizacionog pejsmejka korišćenjem različitih modaliteta pejsinga i atrioventrikularnog kašnjenja

Echocardiographic estimation of acute haemodynamic response during optimization of multisite pace-maker using different pacing modalities and atrioventricular delays

Sonja Šalinger Martinović*, Zoran Perišić*, Dragan Milić†, Svetlana Apostolović*, Miloje Tomašević*, Tomislav Kostić*, Nenad Božinović*, Dragana Stanojević*

Klinički centar Niš, *Klinika za kardiovaskularne bolesti, †Klinika za vaskularnu hirurgiju, Niš, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Kod bolesnika sa manifestnom srčanom insuficijencijom i širokim QRS kompleksom, kardijalna resinhronizaciona terapija (CRT) smanjenjem dissinhronije, dovodi do smanjenja simptoma bolesti, poboljšanja kvaliteta života i prognoze. Različiti modaliteti pejsinga mogu biti uzrok različitih hemodinamskih promena. Cilj našeg rada bio je ispitivanje uticaja različitih modaliteta resinhronizacionog pejsmejka na promene hemodinamike tokom procesa optimizacije. **Metode.** Ispitivanjem je obuhvaćeno 30 bolesnika sa značajnom sistolnom disfunkcijom leve komore i blokom leve grane (EF $24,33 \pm 3,7\%$, QRS $159 \pm 17,3$ ms, *New York Heart Association* III/IV 25/5) kojima je ugrađen resinhronizacioni pejsmejker. Svi bolesnici su imali značajnu mitralnu regurgitaciju, koja je omogućavala merenje maksimalne stope porasta ventrikularnog pritiska tokom rane sistole (dP/dt). Nakon ugradnje pejsmejka, a pre otpusta, sprovedena je optimizacija pejsmejka uz pomoć dopler ehokardiografije. Tokom levog ventrikularnog i bi-ventrikularnog pejsinga pri različitim vrednostima AV kašnjenja mereni su preejekcioni interval leve (LVPEI) i desne (RVPEI) komore, interventrikularno kašnjenje (IVD) i dP/dt. **Rezultati.** Nakon optimizacije resinhronizacionog pejsmejka, definisani su optimalni mod CRT-a i AV kašnjenje. Pri optimalnim kondicijama registrovane su sledeće promene opisanih parametara: LVPEI se smanjio sa $170,5 \pm 24,6$ na $145,9 \pm 9,5$ ($p < 0,001$), RVPEI se produžio sa $102,4 \pm 15,9$ do $119,8 \pm 10,9$ ($p < 0,001$), IVD smanjena vrednost sa $68,1 \pm 18,3$ do $26,5 \pm 8,2$ ($p < 0,001$) i vrednost dP/dt povećana od $524,2 \pm 67$ do $678,2 \pm 88,5$ ($p < 0,01$). **Zaključak.** Kod bolesnika sa resinhronizacionim pejsmejkerom procena akutnog hemodinamskog poboljšanja je korisno sredstvo u optimizaciji uređaja. Varijabilnost dopler parametara pri različitim modalitetima uređaja ističe značaj individualnog pristupa u optimizaciji.

Ključne reči:

srce, insuficijencija; srce, blok; ultrasonografija, dopler; elektrostimulator srca; prognoza.

Abstract

Background/Aim. Cardiac resynchronization therapy (CRT) improves ventricular dyssynchrony and is associated with an improvement in symptoms, quality of life and prognosis in patients with severe heart failure and intraventricular conduction delay. Different pacing modalities produce variable activation patterns and may be a cause of different haemodynamic changes. The aim of our study was to investigate acute haemodynamic changes with different CRT configurations during optimization procedure. **Methods.** This study included 30 patients with severe left ventricular systolic dysfunction and left bundle branch block with wide QRS (EF $24,33 \pm 3,7\%$, QRS $159 \pm 17,3$ ms, *New York Heart Association* III/IV 25/5) with implanted CRT device. The whole group of patients had severe mitral regurgitation in order to measure dP/dt. After implantation and before discharge all the patients underwent optimization procedure guided by Doppler echocardiography. Left and right ventricular pre-ejection intervals (LVPEI and RVPEI), interventricular mechanical delay (IVD) and the maximal rate of ventricular pressure rise during early systole (max dP/dt) were measured during left and biventricular pacing with three different atrioventricular (AV) delays. **Results.** After CRT device optimization, optimal AV delay and CRT mode were defined. Left ventricular pre-ejection intervals changed from $170,5 \pm 24,6$ to $145,9 \pm 9,5$ ($p < 0,001$), RVPEI from $102,4 \pm 15,9$ to $119,8 \pm 10,9$ ($p < 0,001$), IVD from $68,1 \pm 18,3$ to $26,5 \pm 8,2$ ($p < 0,001$) and dP/dt from $524,2 \pm 67$ to $678,2 \pm 88,5$ ($p < 0,01$). **Conclusion.** In patients receiving CRT echocardiographic assessment of the acute haemodynamic response to CRT is a useful tool in optimization procedure. The variability of Doppler parameters with different CRT modalities emphasizes the necessity of individualized approach in optimization procedure.

Key words:

heart failure; heart block; ultrasonography, doppler; pacemaker, artificial; prognosis.

Uvod

Kod bolesnika sa manifestnom srčanom insuficijencijom i blokom grane uz produženo trajanje QRS kompleksa, kardijalna resinhronizaciona terapija (CRT) redukcijom dissinhronije dovodi do smanjenja simptoma bolesti, poboljšanja kvaliteta života i prognoze¹⁻³. Uprkos ovakvom lečenju kod izvesnog broja bolesnika ne dolazi do poboljšanja subjektivnog i objektivnog stanja^{4, 5}. Uzroci neadekvatnog odgovora mogu biti odsustvo asinhronije uprkos produženom trajanju QRS kompleksa, neadekvatna pozicija elektrode ili suboptimalni parametri resinhronizacionog pejsmejkera^{6, 7}. Prethodna saopštenja ukazala su na to da bazalna mehanička dissinhronija može predvideti hemodinamski odgovor na CRT⁸. U CARE-HF studiji u selekciji bolesnika za CRT, osim preporučenih, u cilju procene dissinhronije korišćeni su i parametri konvencionalne dopler ehokardiografije: produženje preejekcionog intervala leve komore (LVPEI > 140 ms), i povećanje razlike između preejekcionog intervala leve i desne komore (IVD > 40 ms)⁹. Kod adekvatno odabranih bolesnika dokazano je da akutne povoljne hemodinamske promene mogu da se održe i tokom 6-mesečnog praćenja¹⁰. Pokazano je i da je akutni hemodinamski odgovor na CRT, procenjen procentom promene vrednosti bazalne maksimalne stope porasta ventrikularnog pritiska tokom rane sistole (dP/dt) udružen sa povoljnim kliničkim tokom nezavisno od etiologije kardiomiopatije¹¹. I pored značajne prednosti tehnike tkivnog doplera u proceni kandidata za ovu vrstu terapije, konvencionalna dopler ehokardiografija smatra se korisnom metodom ne samo u selekciji bolesnika, već u individualnom pristupu neinvazivnoj proceni najefikasnijih modaliteta pejsinga i AV kašnjenja^{12, 13}.

Cilj rada bio je ispitivanje promene bazalnih ehokardiografskih dopler parametara: dP/dt, pre-ejekcionog intervala leve i desne komore (LVPEI, RVPEI) i njihove razlike (IVD) u optimizaciji resinhronizacionog pejsmejkera, korišćenjem različitih modaliteta pejsinga i atrioventrikularnog kašnjenja. Sekundarni cilj rada bio je tromesečno praćenje funkcionalne *New York Heart Association* (NYHA) klase bolesnika i veličine end-dijastolnog dijametra (EDD) leve komore.

Metode

Ispitivanjem je bilo obuhvaćeno 30 bolesnika sa hroničnom sistolnom srčanom insuficijencijom (ejekciona frakcija – EF < 35%), NYHA klase III–IV, blokom leve grane (trajanje QRS > 130 ms) i mitralnom regurgitacijom, koja je omogućavala merenje vrednosti dP/dt. Pre ugradnje resinhronizacionog pejsmejkera, bolesnicima je rađena koronarna angiografija u cilju definisanja etiologije srčane insuficijencije.

Resinhronizacioni pejsmejker implantiran je transvenski, sa levom ventrikularnom elektrodom plasiranom u anatomski pogodnu granu koronarnog sinusa sa prihvatljivim pragom („*threshold*“) pejsinga, bez stimulacije dijafragme. Desna ventrikularna elektroda pozicionirana je u apikoseptalni region desne komore.

Tokom prva tri dana, pre otpusta sa klinike, urađena je optimizacija resinhronizacionog pejsmejkera vođena ehokardiografskim pregledom, korišćenjem dopler tehnike. Pregled je iz-

veden na ehokardiografskom aparatu *General Electric Medical Systems™ Vivid 4*, korišćenjem sonde od 2,5 MHz. Pri brzini od 100 mm/s pulsni doplerom analiziran je aortni i pulmonalni protok. Merene su po tri vrednosti svih parametara. Preejekcioni interval leve komore (LVPEI) je procenjivan doplerom transaortnog signala protoka merenjem vremena od početka QRS kompleksa i početka transaortnog ejakcionog signala. Preejekcioni interval desne komore (RVPEI) meren je od početka QRS kompleksa do početka transpulmonalnog ejakcionog signala. Razlika u vrednosti LVPEI i RVPEI označena je kao interventrikularno kašnjenje (IVD). Pozitivna vrednost IVD ukazivala je na zakasnelu ejakciju leve komore, a negativna vrednost na zakasnelu ejakciju desne komore. Kontinuiranim doplerom procenjivan je mitralni protok i merenjem nagiba akceleracije signala mitralne regurgitacije određivana je vrednost dP/dt¹⁴. Kod 28 bolesnika ventrikularni pejsing podešen je na VDD mod. Testirane su tri vrednosti AV kašnjenja: dugačko 150 ms, intermedijarno 120 ms i kratko 90 ms. Intermedijarno AV kašnjenje (120 ms nakon senzovanog atrijskog događaja) uz biventrikularni pejsing odgovaralo je standardnim parametrima CRT uređaja. Kod dva bolesnika sa sinusnom bradikardijom podešen je DDD mod. Kod tih bolesnika 20 i 40 ms dodato je već određenim vrednostima AV kašnjenja tokom analize dopler protoka. Kod tih bolesnika standardno kašnjenje nakon pejsinga atrijskog događaja iznosilo je 150 ms. Optimalnom CRT konfiguracijom označeni su biventrikularni ili levi ventrikularni pejsing i AV kašnjenje sa najboljim ehokardiografskim parametrima za svakog bolesnika ponaosob.

Kontinuirane varijable izražavane su kao srednja vrednosti $\pm 1SD$, a nekontinuirane kao frekvence. Studentov *t* test za ponavljana merenja korišćen je za komparaciju između bazalnih vrednosti i vrednosti tokom standardnog i optimalnog CRT moda. Korelacijom je procenjena međuzavisnost pojedinih parametara. χ^2 testom izvršeno je poređenje distribucija frekvenci pripadnosti određenoj NYHA klasi bazalno i nakon tri meseca od uvođenja CRT terapije. Pearsonovim i Spearmanovim korelacionim testom procenjena je međuzavisnost pojedinih parametara u zavisnosti od prirode podataka. Statistički značajnom smatrana je vrednost $p < 0,05$.

Rezultati

Demografski podaci o bolesnicima uključenim u ispitivanje prikazani su u tabeli 1. Obuhvaćeni su bolesnici sa značajnom disfunkcijom leve komore (EF = $24,33 \pm 3,7\%$) i manifestnom srčanom insuficijencijom: NYHA III klase 25 bolesnika (83,3%), NYHA IV klase pet bolesnika (16,7%). Ishemijska etiologija bila je zastupljena kod 20% bolesnika, neishemijska kod 70%, a nekompaktnu kardiomiopatiju imalo je svega 10% bolesnika.

Kod svih bolesnika uspešno je ugrađen CRT uređaj. Atrioventrikularni pejsmejker zajedno sa implantabilnim kardioverter defibrilatorom ugrađen je kod tri bolesnika, dok je kod ostalih ugrađen atrioventrikularni uređaj. Leva ventrikularna elektroda kod svih bolesnika uspešno je implantirana u levi koronarni sinus. Na slikama 1, 2 i 3 prikazan je primer sprovedene tehnike merenja. Sva merenja izvršena su bez resinhronizacije i tokom levog i biventrikularnog pejsinga.

Tabela 1
Osnovne demografske, elektrokardiografske i kliničke karakteristike bolesnika

Karakteristike bolesnika	Vrednosti
Godine života ($\bar{x} \pm SD$)	60,40 \pm 10,6
Muškarci / Žene [n(%)]	23 (76,7) / 7 (23,3)
Neishemijska kardiomiopatija [n(%)]	21 (70)
Ishemijska kardiomiopatija [n(%)]	6 (20)
Nekompaktna kardiomiopatija [n(%)]	3 (10)
QRS (ms), ($\bar{x} \pm SD$)	159,4 \pm 17,3
EF [n(%)]	24,33 \pm 3,7
NYHA III/IV [n(%)]	25(83,3) / 5 (16,7)

EF – ejskciona frakcija; NYHA – *New York Heart Association*

Vrednosti LVPEI, RVPEI, IVD, dP/dt u bazalnim uslovima, nakon ugradnje CRT uređaja i nakon optimizacije prikazane su u tabeli 2. Sve vrednosti koje su se odnosile na hemodinamiku leve komore značajno su poboljšane. Statistički značajno redukovana je vrednost LVPEI, povećana vrednost RVPEI, redukovana vrednost IVD i povećana vrednost dP/dt. Poboljšanje je bilo statistički značajno veće nakon optimizacije CRT uređaja. Vrednosti parametara pri standardnim i optimizovanim vrednostima AV kašnjenja prikazane su u tabeli 2.

Korelišući vrednosti trajanja QRS kompleksa i ehokardiografskih parametara u bazalnim uslovima sa vrednostima pri standardnim i optimizovanim kondicijama CRT uređaja, nađeno je da širina QRS kompleksa statistički značajno ko-



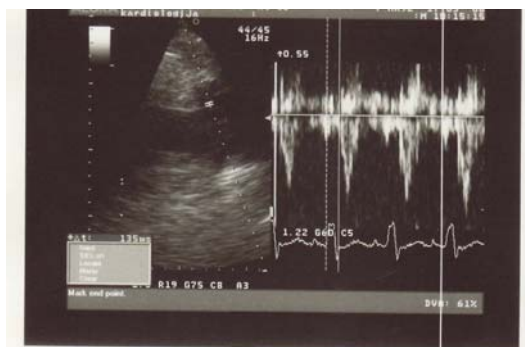
Sl. 2 – Merenje preejekcinog intervala leve komore (LVPEI) – u nivou izlaznog trakta leve komore, pulsni doplerom meri se vreme od početka QRS kompleksa do početka transaortnog ejskcionog signala

Varijabilnost dopler parametara ($\bar{x} \pm SD$)

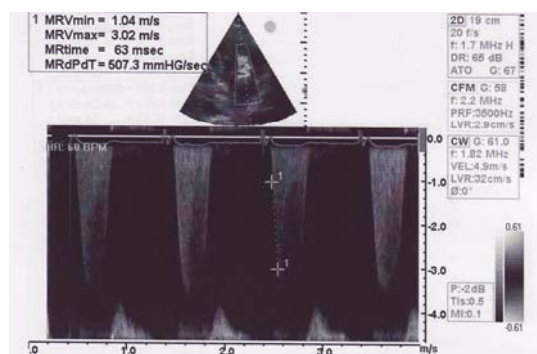
Parametar	Bazalne vrednosti	Standardne kondicije	Optimalne kondicije	Razlika bazalne vs optimalne kondicije (%)
LVPEI (ms)	170,5 \pm 24,6	149,8 \pm 11,9*	145,9 \pm 9,5*	26,2 (14,4)
RVPEI (ms)	102,4 \pm 15,9	116,1 \pm 10,6*	119,8 \pm 10,9*	21,1 (17)
IVD (ms)	68,1 \pm 18,3	33,4 \pm 8,4*	26,5 \pm 8,2*	46,7 (61)
dP/dt	524,2 \pm 67	665,7 \pm 85,3*	678,2 \pm 88,5**	154 (29)

* $p < 0,001$ između bazalnih i standardnih, bazalnih i optimalnih i standardnih i optimalnih vrednosti; ** $p < 0,01$ između standardnih i optimalnih vrednosti; LVPEI – preejekcioni interval leve komore; RVPEI – preejekcioni interval desne komore; IVD – razlika preejekcinog intervala desne i leve komore; dP/dt – promena vrednosti bazalne maksimalne stope porasta ventrikularnog pritiska tokom rane sistole (dP/dt) iz signala mitralne regurgitacije

reliš sa standardnom vrednošću IVD-a ($p < 0,05$), ukazujući na činjenicu da širi QRS kompleks predviđa i smanjenje interventrikularnog kašnjenja nakon ugradnje CRT.



Sl. 1 – Merenje preejekcinog intervala desne komore (RVPEI) – u nivou izlaznog trakta desne komore, pulsni doplerom meri se vreme od početka QRS kompleksa do početka transpulmonalnog ejskcionog signala



Sl. 3 – Merenje promene vrednosti bazalne maksimalne stope porasta ventrikularnog pritiska tokom rane sistole (dP/dt) iz signala mitralne regurgitacije – na nagibu akceleracije signala mitralne regurgitacije meri se interval vremena između 1m/s i 3 m/s

Nakon tromesečnog praćenja bolesnika registrovana je statistički značajna redukcija enddiastolnog dijametra leve

komore od $72,4 \pm 9$ mm do $70,1 \pm 7$ mm ($p < 0,01$) uz značajno poboljšanje funkcionalnog statusa bolesnika: NYHA II 24 (80%) bolesnika, NYHA III 4 (13,3%) i NYHA IV 2 (6,7%) bolesnika (tabela 4).

Distribucija optimalnog moda CRT uređaja prikazana je u tabeli 3. Kod najvećeg broja bolesnika (28) bio je optimalan biventrikularni pejsing. U dva slučaja, pored poboljšanja biventrikularnim pejsingom, bio je optimalan levi ventrikularni pejsing. Standardno AV kašnjenje od 120 ms je bilo optimalno kod 12 (40%) bolesnika, skraćeno AV kašnjenje od 90 ms kod 14 (46,7%), dok je produženo AV kašnjenje od 150 ms bilo optimalno kod 4 (13,3%) bolesnika.

prediktor efekta CRT tretmana i korišćeno je u selekciji bolesnika u CARE-HF studiji^{3, 19, 20}. Iako se morfologija i trajanje QRS kompleksa menjaju u skladu sa različitim konfiguracijama pejsinga i AV kašnjenja, hemodinamsko poboljšanje nije neophodno povezano sa kraćim trajanjem QRS kompleksa. Promene trajanja QRS kompleksa mogu imati uticaja na promenu LVPEI tokom CRT-a u odnosu na bazalne vrednosti. Izračunavanje IVD kao razlike između LVPEI i RVPEI ograničava uticaj na varijaciju u trajanju QRS u odnosu na bazalne vrednosti¹². U našem radu registrovana dinamika vrednosti LVPEI, RVPEI i IVD tokom podešavanja CRT uređaja pokazuje da ovi parametri mogu biti korisni ne

Tabela 3
Distribucija atrioventrikularnog AV kašnjenja i optimalni kardijalni resinhronizacioni terapijski (CRT) mod

Karakteristike pejsmejkera	Broj bolesnika (n = 30)	
	n	%
Biventrikularni pejsing	28	93,3
Levi ventrikularni pejsing	2	6,7
Produženo AV kašnjenje	4	13,3
Intermedijarno AV kašnjenje	12	40
Kratko AV kašnjenje	14	46,7

Tabela 4
Promena enddijastolnog dijametra (EDD) leve komore i funkcionalne NYHA klase nakon tromesečnog praćenja bolesnika

Parametar	Bazalni uslovi	Tromesečna kontrola	p
EDD (mm), ($\bar{x} \pm SD$)	$72,40 \pm 9$	$70,07 \pm 7,6$	$< 0,01$
NYHA II [n(%)]	0 (0)	24 (80)	$< 0,01$
NYHA III [n(%)]	25 (83,3)	4 (13,3)	$< 0,01$
NYHA IV [n(%)]	5 (16,7)	2 (6,7)	$< 0,01$

NYHA – New York Heart Association

Diskusija

Najvažniji rezultat našeg istraživanja jeste da ehokardiografski parametri, kao što su preejekcioni interval leve i desne komore (LVPEI i RVPEI), njihova razlika (IVD) i dP/dt mogu biti veoma korisni u podešavanju optimalnog rada resinhronizacionog pejsmejkera. Korišćenje ovih parametara u procesu optimizacije doprinosi smanjenju veličine leve komore i poboljšanju funkcionalne klase bolesnika. Naime, u skladu sa širokim opsegom ventrikularne aktivacije usled različitih resinhronizacionih modaliteta (levi ventrikularni i biventrikularni pejsing) i različitim AV kašnjenjem, različit je stepen fuzije između mesta pejsinga i intrizičke aktivacije sa posledičnim hemodinamskim promenama¹². Jednostavan metod optimizacije bazira se na patofiziologiji srčane insuficijencije i ventrikularne asinhronije. Dopler ehokardiografija pretpostavljena je kao jednostavan metod za optimizaciju resinhronizacionog pejsmejkera¹⁵. Preejekcioni interval predstavlja elektromehaničko kašnjenje i izovolumetrijsko vreme i inverzno koreliše sa dP/dt¹⁶. U preliminarnom izveštaju MIRACLE studije, LVPEI je opisan kao prediktor efikasnosti CRT tretmana^{17, 18}. Interventrikularno kašnjenje identifikovano je kao nepodudarnost kontrakcije leve i desne komore i prisutno je kod mnogih bolesnika sa blokom leve grane. Interventrikularno kašnjenje takode je pretpostavljeno kao

samo u odabiru bolesnika za ugradnju, već i u procesu individualnog podešavanja ove vrste pejsmejkera.

Naše istraživanje pokazalo je statistički značajno povećanje vrednosti dP/dt nakon ugradnje CRT uređaja ($p < 0,001$). Dodatno, takode značajno povećanje ($p < 0,01$) ove vrednosti registrovano je pri optimalnom podešavanju uređaja, tokom procesa optimizacije. Poznato je da je ventrikularna kontraktibilnost, procenjena procentom promene vrednosti bazalne maksimalne stope pada ventrikularnog pritiska (dP/dt), prediktor prognoze bolesnika sa srčanom insuficijencijom²¹. Procenat promene vrednosti dP/dt nakon ugradnje resinhronizacionog pejsmejkera, predstavlja ukupnu meru uticaja CRT na srčanu funkciju¹². Adamson i sar.¹⁹ pokazali su da se porast vrednosti dP/dt značajno razlikuje kod bolesnika koji imaju koristi od resinhronizacionog pejsmejkera i onih koji nemaju. Ehokardiografska procena akutnog hemodinamskog odgovora na CRT u neposrednom post-implantacionom periodu može biti koristan prediktor dugoročne prognoze kod bolesnika sa ishemijskom i neishemijskom miokardiopatijom¹². U ranijim radovima pretpostavljena invazivna procena dP/dt i pulsog pritiska u cilju optimizacije resinhronizacionog pejsmejkera je komplikovana metoda, zahteva više vremena i nije ponovljiva²².

Povoljnim uticajem na težinu mitralne regurgitacije, CRT ukazuje na to da je porast dP/dt uzrok, a ne posledica

smanjenja mitralne regurgitacije^{8,23,24}. Efekat resinhronizacione terapije na smanjenje težine mitralne regurgitacije može biti neposredan ili kasni odgovor na uspostavljanje sinhroniciteta²⁵. Tako je pokazano i da varijacije u težini mitralne regurgitacije uzrokovane resinhronizacionom terapijom ne utiču na prediktivnu vrednost dP/dt. Ograničavajući faktor za korišćenje ovog parametra jeste veličina mitralne regurgitacije. Iz tog razloga, naše istraživanje, nije obuhvatilo bolesnike sa mitralnom regurgitacijom koja ne bi dozvoljavala merenje ovog parametra.

U skladu sa literaturnim podacima, u našem radu pokazana je statistički značajna korelacija između bazalne vrednosti IVD i vrednosti dP/dt pri standardnim i optimizovanim kondicijama CRT. Tretman značajne dissinhronije predviđa bolji hemodinamski oporavak nakon ugradnje CRT. U prilog tome govori i statistički značajna redukcija enddiastolnog dijametra leve komore nakon tromesečnog praćenja bolesnika uz značajno poboljšanje funkcionalne NYHA klase.

Značajno akutno poboljšanje može se postići optimizacijom kardijalne resinhronizacije. U najvećem broju slučajeva biventrikularni i levi ventrikularni pejsing sa kratkim i intermedijarnim AV kašnjenjem bili su najoptimalniji, što je u skladu sa prethodno objavljenim radovima^{12,26}.

Kod jednog broja bolesnika levi ventrikularni pejsing bio je superiorniji u odnosu na biventrikularni pejsing. Kod manjeg broja bolesnika (4–13,3%) bilo je optimalno produženo AV kašnjenje od 150 ms. Standardne kondicije bile su odgovarajuće kod 12 (40%) bolesnika. Kod svih bolesnika standardni parametri CRT doveli su do poboljšanja, ali je optimizacijom postignuto dodatno povećanje dP/dt i smanjenje IVD.

Zaključak

Ehokardiografski dopler parametri, kao što su preejekcioni interval leve i desne komore, njihova razlika i dP/dt veoma su korisni ne samo u selekciji bolesnika za ugradnju resinhronizacionog pejsmejkera, već i u procesu podešavanja optimalnog rada ovog uređaja. Varijabilnost ehokardiografskih dopler parametara, zavisno od kondicije resinhronizacionog pejsmejkera, može biti od velike koristi u proceni optimalnog tretmana. Ehokardiografski procenjen akutni hemodinamski odgovor, izražen promenom dP/dt, doprinosi poboljšanju optimizacije ovog terapijskog uređaja. Individualni pristup optimizaciji doprinosi postavljanju optimalnih uslova za svakog pojedinačnog bolesnika.

L I T E R A T U R A

- Bax JJ, Marwick TH, Molhoek SG, Bleeker GB, van Erven L, Boersma E, et al. Left ventricular dyssynchrony predicts benefit of cardiac resynchronization therapy in patients with end-stage heart failure before pacemaker implantation. *Am J Cardiol* 2003; 92(10): 1238–40.
- Chapa DW, Lee HJ, Kao CW, Friedmann E, Thomas SA, Anderson J, Bardy GH. Reducing mortality with device therapy in heart failure patients without ventricular arrhythmias. *Am J Crit Care* 2008; 17(5): 443–52.
- Cleland JG, Daubert JC, Erdmann E, Freemantle N, Gras D, Kappenberger L, et al. Cardiac Resynchronization-Heart Failure (CARE-HF) Study Investigators. The effect of cardiac resynchronization on morbidity and mortality in heart failure. *N Engl J Med* 2005; 352(15): 1539–49.
- Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, McMurray JJ, Ponikowski P, Poole-Wilson PA, et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008. *Rev Esp Cardiol* 2008; 61(12): 1329. e1–70. (Spanish)
- Gorsan J 3rd, Kanazaki H, Bazaç R, Dobi K, Schwartzman D. Usefulness of echocardiographic tissue synchronization imaging to predict acute response to cardiac resynchronization therapy. *Am J Cardiol* 2004; 93(9): 1178–81.
- Ghio S, Constantin C, Klersy C, Serio A, Fontana A, Campana C, et al. Interventricular and intraventricular dyssynchrony are common in heart failure patients, regardless of QRS duration. *Eur Heart J* 2004; 25(7): 571–8.
- Butter C, Auricchio A, Stellbrink C, Fleck E, Ding J, Yu Y, et al. Pacing Therapy for Chronic Heart Failure II Study Group. Effect of resynchronization therapy stimulation site on the systolic function of heart failure patients. *Circulation* 2001; 104(25): 3026.
- Gras D, Cebron JP, Brunel P, Leurent B, Bannu Y. The selection of patients for cardiac resynchronization therapy. *European Heart Journal Supplements* 2004; 6 (Suppl D) Pp. D98–D100.
- Bax JJ, Bleeker GB, Marwick TH, Molhoek SG, Boersma E, Steendijk P, et al. Left ventricular dyssynchrony predicts response and prognosis after cardiac resynchronization therapy. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44(9): 1834–40.
- Steendijk P, Tulner SA, Bax JJ, Oemrawsingh PV, Bleeker GB, van Erven L, et al. Hemodynamic effects of long-term cardiac resynchronization therapy: analysis by pressure-volume loops. *Circulation* 2000; 113(10): 1295–304.
- Tournoux FB, Alabiad C, Fan D, Chen AA, Chaput M, Heist EK, et al. Echocardiographic measures of acute haemodynamic response after cardiac resynchronization therapy predict long-term clinical outcome. *Eur Heart J* 2007; 28(9): 1143–8.
- Stockburger M, Fateh-Moghadam S, Nitardy A, Langreck H, Haverkamp W, Dietz R. Optimization of cardiac resynchronization guided by Doppler echocardiography: haemodynamic improvement and intraindividual variability with different pacing configurations and atrioventricular delays. *Europace* 2006; 8(10): 881–6.
- Stellbrink C, Breitbardt OA, Sinba AM, Hanrath P. How to discriminate responders from non-responders to cardiac resynchronization therapy. *European Heart Journal Supplements* 2004; 6 (Suppl D): Pp. D101–D105.
- Feigenbaum H, Armstrong WF, Ryan T. Haemodynamics. In: Weinberg R, editor. *Feigenbaum's Echocardiography*. USA. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 241–6.
- Cazeau S, Leclercq C, Lavergne T, Walker S, Varma C, Linde C, et al. Effects of multisite biventricular pacing in patients with heart failure and intraventricular conduction delay. *N Engl J Med* 2001; 344(12): 873–80.
- Tei C, Nishimura RA, Seward JB, Tajik AJ. Noninvasive Doppler-derived myocardial performance index: correlation with simultaneous measurements of cardiac catheterization measurements. *J Am Soc Echocardiogr* 1997; 10(2): 169–78.
- St John Sutton MG, Plappert TJ, Hilpisch KE, Chinchoy E. Baseline aortic pre-ejection interval (bAPEI) as a predictor of response to cardiac resynchronization therapy (CRT). *Circulation* 2002; 106: II–380.
- Hawkins NM, Petrie MC, MacDonald MR, Hogg KJ, McMurray JJ. Selecting patients for cardiac resynchronization therapy: elec-

- trical or mechanical dyssynchrony? *Eur Heart J* 2006; 27(11): 1270–81.
19. Adamson PB, St John Sutton MG, Plappert T, Abraham WT, Hilpisch KE, Hill MRS. Echo-defined ventricular dyssynchrony predicts magnitude of response to cardiac desynchronisation. *J Card Fail* 2002; 8: S50–489.
20. Cleland JG, Daubert JC, Erdmann E, Freemantle N, Gras D, Kappenberger L, et al. The effect of cardiac resynchronization on morbidity and mortality in heart failure. *N Engl J Med* 2005; 352(15): 1539–49.
21. Koliaas TJ, Aaronson KD, Armstrong WF. Doppler-derived dP/dt and -dP/dt predict survival in congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36(5): 1594–9.
22. Kanazaki H, Bazaz R, Schwartzman D, Dobi K, Sade LE, Gorcsan J 3rd. A mechanism for immediate reduction in mitral regurgitation after cardiac resynchronization therapy: insights from mechanical activation strain mapping. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44(8): 1619–25.
23. Breitbardt OA, Sinba AM, Schwammenthal E, Bidaoui N, Markus KU, Franke A, et al. Acute effects of cardiac resynchronization therapy on functional mitral regurgitation in advanced systolic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41(5): 765–70.
24. Messas E, Guerrero JL, Handschumacher MD, Conrad C, Chow CM, Sullivan S, et al. Chordal cutting: a new therapeutic approach for ischemic mitral regurgitation. *Circulation* 2001; 104(16): 1958–63.
25. Breitbardt OA, Stellbrink C, Franke A, Balta O, Diem BH, Bakker P, et al. Acute effects of cardiac resynchronization therapy on left ventricular Doppler indices in patients with congestive heart failure. *Am Heart J* 2002; 143(1): 34–44.
26. Ypenburg C, Lancellotti P, Tops LF, Boersma E, Bleeker GB, Holman ER, et al. Mechanism of improvement in mitral regurgitation after cardiac resynchronization therapy. *Eur Heart J* 2008; 29(6): 757–65.
- Rad primljen 28. XI 2008.



Uloga lipidne peroksidacije u patogenezi senilne katarakte

Role of lipid peroxidation in pathogenesis of senile cataract

Bojana Kisić*, Dijana Mirić*, Lepša Žorić†, Ilija Dragojević*,
Aleksandra Stolić‡

Medicinski fakultet Kosovska Mitrovica, *Institut za biohemiju, †Klinika za očne bolesti,

‡Katedra za preventivnu medicinu (Medicinska statistika i informatika), Kosovska Mitrovica, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Katarakta je strukturna, fizička, biohemijska i optička promena u očnom sočivu, koja menja transmisiju i refrakciju svetlosnih zraka narušavajući oštrinu i definisanost lika na retini. Javlja se kod starijih od 65 godina (45,9%), te praktično svi stariji od 70 godina imaju određeni stepen zamućenja sočiva. Naša ispitivanja bila su usmerena na merenje produkata lipidne peroksidacije u kataraktnim sočivima, koji su posredstvom oksidativnog stresa uključeni u početak kataraktogeneze i razvoj zrele katarakte. **Metode.** Klinička i biohemijska ispitivanja izvršena su kod 101 bolesnika, sa kataraktom i to 46 osoba ženskog pola i 55 osoba muškog pola. Prosečna starost ispitivane grupe iznosila je 72,47 godina ($\bar{x} = 7,98$). Prema stepenu zrelosti katarakte, bolesnici su grupisani u dve grupe i to *cataracta senilis incipiens* ($n = 41$) i *cataracta senilis matura* ($n = 60$). Određivanje koncentracije konjugovanih diena vršeno je spektrofotometrijski. Fluorescentni produkti lipidne peroksidacije određivani su spektrofluorometrijskom analizom, a koncentracija malondialdehida (MDA) određivana je kolorimetrijskom reakcijom, pomoću tiobarbiturne kiseline. **Rezultati.** Kod ispitanika sa dijagnozom *cataracta senilis incipiens* izmerena je značajno veća koncentracija konjugovanih diena u sočivu ($p < 0,001$), kao i intenzitet fluorescence liposolubilnih i hidrosolubilnih iminopropena ($p < 0,001$). Značajno veća koncentracija ispitivanih produkata lipidne peroksidacije održava se i kod mature, mešovite katarakte, koja je imala nuklearnu komponentu u svom početku. U grupi ispitanika sa maturnom kataraktom izmerena je značajno veća koncentracija MDA u sočivu ($p < 0,001$). **Zaključak.** Promene sočivnih struktura izazvane lipidnom peroksidacijom mogu, uz prisutne druge faktore rizika, uticati na početak odnosno razvoj mature katarakte. U pojedinim tipovima katarakti, različit je intenzitet lipidne peroksidacije, sa najizraženijim promenama kod katarakti sa nuklearnim početkom.

Ključne reči:
katarakta; lipidi; peroksidacija; malondialdehid.

Abstract

Background /Aim. Cataract is a structural, biochemical and optical change in the eye lens, which changes transmission and refraction of light rays reducing keenness and clarity of a figure on the retina. Its occurrence is highest in older people, over the age of 65 (45.9%), thus a certain degree of opacification exists practically in all people over the 70. Our research was directed to measuring of lipid peroxidation products in cataract lenses involved in early stages of cataractogenesis through oxidative stress and in the development of mature cataract. **Methods.** Clinical and biochemical research was carried out in 101 patients with cataract, 46 women and 55 men. The average age of the group was 72.47 ($\bar{x} = 7.98$). According to the cataract maturity degree the patients were classified into two groups as follows: *cataracta senilis incipiens* ($n = 41$) and *cataracta senilis matura* ($n = 60$). Measuring of diene conjugates was carried out by spectrophotometer. Fluorescent lipid peroxidation products were measured by a spectrofluorophotometer, and malondialdehyde (MDA) concentration was measured by colorimeter as a product of a reaction with thiobarbituric acid (TBA). **Result.** Significantly higher diene conjugated concentration in lenses was measured in the patients with the diagnosis *cataracta senilis incipiens* ($p < 0.001$) as well as the intensity of fluorescent iminopropens ($p < 0.001$). Significantly higher MDA concentration in lens ($p < 0.001$) was measured in the patients with *cataracta senilis matura*. **Conclusion.** The lens structure changes caused by lipid peroxidation can, with other risk factors present, influence the occurrence and development of mature cataract. Some cataract types show different lipid peroxidation intensity with the most distinct changes in cataract which started as corticonuclear.

Key words:
cataract; lipid peroxidation; malondialdehyde.

Uvod

Pojava i razvoj katarakte utiču na opadanje vidnog, radnog i životnog komfora. Katarakta je bolest očnog sočiva, koja se vezuje uglavnom za proces starenja organizma. To je progresivno zamućenje sočiva kod ljudi od 45 i više godina, nastalo bez nekog poznatog uzroka kao traume, inflamacije, hipokalcemije, medikamenata ili kongenitalnih faktora. Faktori rizika za pojavu katarakte su brojni: starenje, dijabetes melitus, UV zraci sunčeve svetlosti, malnutricija, pušenje, hipertenzija, bubrežne bolesti i drugi. Slobodni radikali kiseonika i oksidativni stres smatraju se značajnim faktorom koji doprinose pojavi senilne ili *age-related* katarakte^{1,2}. Ova hipoteza podržana je studijama u kojima je ispitivan antikataraktogeni efekat različitih nutricionih i fizioloških antioksidanasa³. Toksične efekte na ćelijama aerobnih organizama kiseonik ne ispoljava u molekularnoj formi, već u formi slobodnih radikala kiseonika. Slobodni radikali nastaju univalentnim transferom elektrona na molekularni kiseonik. Zbog svoje biohemijske prirode i niske energije aktivacije sposobni su da reaguju sa biomolekulima svih ćelijskih struktura, vršeći pri tome njihovu hemijsku i fiziološku modifikaciju. U fiziološkim uslovima stvaranje slobodnih radikala kontroliše mehanizam antioksidativne zaštite. Brojna ispitivanja potvrdila su da je intenzivna oksidacija proteina i lipida sočiva udružena sa senilnom kataraktom. Eksperimentalno je pokazano na kulturi organa da kataraktu može uzrokovati fotohemijski izazavana produkcija superoksid radikala, hidroksil radikala i H₂O₂⁴. Peroksidacija lipida smatra se patogenetskim faktorom kataraktogeneze^{1,4-6}. Lipidi ćelijskih membrana (fosfolipidi, glikolipidi i holesterol) najčešći su supstrati ovog oksidativnog ataka, a pošto su ćelijske membrane lipoproteinske strukture, istovremeno biva narušena i struktura membranskih proteina. To izaziva poremećaj barijerne funkcije ćelijske membrane, oksidacione modifikacije Ca⁺⁺-ATP-aze i Na⁺-K⁺-ATP-aze, što dovodi do promena u nivou intraćelijskog kalcijuma i drugih jona⁷. Strukturne promene ćelijske membrane i njena povećana propustljivost menjaju ćelijski volumen i konfiguraciju sočiva, što dovodi do refraktarnih promena, koje su udružene sa početkom katarakte.

Ćelijske membrane veoma su osetljive na dejstvo radikala kiseonika, zbog prisustva polinezasićenih masnih kiselina u lipidima. Masne kiseline u lipidima ćelijskih membrana sadrže različiti broj ugljenikovih atoma (od 14 do 24), a prisutne dvogube veze nalaze se u *cis* konfiguraciji. Prisustvo dvogube veze u susjedstvu jako destabilizuje vezu između ugljenika i vodonika metilenske grupe u lancu polinezasićene masne kiseline, pa oduzimanjem vodonika iz takve metilenske grupe reaktivno sposobnim oksidansom započinje proces oksidativne modifikacije masnih kiselina (lipidna peroksidacija)⁸. Neenzimska peroksidacija polinezasićenih masnih kiselina (autooksidacija) je proces koji se dešava u tri faze: inicijacija, propagacija i terminacija⁹. Intenzitet ovog procesa, kao i sposobnost delimične ili potpune reparacije oštećenja, zavisi od pro/anti-oksidativnih uslova sredine u kojoj se ovaj proces dešava.

Poslednjih godina, postoje brojna istraživanja o uticaju reaktivnih kiseoničnih vrsta na pojavu i razvoj katarakte. Međutim, u najvećem broju ovih istraživanja, pokazatelji

aktivnosti slobodnih kiseoničnih radikala i antioksidativnog kapaciteta ispitivani su u plazmi obolelih od katarakte. Glavni razlog pomenutog su promene operativnih metoda kataraktnih sočiva. Uvođenje i ekspanzija fakoemulzifikacije smanjili su uopšte dostupnost i mogućnost direktnog ispitivanja kataraktnih sočiva. Korišćenje autopsijskog materijala, takođe, nosi niz prepreka, posebno kada je cilj ispitivanja antioksidativni status. Literaturni podaci o biohemijskim postmortalnim promenama, govore o brzom padu koncentracije glutationa u sočivu do nemerljivih vrednosti, već dvadesetak sati od nastupanja smrti¹⁰.

S obzirom da je senilna katarakta hronična, degenerativna bolest očnog sočiva, koja se manifestuje u poznim godinama, uzroci njene pojave su verovatno brojni i treba ih tražiti u ranijim periodima života, pre same pojave i kliničke manifestacije. Naša ispitivanja bila su usmerena na merenje produkata lipidne peroksidacije u kortikonuklearnim blokovima kataraktnih sočiva, koji su posredstvom oksidativnog stresa uključeni u početak kataraktogeneze i razvoj zrele katarakte.

Metode

Kliničko ispitivanje izvršeno je kod 101 bolesnika obolelog od katarakte, hospitalizovanih u Odeljenju za očne bolesti, Bolničkog centra u Kosovskoj Mitrovici. Pre hirurške intervencije, ispitanicima je urađen standardni oftalmološki pregled oba oka. Pri tome je oko sa početnom kataraktom bilo kontrola, na osnovu koga je određena forma početka mature (totalne) katarakte na drugom oku. Svaki bolesnik podvrgnut je hirurškoj intervenciji ekstrakapsulne ekstrakcije sa ugradnjom intraokularnog sočiva na jednom oku. Odmah nakon ekstrakcije, dobijeni kortikonuklearni blok sočiva uronjen je u Hartmanov rastvor, zamrznut i čuvan na -20° C do analiziranja.

Biohemijska ispitivanja homogenata sočiva obavljena su u Institutu za biohemiju, Medicinskog fakulteta Priština, sa sedištem u Kosovskoj Mitrovici. Sve hemikalije korišćene za pravljenje rastvora bile su stepena čistoće *pro analysi*.

Najpre je izmerena suva težina sočiva (izraženo u gramima tkiva), a zatim homogenizacija u puferu 0,02 mol/L KPi pH 7,4 sa 0,134 mol/L KCl. Homogenat je centrifugiran u toku 10 minuta na 3 500 obrt/min, a bistar supernatant je korišćen za analize.

Koncentracija malondialdehida (MDA) određivana je kolorimetrijskom reakcijom, pomoću tiobarbiturne kiseline (2-tiobarbiturna kiselina, Sigma Chemical USA) po metodi Ledwozyw i sar.¹¹. Određivanje koncentracije lipidnih hidroperoksida (konjugovanih diena) vršeno je spektrofotometrijski^{12,13}. Fluorescentni produkti lipidne peroksidacije (liposolubilni i hidrosolubilni) formirani tokom peroksidacionih promena bioloških membrana određivani su spektrofotometrijskom analizom^{14,15}.

Biohemijska ispitivanja, izvršena su na kortikonuklearnim blokovima sočiva 101 operisanog bolesnika sa dijagnozom katarakte i to 46 osoba ženskog pola i 55 osoba muškog pola. Prosečna starost ispitivane grupe iznosila je 72,47 godina ($\bar{x} = 7,98$).

Prema stepenu maturiteta katarakte, bolesnici su grupisani u dve grupe i to *cataracta senilis incipiens* (n = 41) i

cataracta senilis matura ($n = 60$). U grupi *cataracta senilis incipiens* bilo je 23 bolesnika sa početnom supkapsularnom kataraktom, devet bolesnika sa dijagnozom početne mešovito supkapsularno-nuklearne katarakte i devet bolesnika sa dijagnozom početne mešovito nuklearno-kortikalne katarakte.

U grupi *cataracta senilis matura* bilo je 19 bolesnika sa maturnom kataraktom, koja je počela kao supkapsularna, 15 bolesnika sa maturnom, koja je počela kao mešovito supkapsularno-nuklearna katarakta, 16 bolesnika sa maturnom, koja je počela kao mešovito nuklearno-kortikalna katarakta i 10 bolesnika sa dijagnozom mature, koja je počela kao kortikalna katarakta. U obradi rezultata korišćeni su deskriptivni statistički parametri: aritmetička sredina i standardna devijacija (SD). Testiranje statističke značajnosti razlika između srednjih vrednosti vršeno je Studentovim t testom i ANOVA testom. Kriterijum za statističku značajnost je bio $p < 0,05$. Za statističku obradu rezultata korišćeni su softverski programi: SPSS i INSTAT.

Rezultati

U grupi ispitanika sa početnom kataraktom bila je značajno veća koncentracija konjugovanih diena u sočivu ($t = 6,874$, $DF=99$, $p < 0,001$), kao i intenzitet fluorescencije (relativne jedinice) liposolubilnih ($t = 10,187$, $DF = 99$, $p < 0,001$) i hidrosolubilnih ($t = 12,138$, $DF = 99$, $p < 0,001$)

iminopropena. U grupi ispitanika sa maturnom kataraktom bila je značajno veća koncentracija MDA u sočivu ($t = 5,198$, $DF = 99$, $p < 0,001$) (tabela 1).

Koncentracija konjugovanih diena bila je značajno veća u grupi bolesnika sa početnom mešovito nuklearno-kortikalnom kataraktom u odnosu na grupu bolesnika sa početnom supkapsularnom kataraktom ($F = 4,403$, $df = 2/40$, $p < 0,05$) (tabela 2).

Intenzitet fluorescencije (relativne jedinice) liposolubilnih ($F = 4,331$, $df = 2/40$, $p < 0,05$) i hidrosolubilnih ($F = 3,285$, $df = 2/40$, $p < 0,05$) iminopropena bio je značajno veći u grupi bolesnika sa početnom mešovito nuklearno-kortikalnom kataraktom u odnosu na grupu bolesnika sa početnom supkapsularnom kataraktom. Između grupa nije postojala značajna razlika u koncentraciji MDA u sočivu ($F = 0,609$, $df = 2/40$, $p = 0,549$).

Koncentracija konjugovanih diena bila je značajno veća u grupi bolesnika sa maturnom kataraktom, koja je počela kao mešovito nuklearno-kortikalna u odnosu na grupu bolesnika sa maturnom kataraktom koja je započela kao supkapsularna ($F = 4,460$, $df = 3/59$, $p < 0,01$) (tabela 3).

Intenzitet fluorescencije liposolubilnih iminopropena bio je značajno veći ($F = 2,931$, $df = 3/59$, $p < 0,05$) u grupi bolesnika sa maturnom kataraktom, koja je počela kao mešovito supkapsularno-nuklearna katarakta u odnosu na grupu bolesnika sa

Tabela 1

Uticaj stepena maturacije katarakte na nivo produkata lipidne peroksidacije

Produkti peroksidacije lipida	Početna katarakta (n = 41)	Maturna katarakta (n = 60)
Konjugovani dieni (nmol/g tkiva)	2,55 ± 0,89*	1,62 ± 0,47
Liposolubilni iminopropeni (Ap)	89,49 ± 13,62*	63,86 ± 11,53
Hidrosolubilni iminopropeni (Ap)	120,63 ± 16,32*	87,47 ± 11,16
MDA (nmol/g tkiva)	0,020 ± 0,013	0,031 ± 0,009*

Vrednosti su izražene kao $\bar{x} \pm SD$; * $p < 0,001$

Ap($\lambda_{excit} = 365$ nm; $\lambda_{excit} = 438$ nm) – intenzitet fluorescencije (relativne jedinice)

MDA – malondialdehid

Tabela 2

Produkti peroksidacije lipida kod ispitanika sa *caracta senilis incipiens*

Produkti peroksidacije lipida	Početna katarakta		
	Supkapsularna (n = 23)	supkapsularno-nuklearna (n = 9)	nuklearno-kortikalna (n = 9)
Konjugovani dieni (nmol/g tkiva)	2,2563 ± 0,75	2,66 ± 0,99	3,20 ± 0,83*
Liposolubilni iminopropeni (Ap)	84,38 ± 12,89	95,50 ± 12,46	96,57 ± 11,96*
Hidrosolubilni iminopropeni (Ap)	115,8 ± 15,97	122,07 ± 14,08	131,33 ± 15,35*
MDA (nmol/g tkiva)	0,019 ± 0,016	0,017 ± 0,007	0,024 ± 0,006

Vrednosti su izražene kao $\bar{x} \pm SD$; * $p < 0,05$

Ap($\lambda_{excit} = 365$ nm; $\lambda_{excit} = 438$ nm) – intenzitet fluorescencije (relativne jedinice)

MDA – malondialdehid

Tabela 3

Produkti peroksidacije lipida kod ispitanika sa *cataracta senilis matura*

Produkti peroksidacije lipida	Maturna katarakta			
	počela kao supkapsularna katarakta (n = 19)	počela kao supkapsularno-nuklearna katarakta (n = 15)	počela kao nuklearno-kortikalna katarakta (n = 16)	počela kao kortikalna katarakta (n = 10)
Konjugovani dieni (nmol/gr tkiva)	1,41 ± 0,30	1,66 ± 0,58	1,91 ± 0,39 [†]	1,46 ± 0,44
Liposolubilni iminopropeni (Ap)	58,11 ± 8,10	68,27 ± 10,80*	64,21 ± 14,69	67,64 ± 9,00
Hidrosolubilni iminopropeni (Ap)	81,78 ± 8,05	91,32 ± 9,17*	94,96 ± 12,14	81,14 ± 9,14
MDA (nmol/gr tkiva)	0,033 ± 0,011	0,030 ± 0,011	0,030 ± 0,005	0,030 ± 0,005

Vrednosti su izražene kao $\bar{x} \pm SD$; * $p < 0,05$; [†] $p < 0,01$

Ap($\lambda_{excit} = 365$ nm; $\lambda_{excit} = 438$ nm)

MDA – malondialdehid

maturnom kataraktom koja je započela kao supkapsularna. Vrednosti hidrosolubilnih iminopropena bile su značajno veće u grupi bolesnika sa maturnom kataraktom, koja je počela kao mešovito supkapsularno-nuklearna katarakta, u odnosu na grupu bolesnika sa maturnom supkapsularnom kataraktom ($p < 0,05$), u grupi bolesnika sa maturnom kataraktom, koja je započela kao mešovito nuklearno-kortikalna katarakta u odnosu na grupu bolesnika sa maturnom kataraktom, koja je počela kao supkapsularna katarakta ($p < 0,01$) i u grupi bolesnika sa maturnom kataraktom, započetom kao mešovito nuklearno-kortikalna katarakta u odnosu na grupu bolesnika sa maturnom kataraktom, koja je počela kao kortikalna katarakta ($p < 0,01$). Između grupa nije postojala statistički značajna razlika u koncentraciji MDA u sočivu ($p = 0,700$).

Diskusija

U cilju evaluacije procesa lipidne peroksidacije i uticaja na proces kataraktogeneze određivali smo u homogenatu sočiva koncentracije primarnih molekularnih produkata lipidne peroksidacije (konjugovanih diena), zatim fluorescentnih produkata peroksidacije lipida i koncentraciju MDA, kao krajnjeg i relativno stabilnog niskomolekularnog produkta lipidne peroksidacije.

U grupi ispitanika sa incipientnom kataraktom, dobili smo značajno veće koncentracije konjugovanih diena u sočivu u odnosu na bolesnika sa maturnu kataraktom. Ovo se može objasniti time, što je na početku razvoja katarakte najintenzivniji proces peroksidacije lipida koji je ili sam pokretač procesa kataraktogeneze ili iniciran stvaranjem reaktivnih kiseoničkih vrsta, a dalje svojom propagacijom utiče na promene u sočivu. U grupi bolesnika sa početnom kataraktom, koncentracija konjugovanih diena bila je značajno veća kod mešovito nuklearno-kortikalne katarakte u odnosu na grupu bolesnika sa početnom supkapsularnom kataraktom. Takođe, kod mature katarakte koncentracija konjugovanih diena bila je najveća u sočivima bolesnika sa dijagnozom mešovite nuklearno-kortikalne katarakte. Grupa autora je u eksperimentu na pacovima takođe registrovala najveće koncentracije MDA u sočivima jedinki sa dijagnozom nuklearne katarakte¹⁶.

U prisustvu slobodnih jona metala sa promenljivom valencom (gvožđa i/ili bakra) vodonik peroksid se u Fentonovoj reakciji prevodi u veoma reaktivni hidroksil-radikal, dok se lipidni peroksidi prevode u peroksil i alkoksil-radikale. Zbog dužeg vremena poluživota u odnosu na alkoksil-radikal, peroksil-radikal je idealan za propagaciju oksidativnih lančanih reakcija, dok se alkoksil-radikal u prisustvu Fe^{+2} najčešće prevodi u toksične aldehide: malondialdehid i 4-hidroksi-2-nonenal. Takvi uslovi postoje u humanom senilnom sočivu¹⁷. Malondialdehid i 4-hidroksi-2-nonenal formiranjem *Schiffovih* baza sa amino grupama amino kiselinskih ostataka proteina doprinose povećanju sadržaja karbonilnih grupa. Jedan od razloga povećanog stvaranja i nakupljanja lipidnih hidroperoksida u homogenatu sočiva bolesnika obolelih od katarakte, može biti i smanjena aktivnost glutathion peroksidaze. Lipidni hidroperoksidi i peroksil radikali mogu izvršiti oksidaciju osetljivih amino kiselina (cis-

teina, histidina, metionina i triptofana) u proteinima. U reakciji produkata lipidne peroksidacije, malondialdehida sa amino grupama proteina, slobodnim amino kiselinama ili nukleinskim bazama, nastaju fluorescentni produkti peroksidacije lipida, čiji je nivo značajno veći kod sočivnih homogenata *cataracta sensilis incipiens* i to sočiva sa početnom mešovito nuklearno-kortikalnom kataraktom. Kod sočiva sa maturnom kataraktom, takođe, najveći intenzitet fluorescencije produkata lipidne peroksidacije izmeren je u homogenatima sočiva sa dijagnozom mešovite nuklearno-kortikalne katarakte. Neki autori identifikovali su u većoj koncentraciji u humanim kataraktnim sočivima, u odnosu na zdrava sočiva, fluorescentne *Schiffove* baze, nastale kao rezultat interakcije reaktivnih karbonilnih grupa MDA sa amino grupama membranskih fosfolipida¹⁸.

Merenjem koncentracije MDA (nmol/g tkiva) u homogenatu kataraktnih sočiva, dobijene su značajno veće koncentracije u grupi ispitanika sa maturnom u odnosu na incipientnu kataraktu (tabela 1). Ovo se može objasniti time što je MDA jedan od krajnjih produkata lipidne peroksidacije koji se nagomilava u sočivu tokom procesa peroksidacije lipida i razvoja katarakte. Dalje, MDA može reagovati sa biomolekulima tj. sa amino grupama amino kiselina, proteina, nukleinskih kiselina ili njihovim bazama, kao i fosfolipidima, produkujući lipofuscin i agregate velike molekularne težine u kataraktnom sočivu. Objavljeni su rezultati autora koji su kod eksperimentalno indukovane katarakte izmerili značajno veću koncentraciju MDA u kataraktnim sočivima u odnosu na kontrolnu grupu^{19,20}, kao i radovi autora koji su dobili značajno veće koncentracije MDA u kataraktnim sočivima dijabetičara¹, miopnim sočivima i kod senilne katarakte^{5,21}.

Razlozi koji uzrokuju značajno veću koncentraciju produkata peroksidacije lipida kod katarakte sa nuklearnim početkom su verovatno brojni. Literaturni podaci pokazuju da se tokom života u sočivu razvija neka vrsta „interne“ sočivne barijere između nukleusa i kortikalnog dela, koja otežava difuziju molekula ka nukleusu²². Ova barijera sprečava difuziju antioksidativnih molekula ka nuklearnom delu, tako da je centar sočiva više izložen oksidaciji. Takođe, nestabilni prooksidativni molekuli, moguće je da imaju dužu rezidencu u centru sočiva. Naime, endogene sočivne hromofore: N-formil kinurenin, kinureninska kiselina, ksanturenska kiselina i riboflavin imaju odgovarajuća fotosenzibilizujuća svojstva^{23,24}. Putem fotosenzibilizujućih reakcija triptofanski produkti prenose apsorbovanu energiju na kiseonik, koji dalje putem oksidacije dovodi do niza ćelijskih promena. S godinama, nivo slobodnih komponenti UV filtera tj. triptofanskih derivata u sočivu se smanjuje, a povećava se njihovo vezivanje za proteine sočiva^{25,26}. Produkti triptofana podležu neenzimskoj dezaminaciji, pri fiziološkom pH, pri čemu nastaju α , β nesaturisana reaktivna karbonil jedinjenja²⁷. Ova jedinjenja se kovalentno vezuju sa ostacima amino kiselina najčešće lizina, cisteina i histidina u proteinima humanog sočiva ili, čak, reaguju sa glutathionom (GSH) pri čemu nastaje GSH-3OHKynG^{26,28}. Ovakva kovalentna modifikacija naročito je izražena u nukleusu sočiva koji sadrži starije proteine, što uzrokuje izmenjen transport/difuziju malih molekula u sočivu. Tačnije, razvija se barijera u kretanju molekula između metabolički aktivnog korteksa i inertnog nukleusa. Ovo verovatno uzrokuje smanjenje koncen-

tracije GSH u nukleusu sočiva, pa je i odgovor na oksidativna oštećenja u ovom delu sočiva smanjen²⁹. Tokom života sočivna vlakna se u nuklearnom delu slažu vrlo kompaktno, uz minimalno prisustvo ekstracelularnog prostora. Nuklearne plazma membrane podležu oksidativnim oštećenjima, pri čemu se fosfolipidni molekuli, modifikovani kiseonikom, akumuliraju u lipidnom sloju, dovode do promena strukture i narušavaju lipid-lipid i protein-lipid interakcije u membranama sočivnih vlakna. To, verovatno, doprinosi da koncentracija produkata lipidne peroksidacije bude najveća kod katarakti sa nuklearnim početkom.

Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata merenja produkata peroksidacije lipida u kortikonuklearnom bloku sočiva bolesnika

sa dijagnozom katarakte može se reći da promene sočivnih struktura izazvane lipidnom peroksidacijom mogu uz, naravno, prisutne druge faktore rizika, uticati na početak odnosno razvoj mature katarakte. U pojedinim tipovima katarakti, različit je intenzitet lipidne peroksidacije, sa najizraženijim promenama kod mešovite katarakte sa nuklearnom komponentom. Značajno je veća koncentracija konjugovanih diena i veći je intenzitet fluorescencije produkata lipidne peroksidacije kod početne katarakte, ali se održava i kod mature katarakte, koja je imala nuklearnu komponentu u svom početku.

Zahvalnica

Autori se zahvaljuju Ministarstvu za nauku Republike Srbije na finansijskoj podršci u projektu br. 145112.

L I T E R A T U R A

1. *Donma O, Yorulmaz E, Pekel H, Snyugil N.* Blood and lens lipid peroxidation and antioxidant status in normal individuals, senile and diabetic cataractous patients. *Curr Eye Res* 2002; 25(1): 9–16.
2. *Babizhayev MA.* Failure to withstand oxidative stress induced by phospholipid hydroperoxides as a possible cause of the lens opacities in systemic diseases and ageing. *Biochim Biophys Acta* 1996;1315(2): 87–99.
3. *Yağci R, Aydın B, Erdurmuş M, Karadağ R, Gürel A, Durmuş M, et al.* Use of melatonin to prevent selenite-induced cataract formation in rat eyes. *Curr Eye Res* 2006; 31(10): 845–50.
4. *Spector A.* Oxidative stress and disease. *J Ocul Pharmacol Ther* 2000; 16(2): 193–201.
5. *Micelli-Ferrari T, Vendemiale G, Grattagliano I, Boscia F, Arnese L, Altomare E, et al.* Role of lipid peroxidation in the pathogenesis of myopic and senile cataract. *Br J Ophthalmol* 1996; 80(9): 840–3.
6. *Mibu H, Nagata M, Hikida M.* A study on lipid peroxide-induced lens damage in vitro. *Exp Eye Res* 1994; 58(1): 85–90.
7. *Ahuja RP, Borchman D, Dean WL, Paterson CA, Zeng J, Zhang Z, et al.* Effect of oxidation on Ca²⁺-ATPase activity and membrane lipids in lens epithelial microsomes. *Free Radic Biol Med* 1999; 27(1–2): 177–85.
8. *Halliwel B, Chirico S.* Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57(5 Suppl): 715S–24S;
9. *Wheatley RA.* Some recent trends in the analytical chemistry in lipid oxidation *Trends in Analytical Chemistry* 2000; 19(10): 617–28.
10. *Pau H, Graf P, Sies H.* Glutathione levels in human lens: regional distribution in different forms of cataract. *Exp Eye Res* 1990; 50(1): 17–20.
11. *Ledwozyń A, Michalak J, Stepień A, Kadziółka A.* The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 1986; 155(3): 275–83.
12. *Kawamura N.* Catalase. In: *Taniguchi N, Gutteridge JMC, editors. Experimental Protocols for Reactive Oxygen and Nitrogen Species.* Oxford: Oxford Univ Press; 2000. pp. 77–8.
13. *Recknagel RO, Glende EA Jr.* Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. *Methods Enzymol* 1984; 105: 331–7.
14. *Dillard CJ, Tappel AL.* Fluorescent damage products of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1984; 105: 337–41.
15. *Shimasaki H.* Assay of fluorescent lipid peroxidation products. *Methods Enzymol* 1994; 233: 338–46.
16. *Sakthivel M, Elanchezhan R, Ramesh E, Isai M, Jesudasan CN, Thomas PA, et al.* Prevention of selenite-induced cataractogenesis in Wistar rats by the polyphenol, ellagic acid. *Exp Eye Res* 2008; 86(2): 251–9.
17. *Truscott RJ.* Age-related nuclear cataract-oxidation is the key. *Exp Eye Res* 2005; 80(5): 709–25.
18. *Bhuyan DK, Master RW, Bhuyan KC.* Crosslinking of aminophospholipids in cellular membranes of lens by oxidative stress in vitro. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1285(1): 21–8.
19. *Jain RM, Bulakeb PM.* Effect of ketoacids on H₂O₂ induced cataract. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 2003; 18(1): 91–5.
20. *Gupta SK, Trivedi D, Srivastava S, Joshi S, Halder N, Verma SD.* Lycopene attenuates oxidative stress induced experimental cataract development: an in vitro and in vivo study. *Nutrition* 2003; 19(9): 794–9.
21. *Bhatia RP, Rai R, Rao GR.* Role of malondialdehyde and superoxide dismutase in cataractogenesis. *Ann Ophthalmol (Skokie)* 2006; 38(2): 103–6.
22. *Vinson JA.* Oxidative stress in cataracts. *Pathophysiology* 2006; 13(3): 151–62.
23. *Roberts JE, Finley EL, Patat SA, Schey KL.* Photooxidation of lens proteins with xanthurenic acid: a putative chromophore for cataractogenesis. *Photochem Photobiol* 2001; 74(5): 740–4.
24. *Finley EL, Dillon J, Crouch RK, Schey KL.* Identification of tryptophan oxidation products in bovine alpha-crystallin. *Protein Sci* 1998; 7(11): 2391–7.
25. *Korlimbinis A, Aquilina JA, Truscott RJ.* Protein-bound UV filters in normal human lenses: the concentration of bound UV filters equals that of free UV filters in the center of older lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48(4): 1718–23.
26. *Vazquez S, Aquilina JA, Jamie JF, Sheil MM, Truscott RJ.* Novel protein modification by kynurenine in human lenses. *J Biol Chem* 2002; 277(7): 4867–73.
27. *Taylor LM, Andrew Aquilina J, Jamie JF, Truscott RJ.* UV filter instability: consequences for the human lens. *Exp Eye Res* 2002; 75(2): 165–75.
28. *Garner B, Vazquez S, Griffith R, Lindner RA, Carver JA, Truscott RJ.* Identification of glutathionyl-3-hydroxykynurenine glucoside as a novel fluorophore associated with aging of the human lens. *J Biol Chem* 1999; 274(30): 20847–54.
29. *Sweeney MH, Truscott RJ.* An impediment to glutathione diffusion in older normal human lenses: a possible precondition for nuclear cataract. *Exp Eye Res* 1998; 67(5): 587–95.

Rad primljen 20. X 2008.



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



The incidence of difficult intubation in 2 000 patients undergoing thyroid surgery – a single center experience

Incidencija otežane intubacije kod 2 000 bolesnika podvrgnutih hirurškom lečenju štitne žlezde – iskustvo jednog centra

Nevena Kalezić*, Radoje Milosavljević†, Ivan Paunović*, Vladan Živaljević*, Aleksandar Diklić*, Danica Matic‡, Branislava Ivanović‡, Vojislava Nešković§

Clinical Center of Serbia, *Center of Endocrine Surgery, †Institute for Cardiovascular Surgery, Belgrade, Serbia; Faculty of Stomatology, ‡Clinic for Maxillofacial Surgery, Belgrade, Serbia; Military Medical Academy, §Clinic for Anesthesiology and Intensive Therapy, Belgrade, Serbia

Abstract

Background/Aim. The incidence of difficult intubation (DI) is 1–10%, and DI leading to inability to intubate occurs in 0.04% of the population. The aim of this study was to evaluate the incidence of DI in thyroid surgery and to assess possible correlation of difficult tracheal intubation with sex and primary diagnosis. **Methods.** We studied 2 000 consecutive patients (1 705 females) scheduled for thyroid surgery who were assessed for DI prior to general anesthesia, with respect to primary disease diagnosis and sex. Patients were divided into four groups: patients with nodal goiter (group A), polynodal goiter (group B), hyperthyroidism (group C) and thyroid carcinoma (group D). Difficult intubation was predicted using the scoring system which included 13 parameters ranged from 0 to 2. Additive score > 5 was accepted as a predictor of DI. True DI was defined as impossible visualization of glottis with direct laryngoscopy (grade III and IV). **Results.** Difficult intubation was observed in 110/2 000 patients (5.5%). The incidence of DI was higher in males (26/295, 8.8%) than females (84/1 705, 4.9%) ($p < 0.01$). The incidence of DI was highest in the group B (6.2%). Extremely DI occurred in 15/2000 patients (0.75%), the most of them in the group C (1.1%). Sensitivity of used scoring system was 91.8% and specificity 86.5%. **Conclusions.** The incidence of DI was highest in patients with polynodal goiter but extremely DI was present mostly in patients with hyperthyroidism. Men seem to be at higher risk for DI than women. Scoring system used in this study for prediction of DI may be useful in this patient population.

Key words:

intubation, intratracheal; intraoperative complications; thyroid gland; surgical procedures, operative; preoperative care; classification; gender identity.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Učestalost otežane intubacije (OI) iznosi 1–10%, a OI koja je uzrok nemogućnosti intubacije događa se kod 0,04% stanovništva. Cilj studije bio je da se proceni učestalost OI kod operacija štitne žlezde i moguće povezanosti otežane intubacije sa polom i primarnom dijagnozom. **Metode.** Istraživanjem bilo je obuhvaćeno 2 000 bolesnika (1 705 žena), koji su bili predviđeni za operaciju štitne žlezde i kod kojih je pre opšte anestezije urađena procena za otežanu intubaciju, a uzimajući u obzir primarnu dijagnozu i pol. Bolesnici su bili podeljeni u 4 grupe: bolesnici sa nodoznom strumom (grupa A), polinodoznom strumom (grupa B), hipertireoidizmom (grupa C) i tireoidnim karcinomom (grupa D). Otežana intubacija je procenjena upotrebom scoring sistema koji uključuje 13 parametara u rangu od 0–2. Skor rizika > 5 je prihvaćen kao parametar OI. Prava otežana intubacija definisana je kao nemogućnost vizualizacije epiglotisa kod direktne laringoskopije (ocene III i IV). **Rezultati.** Otežana intubacija utvrđena je kod 110/2 000 bolesnika (5,5%). Učestalost teške intubacije je bila veća kod grupe B (6,2%). Ekstremno otežana intubacija bila je kod 15/2 000 bolesnika (0,75%), od kojih je većina bila u grupi C (1,1%). Osetljivost upotrebljenih testova bila je 91,8%, a specifičnost je bila 86,5%. **Zaključak.** Učestalost OI bila je veća kod bolesnika sa polinodalnom strukturom, ali ekstremna OI uglavnom je bila prisutna kod onih sa hipertireoidizmom. Izgleda da su muškarci pod većim rizikom za otežanu intubaciju od žena. Scoring sistem koji je korišćen u ovoj studiji za predikciju otežane intubacije može se koristiti kod ove populacije bolesnika.

Ključne reči:

intubacija, endotrahejna; intraoperativne komplikacije; tireoidna žlezda; hirurgija, operativne procedure; preoperativna priprema; klasifikacioni indeksi; pol.

Introduction

Difficult intubation (DI) can lead to catastrophic outcome due to interruption of gas exchange. Published data indicate significance of this problem, as majority of airway related events (85%) involve brain damage or death, and as many as one third of lethal outcomes attributable solely to anesthesia have been related to inability to maintain patient airway^{1,2}.

Management of the difficult airway in the general surgical population has been widely investigated. However, the incidence of the DI in patient population undergoing thyroid surgery has been studied rarely and published series are relatively small³. Enlarged thyroid gland may cause tracheal deviation or compression, or both, leading to DI⁴. Prediction of possible event could be helpful to the attending anesthesiologists.

Various noninvasive clinical tests can be performed to predict difficult airway maintenance. Preoperative identification of patients in whom tracheal intubation may be difficult or impossible may save lives. Although Mallampati oropharyngeal classification and Wilson scoring system provide fair preoperative evaluation of possible DI, there is no precise or ideal scoring system that predicts difficult ventilation, laryngoscopy or intubation^{5,6}. Despite numerous studies which included various risk factors, false positive results have been reported, but more importantly, there are false negative values of multivariate risk indexes that can mislead anesthesiologists. Increasing number of risk factors analyzed leads to higher specificity, but unfortunately, they are still not sensitive enough.

The aim of this study was to determine the incidence of DI in thyroid surgery, to assess the correlation of DI with sex and primary diagnosis, and to validate the sensitivity and specificity of the scoring system used to predict DI.

Methods

Prospective observational study was carried out during three year period at the Endocrine Surgery Center of the Institute of Endocrinology, Clinical Center of Serbia, Belgrade.

Two thousand consecutive adult patients scheduled for thyroid surgery were included in the study: 1 705 (82.2%) female and 295 (14.8%) male. According to primary diagnosis, they were divided into four groups: group A – 525 patients with nodal goiter (26.2%), group B – 671 patient with polynodal goiter (33.5%), group C – 1 368 patients with hyperthyroidism (18.4%), and group D – 436 patients with thyroid carcinoma (21.9%).

Difficult laryngoscopy and intubation were assessed using 13 qualitative and quantitative predictive tests incorporated into the scoring system (Table 1). Each test was qualified with 0 to 2 points (0 – no risk, 1 – moderate risk and 2 – high risk present), maximum 25 points score. Score over 5 points ($R > 5$) was assumed to be a predictor of DI.

Difficult intubation was defined by Cormack and Lehane (CL) criteria: any intubation with grade III or IV visualization of glottis during direct laryngoscopy, with regard of Wilson's definition where help of assistant or use of supplementary technique is also taken in the consideration of DI^{6,7}. Also, as in ASA criteria of difficult airway management, number of attempts and duration of management were noted⁵.

Patients were divided into four groups according to the presence of DI. Group I – visualization of epiglottis only (CL grade III), first attempt successful intubation, with a help of the assistant. Group II – visualization of epiglottis only (CL grade III), intubated in second or third attempt, with a help of the assistant or supplementary technique (use of tube guide, spontaneous breathing, nasotracheal intubation). Group III – no visualization of epiglottis (CL grade IV), blind intubation, few attempts, help of the assistant and other maneuvers and techniques. Group IV – epiglottis not visible, more than three attempts of intubation, duration more than 10 minutes, or impossible intubation with conventional methods and use of fiberoptic (extremely difficult intubation, EDI).

Incidence of DI and correlation with sex and primary diagnosis were statistically evaluated by Fisher's, χ^2 square tests, Student *t* test and ANOVA. Scoring system was evaluated by

Table 1

Pretest score system for difficult intubation (DI)

Pretests		No risk 0 points	Moderate risk 1 point	High risk 2 points
QUALITATIVE TESTS				
1	History of previous difficult intubation	negative	–	positive
2	Dislocation of the larynx and trachea	none	moderate	major
3	Vocal cord damage	none	paresis, paralysis	–
4	Neck length and thickness	normal	–	short thick neck
5	Maxillary-mandibular overbite	none	–	buck teeth
6	Length of incisors	normal	long	asymmetrical, sharp
7	Oral anomalies	none	–	macroglosy, tumors
QUANTITATIVE TESTS				
1	Body mass index (kg/m ²)	20–25	25–30	> 30
2	Neck range of motion (°)	> 90°	80–90°	> 80°
3	Tyromental distance (cm)	> 6.5	6–6.5	< 6
4	Interincisor gap (cm) – male	> 5 cm	4–4.5 cm	< 3.5 cm
	– female	> 4 cm	3.5–4 cm	
5	Protrusion of the mandible (SubLux)	> 0 cm	= 0 cm	< 0 cm
6	Mallampati score	I + II	III	IV
Maximal score = 25				

calculating its sensitivity (proportion of difficult tracheal intubations correctly predicted to be difficult), specificity (proportion of intubations correctly predicted to be easy), positive predictive value (proportion of predicted DI which actually proved to be difficult), and ROC curve analysis.

Results

Difficult intubation was observed in 110/2 000 patients (5.5%). The incidence of DI was higher in males (26/295, 8.8%) then females (84/1 705, 4.9%) ($p < 0.01$) (Table 2).

Table 2
Distribution of sex and difficult tracheal intubation

Patients	Male	Female	Total
Total number	295	1 705	2 000
Difficult intubation [n (%)]	26 (8.8)	84 (4.9)	110

* $p < 0.01$

Extremely DI occurred in 15/2 000 patients (0.75%), the most of them in group C, and then B, D and A (1.1%, 0.9%, 0.7%, 0.4%, respectively).

The highest incidence of DI (6.2%) was found in patients with polynodal goiter (group B), with slight decrease in groups C, D and A (5.9%, 5.5%, 4.2%, respectively), but there were no statistically significant differences among the groups ($p > 0.05$) (Table 3).

In the majority of patients (84 of 110; 76.4%) with difficult tracheal intubation, visualization of the epiglottis was possible (CL grade III, i.e. groups I and II), and they were intubated in the first (19/84) or second (65/84) attempt (groups I and II). There were 26/2 000 patients (1.3%) in whom epiglottis was not visible during direct laryngoscopy; 11 of them were intubated in the third attempt (group III), and 15 proved to be extremely difficult to intubate (group IV) (Table 4). There were no statistically significant difference between four groups of difficult intubation in correlation with primary diagnosis (ANOVA, $f = 0.869$; $p > 0.05$).

Extremely DI (EDI) was observed in 15/2 000 patients (0.75%), and it was four times higher in men (6/294; 2%) then women (9/1 706; 0.5%) ($p < 0.01$) (Table 5).

Most of the patients with EDI had hyperthyroidism (group C, 1.1%). In patients with polynodal goiter, the incidence of EDI was 0.9% (group B), in those with thyroid carcinoma it was 0.7% (group D), and 0.4% in patients with nodal goiter (group A). In 3/2 000 patients (0.15%; one male), conventional tracheal intubation (CI) was not possible. Two of these three patients had hyperthyroidism and one polynodose goiter. All of them were predicted to be possible DI, and were successfully intubated with fibroscope (FI) (Table 6).

With the scoring system used, 356 patients had positive predictive tests ($R > 5$). True DI was found in 101 of these patients (28.37%). There were 9 patients (0.45%) in whom

Table 3

Difficult intubation (DI) in four groups of patients scheduled for thyroid surgery

Patients	Diagnosis			
	Nodal goiter	Polynodal goiter	Hyperthyroidism	Thyroid carcinoma
Total number of patients	525	671	368	436
Difficult intubation (n)	22	42	22	24
Difficult intubation (%)	4.2	6.2	5.9	5.5

Table 4

Distribution of difficult intubation (DI) in correlation to primary diagnosis groups

Primary diagnosis	Difficult intubation patient groups			
	I	II	III	IV
Nodal goiter	5	11	4	2
Polynodal goiter	9	25	2	6
Hyperthyroidism	5	13	0	4
Thyroid carcinoma	0	16	5	3
Number of patients	19	65	11	15

I – visualization of epiglottis only, first attempt successful intubation; II – visualization of epiglottis only, intubated in second or third attempt; III – no visualization of epiglottis, blind intubation few attempts; IV – epiglottis not visible, more than three attempts of intubation or impossible intubation with conventional methods (extremely difficult intubation)

Table 5

Distribution of difficult intubation (DI) patients in correlation to sex

Sex	Difficult intubation patient groups				Easy intubation (n)	Total (n)
	I	II	III	IV		
Male (n = 26)	7	10	3	6	268	294
Female (n = 84)	12	55	8	9	1 622	1 706
Total (n = 110)	29	65	11	15	1 890	2 000

Statistical difference between the groups of DI in correlation to sex: $t = 2.847$, $df = 1 998$, $p = 0.004$

Statistical difference in correlation to sex between group IV (EDI) and other groups: $\chi^2 = 7.749$, $p = 0.005$

screening tests were negative ($R < 5$), but DI was present during laryngoscopy (false negative). Sensitivity of used scoring system was 91.8%, whereas specificity was 86.5% (Table 7).

cerning definition of DI. Wilson et al.⁶ define DI as inability of insertion of endotracheal tube in the first attempt, without any assistance (external pressure on cricoid or thyroid cartilage or any maneuver) or supplementary technique (placing

Table 6

Type of intubation	Diagnosis				Sex	
	A	B	C	D	Male	Female
Conventional intubation (n = 12)	2	5	2	3	5	7
Fiberscope intubation (n = 3)	0	1	2	0	1	2
Total number (n = 15; 0.75%)	2 (0.4%)	6 (0.9%)	4 (1.1%)	3 (0.7%)	6 (0.2%)	9 (0.05%)

A – nodal goiter; B – polynodal goiter; C – hyperthyroidism; D – thyroid carcinoma

Table 7

Predicting score (R points)	Difficult intubation (n)	Easy intubation (n)	Total (n)
$R > 5$	101	255	356
$R < 5$	9	1 635	1 644
Total (n)	110	1 890	2 000

n – number of patients

ROC curve analysis has shown that AUC was 0.895; SE 0.017 (95% CI 0.862–0.928).

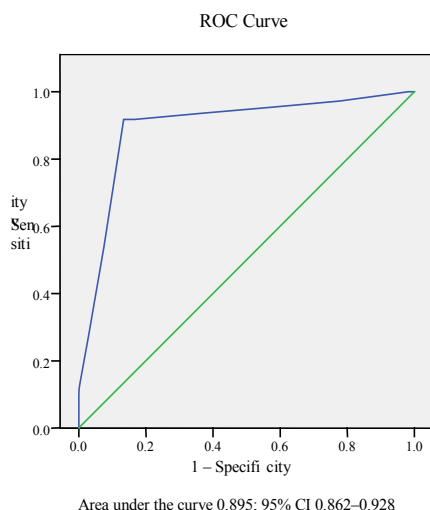


Fig. 1 – Sensitivity and specificity of the scoring system

Discussion

According to available literature, the incidence of DI is 1–10%, and DI leading to inability to intubate occurs in 0.04% of population⁸. Importantly, one third of deaths attributable solely to anesthesia is related to DI and failed intubation itself¹. Reports implicate higher DI rate in obese patients (15.5%) as compared to 2.2% in non-obese patients, together with high risk of desaturation in obese with difficult airway maintenance⁹. Finally, difficult endotracheal intubation is more common in emergency rooms (3–3.5%) than in operating rooms (1.15–3.8%)¹⁰.

In addition to lack of standardization of preoperative screening tests for DI, there are no reconciled opinions con-

cerning definition of DI. Wilson et al.⁶ define DI as inability of insertion of endotracheal tube in the first attempt, without any assistance (external pressure on cricoid or thyroid cartilage or any maneuver) or supplementary technique (placing the tube guide). Thus, regardless of fair visualization of the glottis, intubation would be regarded as difficult even if tube was properly inserted in the first attempt, but with help of the assistant or use of tube guide. Classification of Cormack and Lehane, defined in four grades: I – glottis and vocal cords visible, no difficulties; II – partial visualization of glottis (only posterior commissure or arytenoids visible); III – only epiglottis visible; IV – none of foregoing visible, with grades III and IV regarded difficult, is still widely accepted⁷. American Society of Anesthesiologists Task Force Report on the management of difficult airway formulated comprehensive practice guidelines and recommendations, where difficult airway is defined as the clinical situation in which a conventionally trained anesthesiologist experiences difficulty with mask ventilation, tracheal intubation, or both⁵. Description of DI included more than three attempts of proper insertion of the tracheal tube with conventional laryngoscopy or required more time than 10 minutes.

In a prospective study of 10,507 patients, where CL criteria of DI were accepted, the authors found that 5.1% patients had grade III visualization of the glottis, and 1% had grade IV². All patients with grade IV were successfully intubated with fiberscope.

Another prospective study of 778 patients showed 9.3% incidence of difficult laryngoscopy (CL III and IV) and intubation without help of the assistant⁶. Decrease of incidence to 5.9% was obtained if external pressure on cricoid cartilage was applied⁶. Savva¹¹ published data using the same criteria, and revealed 1.14% incidence of DI.

Smith et al.¹² published that the incidence of DI was 1% in general population, and 2–3% in obstetric patients. According to recent study, incidence of DI is 2–8% in North America and 1–4% in UK¹³. In this study, in one of 20 cases of DI, it was impossible to see any part of vocal cords using conventional laryngoscopy (CL grade III and IV). The inci-

dence of DI was 1% in general population, and intubation was impossible in 1:2 000 patients.

Our study was focused on population of patients scheduled for thyroid surgery where we defined DI using CL criteria: any intubation with grade III or IV visualization of glottis during direct laryngoscopy, with regard of Wilson's definition where help of assistant or use of supplementary technique was also taken in the consideration of DI^{6,7}. Also, as in ASA criteria of difficult airway management, number of attempts and duration of management were noted⁵. The incidence of DI was 5.5%, and that is comparable with the incidence in general population, as well as with incidence found in the study of Bouaggad et al.¹⁴.

Higher incidence of difficult intubation was found in two studies dealing with the population of patients scheduled for thyroid surgery. Amathieu et al.¹⁵ published that the incidence of DI in their population of patients with goiter was 11.1%, while Adnet et al.¹⁶ founded the incidence of DI to be 8%. Amathieu et al.¹⁵ had the highest incidence of DI although they did not have any explanation for that, since they did not found that the presence of palpable goiter as well as one seen on the echography influenced the presence of DI.

In our previous study that included 200 patients with thyroid disorders, frequent anatomical deformities of the airway, and the definition of DI based on Wilson's criteria only, the incidence of DI was as high as 17.5%¹⁷. Obviously, different institutions and different clinical criteria involved in the definition of the DI could lead to very different results and calculations of its incidence.

We found that male patients scheduled for thyroidectomy had higher incidence of DI and EDI as compared to female patients. Male sex was also found to be a risk factor for DI in the study of Bouaggad¹⁴.

Data from our study showed that, regarding primary diagnosis, the highest incidence of DI was in the group of patients undergoing thyroid surgery for polynodal goiter and the lowest in the group of patients with nodal goiter. This may occur due to the fact that nodal goiters are smaller and have less pronounced impact on the larynx and trachea position and dislocation. Interestingly, EDI was most frequently present in patients with hyperthyroidism. The incidence of DI was highest in patients with big polynodal goiters, following by thyroid carcinoma, and at the end by small nodal goiters. However, differences in the incidence of DI between the groups did not reach statistical significance. There are very few information in the literature about the incidence of

DI in the groups of patients with the different pathology of the thyroid gland, and most of them did not show any association among those two¹⁵. Malignancy was the only factor that influenced presence of DI¹⁴. Although previously published data suggested that large goiter was not associated with greater difficulty with intubation, our data show that this claim is not fully correct¹⁴. In fact, big goiters sometimes do not dislocate larynx or trachea, but rather wrap them diffusely, leaving central position of neck structures unaffected. However, they do cause a dislocation that leads to DI more frequently than other pathological changes of the thyroid gland.

The incidence of EDI or impossible intubation in our study population was a bit higher than the incidence reported in general population (0.12% vs 0.04%)¹⁸.

Some published studies revealed different specificity of the scoring systems used to predict DI in general population. El-Ganzouri et al.² found specificity of their scoring system 84%, Wilson et al.⁶ 88%, and Arne J et al.¹⁹ 96%. However, sensitivity of these scoring systems was rather low, 70%, 75% and 93%, respectively^{2,6,17}. For the current study, we have used our scoring system that revealed sensitivity of 91.8% and specificity of 86.5% to predict DI. False negative results were present in only 9 of 2 000 patients (0.45%). ROC curve analysis showed that our scoring system was good diagnostic test with largest number of true positive tests and the least number of false positive results in all confidential intervals. It appears that high sensitivity and specificity of our scoring system proved to be useful in this patient population.

It should be noticed that there are very few studies published on this topic, especially in recent years, most of them were observational and included rather small number of patients. Our study included large number of patients with the different pathology, so we believe that some of our conclusions could be relevant about the incidence of the DI in this patient population and that suggested scoring system could be useful to everyday practitioners.

Conclusion

The incidence of DI was highest in patients with polynodal goiter but extremely DI was present mostly in patients with hyperthyroidism. Men seem to be at higher risk for DI than women. Our scoring system for prediction of DI may be useful in this patient population.

R E F E R E N C E S

1. Caplan RA, Posner KL, Ward RJ, Cheney FW. Adverse respiratory events in anesthesia: a closed claims analysis. *Anesthesiology* 1990; 72(5): 828–33.
2. el-Ganzouri AR, McCarthy RJ, Tuman KJ, Tanck EN, Ivankovich AD. Preoperative airway assessment: predictive value of a multivariate risk index. *Anesth Analg* 1996; 82(6): 1197–204.
3. Voyagis GS, Kyriakos KP. The effect of goiter on endotracheal intubation. *Anesth Analg* 1997; 84(3): 611–2.
4. McHenry CR, Piotrowski JJ. Thyroidectomy in patients with marked thyroid enlargement: airway management, morbidity, and outcome. *Am Surg* 1994; 60(8): 586–91.
5. *Practice guidelines for management of the difficult airway*. A report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Management of the Difficult Airway. *Anesthesiology* 1993; 78(3): 597–602.
6. Wilson ME, Spiegelhalter D, Robertson JA, Lesser P. Predicting difficult intubation. *Br J Anaesth* 1988; 61(2): 211–6.

7. *Cormack RS, Lehane J.* Difficult tracheal intubation in obstetrics. *Anaesthesia* 1984; 39(11): 1105–11.
 8. *Fleisher LA.* Risk of anesthesia. In: *Miller RD*, editor. *Anesthesia*. USA. New York: Churchill Livingstone; 2000. p. 821–22.
 9. *Juvin P, Lavaut E, Dupont H, Lefevre P, Demetriou M, Dumoulin JL*, et al. Difficult tracheal intubation is more common in obese than in lean patients. *Anesth Analg* 2003; 97(2): 595–600.
 10. *Walsh K, Cummins F.* Difficult airway equipment in departments of emergency medicine in Ireland: results of a national survey. *Eur J Anaesthesiol* 2004; 21(2): 128–31.
 11. *Savva D.* Prediction of difficult tracheal intubation. *Br J Anaesth* 1994; 73(2): 149–53.
 12. *Smith GB, Yentis SM.* *Anesthesia A to Z: An Encyclopedia of Principles and Practice*. UK. Oxford: Butterworth-Heinemann LTD; 1995. p. 251.
 13. *Bokhari A, Benham SW, Popat MT.* Management of unanticipated difficult intubation: a survey of current practice in the Oxford region. *Eur J Anaesthesiol* 2004; 21(2): 123–7.
 14. *Bouaggad A, Nejmi SE, Bouderkha MA, Abbassi O.* Prediction of difficult tracheal intubation in thyroid surgery. *Anesth Analg* 2004; 99(2): 603–6.
 15. *Amathieu R, Smail N, Catineau J, Polonjadoff MP, Sami K, Adnet F.* Difficult intubation in thyroid surgery: myth or reality? *Anesth Analg* 2006; 103(4): 965–8.
 16. *Adnet F, Racine SX, Borron SW, Clemessy JL, Fournier JL, Lapostolle F*, et al. A survey of tracheal intubation difficulty in the operating room: a prospective observational study. *Acta Anaesthesiol Scand* 2001; 45(3): 327–32.
 17. *Dimitrijević N, Nešković V, Obrenović-Kirčanski B, Gvozdenović Lj, Diklič A.* Cardiovascular complications during anaesthesia in thyroid gland surgery. In: *Proceedings Surgery*. Turkey. Istanbul: Monduzzi Editore, International Proceeding Division; 2000. p. 127–130.
 18. *Kalezić N, Kažić M, Pavlović D, Palibrk I, Grković S, Palibrk I* et al. Difficult intubation in patients with thyromegalia. In: *Kalezić N*, editor. *Anesthesiological aspects of endocrine and metabolic disturbances*. Beograd: Medicinska knjiga; 2008. (Serbian)
 19. *Arné J, Descoins P, Fuscuardi J, Ingrand P, Ferrier B, Boudigues D*, et al. Preoperative assessment for difficult intubation in general and ENT surgery: predictive value of a clinical multivariate risk index. *Br J Anaesth* 1998; 80(2): 140–6.
- The paper received on October 20, 2008.



Gastroesophageal reflux disease correlation with posterior laryngitis

Povezanost gastrointestinalne reluksne bolesti sa posteriornim laringitisom

Milovan Dimitrijević*, Vera Beljin†, Vladan Petrović†, Vojko Đukić*

Clinical Center of Serbia, *Institute of Otorhinolaryngology and Maxillofacial Surgery, Belgrade, Serbia; Health Center „Vršac“, †Department of Otorhinolaryngology, Vršac, Serbia

Abstract

Background/Aim. Over the last years numerous studies have been performed dealing with mutual relations among gastroesophageal reflux disease (GERD) and numerous diseases of the upper airways. The aim of the present study was to establish possible causal relationship between GERD and posterior laryngitis (PL). **Methods.** The study included 103 patients with gastrointestinal complaints. Diagnostic procedure included a medical history, gastroscopy and laryngeal directoscopy. The obtained data processed using classic methods of the descriptive statistics, as well as Pearson's chi-square test, Student's *t* test, rank sum test and Fisher's parametric analysis of variance. **Results.** Out of the total number of 103 examined patients, 33 (32%) were diagnosed with PL, while GERD was diagnosed in five of the examined patients all belonging to the PL group (15% of the patients with PL). In the remaining patients, PL was caused by other factors. All the patients with GERD had PL and globus sensation while 80% of GERD patients had prominent symptom of pain. **Conclusion.** The results of the study are indicative of the causal relationship between GERD and PL.

Key words:

gastroesophageal reflux; laryngitis; diagnosis; gastroscopy; laryngoscopy; diagnosis, differential.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Poslednjih godina rađene su mnogobrojne studije koje su se bavile odnosom gastroesofagusne refluksne bolesti (GERD) i velikog broja bolesti gornjih disajnih puteva. Cilj naše studije bio je da se ustanovi postoji li uzročna povezanost između GERD i posteriornog laringitisa (PL). **Metode.** Studijom je bilo obuhvaćeno 103 bolesnika sa gastrointestinalnim tegobama. Dijagnostički postupak obuhvatao je anamnezu, gastrokopiju i direktoskopiju larinksa. Podaci su obrađivani korišćenjem klasičnih metoda deskriptivne statistike, kao i Pirsonovim χ^2 testom, Studentovim *t* testom, *rank sum* testom i Fišerovom parametarskom analizom varijanse. **Rezultati.** Od ukupno 103 pregledana bolesnika kod 33 (32,0%) bolesnika utvrđen je PL. Kod pet bolesnika dijagnostikovao je GERD i oni su svi bili u grupi sa PL (15% bolesnika sa PL). Ostali bolesnici imali su PL izazvan drugim faktorima. Svi bolesnici koji su imali GERD imali su PL i globus senzaciju a kod 80% bolesnika koji su imali GERD utvrđen je simptom bola. **Zaključak.** Rezultati ovog istraživanja govore u prilog postojanja uzročno-posledične veze između GERD i PL.

Ključne reči:

gastroezofagusni refluks; laringitis; dijagnoza; gastrokopija; laringoskopija; dijagnoza, diferencijalna.

Introduction

Over the last several years numerous studies on association and/or causal relationship among gastroesophageal reflux disease (GERD) and numerous other diseases (e.g. laryngeal malignancy, otitis, cricoarytenoid joint fixation, posterior laryngitis, pachyderma, granulomatous laryngitis, asthma, rhinosinusitis, subglottic stenosis, contact ulcer, Rainker's edema) affecting airways, accompanied by diverse symptoms, have been performed. This study was conducted to identify inflammation of the back portions of

the larynx – posterior laryngitis (PL) and its association with the GERD.

The lack of evidence or insufficient evidence on association between GERD and PL are not indicative of the lack of the association, while a confirmed association is not the evidence on the causal relation.

In-between two extreme claims – the first stating that reflux laryngitis is not a separate clinical entity and the second one stating the reflux laryngitis is a real clinical entity, there have been numerous studies controversially presenting association or causative relations between the diseases¹⁻³.

The most ardent opponents of the causative relationship between GERD and PL argue that no direct evidence on laryngeal defects induced by gastric reflux is available, and in spite of availability of the indirect evidences, they consider the association between laryngitis and GERD to be unspecific, since the diagnosis of one of the diseases does not necessarily mean the other disease is present. Only 10–20% of PL patients are diagnosed with GERD^{2,4}.

Posterior laryngitis is considered to be the entity characterized by edema and hyperemia of the interarytenoid region and arytenoids, with mucous bridge (assuming the accumulation of mucus which extends, in the form of bridge, between arytenoids), in-between and different extent of prominence, enabling the classification in three types depending on the prominence of the above-mentioned characteristics. Posterior laryngitis was defined by Hanson score dated from 1988, and currently it is applicable for PL diagnosis.

In addition to GERD, PL is also associated with smoking, alcoholism, antibiotics, corticosteroid inhalation, persistent cough, changed esophageal motility caused by different factors.

Pathohistological PL substrate is a loss of the cilia on the cells of the cylindrical laryngeal epithelium^{5,6}.

The symptoms are diverse, ranging from occasional hoarseness to the loss of voice, cough, globus sensation, enhanced salivation and pain^{2,5,7}.

Red score was established in patients with PL, using quantitative color analysis of erythema developing in this disease⁵. Moreover, the conclusion was drawn based on the studies that symptoms and signs of the PL were improved after administration of omeprazole – proton pump inhibitor (PPI), to be relapsed subsequent discontinuation of the therapy. It was concluded at the same time that numerous patients with PL do not have esophagitis, and thus it is possible that they have non erosive GERD (NGERD)^{3,4}.

Proton pump inhibitors are indispensable in the therapy lasting 3–6 months, twice a day, although the issue of GERD-induced inflammation is still controversial^{3,5-8}. In our study, PPI therapy lasted at least three months.

Gastroesophageal reflux disease is diagnosed on the basis of the endoscopically evidenced the esophageal inflammation in patients with symptoms of heartburn, regurgitation and dysphagia.

Gastroesophageal reflux, diagnosed on the basis of the presence of symptoms – regurgitation of the gastric content and globus sensations, is evidenced in 50% of the adult population⁶. Some authors report the rate of 87%. The reflux esophagitis is described as endoscopic or histological evidence on esophageal inflammation in patients with the above-stated complaints. Employment of modern technology can significantly contribute to better understanding and diagnosis of GERD (pH monitoring: Catheter-based pH testing, Bilitex, intraluminal impedance and Bravo capsule pH monitoring)⁹.

The aim of this study was to establish a possible association or causative relation between GERD and PL, that is, to answer to the question whether GERD is a cause of PL or only its associated manifestation.

Methods

The study included 103 patients with gastrointestinal complaints. All of the patients were examined at the polyclinics of otorhinolaryngology and gastroenterology. The examinations were performed over the period January–June 2005.

The study was prospective, randomized (patients were admitted from the general practitioner to the otorhinolaryngologists, and were selected with symptoms listed in the text), unicentric.

The following parameters were defined for the purpose of the present study:

– PL: hyperemia, edema of arytenoids and interarytenoid regions with mucous bridge involving 0.5 cm around the arytenoids;

– GERD: Endoscopic evidence on esophageal inflammation in patients with complains.

Diagnostic procedure was performed in all the patients including: medical history, indirect laryngoscopy, laryngeal directoscopy and gastroscopy. The patients were examined by a flexible endoscope, and the results were simultaneously recorded by VHS system. The material was examined by the same device and on the same monitor by two gastroenterologists and otorhinolaryngologists, respectively.

The medical history included provision of information on certain symptoms or habits: pharyngeal pain, hypersalivation (symptom defined on the basis of medical history), cough, hoarseness, globus sensation (defined by patients as a sensation of a ball in the throat, or something present in the throat, constant irritation provoking cough or swallowing), nocturnal dyspnea, snoring, asthma, rhinosinusitis, alcoholism, heartburn and smoking.

We have compared the presence or absence of certain symptoms with respect to PL or GERD, patient's sex and age and mutual PL and GERD relations.

Description of the numeric characteristics was performed in our study using classic methods of the descriptive statistics, *ie*, arithmetic mean and mean value median, as well as using standard deviation, variation coefficient and standard error as measures of variability, including minimal and maximal values. Relative numbers are used in all tables.

Depending on the nature of the variables themselves, analysis of the results was carried out using the Pearson's χ^2 statistic, in the form of congruence tests and contingency tables, for comparison of difference between frequencies of nonparametric characteristics for one or two characteristics. The Fisher's exact probability test was applied in numerical limitations of the table two-by-two.

Comparison of the average values of the parametric characteristics was performed using the Student's *t* test for the two groups of data. The rank sum test as a nonparametric supplement was applied in independent samples, while the equivalent paired test was applied in the dependent samples.

For comparison of three or more groups of data, the Fisher's parametric analysis of variance (ANOVA) was used for parametric data while nonparametric analysis of variance was used for nonparametric data.

The methods of single correlation and regression were used in analysis of association.

In all the applied analytical methods the level of significance was 0.05.

Logistic regression was used in the analysis of influence of symptoms on the outcome, *ie*, type of the disease.

The ANOVA with proportions was used in analysis of the mutual relationship between PL and GERD.

Database and data processing were performed using the Institute program developed by the Institut of Medical Statistics and Informatics, Faculty of Medicine, Belgrade.

Results

The total of 103 patients were examined at the polyclinics of otorhinolaryngology and gastroenterology, out of whom 53 were males, mean age 58 years, and 50 females, mean age 60 years. The youngest patient was aged 23 and the oldest one was 80 years.

An increased salivation, cough, globus and smoking were all individually related to PL and documented in the presented results.

The analysis of habits and symptoms of the examined patients according to their sex revealed statistically significant distribution of nocturnal dyspnea in females ($p < 0.05$), while rhinosinusitis ($p < 0.01$), alcohol use ($p < 0.01$) and cigarette smoking ($p < 0.01$) were evidenced in males. As for the distribution of PL and GERD according to sex, no statistically significant differences were evidenced.

The presence of enhanced salivation in the patients with PL was evidenced in almost one half of the patients with PL (Table 1). Analysis of the relation between PL and enhanced salivation evidenced statistically significant difference between the studied groups ($\chi^2 = 8.826$; $df = 1$; $p < 0.05$). It may be explained by more frequent presence of the enhanced salivation the symptom in patients with PL (45.4%) in comparison to those without this finding (17.1%) (Table 1).

The incidence of cough symptom in PL patients was high, since it was evidenced in 20 out of the total of 33 patients. Analysis of the relation between PL and onset of cough evidenced the presence of statistically significant difference between the observed groups ($\chi^2 = 9.129$; $df = 3$; $p < 0.05$). The difference may be explained by greater presence of cough symptoms in patients with PL (60.6%) in comparison to those free of this finding (37.1%) (Table 1).

($\chi^2 = 10.129$; $df = 3$; $p < 0.05$). The difference is explained by higher frequency of the symptom in patients with PL (57.6%) in comparison to the patients free of this finding (27.1%) (Table 1).

The share of smokers in the PL group of patients was statistically significant ($p < 0.05$) (Table 2). Analysis of relation between PL and cigarette smoking evidenced statistically significant difference between the observed groups ($\chi^2 = 10.074$; $df = 3$; $p < 0.05$). The difference is explained by higher incidence of the habit among the patients with PL (48.5%) when compared to those free of PL finding (21.4%).

The analysis evidenced statistically significant correlation between PL and enhanced salivation, cough, globus phenomenon and smoking (ρ correlation coefficient is (in the same order) 0.277; 0.268; 0.298 and 0.310 while in all cases $p < 0.05$). Smoking was the factor most frequently associated with PL.

Heartburn was present in 23 patients in the PL group (33 patients) ($p < 0.05$) and in three patients in the group with GERD.

Pain as a symptom was present in the majority of the GERD patients. Analysis of the relation between the presence of GERD and onset of pain evidenced the presence of statistically significant difference between the observed groups ($\chi^2 = 6.945$; $df = 1$; $p < 0.05$). It may be explained by higher incidence of the symptoms among the patients with GERD (80.0%) in comparison with those free of such finding (20.4%) (Table 2).

Globus sensation was present in all the patients with GERD. Analysis of the relation between GERD finding and globus phenomenon evidenced the presence of statistically significant difference ($\chi^2 = 7.844$; $df = 1$; $p < 0.01$). The difference is explained by the presence of the symptom in all the patients with GERD (100%) in comparison with those free of this finding (33.7%) (Table 2).

The patients with GERD were eight years older (67.5) at the average from the group without the finding (59) and the obtained difference was statistically significant (t test; $t = 4.138$, $p < 0.05$).

The analysis evidenced statistically significant association of GERD with pain, and globus phenomenon (correlation of coefficient was 0.246 and 0.263, respectively with $p < 0.05$ in both cases). The relation of smoking and GERD was analyzed, and 60% of GERD patients were smokers.

Table 1

Presence of enhanced salivation, cough, globus sensations and cigarette smoking in patients with posterior laryngitis

Patients	Enhanced salivation			Cough symptom			Globus sensation			Smoking		
	No	Yes	Total	No	Yes	Total	No	Yes	Total	No	Yes	Total
Without laryngitis posterior	58	12	70	44	26	70	51	19	70	55	15	70
With laryngitis posterior	18	15	33	13	20	33	14	19	33	17	16	33
Total	76	27	103	57	46	103	65	38	103	72	31	103

Globus sensations were present in more than a half of PL patients (56.0%) (Table 1). Analysis of the relation between PL and globus phenomenon evidenced the presence of statistically significant difference among the observed groups

Analysis of the results confirmed a statistically significant correlation between PL and GERD (ρ correlation coefficient was with 0.634 $p < 0.01$, which confirms frequent association between the two diseases and their interdependence).

Table 2

Onset of pain and globus sensations in patients with gastroesophageal reflux disease (GERD)

Patients	Pain						Globus sensation					
	No		Yes		Total		No		Yes		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Without GERD	78	75.7	20	19.4	98	95.1	65	63.1	33	32	98	95.1
With GERD	1	0.9	4	3.8	5	4.8	0	0	5	4.8	5	4.8
Total	79	76.7	24	23.3	103	100	65	63.1	38	36.9	103	100

Out of 33 patients with PL, five (15%) had GERD in our study, and all the patients with GERD were in the group of patients with PL.

Analysis of the relation between GERD and the presence of the PL evidenced the presence of a statistically significant difference ($\chi^2 = 8.058$; $df = 1$; $p < 0.01$). The difference may be explained by greater frequency of the disease among the patients with GERD (100%) in comparison with those free of the finding (28.5%) (Table 3). The result evidenced that patients with GERD by far more frequently also have PL (the odds for one with GERD to develop the PL is 4:1 in comparison to those without GERD).

The results of our study are similar to those reported in most of the analyzed studies: out of 103 examined patients, 33 (32%) had PL, out of whom five also had GERD, which makes 15%, while the incidence of PL was reported in 35%, while GERD incidence ranged between 10 and 20%^{1,3,4}.

Out of 33 patients with PL, GERD was evidenced in five (15%) while the remaining had PL caused by other factors. The patients with GERD were in the group with PL. The onset of PL in the remaining 28 patients with no GERD could be explained by insufficiently long episodes of the gastric reflux (number of attacks and their duration), to produce epithelial metaplasia on the resistant esophageal mucosa,

Table 3

Mutual relation between posterior laryngitis (PL) and gastroesophageal reflux disease (GERD)

Diagnosis		PL [n (%)]				Total	
		Absent		Present		n	%
		n	%	n	%		
GERD	Absent	70	67.9	28	27.2	98	95.1
	Present	0	0	5	4.9	5	4.9
Total		70	67.9	33	32.1	103	100

The analysis evidenced that the onset of enhanced salivation, globus phenomenon and smoking were the most frequent in patients with PL while the most frequent complaints of GERD patients include pain, and globus sensations, and all of them had PL.

Our study did not review the relation of laryngeal cancer and chronic laryngitis with GERD and PL.

Discussion

The epithelium covering laryngeal mucosa is dual: pseudostratified, cylindrical, ciliated covering most of the larynx and stratified squamous epithelium without keratinization, covering vocal cords and upper epiglottic surface.

Stratified squamous epithelium of the esophageal mucosa has a function of defense against reflux attack acidity, while supraesophageal structures do not have such functions, and thus clinical diagnosis of GERD may be impossible due to the absence of the evident epithelial metaplasia, while, as opposed to this, clinical manifestation of PL induced by reflux is present^{3,10}.

The reflux attack with its acidity, ie, pepsin, causes mucosal ulcerations and submucosal hemorrhages, while trypsin causes submucosal edema; however the cause of chronic inflammation in otorhinolaryngology region caused by GERD is still doubtful^{1,3,7}.

necessary for diagnosis of GERD. The presence of NGERD associated with PL is possible. A patient may still have PL in spite of the lack of any changes on the esophageal mucosa or significant changes of pH environment³.

It has been observed that GERD is present in 60% of patients with chronic laryngitis, as well as in 71% of patients with laryngeal carcinomas. The studies have evidenced that the onset of the reflux laryngitis is in the function of time of exposure to the reflux. The duration of exposure and number of attacks are in the close positive correlation with GERD. It has been evidenced that the treatment of PL patients with PPI leads to favorable response – their complaints are ameliorated and clinical findings are improved^{1,3}. Six out of twelve PL patients responded to PPI therapy in comparison to only one positive response among 10 patients who received placebo^{4,8}.

Regular monitoring of patients with gastroesophageal reflux is recommended using videostroboscopy, occasional biopsies and PPI treatment lasting for at least three weeks⁶. Although other authors report different duration of PPI therapy, our approach is three months minimum. In patients with continual difficulties and clinical findings, the therapy was continued even after three months. The therapy was corrected/discontinued on regular controls if a patient changed his/her life style and type of nutrition, which, in synergism with therapy, contributed to the treatment of disease.

In case of suspected PL, omeprazole test may be performed in order to verify or rule out the diagnosis¹¹. The effects of omeprazole treatment of GERD were evidenced by videostroboscopic monitoring of the changes and vocal cord-related improvements were observed⁵. The patients with PL without GERD underwent omeprazole treatment and after improvement of the local findings in PL patients, indirect correlation of the two diseases is evidenced. The former justified treatment of PL patients with PPI^{3, 10}. Successful PPI therapy of patients with established PL not diagnosed with GERD is indirect evidence on the presence of NGERD disease. The patients with diagnosed PL were administered PPI although GERD was not confirmed by gastroscopy. Their being cured is indirect evidence of NGERD.

Six out of twelve patients with PL had the abnormal hypopharyngeal pH values, but also two out of 10 healthy individuals had abnormal pH value, which may lead to conclusion that pH value is not significantly correlated with the diseases of the posterior portions of the larynx^{9, 10}.

The studies on patients with globus phenomenon mostly evidenced the diagnosis of achalasia and disturbed motility of the esophagus, while GERD and PL were rare¹².

The results of our study indicate that GERD is not correlated with sex, smoking and heartburn, which is consistent with the results of other authors obtained on patients with globus phenomenon¹³.

In our study, cough and globus sensation were evidenced in 38% and 27% of PL patients, respectively as op-

posed to 51% of patients with cough and 47% of those with globus sensation evidenced also in patients with PL¹⁴. The highest statistical significance of the disturbed pH finding is observed in patients with laryngeal carcinomas (71%) and patients with stenosis (78%) followed by patients with globus sensation (58%) and those with PL (60%)¹⁵.

Neither edema nor erythema are specific sign and erythema is not necessarily associated with the reflux. Nevertheless, it is expected from further studies to elucidate the problem².

Conclusion

The study confirmed an association between GERD and PL, although a significant number of PL patients were free of GERD. The most frequent common symptom for both PL and GERD eas globus phenomenon.

Despite the association between GERD and PL was confirmed it is necessary to provide more evidence in order to prove that GERD causes this pathological condition. The presence is not as equal as causality.

In the meantime, treatment of PL using PPI has been of most importance in patients with no other possible causes. Therapeutic procedure is determined by clinical examination, laboratory analysis and endoscopic examinations, however, clinical judgment is necessary and it leads to final decision when the available evidence provides no clear answer.

R E F E R E N C E S

1. Merati AL, Lim HJ, Ulualp SO, Toobill RJ. Meta-analysis of upper probe measurements in normal subjects and patients with laryngopharyngeal reflux. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2005; 114(3): 177–82.
2. Vaezi MF, Schroeder PL, Richter JE. Reproducibility of proximal probe pH parameters in 24-hour ambulatory esophageal pH monitoring. *Am J Gastroenterol* 1997; 92(5): 825–9.
3. Qua CS, Wong CH, Gopala K, Gob KL. Gastro-oesophageal reflux disease in chronic laryngitis: prevalence and response to acid-suppressive therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25(3): 287–95.
4. Reulbach TR, Belafsky PC, Blalock PD, Koufman JA, Postma GN. Occult laryngeal pathology in a community-based cohort. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 124(4): 448–50.
5. Hanson DG, Jiang J, Chi W. Quantitative color analysis of laryngeal erythema in chronic posterior laryngitis. *J Voice* 1998; 12(1): 78–83.
6. Shaw GY, Searl JP, Young JL, Miner PB. Subjective, laryngoscopic, and acoustic measurements of laryngeal reflux before and after treatment with omeprazole. *J Voice* 1996; 10(4): 410–8.
7. Kamel PL, Hanson D, Kabrilas PJ. Omeprazole for the treatment of posterior laryngitis. *Am J Med* 1994; 96(4): 321–6.
8. El-Serag HB, Lee P, Buchner A, Inadomi JM, Gavin M, McCarthy DM. Lansoprazole treatment of patients with chronic idiopathic laryngitis: a placebo-controlled trial. *Am J Gastroenterol* 2001; 96(4): 979–83.
9. Hirano I. Review article: modern technology in the diagnosis of gastro-oesophageal reflux disease-Bilitec, intraluminal impedance and Bravo capsule pH monitoring. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23 Suppl 1: 12–24.
10. KarkosP, Apostolidis T, Thomas L, Temple RH, Issing WJ. Awareness of general practitioners towards treatment of laryngopharyngeal reflux: a questionnaire survey. Abstract book; 2004. pp. 248.
11. Metz DC, Childs ML, Ruiz C, Weinstein GS. Pilot study of the oral omeprazole test for reflux laryngitis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 116(1): 41–6.
12. Shaker R, Bardan E, Gu C, Kern M, Torrico L, Toobill R. Intra-pharyngeal distribution of gastric acid refluxate. *Laryngoscope* 2003; 113(7): 1182–91.
13. Wilson JA, Heading RC, Maran AG, Pryde A, Piris J, Allan PL. Globus sensation is not due to gastro-oesophageal reflux. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 1987; 12(4): 271–5.
14. Moser G, Vacarin-Granser GV, Schneider C, Abatzji TA, Pokieser P, Stacher-Janotta G, et al. High incidence of esophageal motor disorders in consecutive patients with globus sensation. *Gastroenterology* 1991; 101(6): 1512–21.
15. Kaufman JA. The otolaryngologic manifestations of gastro-oesophageal reflux disease (GERD): a clinical investigation of 225 patients using ambulatory 24-hour pH monitoring and an experimental investigation of the role of acid and pepsin in the development of laryngeal injury. *Laryngoscope* 1991; 101: 1–64.

The paper recived on October 22, 2008.



Modaliteti lečenja vezikoureternog refluksa kod dece

Treatment of vesicourethral reflux in pediatric patients

Slobodan Grebeldinger*, Branka Radojčić*, Igor Meljnikov*, Svetlana Balj†

Klinika za dečju hirurgiju, *Institut za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine, Novi Sad, Srbija; †Medicinski fakultet, Novi Sad, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Vezikoureterni refluks aktuelan je problem u dečjoj urološkoj praksi. Optimalni modalitet njegovog lečenja i dalje je diskutabilan. Cilj studije bio je analiza kliničkog materijala bolesnika sa dijagnozom vezikoureternog refluksa. Posebno, razmatrani su rezultati endoskopskog tretmana instilacijom Defluks paste. **Metode.** Retrospektivnom studijom bili su obuhvaćeni bolesnici lečeni zbog vezikoureternog refluksa tokom petogodišnjeg perioda. Analizirani su uzrast, pol, stepen, lokalizacija refluksa, prisustvo urinarnih infekcija, udruženih anomalija i komplikacija, metode lečenja i uspešnost endoskopske korekcije instilacijom Defluks paste. Obrada podataka izvršena je standardnim statističkim metodama. **Rezultati.** Studijom je bilo obuhvaćeno 167 bolesnika (101 devojčica i 66 dečaka), prosečnog uzrasta 4,6 godina, sa dijagnozom vezikoureternog refluksa. Refluks je utvrđen jednostrano kod 61,7%, obostrano kod 38,3% bolesnika. Urinarne infekcije imalo je 78,4%, refluksnu nefropatiju 38,3%, hipertenziju 3,0%, hroničnu bubrežnu insuficijenciju 4,8%, udružene anomalije 39,5% bolesnika. Konzervativno je lečeno 80, a hirurški 74 bolesnika. Endoskopska instilacija Defluks paste sprovedena je kod 59 bolesnika. Od 79 tretiranih uretera, pet je imalo refluks I stepena, 11 II stepena, 23 III stepena, dva IV stepena i 13 V stepena. Instilacija Defluks paste izvršena je jednom kod 46, dva puta kod osam, tri puta kod pet bolesnika, nakon čega je odsustvo refluksa postignuto kod 42 (71,2%), poboljšanje kod 15 (25,4%) bolesnika, što zajedno čini 96,6% uspešnosti ove metode lečenja. **Zaključak.** Endoskopski tretman VUR instilacijom Defluks paste je minimalno invazivan metod lečenja vezikoureternog refluksa kod dece.

Ključne reči:

vezikoureterni refluks; hirurgija, urološka, procedure; ureteroskopija; deca; lečenje, ishod.

Abstract

Background/Aim. Vesicourethral reflux (VUR) is an inherited abnormality of the urinary tract caused by dysfunction of vesicourethral junction frequently accompanied by recurrent urinary infection. The optimal treatment method of VUR is still controversial. The aim of the study was to analyze medical charts of children with VUR with special focus on the results of endoscopic treatment with Deflux. **Methods.** This retrospective study analyzed the medical charts of all children diagnosed with VUR at the Institute for Children and Youth Health Care of Vojvodina, in five years period. The analyzed data were: age, gender, grade, bilateral or unilateral presence of reflux, distribution to the sides of the body, urinary tract infections, associated anomalies and complications of VUR, treatment methods and the success rate of endoscopic correction with Deflux. Data processing was performed using the standard statistical methods. **Results.** The study included 167 patients (101 females and 66 males) with 231 refluxing ureters. The patients age at diagnosis was 1 month to 18 years (mean 4.6 years). Frequencies of different grades of VUR at initial investigation were: 17%, 27%, 22%, 21% and 13% for grades I to V, respectively. VUR was unilateral in 103 patients (left in 65 and right in 38), and bilateral in 64. Urinary tract infections were present in 78.4% of patients, reflux nephropathy in 38.3%, hypertension in 3.0%, chronic renal insufficiency in 4.8%, associated anomalies in 39.5% of patients. The treatment method was recorded in 154 cases. Medically were treated 80 patients, and surgically 74. Endoscopic injection of Deflux was carried out in 59 patients. From 79 ureters treated, five had grade I reflux, 11 grade II, 23 grade III, 27 grade IV, and 13 grade V. In 46 patients Deflux injection was carried out once. A second injection was required in eight, and third injection in five patients. Reflux was absent in 42 of the treated patients (71.2%) and 15 patients (25.4%) had a decreased grade of reflux after the treatment. Overall success rate was 96.6%. **Conclusion.** Endoscopic subureteral injection of Deflux is a minimally invasive method for VUR treatment in pediatric patients.

Key words:

vesico-ureteral reflux; urologic surgical procedures; ureteroscopy; child; treatment outcome.

Uvod

Vezikoureterni refluks (VUR) nastaje usled disfunkcije valvulnog mehanizma vezikoureternog spoja i manifestuje se vraćanjem urina iz mokraćne bešike u ureter¹⁻³.

Prvi opisi VUR potiču još od Galena i Da Vinčija. Beli je 1818. godine objavio rezultate anatomske studije vezikoureternog spoja. Značajan doprinos u ispitivanju ovog problema dali su Pozzi (1893), Young i Wesson (1898), Werschauer i Sampson (1903), Bumpus (1924), Campbell. Godine 1961. Huch je ukazao na dinamičku prirodu refluksa, mogućnost maturacije vezikoureternog spoja i povezanost refluksa i infekcije urinarnog trakta⁴.

Incidencija VUR u razvojnom dobu nije poznata usled retkog otkrivanja u asimptomatskom stadijumu. Smatra se da je incidencija VUR u razvojnom dobu oko 0,4–1,8%³. Oboljenje je češće kod devojčica, prevalencija je viša u mlađem uzrastu i opada sa godinama^{1,4}. Refluks je prisutan kod 30–50% pedijatrijskih bolesnika sa simptomatskom infekcijom urinarnog trakta kao i kod 10% novorođenčadi sa antenatalnom hidronefrozom⁵⁻⁷. Vezikoureterni refluks prisutan je čak kod 85–100% bolesnika sa hroničnim pijelonefritičnim ožiljcima^{1,8,9}.

Antirefluksni mehanizam vezikoureternog spoja čini kosi tok intramuralnog dela uretera, koji je jednim svojim delom postavljen submukozno, jak detrusor i ureterotrigonalna longitudinalna muskulatura. Intravezikalni pritisak i mišićni tonus ekstravezikalnog dela uretera imaju ulogu u sprečavanju refluksa¹. Kompetenciju valvulnog mehanizma vezikoureternog spoja određuje dužina submukoznog dela uretera kao i odnos dužine tog dela uretera prema njegovoj širini. Normalno, taj odnos je 1 : 5, dok je kod bolesnika sa refluksom 1 : 1,4².

Vezikoureterni refluks može biti primaran i sekundaran. Primarni VUR posledica je urođene abnormalnosti vezikoureternog spoja, gde je submukozni deo uretera kraći, te kompresija muskulature bešike tokom mikcije nije dovoljna da spreči vraćanje urina u ureter. Ušća ovih uretera izmenjenog su položaja i izgleda. Sekundarni VUR udružen je sa neurogenom disfunkcijom bešike, infravezikalnim opstrukcijama i udvojenim ureterima sa ektopičnim ušćem. Može se pojaviti i prolazno tokom akutne urinarnе infekcije zbog edema sluzokože trigonuma i visokog intravezikalnog pritiska uzrokovanog hiperaktivnošću detrusora i sfinktera⁹. Genetske studije obavljene na osobama sa primarnim VUR govore o mogućem familijarnom karakteru poremećaja, koji se prenosi preko autosomno dominantnog gena sa nepotpunom penetracijom¹⁰.

Vezikoureterni refluks od davnina je zdravstveni problem razvojnog doba¹¹. Nema karakterističnu simptomatologiju, ali se često krije iza simptoma akutne, hronične ili recidivirajuće urinarnе infekcije². Perzistirajući refluks uzrokuje stvaranje renalnih ožiljaka i refluksnu nefropatiju, što je prisutno kod 33–60% bolesnika u momentu otkrivanja^{8,9}. U daljem toku bolesti može doći do razvoja arterijske hipertenzije, poremećaja rasta bubrega, a, u krajnjem slučaju, i do bubrežne insuficijencije¹. Poznato je da je VUR najčešći uzrok terminalne bubrežne insuficijencije kod dece⁸.

U dijagnostici vezikoureternog refluksa koriste se ultrazvučna, radiološka, radioizotopska, urodinamska i endoskop-

ska ispitivanja. Najvažniji i najsigurniji dijagnostički metod za otkrivanje i precizno stepenovanje vezikoureternog refluksa je mikciona uretrocistografija (MUCG)². U današnje vreme koristi se klasifikacija Internacionalnog komiteta za refluks, koja razlikuje pet stepeni VUR¹². Nalaz VUR zahteva dopunska ispitivanja kao što su statička scintigrafija bubrega (DMSA *scan* bubrega) ili intravenska urografija, kojima će se utvrditi da li je došlo do razvoja ožiljnih promena u bubrežnom parenhimu⁸.

Modalitet lečenja vezikoureternog refluksa i dalje je diskutabilan. Konzervativno lečenje podrazumeva dugotrajnu antimikrobnu profilaksu antibioticima i uroantisepticima koji se primenjuju u polovini ili trećini terapijske doze¹³. Hirurško lečenje može biti operativno i endoskopsko. Operativno lečenje podrazumeva ureterocistostomiju, odnosno reimplantaciju uretera i ekstravezikalne operativne tehnike, a endoskopsko lečenje označava submukoznu endoskopsku instilaciju „endopaste“ u predeo ušća refluksivnog uretera, čime se sprečava retrogradni tok urina¹⁴⁻¹⁷.

Cilj rada bio je analiza kliničkog materijala vezikoureternih refluksa kao i poređenje kliničkih karakteristika bolesnika lečenih hirurški i konzervativno. Dat je poseban osvrt na analizu rezultata lečenja vezikoureternog refluksa endoskopskom instilacijom Defluks paste.

Metode

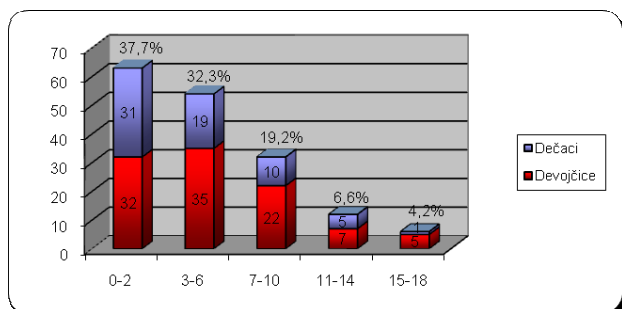
Retrospektivnom studijom analizirani su bolesnici sa dijagnozom vezikoureternog refluksa koji su hirurški lečeni u Odeljenju dečje urologije Klinike za dečju hirurgiju, kao i konzervativno lečeni bolesnici u Odeljenju dečje nefrologije Klinike za pedijatriju, Instituta za zdavstvenu zaštitu dece i omladine (IZZZDIO) Vojvodine. Retrospektivna studija obuhvatila je period od 1. januara 2002. do 31. decembra 2007. godine. Analizirani su uzrast, pol, stepen VUR, distribucija refluksnih jedinica prema strani tela, unilateralno ili bilateralno prisustvo VUR, prisustvo urinarnih infekcija i komplikacija u vidu refluksne nefropatije, arterijske hipertenzije i hronične bubrežne insuficijencije, prisustvo dupleks sistema (udvojeni pijelon i ureter) i drugih udruženih anomalija i poremećaja, metode lečenja i uspešnost endoskopske korekcije VUR nakon jedne, dve i tri instilacije Defluks paste. Obrada podataka izvršena je standardnim statističkim metodama.

Rezultati

U posmatranom periodu u IZZZDIO Vojvodine vezikoureterni refluks dijagnostikovao je kod 167 bolesnika i to kod 101 (60%) devojčice i 66 (40%) dečaka. U Klinici za pedijatriju, dijagnostikovano je 115 bolesnika od kojih je 35, radi hirurškog lečenja, premešteno u Kliniku za dečju hirurgiju. U Klinici za dečju hirurgiju VUR je dijagnostikovao kod 52 bolesnika.

Prosečan uzrast bolesnika kod kojih je dijagnostikovao VUR bio je 4,6 godina. Najmlađi bolesnik imao je mesec dana, a najstariji 18 godina.

Na slici 1 prikazana je distribucija pojave VUR prema uzrasnim grupama i polu bolesnika.



Sl. 1 – Distribucija vezikoureternog refluksa (VUR) prema uzrasnim grupama i polu bolesnika

Najveća zastupljenost VUR bila je u uzrasnoj grupi 0–2 godine (37,7%), a najmanja u grupi od 15 do 18 godina (4,2%). U svim uzrasnim grupama preovlađivale su devojčice, ali u grupi od 0–2 godine zastupljenost VUR bila je gotovo jednaka kod devojčica i dečaka (32:31).

Analiza refluksnih uretera prema strani tela i stepenu refluksa utvrđenog na osnovu mikcione uretrocistografije, prikazana je u tabeli 1.

Ako se analizira zastupljenost pojedinih stepena VUR po uzrasnim grupama, među decom od 0–2 godine najviše je bilo refluksnih uretera II stepena (33,3%), među decom od 3–6 godina III stepena (35,5%), od 7–10 godina I stepena (33,3%), od 11–14 godina bilo je podjednako refluksnih uretera III i V stepena (po 26,7%), a u grupi od 15–17 godina najviše IV stepena (62,5%), što je prikazano na slici 2.

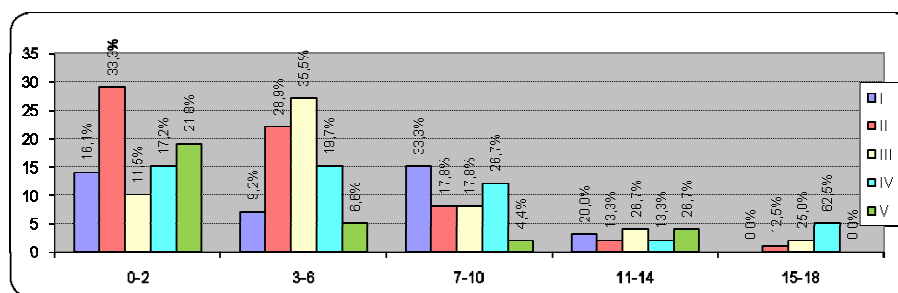
Kod 131 (78,4%) bolesnika VUR se manifestovao urinarnim infekcijama. Kod 22 bolesnika vezikoureterni refluks ustanovljen je bez prethodnog prisustva infekcije urinarnog trakta. Komplikacije u vidu refluksne nefropatije bile su prisutne kod 64 (38,3%) bolesnika, arterijska hipertenzija kod 5 (3,0%), a oštećenje bubrežne funkcije, u smislu hronične insuficijencije ili afunkcije, kod 8 (4,8%) bolesnika.

Kod 66 (39,5%) bolesnika bile su prisutne jedna ili više različitih udruženih anomalija. Od anomalija i poremećaja urogenitalnog trakta bile su prisutne: hipoplazija bubrega (12), hipotrofija bubrega (2), displazija bubrega (2), prenatalna dilatacija pijelokaliksa (2), hidronefroza (2), divertikuli mokraćne bešike (8), opstruktivni megaureter (6), udvojeni pijelon i ureter (13), detrusor-sfinkter disinergija (2), neurogena disfunkcija mokraćne bešike (7), inkontinencija urina (1), ektopični pelvis (1), ektopični ureter (1), ektopično ušće

Tabela 1

Distribucija refluksnih uretera prema strani tela i stepenu vezikoureternog refluksa (VUR) na osnovu mikcione uretrocistografije

Strana tela sa VUR	Stepen refluksa					Refluksne jedinice		Bolesnici		
	I	II	III	IV	V	n	%	n	%	
Jednostrano	levo	11	17	18	7	12	65	28,1	103	61,7
	desno	5	9	9	9	6	38	16,5		
Obostrano	levo	13	17	14	16	4	64	27,7	64	38,3
	desno	10	19	10	17	8	64	27,7		
Ukupno		39	62	51	49	30	231	100	167	100



Sl. 2 – Distribucija pojedinih stepena vezikoureternog refluksa (VUR) prema uzrastu

Kod 103 bolesnika (61,7%) VUR je utvrđen jednostrano, i to kod 65 (28,1%) bolesnika sa leve strane, a kod 38 (16,5%) bolesnika sa desne strane. Obostrano, refluks je nađen kod 64 (38,3%) bolesnika. U ispitivanom periodu, najčešće je bio dijagnostikovao VUR drugog stepena (62 refluksna uretera), a u najmanjem broju VUR petog stepena (30 refluksnih uretera).

Posmatrano po polovima, jednostrano refluks je bio prisutan kod 43 (25,7%) devojčice i 22 (13,2%) dečaka, jednostrano kod 18 (10,8%) devojčica i 20 (12,0%) dečaka, a obostrano kod 40 (24,0%) devojčica i 24 (14,4%) dečaka.

uretera (1), potkovičasti bubreg (1), *ren mobile* (1), *pyelon fissus* (1), urogenitalni sinus (1), valvula zadnje uretre (2), ureterokele (1), epispadia feminina (1), hipospadia (1), fimozis (1), ingvinalna pozicija testisa (1). Od anomalija i poremećaja drugih sistema bili su prisutni: atrezija anusa i duodenuma, kokcigealni sinus, spina bifida, mijelomeningocela, atrijalni septalni defekt, stenoza plućne arterije, kongenitalna nadbubrežna hiperplazija i mukopolisaharidoza.

Način lečenja evidentiran je kod 154 bolesnika od ukupno 167 bolesnika sa dijagnozom vezikoureternog refluksa (tabela 2).

Tabela 2

Način lečenja dece sa vezikoureternim refluksum (VUR) prema uzrastu i polu

Uzrast (godine)	Lečenje												Svega	
	Konzervativno			Operativno			Hirurško			Defluks				
	Dečaci	Devojčice	Ukupno	Dečaci	Devojčice	Ukupno	Dečaci	Devojčice	Ukupno	Dečaci	Devojčice	Ukupno	n	%
0–2	15	26	41	4	1	5	0	0	0	11	5	16	62	40,3
3–6	3	16	19	3	1	4	1	1	2	11	15	26	51	33,1
7–10	4	11	15	1	1	2	1	1	2	2	6	8	27	17,5
11–14	2	2	4	0	0	0	0	0	0	2	4	6	10	6,5
15–18	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	3	4	2,6
Ukupno	25	55	80	8	3	11	2	2	4	26	33	59	154	100

U Klinici za pedijatriju konzervativno je lečeno 80 (51,9% svih lečenih) bolesnika, dok na Klinici za dečiju hirurgiju hirurški je tretirano 74 (48,1%) bolesnika i to 11 operativno, a 63 endoskopski. Najveći deo konzervativno lečenih (51,3%) bio je u uzrasnoj grupi od 0–2 godine, dok je među hirurški lečenim bolesnicima bilo najviše u uzrastu 3–6 godina (43,2%).

Zastupljenost pojedinih vrsta lečenja u odnosu na stepen VUR prikazana je u tabeli 3.

11 drugog stepena, 23 trećeg stepena, 27 četvrtog i 13 petog stepena refluksa. Kod 46 bolesnika Defluks instilacija izvršena je samo jednom, kod 8 dva puta, a kod pet bolesnika tri puta. Kod troje bolesnika u toku terapije došlo je do pojave refluksa niskog gradusa (I i II) sa kontralateralne strane. Oni su, takođe, tretirani Defluksom i izlečeni su. Rezultati endoskopskog lečenja bolesnika instilacijom Defluks paste prikazano je u tabeli 4.

Tabela 3

Zastupljenost pojedinih vrsta lečenja u odnosu na stepen vezikoureternog refluksa (VUR)

Stepen VUR	Lečenje								Svega refleksnih jedinica	
	Konzervativno		Operativno		Hirurško		Ukupno		n	%
	n	%			Defluks	Ukupno	%			
I	29	26	1	0	5	6	6	35	16	
II	44	39	2	4	11	17	17	61	28	
III	18	16	2	2	23	27	26	45	21	
IV	12	11	6	0	27	33	32	45	21	
V	10	9	6	0	13	19	19	29	13	
Svega refleksnih jedinica	113	100	17	6	79	102	100	215	100	

Tabela 4

Rezultati endoskopskog lečenja instilacijom Defluks paste

Rezultat endoskopskog lečenja	Bolesnici	
	n	%
Odsustvo refluksa nakon 1 injekcije (Defluks)	34	57,6
Odsustvo refluksa nakon 2 injekcije (Defluks)	5	8,5
Odsustvo refluksa nakon 3 injekcije (Defluks)	3	5,1
Poboljšanje	15	25,4
Nepromenjeno stanje	2	3,4
Ukupno	59	100

Konzervativno je najviše bilo lečenih refleksnih uretera drugog (39%) i prvog stepena (26%), a najmanje onih sa petim stepenom (9%). Hirurški su najviše lečeni refluksi četvrtog (32%) i trećeg stepena (26%), a u najmanjem procentu refluksi prvog stepena (6%).

Instilacijom Defluks paste tretirano je 59 bolesnika (26 dečaka i 33 devojčice), odnosno 79 refleksnih uretera. Najviše tretiranih bolesnika bilo je uzrasta 3–6 godina (44,1%). Tretirano je pet refleksnih uretera prvog stepena,

Diskusija

Retrospektivnom studijom bilo je obuhvaćeno 167 bolesnika sa dijagnozom vezikoureteralnog refluksa, prosečnog uzrasta 4,6 godina. Najveći broj obolelih otkriven je u prve dve godine života (37,7%) dok je broj obolelih postepeno opadao u starijim uzrasnim grupama, što je u skladu sa rezultatima sličnih istraživanja⁴. Više studija potvrdilo je da je učestalost oboljenja veća kod devojčica nego kod dečaka^{18–22}. Prema

podacima iz literature VUR je zastupljeniji kod devojčica u odnosu na dečake i taj odnos se kreće od 3 : 1 do 5 : 1². Na našem uzorku bolesnika odnos polova bio je 1 : 1,5 u korist devojčica. Skoro polovina bolesnika muškog pola (47%) bila je uzrasta do 2 godine, a među obolelima do jedne godine starosti broj dečaka bio je čak i veći u odnosu na devojčice (17:11).

Vezikoureterni refluks kod najvećeg broja slučajeva dijagnostikuje se zahvaljujući pojavi urinarne infekcije, koja je prisutna kod preko 85% bolesnika. Znatno ređe otkriva se u toku ispitivanja uzroka antenatalne hidronefroze ili tokom ispitivanja hipertenzije, bubrežne insuficijencije i nejasne proteinurije⁸. Na našem materijalu urinarne infekcije su bile prisutne kod 78,4% bolesnika.

U ovoj studiji, od 231 refluksne jedinice, 39 su bile prvog stepena, 62 drugog, 51 trećeg, 49 četvrtog i 30 petog stepena refluksa. Bolesnici sa visokim stepenom VUR (IV i V) 4–6 puta skloniji su razvoju bubrežnih ožiljaka nego oni sa nižim stepenima refluksa (I–III), a 8–10 puta više u odnosu na one bez VUR¹⁸. Veću učestalost bubrežnih ožiljaka među bolesnicima sa visokim stepenom refluksa potvrđuju brojni autori u svojim radovima^{7, 18, 21, 22, 24}. Prema literaturi, 33–60% bolesnika već ima renalne ožiljke u momentu dijagnostikovanja VUR. Oni nastaju već u prvim godinama života u toku urinarnih infekcija⁸. U našoj studiji 64 (38,3%) bolesnika u momentu dijagnostikovanja imalo je refluksnu nefropatiju. Kod 51 bolesnika ožiljne promene bile su prisutne jednostrano, a kod 13 bolesnika obostrano. Bolesnike sa refluksnom nefropatijom (71,9%) činili su oni sa srednjim (III) i visokim stepenom refluksa (IV i V). U ovoj studiji 28,1% bolesnika sa refluksnom nefropatijom imali su nizak stepen refluksa (I i II). Slični rezultati dobijeni su u studiji Sharbafa i sar.¹⁸ u kojoj se toliki procenat bubrežnih lezija kod niskog stepena refluksa smatra najverovatnije posledicom pijelonefritisa, kako se navodi i u drugim radovima. Refluksna nefropatija smatra se jednim od najčešćih uzroka hipertenzije u dečijem uzrastu. Hipertenzija se javlja kod 5–30% bolesnika sa refluksnom nefropatijom⁸. Na našem materijalu kod pet (7,7%) bolesnika, razvila se arterijska hipertenzija. Rizik od hipertenzije povećava se sa godinama i dužinom praćenja bolesnika, što su potvrdili svojom studijom Zhang i Bailey²⁵. Bubrežna insuficijencija razvila se kod osam (4,8%) bolesnika od kojih je šest imalo visok stepen refluksa.

Učestalost refluksa veća je kod urođenih anomalija bubrega. Postoje podaci da se u slučaju unilateralne agenezije, VUR javlja kod 37% bolesnika². U našoj studiji, kod 66 bolesnika pored VUR postojale su udružene anomalije urogenitalog i drugih sistema.

Modaliteti optimalnog lečenja VUR danas su kontrolisani. Većina kliničara saglasna je da se VUR I i II stepena leči konzervativno, što se zasniva na mogućnosti spontanog iščezavanja VUR^{8, 9}. Tako VUR I stepena nestaje kod 80%, II stepena kod 60%, III stepena kod 50% i IV stepena kod 25% slučajeva, dok se VUR V stepena obično nikad ne gubi⁸. Suština konzervativnog lečenja je da se urin održava sterilnim i time spreči pijelonefritis kao uzrok stvaranja ožiljnih promena na bubrezima¹³. Najefikasniji lekovi koji se koriste

u tu svrhu su nitrofurantoin (1–2 mg/kg), nalidiksinska kiselina (20 mg/kg), trimetoprim (2 mg/kg) i trimetoprim u kombinaciji sa sulfametoksazolom (2 mg/kg + 10 mg/kg). Redovne mesečne kontrole urina i urinokulture neophodne su za sve vreme konzervativnog lečenja⁸. Konzervativna terapija treba da traje sve do iščezavanja refluksa, odnosno dok se ne dobiju dva negativna cistograma u razmaku od godinu dana i ne bi trebalo da traje duže od dve godine². U našoj studiji, 115 bolesnika započelo je konzervativno lečenje. Međutim, 35 bolesnika, radi hirurškog lečenja, premešteno je u Kliniku za dečju hirurgiju, a 74,3% ovih bolesnika imali su visok stepen refluksa (IV i V). Preostalih 80 konzervativno lečenih bolesnika u najvećoj meri imali su refluksne uretere I i II stepena (65%).

Spontana rezolucija u proseku nastaje za 5 godina. To može da potraje i do 8 godina za refluks III i IV stepena²¹. Istraživanja Internacionalne grupe za refluks pokazala su da u pogledu ponavljanih urinarnih infekcija, sprečavanja stvaranja novih ožiljaka i zaštite rasta bubrega, nema značajne razlike između konzervativnog i operativnog lečenja VUR III i IV stepena^{26, 27}. Međutim, više studija pokazalo je da VUR III i IV stepena u velikom procentu perzistira i 5 godina nakon započete konzervativne terapije. Taj procenat, u zavisnosti od autora, iznosi 50–84%^{27–29}. Smatra se da bi kod III i viših stepena refluksa trebalo razmotriti i druge vidove lečenja². Vezikoureterni refluks V stepena leči se hirurški, izuzev kod novorođenčadi koja mogu imati visok procenat poboljšanja u prvoj godini života⁸.

Indikacije za operativno lečenje su uporne infekcije urinarnog trakta, izostanak odgovora na medikamentni tretman, pojava novih renalnih ožiljaka ili poremećaja rasta bubrega, visoki stepen refluksa (IV i V), perzistirajući VUR (više od 3–4 godine), refluks koji se pogoršava i VUR koji je u vezi sa fiksnim defektima urinarnog trakta¹⁹. Operativno lečenje sastoji se u reimplantaciji uretera sa stvaranjem novog, dovoljno dugačkog ureternog submukoznog tunela⁹. Najčešće korišćene operativne metode su Politano Leadbetterova i transvezikalna reimplantacija uretera po Cohenu². Prosečno trajanje operacije je 75–120 minuta, a postoperativni oporavak u bolničkim uslovima traje oko dve nedelje¹³. Prema većini autora uspešnost operativnog lečenja je 90–95%^{14, 15}. Komplikacije su stanja u kojima refluks perzistira kod 20% onih sa V stepenom VUR, a ureterne opstrukcije nastaju kod 0,3–9,1% operisanih¹⁹. U ispitivanom periodu u IZZZDIO Vojvodine 11 bolesnika lečeno je operativno, metodom reimplantacije uretera po Cohenu. Od 17 lečenih refluksnih uretera, 82,3% činili su oni sa III, IV i V stepenom refluksa, a kod 9 operisanih bolesnika pored refluksa bile su prisutne različite udružene anomalije: displazija bubrega, hidronefroza, opstruktivni megaureter, divertikuli mokraćne bešike, ektopično ušće uretera, ureterocele, udvojeni bubreg i ureter, epispadia feminina. Među operisanima bilo je više dečaka (8) nego devojčica (3), a 81,8% bolesnika bili su uzrasta do 6 godina.

Ideja o endoskopskom lečenju vezikoureternog refluksa potekla je iz tehnike korekcije stres inkontinencije kod odraslih. U kliničku praksu metodu su uveli O'Donnell i Puri 1984. godine, nazvavši je „STING“ procedura (*subureteric*

teflon injection), s obzirom na to da je u početku teflon korišćen kao endopasta. Posle početnog entuzijazma, metoda je ubrzo dobila značajan broj protivnika zbog nedostataka endopaste. Teflon, tetrafluor-etilen (PTFE), sintetička je materija koja ima sposobnost migriranja sa mesta endoskopske instilacije. Takođe, moguće je stvaranje lokalne granulomatozne formacije¹³. Potom su korišćeni različiti agensi kao što su silikon, autologna krv, kolagen, hrskavica i polidimetilsiloksan (*Macroplastique*). Nedostaci kao što su nedovoljna istrajnost, potencijal za migriranje, rizik od sekundarnog maligniteta, imunogenost i lokalna inflamacija sa granulomatoznim formacijama doprineli su da supstancije ne budu široko prihvaćene¹⁹. Konačno, 1996. godine, Duckett promoviše kopolimer dekstranomer/hijaluronska kiselina („DEFLUX“) kao endopastu mineralnog porekla koja ne migrira sa mesta instilacije, ne stvara alergijske reakcije, nema potencijal za izazivanje maligne transformacije i ne izaziva lokalni inflamatorni odgovor^{13, 19}. Potpuno je biokompatibilan i biodegradabilan. Godine 1998. proglašen je jedinom endopastom za lečenje vezikoureternog refluksa u Evropi, a 2001. godine i u SAD¹³.

Tehnika endoskopske korekcije sastoji se u aplikaciji endopaste specijalnom iglom, 3–4 mm ispod ureternog ušća, u laminu propriu mukoze mokraćne bešike, u poziciji „6 sati“ u odnosu na orificijum uretera. Na mestu aplikacije formira se bolus medija koji je injektiran. Ovako novoformirani anatomski supstrat vezikoureternog ušća sprečava povratni tok urina iz mokraćne bešike u uretere i kod malih pritisaka, i čini ušće suficijentnim. Uspešnost ove metode varira u različitim studijama od 70–90%¹⁹. Jedina opisana komplikacija je tranzitorna opstrukcija na mestu ureternog ušća, koja se javlja kod oko 10% bolesnika¹³.

Endoskopsko lečenje nije zamena za ostale vidove lečenja vezikoureternog refluksa, ali je uvođenjem u praksu, definitivno promenjen pristup lečenju³⁰. Prednosti metode su kraće operativno vreme, tehnički lakše izvođenje, sprovodi se u površnoj anesteziji i ne ostavlja ožiljak, a dete odlazi kući već prvog postoperativnog dana. Primenom ove minimalno invazivne hirurške procedure skraćuje se vreme kontinuirane profilakse antibioticima kod konzervativnog lečenja¹³.

Endoskopsko lečenje refluksa može se primeniti kod svih bolesnika sa primarnim vezikoureternim refluksom od II do IV stepena¹³. Puri i sar.³¹ u studiji koja je obuhvatila 692 bolesnika ispitali su uspešnost subureterne instilacije Defluks paste u lečenju visokog stepena vezikoureternog refluksa. Od 1 101 tretiranog uretera, 35 (3,2%) bilo je II stepena refluksa, 580 (52,7%) III stepena, 457 (41,5%) IV stepena i 29 (2,6%) V stepena refluksa. Refluks je bio izlečen nakon prve injekcije kod 952 (86,5%) uretera, nakon dve injekcije kod 130 (11,8%) uretera i kod 19 (1,7%) uretera nakon tri injekcije.

Time je dokazano da je endoskopska subureterna injekcija Defluksa odlična prva linija tretmana kod dece sa visokim stepenom vezikoureternog refluksa³³. Poslednjih godina sve više autora navodi zavidne rezultate endoskopskog lečenja primarnog refluksa kod duplikacije uretera i u lečenju vezikoureternog refluksa povezanog sa paraureternim divertikulima^{32–34}.

U Klinici za dečju hirurgiju u ispitivanom periodu endoskopski je tretirano 85 refluksnih jedinica. Kod šest bolesnika korišćena je teflon pasta, a kod 79 bolesnika Defluks. Nakon jedne injekcije Defluks paste, odsustvo refluksa ustanovljeno je kod 57,6% bolesnika, što sa poboljšanjem nalaza kod 25,4% bolesnika predstavlja uspešnost nakon jedne injekcije Defluks paste kod 83% bolesnika. Perzistirajući refluks ustanovljen je kod preostalih 17% bolesnika. Reinstilacija Defluksa sprovedena je kod 13 bolesnika, nakon čega je bilo izlečeno pet bolesnika. Stanje je, u smislu smanjenja stepena refluksa, bilo poboljšano kod četvoro (30,8%) dece, a kod četvoro je i dalje ostalo nepromenjeno (30,8%). Nakon treće instilacije Defluks paste, koja je sprovedena kod pet bolesnika, izlečeno je njih troje, a kod dvoje refluks je i dalje perzistirao. Studijom je potvrđeno da je nakon endoskopske korekcije izlečenje postignuto kod 42 (71,2%) bolesnika, poboljšanje kod 15 (25,4%) bolesnika, što ukupno čini 96,6% uspešnosti endoskopskog tretmana VUR Defluks pastom. Stanje je ostalo nepromenjeno kod dva bolesnika (3,4%).

Zaključak

Vezikoureterni refluks češće se javlja kod devojčica nego kod dečaka. Bolest se najčešće javlja u mladem uzrastu (do dve godine), a sa godinama broj obolelih postepeno opada. U ispitivanoj populaciji, vezikoureterni refluks ustanovljen je jednostrano kod 61,7%, a obostrano kod 38,3% bolesnika. Levostrani refluks je činio 63,1% svih jednostranih refluksa, i kod 66,2% bio je zastupljen kod devojčica. Obostrani refluks (62,5%) bio je prisutan kod devojčica. U ispitivanom periodu, najčešće je bio dijagnostikovani vezikoureterni refluks drugog stepena.

Vezikoureterni refluks predstavlja značajan rizik od nastanka renalnih ožiljaka i refluksne nefropatije, koja je u momentu dijagnostikovanja bila prisutna kod 38,4% bolesnika.

Izbor lečenja vezikoureternog refluksa zavisi od njegove težine. Niži stepeni refluksa (I i II) u najvećoj meri leče se konzervativno, dok je kod viših stepena (III–V) češći hirurški tretman. Endoskopsko lečenje vezikoureternog refluksa instilacijom Defluks paste je minimalno invazivna metoda koja postaje zlatni standard u tretmanu pedijatrijskih bolesnika.

L I T E R A T U R A

1. *Petrović S.* Vesicoureteral reflux. In: *Pajić D, Petrović S, Stojanović S*, editors. Pediatric surgery for the students of medicine. Novi Sad: Medicinski fakultet Novi Sad; 1992. p. 286–310.
2. *Varga J.* Feasibility of endoscopic correction of primary vesicoureteral reflux [dissertation]. Novi Sad: School of Medicine Novi Sad. 2002. p. 98. (Serbian)

3. *Bailey RR*. Vesicoureteral reflux in healthy infants and children. In: *Hodson J, Kincaid-Smith P*, editors. *Reflux nephropathy*. NY: New York: Masson; 1979. p. 59–61.
4. *Hutch JA*. Theory of maturation of the intravesical ureter. *J Urol* 1961; 86: 534–8.
5. *Winberg J, Bollgren I, Källenius G, Möllby R, Svenson SB*. Clinical pyelonephritis and focal renal scarring. A selected review of pathogenesis, prevention, and prognosis. *Pediatr Clin North Am* 1982; 29(4): 801–14.
6. *Smellie JM, Normand IC, Katz G*. Children with urinary infection: a comparison of those with and those without vesicoureteric reflux. *Kidney Int* 1981; 20(6): 717–22.
7. *Silva JM, Santos Diniz JS, Marino VS, Lima EM, Cardoso LS, Vasconcelos MA*, et al. Clinical course of 735 children and adolescents with primary vesicoureteral reflux. *Pediatr Nephrol* 2006; 21(7): 801–8.
8. *Dapčić M*. Vesicoureteral reflux. In: *Krstić A*, editor. *Yugoslav pediatric school: the first five years. Volume II*. Budva. Novi Sad: Udruženje pedijatara Jugoslavije; 2002. p. 857–60. (Serbian)
9. *Lovrenski J*. Ultrasonography in diagnostics of vesicoureteral reflux in pediatric patients [thesis]. Novi Sad: School of Medicine Novi sad; 2006. p. 80. (Serbian)
10. *Levi PR, Belmann AB*. Familial occurrence of non-obstructive non-infections vesicoureteral reflux with renal scarring. *J. Pediatr* 1975; p. 86–851.
11. *Greenfield SP*. Vesicoureteral reflux-current treatment options. *Expert Opin Pharmacother* 2003; 4(11): 1959–66.
12. *Report of the international reflux study committee*. Medical versus surgical treatment of primary vesicoureteral reflux: report of the International Reflux Study Committee. *Pediatrics* 1981; 67(3): 392–400.
13. *Ilić P, Tričković D, Milanović-Stanković S*. Endoscopic treatment of vesicoureteral reflux. In: *Zdravković D*, editor. *Problemi u pedijatriji* 2006. Beograd: Problems in pediatrics; 2007. p. 293–303. (Serbian)
14. *Duckett JW, Walker RD, Weiss R*. Surgical results: International Reflux Study in Children-United States branch. *J Urol* 1992; 148(5 Pt 2): 1674–5.
15. *Wheeler D, Vimalachandra D, Hodson EM, Roy LP, Smith G, Craig JC*. Antibiotics and surgery for vesicoureteric reflux: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Arch Dis Child* 2003; 88(8): 688–94.
16. *Läckgren G, Wåblin N, Stenberg A*. Endoscopic treatment of children with vesico-ureteric reflux. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88(431): 62–71.
17. *Zivkovic D, Varga J*. Endoscopic correction of vesicoureteric reflux-our thirteen years' experience. *Eur J Pediatr Surg* 2006; 16(4): 245–50.
18. *Sharbaf FG, Fallabzadeh MH, Modarresi AR, Esmaeili M*. Primary vesicoureteral reflux in Iranian children. *Indian Pediatr* 2007; 44(2): 128–30.
19. *Wadie GM, Tirabassi MV, Courtney RA, Moriarty KP*. The deflux procedure reduces the incidence of urinary tract infections in patients with vesicoureteral reflux. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2007; 17(3): 353–9.
20. *Novljan G, Kenig A, Rus R, Kenda RB*. Cyclic voiding urosonography in detecting vesicoureteral reflux in children. *Pediatr Nephrol* 2003; 18(10): 992–5.
21. *Orellana P, Baquedano P, Rangarajan V, Zhao JH, Eng ND, Fettich J*, et al. Relationship between acute pyelonephritis, renal scarring, and vesicoureteral reflux. Results of a coordinated research project. *Pediatr Nephrol* 2004; 19(10): 1122–6.
22. *Caione P, Ciofetta G, Collura G, Morano S, Capozza N*. Renal damage in vesico-ureteric reflux. *BJU Int* 2004; 93(4): 591–5.
23. *Stall TL, LiPuma JJ*. Epidemiology and natural history of urinary tract infections in children. *Med Clin North Am* 1991; 75(2): 287–97.
24. *Lin KY, Chiu NT, Chen MJ, Lai CH, Huang JJ, Wang YT*, et al. Acute pyelonephritis and sequelae of renal scar in pediatric first febrile urinary tract infection. *Pediatr Nephrol* 2003; 18(4): 362–5.
25. *Zhang Y, Bailey RR*. A long term follow up of adults with reflux nephropathy. *N Z Med J* 1995; 108(998): 142–4.
26. *Olbing H, Claesson I, Ebel KD, Seppänen U, Smellie JM, Tamminen-Möbius T*. Renal scars and parenchymal thinning in children with vesicoureteral reflux: a 5-year report of the International Reflux Study in Children (European branch). *J Urol* 1992; 148(5 Pt 2): 1653–6.
27. *Birmingham Reflux Study Group*. Prospective trial of operative versus non-operative treatment of severe vesicoureteric reflux in children: five years' observation. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1987; 295(6592): 237–41.
28. *McLorie GA, McKenna PH, Jumper BM, Churchill BM, Gilmour RF, Kboury AE*. High grade vesicoureteral reflux: analysis of observational therapy. *J Urol* 1990; 144(2 Pt 2): 537–40.
29. *Smellie JM, Tamminen-Möbius T, Olbing H, Claesson I, Wikstad I, Jodal U*, et al. Five-year study of medical or surgical treatment in children with severe reflux: radiological renal findings. The International Reflux Study in Children. *Pediatr Nephrol* 1992; 6(3): 223–30.
30. *Stenberg A, Hensle TW, Läckgren G*. Vesicoureteral reflux: a new treatment algorithm. *Curr Urol Rep* 2002; 3(2): 107–14.
31. *Puri P, Pirker M, Mohanan N, Dawrant M, Dass L, Colboun E*. Subureteral dextranomer/hyaluronic acid injection as first line treatment in the management of high grade vesicoureteral reflux. *J Urol* 2006; 176(4 Pt 2): 1856–9.
32. *Stenberg A, Läckgren G*. A new bioimplant for the endoscopic treatment of vesicoureteral reflux: experimental and short-term clinical results. *J Urol* 1995; 154(2 Pt 2): 800–3.
33. *Capozza N, Patricolo M, Luis A, Matarazzo E, Caione P*. Endoscopic treatment of vesico-ureteral reflux: twelve years' experience. *Urol Int* 2001; 67(3): 228–31.
34. *Cervinka WH, Scherz HC, Kirsch AJ*. Endoscopic treatment of vesicoureteral reflux associated with paraureteral diverticula in children. *J Urol* 2007; 178(4 Pt 1): 1469–73.

Rad primljen 28. X 2008.



Estimation of ^{99m}Tc -ciprofloxacin accumulation indexes in bone and joint bacterial infections

Procena indeksa akumulacije ^{99m}Tc -ciprofloksacina u bakterijskim infekcijama kostiju i zglobova

Dragan Pucar*, Zoran Janković*, Sanja Dugonjić*, Zoran Popović†

Military Medical Academy, *Institute for Nuclear Medicine, †Clinic for Orthopedics and Traumatology, Belgrade, Serbia

Abstract

Background/Aim. ^{99m}Tc -ciprofloxacin is a radiopharmaceutical preparation synthesized to improve diagnostic accuracy of bacterial infections in human tissues. It is mostly applied in diagnosis of bone and joint infections. Many papers have confirmed its sensitivity to infection, but newer papers argued its specificity. The aim of this study was to compare the results of visual analysis of scintigrams to semiquantitative calculations of accumulation indexes with the assumption that calculation of indexes would improve the specificity for bone and joint infections. **Methods.** We examined 40 patients, 25 with confirmed bone and joint bacterial infections and 15 patients with bone and joint diseases without bacterial infection. Scintigraphy was performed 5 minutes, 1, 4 and 24 hours after intravenous (*iv*) injection of ^{99m}Tc -ciprofloxacin. Scintigrams were analysed visually and by calculation and comparison of accumulation indexes values. **Results.** Visual sensitivity was 94%, but specificity only 47%. Index calculation achieved much higher specificity (100% after 1, 4 and 24 hours for cut off value of 1.50). All basic index values (5 min) in the patients with infections increased in 24 hours. In 8 patients without infection occurred a slight increase and in 7 patients decrease of basic index values. **Conclusion.** Calculation of accumulation index values is needed in the use of ^{99m}Tc -ciprofloxacin scintigraphy as it is the only way to improve specificity for bacterial bone infections. Visual interpretation of results is sensitive, but not specific due to accumulation of the drug in a high percent of non infected bone and joint lesions.

Key words:

organotechnetium compounds; radionuclide imaging; bone and bones; joints; infection; sensitivity and specificity.

Apstrakt

Uvod/Cilj. ^{99m}Tc -ciprofloksacin je radiofarmak koji je sintetisan radi povećanja tačnosti dijagnostike bakterijske infekcije ljudskog tkiva. Najviše se primenjuje u dijagnostici bakterijskih infekcija u kostima i zglobovima. Mnogi radovi potvrdili su da je osetljiv za otkrivanje infekcije, ali su noviji radovi osporili njegovu specifičnost. Cilj rada bio je da se uporede rezultati vizuelne analize scintigrama sa semikvantitativnim izračunavanjem indeksa akumulacije uz pretpostavku da će izračunavanje indeksa poboljšati specifičnost u dijagnostici infekcije kostiju i zglobova. **Metode.** Ispitano je 40 bolesnika, 25 sa potvrđenom bakterijskom infekcijom kostiju i zglobova i 15 bolesnika sa oboljenjem kostiju i zglobova bez bakterijske infekcije. Posle intravenskog (*iv*) davanja ^{99m}Tc -ciprofloksacina rađena je scintigrafija nakon 5 minuta, 1, 4 i 24 sata. Scintigrami su analizirani vizuelno i izračunavanjem i poređenjem vrednosti indeksa akumulacije. **Rezultati.** Vizualnom analizom dobijena je osetljivost 94%, a specifičnost samo 47%. Izračunavanjem indeksa postignuta je mnogo veća specifičnost (posle 1, 4 i 24 h 100% za graničnu vrednost 1,50). Sve vrednosti indeksa kod bolesnika sa infekcijom povećavale su se u toku 24 h, kod osam bolesnika bez infekcije pokazale su mali porast, a kod sedam smanjenje. **Zaključak.** Izračunavanje indeksa akumulacije neophodno je pri korišćenju ^{99m}Tc -ciprofloksacina i jedini je način da se poveća specifičnost scintigrafije. Vizuelna interpretacija rezultata je osetljiva, ali nespecifična zbog akumulacije radiofarmaka u znatnom procentu lezija kostiju i zglobova bez bakterijske infekcije.

Ključne reči:

organotehnećijumska jedinjenja; scintigrafija; kosti; zglobovi; infekcija; osetljivost i specifičnost.

Introduction

Diagnosis of bone and joint bacterial infections nowadays remains a diagnostic challenge. Standard radiological

methods (radiography, computerized tomography magnetic resonance images, ultrasonography) are not adequately sensitive or specific. Nuclear medicine methods – bone scintigraphy, leukocyte scintigraphy, gallium and monoclonal anti-

body scanning – are sensitive, but insufficiently specific since they are used to confirm inflammation that is not always caused by bacterial infection. In the middle of the last decade of the 20th century ^{99m}Tc labelled ciprofloxacin (^{99m}Tc -CIP) was introduced with hope to improve diagnostic specificity for bacterial infection¹⁻³. Recent papers have diminished its diagnostic value because of a lack of specificity, likewise other nuclear medicine radiopharmaceuticals⁴⁻⁶. All the above cited papers are mostly based on subjective visual estimation of scintigrams.

The aim of this study was to compare the results of visual analysis of scintigrams to semiquantitative calculations of accumulation indexes with the assumption that calculation of indexes would improve specificity for bone and joint infections.

Methods

We examined 40 patients, divided into the group A (n = 25) with confirmed bone and joint bacterial infections (patients with osteomyelitis, arthritis, infected prosthesis, and spondylodiscitis) and the group B (n = 15) with pathological noninfective changes (patients with arthrosis, non-infected prosthesis and trauma). Infections were diagnosed on the basis of clinical findings, laboratory and diagnostic results and in all patients confirmed by microbiological analysis. In the group B, infections were excluded by the same methods as for the infection group, except the microbiological analysis. Scintigraphy was performed by using 1 mg ciprofloxacin labelled with 740 MBq of ^{99m}Tc (Institute of Nuclear Sciences Vinča, Serbia). Scintigraphy was performed after 5 minutes, and 1, 4 and 24 hours after intravenous (*iv*) injection. Scinti-

grams were analysed visually and accumulation indexes were calculated after all imaging time periods. Visual score (VS) was semiquantitative: value 0 – normal accumulation, 1 – slightly increased accumulation, and 2 – increased accumulation of ^{99m}Tc -CIP. For all calculations regions of interest were constructed over pathological area without concern about visual finding (normal or increased accumulation of ^{99m}Tc -CIP) and on contralateral side (in the axial skeleton an area adjacent to the lesion). The statistical Friedman test and Wilcoxon signed rank test were used to test differences between the results after all imaging times in both groups, while Mann Whitney U test was used to test differences between the groups with and without infections.

Results

In 21 patients with infection, visual abnormal findings (score 1 and 2) were recorded after 4 h (sensitivity 84%) and in 24 patients after 24 h (sensitivity 96%). In all the patients of this group accumulation index increased with time (Table 1, Figure 1). In the patients without infection 9 out of 15 patients had false positive visual finding up to 4 h (specificity 40%) with a slight improvement after 24 h (specificity 47%). The index values in all control patients did not exceeded 1.50. In 7 patients the index gradually decreased, and in 8 patients slightly increased (Table 2). A statistical difference between index values in the group A was found ($p < 0.01$) except the values between 5 min and 1 h ($p > 0.05$). A statistical difference between index values in both groups was significant ($p < 0.01$). Any values of index in the group A were increased with time up to 24 h. The lowest increasing value was 0.07 and the highest one 0.39. Index values in the

Table 1
Visual scores (VS) and accumulation index (AI) values in patients with infection

Patient (number)	Time after <i>iv</i> injection of ^{99m}Tc -ciprofloxacin							
	5 min		1 h		4 h		24 h	
	VS	AI	VS	AI	VS	AI	VS	AI
1	2	1.85	2	2.02	2	2.18	2	2.18
2	2	2.05	2	2.09	2	2.09	2	2.16
3	2	2.08	2	2.18	2	2.34	2	2.34
4	2	2.23	2	2.36	2	2.58	2	2.61
5	2	1.94	2	1.85	2	1.87	2	2.06
6	2	1.73	2	1.67	2	1.70	2	1.80
7	2	1.50	2	1.67	2	1.71	2	1.71
8	2	3.55	2	3.52	2	3.71	2	3.75
9	2	2.00	2	2.02	2	2.11	2	2.15
10	2	2.60	2	2.50	2	2.56	2	2.72
11	2	2.85	2	2.72	2	2.81	2	3.08
12	2	1.64	2	1.67	2	1.71	2	1.71
13	2	3.25	2	3.03	2	3.15	2	3.33
14	2	1.52	2	1.60	2	1.73	2	1.73
15	2	1.96	2	1.91	2	2.00	2	2.22
16	1	1.27	1	1.40	1	1.50	1	1.66
17	1	1.43	1	1.53	1	1.56	1	1.63
18	2	1.96	2	1.96	2	2.05	2	2.22
19	2	2.00	2	2.02	2	2.03	2	2.08
20	1	1.52	1	1.53	1	1.55	1	1.66
21	2	1.70	2	1.81	2	1.82	2	1.82
22	0	1.27	0	1.29	0	1.39	1	1.50
23	0	1.12	0	1.33	0	1.41	0	1.43
24	0	1.52	0	1.56	0	1.57	1	1.63
25	0	1.35	0	1.45	0	1.54	1	1.66

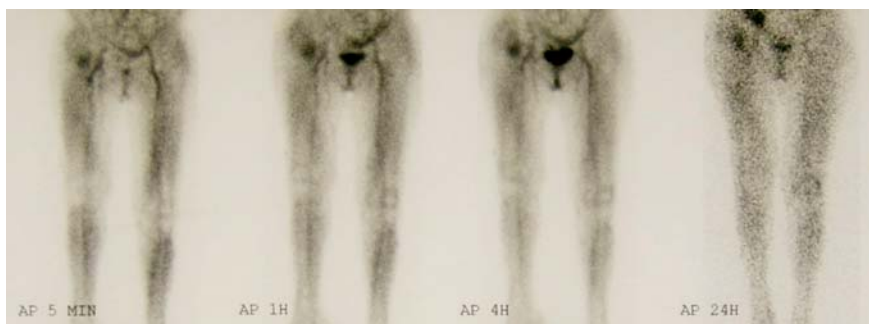


Fig. 1 – Infection of right cox prosthesis (patient N°1) in the group with infection: visual score in any time periods of imaging „2” with index values: 1.82, 2.02, 2.18, 2.18, respectively).

**Table 2
Visual scores (VS) and accumulation index (AI) values in patients without infection**

Patient (number)	Time after <i>iv</i> injection of ^{99m} Tc-ciprofloxacin							
	5 min		1 h		4 h		24 h	
	VS	AI	VS	AI	VS	AI	VS	AI
1	1	1.30	1	1.30	1	1.30	1	1.25
2	0	1.18	0	1.18	0	1.12	0	1.00
3	2	1.37	2	1.33	2	1.30	2	1.25
4	0	1.07	0	1.11	0	1.15	0	1.13
5	1	1.23	1	1.24	1	1.33	1	1.36
6	1	1.35	1	1.33	1	1.25	1	1.16
7	0	1.15	0	1.16	0	1.16	0	1.17
8	1	1.36	1	1.37	1	1.34	1	1.35
9	0	1.15	0	1.25	0	1.25	1	1.26
10	1	1.50	1	1.48	1	1.37	0	1.27
11	0	1.25	0	1.16	0	1.16	0	1.17
12	0	1.10	0	1.11	0	1.13	0	1.10
13	1	1.29	1	1.29	1	1.31	1	1.32
14	1	1.28	1	1.30	1	1.30	1	1.30
15	1	1.06	1	1.06	0	1.17	0	1.18

group B were constantly decreasing in 8 patients (ratio 0.01 – 0.23). In other patients the index increased (maximal increasing value 0.13). Specificity in all the patients for the cut off value of 1.50 was 100% (Table 3).

analysed values after 1, 4 and 24 h in 11 patients with infection and in 9 patients without infection. They did not find significant differences, although mean index values were higher in patients with infection. It is not unreason-

**Table 3
Visual and index sensitivity and specificity in any imaging time periods**

Sensitivity and specificity	Time after <i>iv</i> injection of ^{99m} Tc-ciprofloxacin			
	5 min	1 h	4 h	24 h
Sensitivity				
visual	84%	84%	84%	96%
index	80%	84%	92%	96%
Specificity				
visual	40%	40%	40%	47%
index	93%	100%	100%	100%

Discussion

Our results of visual interpretation of scintigrams are in compliance with papers that have confirmed low specificity of ^{99m}Tc-CIP scintigraphy. Dumarey et al.⁴ first argued previous results of Britton et al.³, but later, Sarda et al.^{5,6} confirmed their findings. Accumulation indexes were rarely calculated before by other authors and were published only in abstracts. Recent papers of Sarda et al.^{5,6} deal with the use of indexes in similar way as our work. In their paper based on human data, only patients with visually positive scintigraphic findings were selected for index calculation⁶. They

able, but a larger sample of patients would cause different statistics. Singh et al.⁷ presented their results using different preparation of ciprofloxacin and they correspond to our findings. Our results imply that calculation of accumulation indexes is the only reasonable way to use ^{99m}Tc-CIP. That would not provide an absolute reliable differentiation of bone infection from other bone diseases, but would certainly improve specificity of scintigraphy. We do not state that specificity would always be 100% because it is possible that a patient with noninfective inflammation has index values higher than 1.50, but it is certain that it is far higher than visual specificity.

Conclusion

Calculation of accumulation index values is needed in the use of ^{99m}Tc -ciprofloxacin since it is the only way to im-

prove specificity of scintigraphy for bone and joint infections. Visual interpretation of results is sensitive, but not specific due to a high percent accumulation in non-infected bone and joint lesions.

R E F E R E N C E S

1. Vinjamuri S, Hall AV, Solanki KK, Bomanji J, Siraj Q, O'Shaughnessy E, et al. Comparison of ^{99m}Tc infecton imaging with radiolabelled white-cell imaging in the evaluation of bacterial infection. *Lancet* 1996; 347(8996): 233–5.
2. Britton KE, Vinjamuri S, Hall AV, Solanki K, Siraj QH, Bomanji J, et al. Clinical evaluation of technetium- 99m infecton for the localisation of bacterial infection. *Eur J Nucl Med* 1997; 24(5): 553–6.
3. Britton KE, Wareham DW, Das SS, Solanki KK, Amaral H, Bhatnagar A, et al. Imaging bacterial infection with (^{99m}Tc -ciprofloxacin (Infecton). *J Clin Pathol* 2002; 55(11): 817–23.
4. Dumarey N, Blocklet D, Appelboom T, Tant L, Schoutens A. Infecton is not specific for bacterial osteo-articular infective pathology. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002; 29(4): 530–5.
5. Sarda L, Saleh-Mghir A, Peker C, Meulemans A, Crémieux AC, Le Guludec D. Evaluation of (^{99m}Tc -ciprofloxacin scintigraphy in a rabbit model of *Staphylococcus aureus* prosthetic joint infection. *J Nucl Med* 2002; 43(2): 239–45.
6. Sarda L, Crémieux AC, Lebellec Y, Meulemans A, Lebtabi R, Hayem G, et al. Inability of ^{99m}Tc -ciprofloxacin scintigraphy to discriminate between septic and sterile osteoarticular diseases. *J Nucl Med* 2003; 44(6): 920–6.
7. Singh B, Sunil HV, Sharma S, Prasad V, Kasbyap R, Bhattacharya A, et al. Efficacy of indigenously developed single vial kit preparation of ^{99m}Tc -ciprofloxacin in the detection of bacterial infection: an Indian experience. *Nucl Med Commun* 2008; 29(12): 1123–9.

The paper received on December 9, 2008.



Procena terapijskog efekta hiperbarične oksigenacije i eritropoetina u lečenju hronične srčane insuficijencije primenom perfuzione scintigrafije miokarda G-SPECT metodom

Evaluation of the therapeutic effect of hyperbaric oxygenation and erythropoietin in the treatment of chronic heart failure using myocardial perfusion scintigraphy G-SPECT

Branislav Baškot*, Miodrag Živković†, Sandra Tepić†, Slobodan Obradović‡

Vojnomedicinska akademija, *Institut za nuklearnu medicinu, †Klinika za urgentnu medicinu, Beograd, Srbija; ‡HBO Medical Center, Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod. Najvažniji parametri preživljavanja kod bolesnika sa ishemijskom bolesti srca i/ili infarktom miokarda su veličina ukupne istisne frakcije, veličina volumena leve komore, veličina zone infarkta i prisustvo i veličina rezidualne ishemije srčanog mišića. Jedan od najvažnijih događaja u razvoju nuklearne kardiologije je mogućnost dijagnostičkog slikanja sa upotrebom EKG-a kao „okidača“ dijagnostičkog slikanja (R-zubac) tokom izvođenja dijagnostičke procedure zvane G-SPECT (*gated single-photon emission computed scintigraphy*). G-SPECT daje izuzetno važne dijagnostičke funkcionalne informacije o levoj komori (pokret zida leve komore, „zidno zadebljanje“, volumen šupljine leve komore, kao i istisnu frakciju), te omogućava da se jednom dijagnostičkom procedurom proceni istovremeno perfuzija srčanog mišića kao i njegova funkcija. Studijom G-SPECT pratili smo terapijski efekat kombinovane terapije hiperbaričnom oksigenacijom i eritropoetinom kod bolesnika sa miokardiopatijom dilatativnog tipa. **Prikaz bolesnika.** Prikazan je bolesnik muškog pola, star 70 godina, dugogodišnji srčani bolesnik koji je u više navrata bolnički lečen i ispitivan pod dijagnozom

Cardiomyopathy dilatativa, Arrhythmia absoluta. Bio je bez anginoznih tegoba i prethodnih koronarnih događaja, sa normalnim koronarografskim nalazom. Lečen je medikamentno bez znakova poboljšanja. U terapiju je uvedena hiperbarična oksigenacija (HBO) u kombinaciji sa rekombinantnim eritropoetinom (Rekormon), duboko supkutano. Neposredno pre početka kombinovane terapije urađena je G-SPECT studija sa radioobeleživačem 99m tehnecijumom (99mTc)-MIBI, kojom smo dobili perfuzione i funkcionalne parametre leve komore srčanog mišića. Studija je rađena na ADAC-VERTEX PLUS - EPIC dvoglavoj gama kameri, uz upotrebu kvantifikacionog programa AutoQUANT, kojim se leva komora srčanog mišića „deli“ na 20 segmenata. **Zaključak.** Koristeći dobijene parametre G-SPECT, dokazali smo pozitivan terapijski efekat HBO i eritropoetina kod bolesnika sa dilatativnom miokardiopatijom i apsolutnom aritmijom.

Ključne reči: srce, insuficijencija; elektrokardiografija; tomografija, kompjuterizovana, emisiona, jednofotonska; hiperbarična oksigenacija, eritropoetin; prognoza.

Abstract

Background. The most important predictors of long-term survival in patients with cardiac ischemic disease are left ventricular ejection fraction, left ventricular volumes, infarction size, presence and extent of residual myocardial ischemia. One of the most important recent developments in single photon emission computed tomography (SPECT) myocardial perfusion imaging is the ability to acquire these studies in conjunction with electrocardiogram (ECG) gating (G-SPECT). The ability to assess radionuclide myocardial perfusion and function with ECG G-SPECT imaging has revolutionized this field of nuclear cardiology. Study

with G-SPECT development algorithms permits to quantify measures of left ventricular (LV) volume, ejection fraction (LVEF) and even regional myocardial wall motion and thickening. The American Society of Nuclear Cardiology (ASNC) in its position paper from March 1999 recommends the routine incorporation of G-SPECT during cardiac perfusion scintigraphy. **Case report.** We presented a 70-year-old male with ischemic heart disease (dilatative, cardiomyopathy and absolute arrhythmia). He was few times hospitably treated by medicamentous therapy with no evidence of improvement. After hospital treatment, we included hyperbaric oxygenation (HBO) and erythropoietin injections. Hyperbaric oxygenation was carried out in a

monoplace hyperbaric chamber, BLK S-303, by a graduated protocol for patients with severe heart insufficiency, totally 15 treatments. Recombinant erythropoietin beta (Recormon^R F. Hoffmann-La Roche) was applied deeply subcutaneously, every second day from 2 000 IU to totally 16 000 IU. Before the therapy G-SPECT study was performed with 99m technetium-MIBI, and we obtained the functional parameters and perfusion of the left ventricle to follow-up the therapy effects. The study was performed by an ADAC-VERTEX PLUS-EPIC two-head gamma camera with dedicated quantitatively algorithm Auto-QUANT. The results of LVEF were 15%, with severity abnormal motion and wall thickening for all segments. Left ventricle end-diastolic volume was 393 ml (normal < 142 ml), and LV end-systolic volume was 334 ml (normal < 65 ml).

Four months after the therapy G-SPECT showed improvement in any parameters; LVEF 25%, with improvement in wall motion (normalized wall motion in the anterior, lateral area, and proximal septum) and wall thickening, LV end-diastolic volume was 390 ml, LV end-systolic volume was 289 ml. **Conclusion.** Using G-SPECT method before and after the therapy with hyperbaric oxygenation and erythropoietine we obtained objective improvement and good therapy effects in the treatment of chronic heart insufficiency.

Key words:
heart failure; electrocardiography; tomography, emission-computed, single photon; hyperbaric oxygenation; erythropoietin; prognosis.

Uvod

Prema nekim procenama, zbog apoptoze i starenja čovek godišnje gubi 38 miliona kardiomiocita, a sa prisutnom hipoksijom miokarda broj se višestruko povećava, što povećava rizik od ranije pojave insuficijencije miokarda. Lečenje hronične insuficijencije počiva na farmakološkom i hirurškom lečenju¹. Upotreba kiseonika pod pritiskom (hiperbarična oksigenacija – HBO) u kompleksnoj terapiji ishemijske bolesti srca i bolesti krvnih sudova nije nova. Prvi izveštaji datiraju iz šesdesetih godina 20. veka, a u bivšem SSSR-u sedamdesetih godina izvršena je serija ispitivanja radi objektivne ocene primene HBO u lečenju hronične ishemijske bolesti srca. Ona su pokazala bitno redukovanje intenziteta i učestalosti ishemijskih tegoba kod 80% bolesnika, poboljšanje podnošenja fizičkog opterećenja, smanjenje smrtnosti^{2,3}. Eritropoetin, kao faktor rasta, značajan je antiapoptozni faktor. Kao faktor rasta primarno deluje na eritrocitopoezu. On je prvi od brojnih faktora rasta, proizveden rekombinantnom tehnologijom i prvi od faktora rasta koji je pre više od dve decenije uveden u kliničku praksu u lečenju anemija⁴⁻⁶.

Mogućnost procene perfuzije miokarda i njegove funkcije, (EKG G-SPECT) (elektrokardiografska tomografija, kompjuterizovana, emisiona, jednofotonska) promenila je ovo polje nuklearne kardiologije. Ovom procedurom, evaluacijom perfuzije i funkcije, dobili smo mogućnost za precizno uspostavljanje dijagnoze, stratifikovanje rizika bolesti, i donošenje kliničke odluke o najboljem lečenju bolesnika. Ova metoda sada je postala rutinski test u dijagnostici i opremi koja nam je na raspolaganju za perfuzionu scintigrafiju miokarda. „Okidač“ za akviziciju G-SPECT je sinhronost sa EKG signalom i korišćenjem specifičnog broja tih intervala između konsektivnih susednih R-zubaca i R-R intervala. Impulsi se nakupljaju tokom svakog takvog intervala i generišu individualnu, sopstvenu sliku^{7,8}. Svaka takva slika potom se rekonstruiše u tomografski set. Korišćenjem dostupnih softverskih programa, došlo se do standardnog slikanja sa osam fremova po jednom kardiociklusu (R-R intervalu). Kako distribucija radiofarmaka postaje stabilna u miokardu, vremenske i prostorne promene

aktivnosti reflektuju regionalne pokrete srčanog zida i zadebljanja⁸⁻¹⁰. Kvantitativne metode omogućavaju merenje globalne ventrikularne funkcije ejsione frakcije (EF) leve komore i sistolnog i dijasolnog volumena leve komore (ESV i EDV), isto tako dobro kao i regionalne ventrikularne funkcije (pokrete segmenata zida i zadebljanja miokarda)^{9,10}. Preko 95% laboratorija u SAD sada su u tehnološkoj mogućnosti da skupljaju i interpretiraju ventrikularnu funkciju u dodatku sa perfuzijom miokarda. Da bi se maksimizovale vrednosti funkcije neophodan je sistematičan prilaz. Mora se prepoznati da se funkcija leve komore mora interpretirati samo u kontekstu podataka perfuzije, jer perfuzija može imati uticaja na rezultat, te su ova dva seta podataka komplementarna¹¹⁻¹³.

Prikaz bolesnika

Bolesnik muškog pola, star 70 godina, bio je dugogodišnji srčani bolesnik u više navrata bolnički lečen i ispitivan pod dijagnozom *Cardiomyopathia dilatativa, Arrhythmia absoluta*. Bio je bez anginoznih tegoba i prethodnih koronarnih događaja. Kontinuiranim praćenjem EKG bila je prisutna pretkomorska fibrilacija, prisutan QS u D2, D3, AVF, V1, V2, mikro R u V3-V6. Ehokardiografskim praćenjem dobijena je slika sklerotične aorte koja je lako dilatirana u ascendentnom toku. Aortna valvula (AV) sklerotičnih kuspisa bila je očuvane separacije. Leva pretkomora bila je dilatirana. Mitralni aparat bio je degenerativno izmenjen. Registrovana je mitralna regurgitacija (MR) 2-3 plusa. Leva komora bila je dilatirana. Sistolna funkcija bila je izrazito oštećena zbog globalne hipokontraktilnosti (najmanje oštećena kontraktilnost posteriorno). Bila je poremećena dijasolna funkcija. Desno srce bilo je dilatirano. Trikuspidna regurgitacija (TR) iznosila je 2 plusa. Koronarografskim pregledom prikazane su normalne koronarne arterije. Bolesnik je lečen medikamentno, a u terapiju su bili uključeni amjodaron, digoksin i cilazapril bez znakova poboljšanja, a povremeno, u fazama pogoršanja osnovne bolesti, bila je primenjena intravenska terapija furosemidom, digoksinom i aminofilinom.

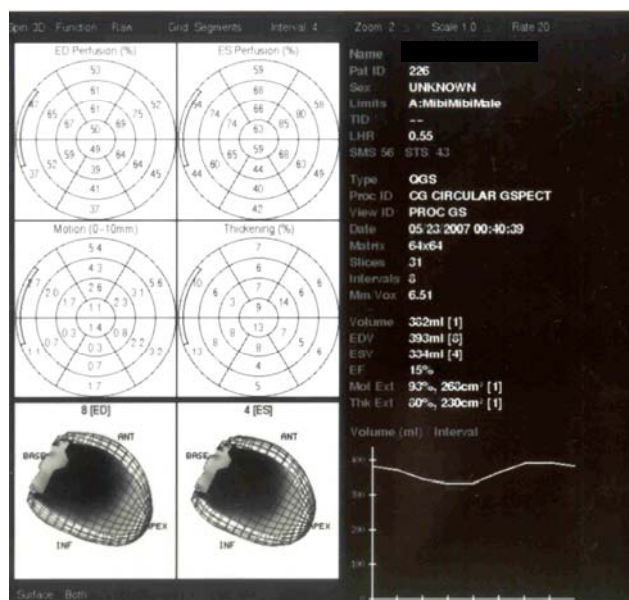
Hiperbarična oksigenacija sprovedena je u jednomesnoj hiperbaričnoj komori, BLK S-303, po stepenovanom proto-

kolu za teške srčane bolesnike, ukupno 15 tretmana (60 min po tretmanu). Rekombinantni eritropoetinbio je bio uključen svaki drugi dan, a aplikovan je duboko potkožno u dozi od 2 000 IJ do ukupno 16 000 IJ².

Neposredno pre početka kombinovane terapije urađena je G-SPECT studija sa radioobeleživačem tehnejum ^{99m} (^{99m}Tc-MIBI), kojom smo dobili na uvid perfuzione i funkcionalne parametre leve komore srčanog mišića. Studija je rađena na ADAC-VERTEX PLUS - EPIC dvoglavoj gama kameri, uz upotrebu kvantifikacionog programa AutoQUANT, koji „deli“ levu komoru srčanog mišića na 20 segmenata.

Referentne vrednosti EDV, ESV i EF po kvantifikacionom programu AutoQUANT za muški pol bile su EDV < 142 ml, ESV < 65 ml, EF > 45%.

Dobili smo sledeće rezultate: EF 15%, EDV 393 ml, a ESV 334 ml. Na „polarnoj“ (kvantifikovanoj) slici segmentne preraspodele aktivnosti jasno se mogao uočiti motilitet svakog pojedinačnog segmenta izražen u mm (0 – 10 mm), gde smo uočili težak poremećaj motiliteta svih segmenata srčanog mišića (slika 1).

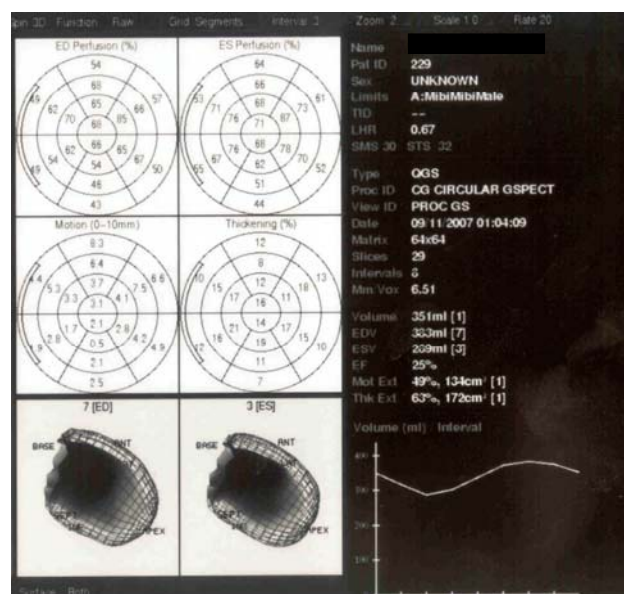


Sl. 1 – Nalaz na kvantifikovanoj slici segmentne preraspodele aktivnosti pre započinjanja terapije

Nalaz perfuzije ukazivao je na izraženu ishemiju inferiornog i inferolateralnog područja, kao i distalnog septuma. Vidljiva ishemija i ostalih segmenata srčanog mišića i scintigrafski nalaz perfuziono imao je elemente koji ukazuju na miokardiopatiju dilatativnog tipa.

Kontrolni dijagnostički pregled G-SPECT u proceni terapijskog efekta kombinovane terapije urađen je nakon četiri meseca pod istim uslovima, kada su dobijeni sledeći parametri: EF 25%, EDV 390 ml, a ESV 289 ml. Na „polarnoj“ (kvantifikovanoj) slici segmentne preraspodele aktivnosti jasno se mogao uočiti motilitet svakog pojedinačnog segmenta izražen u mm (0 – 10 mm), gde je uočena normalizacija motiliteta segmenata anteriornog i lateralnog područja srčanog mišića (slika 2).

Perfuziono, postojao je identičan nalaz u inferiornom inferolateralnom području, dok je kvantifikaciono poboljšanje perfuzije bilo vidljivo u anteriornom i anterolateralnom području uz vidljivo poboljšanje motiliteta, kao i globalne istisne frakcije.



Sl. 2 – Nalaz na kvantifikovanoj slici segmentne preraspodele aktivnosti na kontrolnom dijagnostičkom pregledu četiri meseca nakon započinjanja terapije

Diskusija

Dosadašnji farmakološki pristup lečenju srčane insuficijencije imao je za cilj da poštedi srčani mišić tako što smanjenjem srčane radnje smanjuje potrebu srčanog mišića za kiseonikom. Primenom kombinovane terapije hiperbarične oksigenacije i eritropoetina dobija se kumulativni efekat dva opšta faktora, rasta sa jedne strane, a s druge povećana je količina kiseonika koja se „nudi“ srčanom mišiću. Ujedno je upotrebom eritropoetina smanjen intenzitet apoptoze ćelija srčanog mišića^{5,6}.

Uvođenjem G-SPECT dobijena je moćna dijagnostička procedura za kvalitativno i kvantitativno poboljšanje dobijenih informacija same perfuzione scintigrafije miokarda (PSM)⁷⁻⁹. Mogućnost dobijanja funkcionalnih podataka poboljšava dijagnostičku vrednost i pojačava prognostičku implikaciju perfuzione scintigrafije^{10-12,14}. U radu Toyama i sar.¹⁵ upotrebljena je G-SPECT u praćenju poboljšanja funkcije srčanog mišića uz upotrebu kombinovane terapije karvedilolom i amjodaronom. Praćeni su parametri EF, EDV i ESV pre i poređeni sa dobijenim parametrima godinu dana nakon primenjene terapije. Uočeno je značajno poboljšanje svih funkcionalnih parametara koji su potpuno u skladu sa poboljšanjem funkcionalne klase bolesnika po New York Heart Association (NYHA) klasifikaciji. Metoda G-SPECT pokazala se izuzetno pouzdanom i kvalitetnom procedurom u praćenju efekta terapije matičnim ćelijama koštane srži kada istovremeno pratimo kako samu perfuziju, tako i funkcional-

ne pokazatelje pojedinih segmenata srčanog mišića, kao i globalnu funkciju. U studiji Reanima¹⁶ uz pomoć G-SPECT dokazano je poboljšanje funkcionalnih parametara kao i perfuzije srčanog mišića uz upotrebu matičnih ćelija koštane srži. Wu i sar.¹⁷ ukazuju da G-SPECT studija može biti od izuzetne pomoći u određivanju bolesnika koji će imati maksimalnu korist od terapije matičnim ćelijama koštane srži.

Zaključak

Klinička upotreba G-SPECT je svrsishodna kako u dijagnostici ishemijske bolesti srca, praćenju neposrednog efekta terapije, tako i u vremenskom praćenju perfuzionog i funkcionalnog poboljšanja srčanog mišića nakon sprovedene terapije.

L I T E R A T U R A

1. *Nedeljković S.* Pathophysiology and clinic of heart insufficiency. In: *Nedeljković S, Kanjub V, Vuković V*, editors. *Cardiology*. 3th ed. Beograd: DP za izdavačko-trgovinsku delatnost „Beograd“; 2000.
2. *Živković M, Jakovljević V, Mujović MV.* Use of hyperbaric oxygenation in the treatment of ischemic heart diseases. *Acta Biol Med Exp* 2002; 27(2): 41–5.
3. *Dekleva M, Ostojić M.* Use of hyperbaric oxygenation in the treatment of ischemic heart diseases. In: *Nedeljković IS*. editor. *Cardiology*. 3th ed. Beograd: DP za izdavačko-trgovinsku delatnost „Beograd“; 2000.
4. *Manolis AS, Tzeis S, Triantafyllou K, Michaelidis J, Pyrros I, Sakellaris N*, et al. Erythropoietin in heart failure and other cardiovascular diseases: hematopoietic and pleiotropic effects. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord* 2005; 5(5): 355–75.
5. *Cohen Solal A, Beauvais F.* Anaemia, cardiac failure and erythropoietin. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2005; 98(10): 997–1001. (French)
6. *Živković M, Tepić S, Jakovljević VL, Mujović VM.* The use of combined hyperbaric oxygenation and erythropoietin in the treatment of cardiac insufficiency. *Med Pregl* 2007; 60(1-2): 25–7. (Serbian)
7. *Gary V, Hendel RC.* Basics of ECG-gated SPECT imaging. In: *Heller GV, Hendel RC, Gary V*, editors. *Nuclear Cardiology. Practical Applications*. New York: McGraw-Hill; 2004.
8. *Germano G, Berman DS*, editors. *Clinical gated cardiac SPECT*. 2nd ed. Blackwell/Futura, UK; 2006.
9. *Zaret BL, Beller GA.* *Clinical nuclear cardiology: state of the art and future directions*. 3th ed. London: Elsevier; 2005.
10. *Baškot B.* *Nuclear cardiology – myocardial SPECA, determination of culprit lesion*. Beograd: Zadužbina Andrejević; 2006. p. 36–48.
11. *Kapetanopoulos A, Ahlberg AW, Taub CC, Katten DM, Heller GV.* Regional wall-motion abnormalities on post-stress electrocardiographic-gated technetium-99m sestamibi single-photon emission computed tomography imaging predict cardiac events. *J Nucl Cardiol* 2007; 14(6): 810–7.
12. *Wijns W, De Bruyne B, Vanhoenacker PK.* What does the clinical cardiologist need from noninvasive cardiac imaging: is it time to adjust practices to meet evolving demands? *J Nucl Cardiol* 2007; 14(3): 366–70.
13. *Sharir T, Kang X, Germano G, Bax JJ, Shaw LJ, Gransar H*, et al. Prognostic value of poststress left ventricular volume and ejection fraction by gated myocardial perfusion SPECT in women and men: gender-related differences in normal limits and outcomes. *J Nucl Cardiol* 2006; 13(4): 495–506.
14. *Germano G, Kavanagh PB, Slomka PJ, Van Kriekinge SD, Pollard G, Berman DS.* Quantitation in gated perfusion SPECT imaging: the Cedars-Sinai approach. *J Nucl Cardiol* 2007; 14(4): 433–54.
15. *Toyama T, Hoshizaki H, Yoshimura Y, Kasama S, Isobe N, Adachi H*, et al. Combined therapy with carvedilol and amiodarone is more effective in improving cardiac symptoms, function, and sympathetic nerve activity in patients with dilated cardiomyopathy: comparison with carvedilol therapy alone. *J Nucl Cardiol* 2008; 15(1): 57–64.
16. *Obradović S, Rusović S, Balint B, Ristić-Andelković A, Romanović R, Baškot B*, et al. Autologous bone marrow-derived progenitor cell transplantation for myocardial regeneration after acute infarction. *Vojnosanit Pregl* 2004; 61(5): 519–29.
17. *Wu JC.* Can radionuclide imaging predict future response to stem cell therapy? *J Nucl Cardiol* 2008; 15(3): 308–10.

Rad primljen 10. VI 2008.



Denonvilliers' advancement flap in congenital alar rim defects correction

Denonvilerov *advancement* režanj za korekciju kongenitalnog defekta ruba nosnog krila

Marijan Novaković*, Ivanka Baralić†, Nenad Stepić*,
Milica Rajović*, Vladimir Stojiljković*

Military Medical Academy, *Clinic for Plastic Surgery and Burns, Belgrade, Serbia;
Medical School, †Institute of Forensic Medicine, Belgrade, Serbia

Abstract

Background. Alar rim defects are mostly acquired, resulting from burns, traumas or tumor excision. Sometimes they can accompany craniofacial clefts. However, isolated congenital alar defects are extremely rare. **Case report.** We presented two cases of congenital isolated alar cleft. The defect was closed by the use of an advancement flap, the technique described by Denonvilliers. We achieved both symmetry and appropriate thickness of the nostrils. Skin color and texture of the alar rim were excellent, with scars not excessively visible. **Conclusion.** Denonvilliers' z-plasty technique by using advancement flap provides both functionally and aesthetically satisfying outcome in patients with congenital alar rim defects.

Key words:

nose deformities, acquired; reconstructive surgical procedures; surgical flaps; prognosis.

Apstrakt

Uvod. Defekti ruba nosnog krila većinom su stečeni i najčešće su posledica opekotina, trauma ili resekcije tumora. Ponekada mogu biti udruženi sa kraniofacijalnim rascjepima. Međutim, izolovani kongenitalni defekti nosnog krila predstavljaju ekstremno retku pojavu. **Prikaz slučaja.** U radu su prikazana dva slučaja izolovanih urođenih rascjepa nosnog krila. U pokrivanju defekta korišćen je *advancement* režanj koji je opisao Denonviler. Primenom ove tehnike postignuta je simetrija, kao i odgovarajuća punoća nozdrva. Boja i tekstura kože nosnog krila u potpunosti zadovoljavaju, uz diskretne ožiljke. **Zaključak.** Denovilerova tehnika *advancement* reznja obezbeđuje i funkcionalno i estetski zadovoljavajući ishod hirurške korekcije kongenitalnog defekta ruba nosnog krila.

Ključne reči:

nos, stečene deformacije; hirurgija, rekonstruktivna, procedure; reznjevi, hirurški; prognoza.

Introduction

Due to its specific form and central position, the nose is a dominating structure of the face. That is why even a slightest asymmetry and/or irregularity of the nasal contour are clearly spotted at once.

Alar rim defects are in most cases acquired, as a consequence of burns, traumas and tumor excisions. Congenital nasal deformations sometimes occur within craniofacial clefts. Although the development of the nose is rather complicated, congenital anomalies are rare, the incidence being one in 20 000 to 40 000 live births^{1,2}. Nasal deformations clinically may vary from a tiny vermilion notch on the alar nose rim or eye lids, to big lesions within huge clefts that divide craniofacial structures³.

There are several classification systems of craniofacial clefts⁴⁻⁶. Tessier's classification is mostly used⁷. Craniofacial classification scheme divides facial clefts into types 0, 1,

2 and 3, while types 11, 12, 13 and 14 treat cranial clefts with nose lesions. With a cleft of alar nose rim, usual insufficiencies in soft tissue, cartilage and bone are also diagnosed, and in most cases it is accompanied with other craniofacial anomalies^{8,9}. The majority of nasal clefts are those of Tessier's type 0, while isolated alar cleft lesions are extremely rare. We presented two cases of congenital isolated alar cleft defect (Tessier's type 1), in whom we performed successful reconstructions applying Denonvilliers' procedure.

Case report

Case number one, a 16-year-old male was diagnosed to have an isolated cleft of the right alar rim. Other anomalies were not diagnosed. He was the first born child in his family, delivered in a normal way, weighing 2 890 g at birth. His parents were not blood relatives. There was no previous history of trauma, infection or nose surgery. His mother denied any

illness during her pregnancy; she did not smoke nor take alcohol, nor was she submitted to any therapy. There was no family history of diseases that might indicate heredity.

On physical examination we diagnosed a rupture in the continuity of the right alar rim, in full thickness and of about 2 cm in height, in the one third of the midline of the alar rim (Figure 1). Under the general endotracheal anesthesia the de-

obtain additional tissue needed for lining, a mucoperichondrial flap was detached from the caudal walls. Lining for the secondary defect was obtained by wide undermining of the mucous tissue out of the remaining part of the nasal cavity mucosa. The secondary skin defect on the lateral side of the nose was closed with the local transposition flap out of the nasal dorsum. Here, with the single-stage reconstruction, a



Fig. 1 – Preoperative view of the patient (case 1) – a rupture in continuity of the right alar rim

fect was closed by the method of z-plasty described by Denonvillier as early as in 1877¹⁰ (Figure 2). The incision went through full thickness of the nose cartilage. In order to

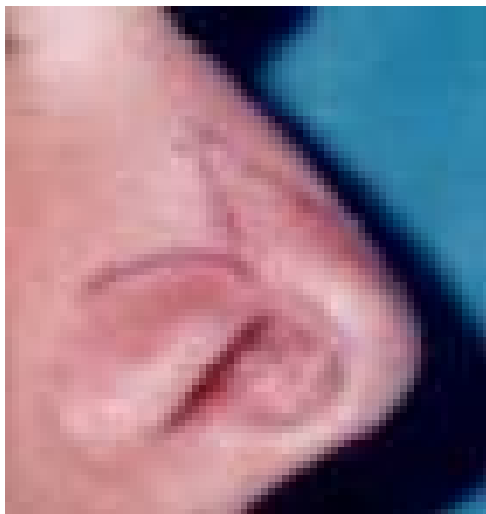


Fig. 2 – Denonvilliers' technique planning

full functional outcome was achieved, together with the very acceptable aesthetic result (Figure 3).

The second case, a female patient, 18-year-old, called in with isolated left alar rim cleft, without any other congenital malformations. She was the first child in the family, born in a normal way, weighing 3 200 grams at birth. Her parents were not blood relatives. The patient denied any previous injuries or infections, nor nose operation. Her mother's pregnancy was regular, there were no illnesses reported during the pregnancy. Her mother was not under any treatment during pregnancy, and she denied having any bad habits (alcohol, cigarettes). There were no diseases in the family that might be of significance.

At physical examination a huge cleft of the left alar rim was diagnosed, an embrasure that captured the complete medial, and the one third of the midline of the alar rim, up to 2 cm in height, accompanied with the unevenness of the alar cartilage on both sides (Figure 4). To close the cleft, we used the same Denonvilliers' z-plasty technique. The outcome was both functionally and aesthetically satisfying (Figure 5).



Fig. 3 – Postoperative view of the patient (case 1)

A – 7th postoperative day, B and C – postoperative view after 3 months.



**Fig. 4 – Preoperative view of the patient (case 2) – huge cleft of the left alar rim
unevenness of the alar cartilage on both sides**



**Fig. 5 – Postoperative view of the patient (case 2)
A – 7th postoperative day, B and C – postoperative view after the six months.**

Discussion

Isolated congenital alar defects are extremely rare. Newman and Burdi⁸ presented four cases of single-sided alar clefts. It seems hardly possible to determine exactly the incidence of facial clefts. Losee et al.² worked up a classification scheme of congenital nasal anomalies, based upon their series of 261 patients (nasal deformations resulting of lip clefts were excluded), and they reported nasal clefts resulting in 16% of all nasal anomalies. Ortiz-Monasterio et al.³ analyzed a series of 6 500 patients and determined that only 2.2% of all clefts are those of Tessier's types 0, 1, 2 and 3, i.e. nasal clefts. They also report that isolated nasal clefts make only 0.7% of all cranial/facial clefts, and that 40% of nasal clefts belong to Tessier's type 0.

Embryology established that a nose develops from the frontonasal process, during the third to tenth week of the embryonic development. About the end of the fourth week of gestation, nasal placodes begin to develop from the frontonasal process. A fusion of medial nasal placodes causes the forming of nostrils. Medial and lateral nasal processes appear on the edges of those pits. One half of the nasal septum, as well as medial cruses of alar cartilages, develop from medial nasal processes. Nasal bones over the quadrangular cartilage and lateral cruses of alar cartilages appear from the lateral nasal

processes¹⁰⁻¹². There are lots of theories of embryonic development of the face, but the process is not yet fully explained up to the present day. On the other hand, two theories which explain the appearance of facial clefts are accepted. According to the first theory, clefts are the consequence of failed facial processes' fusion. The other theory states that the absence of mesodermal penetration is a key event in the appearance of a cleft¹³. Defects in the development of lateral nasal processes conduct to formation of anomalies of the alar rim¹¹.

Reconstruction of the alar rim is a challenge to every plastic surgeon. The literature abounds with surgical procedures used to resolve the problem. Bipedicule nasal flaps, as well as sliding flap from nasal dorsum may be used for minor alar defects^{14,15}. For minor defects, a composite graft harvested from the outer borders of helix may be used. Nasolabial flaps, as well as flaps from other, distant parts of the face, may be alternatively used, however, considering their disadvantages, like reconstruction in several stages, and/or visible scars^{16,17}.

Conclusion

In the described cases we used the Dennonvillier's technique to achieve both the symmetry and appropriate thickness of the nostrils. Skin color and texture of the nose were excellent, and scars not excessively visible.

R E F E R E N C E S

1. *Bilen BT, Kiliç H.* A congenital isolated alar cleft. *J Craniofac Surg* 2006; 17(3): 602–4.
2. *Losee JE, Kirschner RE, Whitaker LA, Bartlett SP.* Congenital nasal anomalies: a classification scheme. *Plast Reconstr Surg* 2004; 113(2): 676–89.
3. *Ortiz Monasterio F, Fuente del Campo A, Dimopoulos A.* Nasal clefts. *Ann Plast Surg* 1987; 18(5): 377–97.
4. *Harkins CS, Berlin A, Harding RL, Longacre JJ, Snodgrass RM.* A classification of cleft lip and cleft palate. *Plast Reconstr Surg Transplant Bull* 1962; 29: 31–9.
5. *Karfik V.* Oblique Facial Cleft. In: *Transaction International Society of Plastic Surgeons. Fourth Congress 1969.* Excerpta Medica; Amsterdam: 1969. pp. 105.
6. *van der Meulen JC, Mazzola R, Vermey-Keers C, Stricker M, Raphael B.* A morphogenetic classification of craniofacial malformations. *Plast Reconstr Surg* 1983; 71(4): 560–72.
7. *Tessier P.* Anatomical classification facial, cranio-facial and latero-facial clefts. *J Maxillofac Surg* 1976; 4(2): 69–92.
8. *Newman MH, Burdi AR.* Congenital alar field defects: clinical and embryological observations. *Cleft Palate J* 1981; 18(3): 188–92.
9. *Shenmake KB, Kawamoto HK Jr.* Congenital clefts of the nose: principles of surgical management. *Cleft Palate Craniofac J* 1992; 29(6): 531–9.
10. *Converse JM,* ed. *Reconstructive plastic surgery.* Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1977.
11. *Saraiya H.* Isolated congenital unilateral alar defect: a rare anomaly. *Plast Reconstr Surg* 1996; 97(1): 246–8.
12. *Arey L,* ed. *Developmental anatomy: a textbook and laboratory manual of embryology.* 7th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1965.
13. *Kawamoto HK Jr.* Rare craniofacial clefts. In: *McCarthy JG,* editor. *Plastic surgery.* Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1990.
14. *Kazanjian VH.* Nasal deformities of syphilitic origin. *Plast Reconstr Surg* 1948; 3(5): 517–23.
15. *Denecke HJ, Meyer R,* eds. *Plastic surgery of head and neck.* New York: Springer; 1997.
16. *Koenig FI.* Zur deckung von defektion dur nosenflugel. *Ber Klin Wochenschr* 1902; 39: 137–9.
17. *Jeffrey E,* ed. *Essentials of plastic surgery.* Missouri, St Louis: Quality Medical Publishing; 2007.

The paper received on November 19, 2008.



Povodom 155 godina od rođenja Mihajla Idvorskog Pupina

On the occasion of the 155th anniversary of Michael Idvorsky Pupin's birth

Rade R. Babić

Klinički centar Niš, Radiološki centar, Niš, Srbija

Ključne reči:

istorija, XIX vek; istorija, XX vek; telekomunikacije; radiologija.

Key words:

history; history 19th century; history; 20th century; telecommunications; radiology.

Uvod

Mihajlo Idvorski Pupin (slika 1) rođen je 9. oktobra 1854. godine u Idvoru, u Banatu (tada Austrougarska, danas Srbija), od oca Konstantina i majke Olimpijade¹⁻⁷. Imao je četvoricu braće i pet sestara. Osnovno obrazovanje stekao je u Idvoru, a potom u Pančevu. Godine 1872. nastavio je školovanje u Pragu. Posle iznenadne očeve smrti, u svojoj 20. godini života, marta 1874. godine, Pupin odlazi u Sjedinjene američke države (SAD). Kročivši na tlo Amerike promenio je ime u Mihajlo Idvorski Pupin (engleski: Michael Idvorsky Pupin), naglasivši time svoje poreklo.



Sl. 1 – Mihajlo Idvorski Pupin (9. oktobar 1854. Idvor, Srbija – 12. mart 1935. Njujork, SAD) jedan od najvećih srpsko-američkih pronalazača

U SAD Pupin punih pet godina radi kao fizički radnik. U jesen 1879. godine upisao se na Kolumbija univerzitet u Njujorku. Kao primeran učenik biva oslobođen plaćanja školarine. Na istom univerzitetu diplomirao je 1883. godine. Po sticanju akademskog zvanja, dobio je stipendiju za studije matematike i fizike u Kembridžu (Velika Britanija, 1883–1885), a zatim na Univerzitetu u Berlinu (1885–1889) na kojem je kod profesora Hermana fon Helmholtza doktorirao iz oblasti fizičke hemije, na temu „Osmotski pritisak i njegov odnos prema slobodnoj energiji“.

Godine 1888. Mihajlo Idvorski Pupin oženio se Sarom Katarinom Džekson (Amerikanka iz Njujorka) sa kojom je imao ćerku Barbaru. U braku su bili osam godina, kada je Sara preminula posle teške upale pluća.

Mihajlo Idvorski Pupin (slika 2) svoju profesorsku karijeru počeo je 1889. godine na Univerzitetu Kolumbija gde



Sl. 2 – Mihajlo Idvorski Pupin u razgovoru sa Ajaštajnom

je radio punih četrdeset godina (do 1929). Godine 1901. Pupin biva imenovan za redovnog profesora na Univerzitetu Kolumbija. Nakon njegove smrti Kolumbija Univerzitet je njegovoj laboratoriji dala ime „Pupinova fizička laboratorija“ (slika 3). Ova laboratorija dala je dvadeset i devet američkih naučnika koji su na osnovu naučnoistraživačkog rada dobili Nobelovu nagradu.



Sl. 3 – Mihajlo Idvorski Pupin u svojoj laboratoriji

Godine 1924. Pupin je za autobiografsko delo „Sa pašnjaka do naučenjaka“ (*From immigrant to inventor*), napisano 1823, dobio Pulicerovu nagradu^{1, 3, 5, 7}. Interesantno je, da je ovo Pupinovo delo dugo godina bilo obavezna lektira u američkim školama.

Mihajlo Idvorski Pupin umro je od renalne insuficijencije 12. marta 1935. u Njujorku. Sahranjen je na groblju Woodlawen u Bronksu (slika 4).



Sl. 4 – Nadgrobnni spomenik Mihajlu Idvorskom Pupinu (groblje Woodlawen u Bronksu)

Pupinovi pronalasci

Najznačajniji Pupinov pronalazak, „Pupinova teorija“, nastao je 1896. godine^{1-3, 5}. Ovom teorijom Pupin je rešio problem povećanja dometa prostiranja telefonskih struja, šum koji se javljao prilikom telefoniranja na daljinu otklonio je postavljanjem indukovanih kalemova na strogo određenom rastojanju duž telefonskog kabla. Ti indukovani kalemovi, u njegovu čast, nazvani su Pupinovi kalemovi, a proces uključivanja u liniju pupinizacija. Ovaj patent Pupinu je doneo svetsku slavu i bogatstvo. Telefonska kompanija Bel 1901. kupila je pravo na korišćenje Pupinovih kalemova, a nešto kasnije to su učinile kompanija Simens i Halske u Nemačkoj.

Inače, Mihajlo Idvorski Pupin izumeo je 34 patenta (tabela 1)^{2, 3}.

Tabela 1

Pupinovi patenti objavljeni u Sjedinjenim Američkim Državama

Broj patenta	Naziv patenta	Datum objave patenta
519 346	Aparat za telegrafске i telefonske prenose	08.05.1894.
519 347	Transformator za telegrafске, telefonske ili druge električne sisteme	08.05.1894.
640 515	Tehnika razvođenja električne energije pomoću naizmjenične struje	02.01.1900.
640 516	Električni prenos pomoću rezonantnih strujnih kola	02.01.1900.
652 230	Tehnika smanjenja slabljenja električnih talasa i aparati za to	19.06.1900.
652 231	Metod smanjenja slabljenja električnih talasa i aparati za to	19.06.1900.
697 660	Mašina za namotavanje	15.04.1902.
707 007	Višestruka telegrafija	12.08.1902.
707 008	Višestruka telegrafija	12.08.1902.
713 044	Proizvođenje asimetričnih struja pomoću simetričnog elektromotornog procesa	04.11.1902.
768 301	Bežično prenošenje električnih signala	23.08.1904.
761 995	Aparat za smanjenje električnih talasa	07.06.1904.
1 334 165	Prenošenje električnih talasa	16.03.1920.
1 336 378	Antena sa raspodeljenim pozitivnim otporom	06.04.1920.
1 388 877	Zvučni generator	03.12.1921.
1 388 441	Višestruka antena za prenošenje električnih talasa	23.12.1921.
1 415 845	Selektivna impedancija koja se suprostavlja primljenim električnim oscilacijama	09.05.1922.
1 416 061	Radioprijemni sistem visoke selektivnosti	10.05.1922.
1 456 909	Talasnii provodnik	29.05.1922.
1 452 833	Aparat za selektivno pojačavanje	24.04.1923.
1 446 769	Aperiodični pilotni provodnik	23.02.1923.
1 488 514	Selektivni aparat za pojačavanje	01.04.1923.
1 494 803	Električno podešavanje	29.05.1923.
1 503 875	Radiofonski prijemnik	29.04.1923.

Pupinov istraživački rad na x-zracima, x-fluoroskopiji i skraćanju ekspozicije

Mihajlo Idvorski Pupin poznat je u svetu po primeni fizike u praksi, osnovama telefonske i telegrafске transmisije, ali malo se zna da je radio i na izučavanju prirode x-zraka i da je zajedno sa Wilhelmom Conradom Röntgenom (1845–1923), Nikolom Teslom (1856–1943) i Marijom Sklodovskom Kiri (1867–1934) postavio temelje nove grane medicine – radiologije⁷⁻¹⁰. On je februara 1896. godine, odmah posle otkrića x-zraka (decembar 1895) počeo svoj istraživački rad na x-zracima, x-fluoroskopiji i skraćanju ekspozicije. U sklopu ovih istraživanja Pupin je otkrio sekundarne x-zrake, nazvavši ih „h-zracima“. Po njihovom otkriću Pupin je obavestio Akademiju nauka (6. april 1896).

Otkriveni sekundarni x-zraci našli su veliku primenu u medicini i atomskoj fizici. Primena sekundarnih x-zraka zasniiva se na činjenici da svaki hemijski element ozračen x-zracima reflektuje elektromagnetne talase određene talasne dužine, karakterističnog spektra, koji odgovara samo tom hemijskom elementu. Danas, ovo Pupinovo otkriće nalazi ogromnu primenu u vasijskim istraživanjima, ali i u rendgenologiji. Naime, folije koje danas koristimo pri rendgenografisanju emituju svetlost određene talasne dužine, tj. svetlost određene boje na koju je rendgenski film osetljiv. Ovim se postiže prenos latentne rendgenske slike u vidu svetlosti iz folija na rendgenski film, čime ona postaje vidljiva¹⁻⁷.

Mihajlo Idvorski Pupin uspeo je tokom prosvetljavanja tela bolesnika x-zracima da skрати vreme ekspozicije, nazvavši ga „pronazak brzog snimanja pomoću x-zraka“^{6, 7}. Do ovog otkrića Pupin je došao tako što je postavio fotografsku ploču iza fluorescentnog zastora, čime je smanjio vreme ekspozicije sa jednog sata na nekoliko sekundi.

U autobiografiji „Sa pašnjaka do naučenjaka“ Pupin iznosi detalje o svom doprinosu razvoju radiologije, tada nove grane medicine, u poglavlju „Moj pronazak brzog snimanja pomoću x-zraka“. U njemu Pupin kaže: „7. februara 1896. godine slavni hirurđ dr Bul poslao mi je jednog bolesnika sa blizu sto malih sačmi u šaci. Njegovi i moji prijatelji umoliše me da pomoću x-zraka izradim snimak šake, kako bi dr Bul bio u stanju da nade mnogobrojne sačme i povadi ih. Prvi pokušaji nisu uspeli, jer je bolesnik bio isuviše slab da izdrži skoro čitav sat vremena potrebnog za ovo snimanje. Moj dobri prijatelj Tomas Edison poslao mi je nekoliko izvanrednih dobrih fluorescentnih kartona (ekrana), te smo pomoću njihove fluorescentne svetlosti mogli i ja i bolesnik videti mnogobrojne male sačme. Već na prvi pogled jasno je bilo da je kombinacija fluorescentnog kartona i očiju mnogo osetljivija od foto ploče. Zato pokušah da kombinujem Edisonov fluorescentni karton sa foto pločom. Fluorescentni karton stavio sam na foto ploču, a na karton ruku bolesnika. Tako su x-zraci prvo delovali na ekran, a ekran pomoću svoje fluorescencije delovao je na foto ploču. To je ispalo mnogo bolje nego što sam očekivao. Sa ekspozicijom od nekoliko sekundi dobili smo krasan snimak. Na fotografskoj ploči pokazase se mnogobrojne loptice, kao da ih je neko nacrtao perom i mastilom“.

Dakle, ovaj Pupinov pronazak „brzog snimanja pomoću x-zraka“, koji je skratio vreme ekspozicije sa jednog sata na nekoliko sekundi, bio je koliko genijalan, toliko i jednodostavan. Ovo originalno Pupinovo otkriće danas je u širo-

koj primeni. Pupin je do pronalaska „brzog snimanja pomoću x-zraka“ došao 40 dana nakon što je Rendgen otkrio x-zrake. Nažalost, ovo Pupinovo otkriće nije patentirano.

Rendgenogram šake koji je 7. februara 1896. godine Pupin načinio kod bolesnika kojeg mu je poslao dr Bul, uzima se za datum prvog načinjenog rendgenograma u SAD (slika 5). Ujedno, to je i datum kada je u SAD učinjena prva hirurška intervencija uz pomoć rendgenskog snimka. Zato se Mihajlo Idvorski Pupin smatra ocem američke radiologije⁷.



Sl. 5 – Prvi rendgenogram na tlu SAD napravio je Mihajlo Idvorski Pupin. Prikazana je šaka sa dramlijama. Na osnovu ovog rendgenograma učinjena je i prva operacija u SAD prema rendgenskom snimku

Pri ponovljenom pokušaju rendgenografisanja šake kod istog bolesnika, samo sada uz primenu fluorescentnih materija, Pupin je dobio kvalitetan rendgenogram na kojem su se mogle lepo vizualizirati dramlije u šaci kao okrugle, oštro ocrtane senke, inteziteta metala. Nakon dobijenog rendgenograma šake dr Bul je hirurškim putem odstranio dramlije iz šake bolesnika. To je bila prva hirurška intervencija u SAD učinjena uz pomoć rendgenograma⁷.

Mihajlo Idvorski Pupin – nagrade, odlikovanja i stvaranje Kraljevine Srba, Hrvata i Slovenaca

Mihajlo Idvorski Pupin dobitnik je mnogobrojnih naučnih nagrada i medalja. Bio je član Američke akademije nauka, Srpske kraljevske akademije i počasni doktor 18 univerziteta. Bio je i počasni konzul Srbije u SAD, osnivač i dugogodišnji predsednik Srpskog narodnog saveza u Americi.

Nosilac je jugoslovenskog odlikovanja Beli orao prvog reda. Uticao je na konačne odluke Pariske mirovne konferencije kada se odlučivalo o određivanju granica buduće Kraljevine Srba, Hrvata i Slovenaca. Tada, u vrlo teškoj situaciji na pregovorima o Jugoslaviji, Pupin je lično uputio Memorandum (19. mart 1919) predsedniku SAD, Vudrou Vilsonu, koji je na osnovu podataka dobijenih od Mihajla Pupina o istorijskim i etničkim karakteristikama graničnih područja Dalmacije, Slovenije, Istre, Banata, Međumurja, Baranje i Makedonije, nakon tri dana dao izjavu o nepriznavanju Londonskog ugovora potpisanog između saveznika sa Italijom²⁻⁴.

Zaključak

Mihajlo Idvorski Pupin tokom života dao je značajan doprinos razvoju višestruke telefonije, bežičane telegrafije i

telefonije, otkrio je sekundarne x-zrake, skratio vreme ekspozicije sa jednog sata na nekoliko minuta (tzv. „brzo snimanje pomoću x-zraka“) i doprineo nastanku i razvoju nove grane medicine – rendgenologije.

L I T E R A T U R A

1. *Dimić GL, Ilić D, Tomić J.* The physics. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 1975.
2. *Mitrović M, Ilić D, Nikolić B, Latos D.* The physicist in money. Mladi fizičar 2004; 98: 6–19. (Serbian)
3. *Shampo AM, Kyle AR.* Michael Idvorsky Pupin. JAMA 1981; 246(22): 2572.
4. *Bubnjević S.* Boys in Idvor. Mladi fizičar 2004; 96: 20–3.
5. *Čikarić S.* X-rays in Belgrade. Rak 2006; 61: 26–32. (Serbian)
6. *Babić RR.* Michael Idvorsky Pupin founder of American radiology. Acta Medica Medianae 2005; 44(4): 89–91. (Serbian)
7. *Babić RR.* Tesla on X-rays. Vojnosanit Pregl 2006; 63(11): 979–82. (Serbian)
8. *Babić RR.* Nikola Tesla and the essentials of radiology. Acta Medica Medianae 2005; 44(1): 85–7.
9. *Babić RR.* Nikola Tesla and X-ray harmfulness. Acta Medica Medianae 2004; 43(3): 67–9.

Rad primljen 15. I 2009.

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, Crnotravska 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, tekst i literatura.**

1. Naslovna strana

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

b) Ispisuju se puna imena i prezimena autora.

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

2. Apstrakt i ključne reči

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

3. Tekst članka

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

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

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

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

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

Literatura

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

Primeri oblika referenci:

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

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

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

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

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 Vojski Srbije moguća je i pretplata u 12 mesečnih rata putem trajnog naloga, tj. „odbijanjem od plate“. Popunjen obrazac poslati na adresu VSP-a.

PRIJAVA ZA PRETPLATU NA ČASOPIS „VOJNOSANITETSKI PREGLED“

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



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

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

PRIJAVA ZA PRETPLATU NA ČASOPIS „VOJNOSANITETSKI PREGLED“

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

