

# ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД



*Часопис лекара и фармацеутика Војске Србије*

*Military Medical and Pharmaceutical Journal of Serbia*

## *Vojnosanitetski pregled*

Vojnosanit Pregl 2008 June vol. 65 (No. 6): pp. 417-500.

Vojnosanitetski Pregled 2008 June; Vol. 65 (No. 6): pp. 417-500.



# ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

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

Часопис наставља традицију *Војно-санитетског 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  
доц. 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

Технички уредник: Милан Перовановић

Редактор за српски и енглески језик:

Драгана Мучибабић, проф.

Коректор: Саша Милошевић

Компјутерско-графичка обрада:

Светлана Стајић, Весна Тотић, Јелена Васил



**Адреса редакције:** Војномедицинска академија, Институт за научне информације, Црнотравска 17, поштански фах 33–55, 11040 Београд, Србија. Телефони: главни и одговорни уредник 3609 311, технички секретар 3608 943, редакција 3609 902 и 3609 179, претплата 3608 997. Факс 2669 689. E-mail: [vmaini1@EUnet.yu](mailto:vmaini1@EUnet.yu) (главни и одговорни уредник) и [vmaini2@EUnet.yu](mailto:vmaini2@EUnet.yu) (редакција).

Радове објављене у „Војносанитетском прегледу“ индексирају: 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 Војносанитетски преглед), ПИБ 102116082, или на девизни рачун код Народне банке број: 54104-ознака валуте-549. Годишња претплата: 3 000 динара за грађане Србије, 6 000 динара за установе из Србије и 100 € (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 Čuk**, 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, PhD  
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

#### Technical editor

Milan Perovanović

#### Proof reading

Saša Milošević

#### 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](mailto:vmaini1@EUnet.yu) and [vmaini2@EUnet.yu](mailto:vmaini2@EUnet.yu)

Papers published in the *Vojnosanitetski pregled* are indexed in: 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 3 000.00 Din, and institutions 6 000.00 Din in Serbia, and foreign subscribers 100€.



## SADRŽAJ / CONTENTS

### UVODNIK / EDITORIAL

*Gordana Mandić-Gajić*

**Psihoaktivne supstancije i mladi – da li smo svesni stvarne opasnosti?**

Psychoactive substances and youth – are we aware of real risk? ..... 421

### ORIGINALNI ČLANCI / ORIGINAL ARTICLES

*Ivana Burazor, Aristo Vojdani, Mirko Burazor*

**Interrelationship of interleukin 6, C-reactive protein and *Chlamydia pneumoniae* IgG antibodies in patients with acute coronary syndromes**

Međusobni odnos interleukina 6, C reaktivnog proteina i *Chlamydia pneumoniae* IgG antitela kod bolesnika sa akutnim koronarnim sindromom..... 425

*Aleksandra Lukić, Vesna Danilović, Renata Petrović*

**Usporedna imunohistohemijska i kvantitativna analiza ćelija zapaljenskog infiltrata kod simptomatskih i asimptomatskih hroničnih periapeksnih lezija**

Comparative immunohistochemical and quantitative analysis of inflammatory cells in symptomatic and asymptomatic chronic periapical lesions..... 435

*Zorana Pavlović, Branko Jakovljević*

**Učestalost i faktori rizika od upotrebe psihoaktivnih supstancija kod mladih**

Frequency and risk factors of the use of psychoactive substances among the young ..... 441

*Svetlana Vesanović, Ljubomir Panajotović, Elijana Garalejić*

**Senzibilitet vagine rekonstruisane McIndoe metodom u okviru sindroma Mayer-Küster-Rokitansky-Hauser**

Sensibility of vagina reconstructed by McIndoe method in Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome ..... 449

*Tatjana Čutović, Jasna Pavlović, Ružica Kozomara*

**Analiza dimenzija sele turcike kod bolesnika sa mandibularnim prognatizmom**

Analysis of dimensions of sella turcica in patients with mandibular prognathism ..... 456

*Miloš Duka, Zoran Lazić, Marija Bubalo*

**Efekat lokalne primene plazme bogate trombocitima i vodene tkivne regeneracije na stepen koštane resorpcije kod rano ugrađenih dentalnih implantata**

Effect of local administration of platelet-rich plasma and guided tissue regeneration on the level of bone resorption in early dental implant insertion..... 462

### AKTUELNE TEME / CURRENT TOPICS

*Dejan Stevanović*

**Upitnik za procenu kvaliteta života povezanog sa zdravljem u pedijatriji.**

**I deo: Opšte smernice za selekciju**

Pediatric health-related quality of life instrument. Part I: General guidelines for selection..... 469

*Dragana Obradović, Bela Balint, Evica Dinčić, Ranko Raičević,*

*Slobodan Obradović, Gordana Tončev, Vladimir Kostić*

**Primena matičnih ćelija u lečenju neuroloških oboljenja – da li je budućnost već stigla?**

Stem cells use in the treatment of neurologic disorders – Has the future already arrived? ..... 473

**KAZUISTIKA / CASE REPORTS**

*Radenko Koprivica, Radiša Cvijović, Ranka Koprivica, Radmila Smiljanić*

**Povrede retrohepatičkog dela donje šuplje vene i jetre**

Injuries of the retrohepatic inferior vena cava and the liver ..... 481

*Ljiljana Medenica, Mirjana Gajić-Veljić, Dušan Škiljević, Predrag Peško*

**Acrokeratosis paraneoplastica Bazex syndrome associated with esophageal squamocellular carcinoma**

*Acrokeratosis paraneoplastica Bazex sindrom udružen sa skvamocelularnim karcinomom jednjaka* ..... 485

*Ivan Ilić, Pavle Ranđelović, Ratko Ilić, Lidija Đorđević, Danijela Radojković*

**Granularno-ćelijski tumor: retka varijanta tumora dojke**

Granular-cell tumor: a rare variant of mammary tumor ..... 488

*Slobodan Čulafić, Milan Spaić, Uroš Zoranović, Sidor Mišović*

**Neurolićička blokada opturatornog živca u lečenju idiopatske opturatorne neuralgije**

Neurolytic blockade of the obturator nerve in the treatment of idiopathic obturator neuralgia ..... 492

**IZVEŠTAJ SA STRUČNOG SKUPA / SCIENTIFIC MEETING REPORT** ..... 495

**UPUTSTVO AUTORIMA / INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS** ..... 497



Tablete ekstazija na ilegalnom tržištu.

Novija istraživanja pokazuju da sve više mladih u Srbiji koristi psihoaktivne supstancije i da se starosna granica prvog kontakta sa njima pomera sve niže.

Pill of exstasy on the "black" market.

Recent studies suggest the more and more abuse of psychoactive substances among youth in Serbia as well as the age for the first contact with them to be the less and less.



## Psihoaktivne supstancije i mladi – da li smo svesni stvarne opasnosti?

### Psychoactive substances and youth – are we aware of real risk?

Gordana Mandić-Gajić

Vojnomedicinska akademija, Klinika za psihijatriju, Beograd

Od davnina su ljudi pribegavali upotrebi alkohola i drugih psihoaktivnih supstancija (PAS) na osnovu kolektivnog iskustva u vezi njihovog dejstva. Sve supstancije koje se zloupotrebljavaju imaju zajedničko svojstvo da izazivaju promene u ponašanju, percepciji, kogniciji i raspoloženju, uz želju da se nastavi sa njihovom upotrebom uprkos potencijalno vrlo štetnim posledicama. Upotreba PAS javlja se kod oba pola, kod svih rasnih, etničkih, socioekonomskih i geografskih grupa. Posle Prvog svetskog rata, a naročito šezdesetih godina prošlog veka, nastaje pandemija zloupotrebe PAS, a zatim i ekspanzija naučnih saznanja o neurobiološkoj osnovi njihovog dejstva. Potom su sintetisani farmakološki agensi koji se koriste u akutnoj i hroničnoj fazi odvikavanja zavisnika od PAS. Faktori vezani za ličnost, njeno ponašanje i socijalnu sredinu, iako su više dostupni neposrednoj opservaciji i dalje predstavljaju najveće teškoće u razumevanju i lečenju zloupotrebe PAS.

Izazov savremene zapadne kulture predstavlja ekspanzija zloupotrebe PAS od strane dece i adolescenata sa nesagledivim štetnim posledicama po njihov razvoj i celokupno društvo. Prva eksperimentisanja sa PAS počinju u ranim tinejdžerskim godinama<sup>1</sup>. Njihova ponavljana upotreba remeti normalno bio-psiho-socijalno sazrevanje mlade ličnosti, a često dovodi do hroničnih, nekad i trajnih somatskih, neuroloških i psihijatrijskih poremećaja<sup>2</sup>. Ponekad se već prvo uzimanje PAS kod mladih završi fatalno. Prekid u školovanju, nezaposlenost, nedostatak porodične i socijalne podrške, pripadnišvo supkulturi narkomana, antisocijalno ponašanje (krađe, razbojništva, preprodaja droge, prostitucija i dr.), pridružene ozbiljne telesne bolesti (HIV, hepatitis, endokarditis, fibroza pluća i dr.), strukturisanje poremećaja ličnosti, nastanak psihotičnih poremećaja i posebno multipla zavisnost od više PAS otežavaju lečenje. Postavlja se pitanje da li medicinska i opšta javnost u dovoljnoj meri prati i usvaja nova saznanja u vezi kompleksne patologije zloupotrebe PAS sa ciljem da neprekidno prilagođava i unapređuje sveobuhvatni program njene prevencije, lečenja i rehabilitacije.

Savremeni čovek je izložen profesionalnoj nesigurnosti, čestim migracijama, promeni tradicionalnih uloga polova, gubitku emocionalne kohezije među ljudima, dezintegraciji porodice, urbanizaciji sa brojnim stresorima svakodnevnog življenja i traumatskim događajima. Patologija društva najporaznije se odražava na deci i mladima, koji sve češće odrastaju u nefunkcionalnim ili razorenim porodicama. Evolucija potrošačkog društva nameće novi sistem vrednosti koji favorizuje „instant“ zadovoljstva nasuprot nepodnošljivom osećanju egzistencijalne praznine, besmisla, straha od bliskosti i dosade (nestrukturisanog slobodnog vremena). Ta kvazi zadovoljstva sve se više nude ne samo u obliku ranije poznatih PAS, već i kao brojne sintetske droge. Narasla je ilegalna proizvodnja i prodaja ovih razornih supstancija uz širenje njihovog tržišta, jer se starosna granica konzumenata pomera ka ranom tinejdžerskom uzrastu. Da bi se regrutovalo što više novih potrošača PAS, ovim supstancijama se daju zvučni nazivi i vešto se dizajniraju u primamljive oblike tableta pastelnih boja sa utisnutim popularnim likovima, što je podređeno ukusima i interesovanjima mladih.

Prisutna je društvena svest o pogubnom uticaju PAS na nervni sistem i celokupnu ličnost uz odnos prema zavisnicima kao marginalnim i po društvo opasnim grupama, koje treba lečiti. Hedonizam, želja za eksperimentisanjem i pripadanjem grupi vršnjaka, radoznalost, bunt prema autoritetima i tradiciji, a bez čvrsto ustanovljenih sistema vrednosti i obrazaca zdravog životnog stila odlikuju mlade, koji su najpodložnija subpopulacija za sve oblike rizičnog ponašanja i prihvatanju novih izazova<sup>3</sup>. U porastu su igre na sreću i kockanje<sup>4</sup>. Problem se dodatno umnožio pojavom planetarne ekspanzije novih oblika ponašanja sa gubitkom kontrole bez unosa supstancija u vidu zavisnosti od interneta. Iako u stručnim i naučnim psihijatrijskim krugovima traje rasprava oko toga da li ove pojave treba svrstati u nozološku kategoriju zavisnosti ili u kategoriju poremećaja navika i kontrole impulsa, one su već uveliko prisutne i zahtevaju da se njima bavimo u terapijskoj praksi uz trajni izazov za istraživanja svih socijalno-psihološko-medicinskih aspekata.

Ne samo za terapiju i rehabilitaciju, već pre svega, za prevenciju bolesti zavisnosti potrebno je poznavati raširenost, kao i brojne činioce koji izazivaju i podržavaju zloupotrebu PAS. Na današnjem nivou saznanja može se zaključiti da se bolesti zavisnosti razvijaju kod vulnerabilnih ličnosti (sa varijetetom različitih karakteristika, koje su pod genetskim uticajem) u interakciji sa faktorima sredine. Sklonost za teške oblike zavisnosti od supstancija je 40% pod uticajem sredinskih faktora, a 60% genetski determinisana. Od genetske dijadeze 27% se pripisuje DrD2 genu za dopaminski receptor, a 33% drugim genima. Izbor PAS zavisi od njenih psihoaktivnih potencijala, karakteristika ličnosti i socijalnih faktora: legalizacija, raspoloživost PAS i odnos društva prema određenoj PAS i zavisniku.

Savremeno određenje bolesti zavisnosti koristi pojam „pansupstancija“, te je alkohol, po prvi put, svrstan u istu grupu sa ostalim PAS. Najnovija saznanja upućuju na zajedničku neurobiološku osnovu potkrepljujućeg efekta i doživljaja zadovoljstva većine PAS kao što su opijati, amfetamin, kokain, i do izvesnog stepena, alkohol i duvan, preko dopaminergičkih neurona u ventralnom tegmentumu.

Ne sme se izgubiti iz vida da je u zapadnoj kulturi kod adolescenata alkohol još uvek najzastupljenija PAS sa učestalošću upotrebe 15–25%. Uzrast sa najvećim unosom alkohola su srednje tinejdžerske do srednje 20-te godine života. Ustanovljeno je da 20–30% osoba koje traže medicinsku pomoć imaju zavisnost ili zloupotrebu alkohola. Probalo je i povremeno zloupotrebljava kanabis (marihuanu) oko 26% mladih, ekstazi 25%, preko 1% kokain i heroin. Mladi adolescenti posle alkohola i duvana najčešće zloupotrebljavaju inhalante (isparljivi rastvarači, benzin i dr.). Poseban problem predstavlja to što se ove materije nalaze u slobodnoj prodaji, a već nakon prvog uzimanja može doći do teškog akutnog trovanja. Najveći broj mladih brzo prestaje sa njihovim eksperimentisanjem, ali počinje da zloupotrebljava druge PAS. Manji broj nastavlja sa dugotrajnom zloupotrebom i zavisnošću od inhalata sa teškim posledicama. Inhalanti su u Velikoj Britaniji vodeći uzročnik smrtnosti kod mladih u uzrastu od 15 godina, posebno kod dece beskućnika. Istraživanje koje je nedavno sprovedeno u našoj sredini, a čiji su rezultati prikazani u ovom broju Vojnosanitetskog pregleda, pokazalo je da je 14,2% mladih uzrasta 13–19 godina ostvarilo kontakt sa PAS, najčešće sa marihuanom, slede inhalanti i amfetamini<sup>5</sup>.

Dugo opstaje zabluda da je kanabis (marihuana) samo „laka droga“ što je dovelo do njene legalizacije u pojedinim zemljama. Osim što je upotreba ove PAS najčešće prelazna lestvica ka zavisnosti od „teških“ droga (heroina i drugih), ona je povezana i sa ozbiljnim duševnim poremećajima. Uočeno je da se sve više mladih koji su upotrebljavali marihuanu prima na bolničko lečenje zbog akutnih psihotičnih poremećaja paranoidnog i shizofreniformnog tipa. Upotreba kanabisa je od strane psihijatrijske stručne i naučne javnosti proglašena jednim od faktora rizika za razvoj shizofrenije. Upoznavanje mladih i opšte javnosti sa ovim rizicima bilo bi od neprocenjivog značaja u prevenciji upotrebe marihuane i njenih izuzetno teških posledica.

Anaboličko-androgeni steroidi počinju da se koriste u sportu od 1950. godine. Već posle 1980. godine pojavljuju se

prvi medicinski izveštaji o psihijatrijskim komplikacijama u vidu poremećaja raspoloženja (manija, depresija), psihotičnih poremećaja, anksioznih i paničnih poremećaja, agresivnog ponašanja i socijalnih fobija. Depresija i pokušaji suicida su povezani sa apstinencijskim sindromom. Kao ilegalne supstancije prodaju se od 1991. godine pojedincima koji žele da uvećaju mišićnu masu i snagu, bilo zbog vrhunskih uspeha u sportu ili zbog poboljšanja sopstvene fizičke pojave<sup>6</sup>. Adolescenti su skloni da uz njih upotrebljavaju i druge PAS, dok sportisti dodaju farmakološka sredstva sa ciljem da uvećaju mišićnu masu, smanje masno tkivo ili telesnu težnost pred takmičenja (hormoni štitne žlezde, insulin, amfetamin, efedrin, laksativi, diuretici, opioidni agonisti-antagonisti). Zastupljenost zavisnosti kod upotrebe anabolika varira u različitim studijama od 14% do 69%. U SAD četvrtinu svih osoba koje su koristile anabolike u toku prethodne godine čine mladi uzrasta od 12 do 17 godina. Kao najznačajniji faktori rizika se izdvajaju vrste sportskih treninga, uzimanje drugih supstancija (vitamini, amino kiseline, proteinski dodaci, stimulansi) i uticaj vršnjaka. Od psiholoških faktora značajna je „mišićna dismorfija“, oblik subjektivnog poremećaja doživljaja sopstvene telesne sheme procenom da sopstveno telo nije dovoljno mišićavo, da je manje ili slabije nego što je to objektivno. Ovi zavisnici se značajno razlikuju od ostalih po tome što mesecima uz anabolike intenzivno vežbaju, preokupirani su svojim fizičkim izgledom, sposobnostima, takmičenjima i društvenim priznanjima. Najčešće somatske komplikacije se odnose na kardiovaskularni i reproduktivni sistem, kao i na oštećenja jetre i kože. Pored hiperholesterolemije, hemostaze i hipertenzije povećavaju rizik od koronarne bolesti srca, ateroskleroze i infarkta mozga. Anabolici mogu dovesti do reverzibilne atrofije testisa i sterilitea, a kod žena maskulinizirajući efekti mogu biti trajni. Kod dece anabolici mogu izazvati prekid rasta usled prevremenog zatvaranja epifiza kostiju. Ostali neželjeni efekti se odnose na pojavu akni i muški tip ćelavosti, edeme zbog retencije vode, egzacerbaciju tikova, apneje u snu, kao i policitemiju.

Sve popularniji ekstazi, koji je derivat metamfetamina, povezuje se sa pojavom paničnih ataka, psihotičnih reakcija i iznenadnih smrtnih ishoda. U svetu, a i kod nas, ginekolozi i neonatolozi se susreću sa rizičnim trudnoćama zavisnica od PAS. Postoje izveštaji o ishodu porođaja kod žena koje su na metadonskom supstitucijskom programu.

Osobe sa zloupotrebom i zavisnošću od PAS, posebno od ilegalnih supstancija nisu tipični bolesnici. Negiraju postojanje ovog problema kod sebe i ne traže pomoć lekara sve dok im se ne dese ozbiljne komplikacije u vidu teških intoksikacija ili apstinencijalne krize. Lekar treba da posumnja na zloupotrebu PAS kod svakog rekurentnog nespecifičnog medicinskog stanja i rekurentne povrede uz poznavanje specifičnih simptoma i znakova intoksikacija i/ili apstinencije od pojedinih supstancija.

Stalno se traga za novim, efikasnijim načinima lečenja bolesti zavisnosti. Tako je pre nekoliko godina u Beogradu pri Insitutu za mentalno zdravlje otvoren Centar za porodičnu terapiju mladih uzrasta od 14 do 18 godina, koji imaju problema sa psihoaktivnim supstancijama. U toku je izrada Nacionalnog programa za lečenje bolesti zavisnosti sa multidis-

ciplinarim pristupom svih nadležnih društvenih struktura. Ponovo je u našoj sredini uveden metadonski program, kao supstitucijska terapija održavanja kod najtežih oblika opijatske zavisnosti.

Kod svih osoba koje upotrebljavaju PAS, naročito kod mladih, mora se isključiti ukrštena zloupotreba i zavisnost od više drugih supstancija (alkohol i ilegalne PAS). To se postiže detaljnim uzimanjem podataka od samog korisnika i drugih značajnih osoba o upotrebi PAS i zdravstvenim smetnjama, kao i socijalnim posledicama. Zatim se sprovodi kompletan medicinski pregled (somatski, neurološki i psihijatrijski) uz biohemijske i toksikološke analize krvi radi otkrivanja funkcionalnih poremećaja i prisustva PAS. Na nivou primarne zaštite bilo bi korisno da se uvedu jednostavni i brzi skrining testovi u strukturisanim uputnicima za upotrebu PAS, kao i detekcija PAS u urinu.

Po završetku detoksikacije i apstinencijskog sindroma ponovo ostaje ličnost zavisnika sa svim svojim prethodnim naučenim obrascima ponašanja, osobinama, konfliktima, psihičkom zavisnošću i životnom i porodičnom sredinom u kojoj se radala i formirala njegova zavisnost. Ukoliko sve to ostane isto, on se vrlo brzo vraća upotrebi supstancije. Tek po uspostavljanju apstinencije, nastaje dugotrajna faza lečenja čiji bi krajnji cilj bio promena životnog stila, jačanje ličnosti i motivacije za odžavanje zdravog načina života i ličnu, porodičnu i socijalnu rehabilitaciju<sup>7</sup>. U okviru adolescentnih kriza još uvek su moguća eksperimentisanja sa drogama, bez

čvrsto uspostavljene zavisnosti, kriminogenog ponašanja i teških izmena karakteristika ličnosti. Samim tim lečenje u tom uzrastu potencijalno ima veće efekte na uspostavljanje i održavanje apstinencije i rehabilitaciju.

Ne može se više prihvatiti podela PAS na „lake“ i „teške“. Svako uzimanje PAS je opasno po zdravlje i predstavlja uvod u odloženi suicid. Bez lako dostupnih i jeftinih PAS nema njihove masovne upotrebe, što predstavlja odgovornost cele društvene zajednice.

Neophodno je da u kreiranju, ostvarenju i evaluaciji sveobuhvatnog programa postoji stalna koordinacija svih društvenih segmenata u socijalnoj mreži, prvenstveno sa promovisanjem zdravog životnog stila, više nego sa restriktivnim administrativno-pravnim i socijalnim merama.

Pred nama su novi izazovi zbog masovne nezarazne epidemije zloupotrebe psihoaktivnih supstancija, koja se pomera ka sve mlađem uzrastu. Najefikasniji segment sveobuhvatnog lečenja ove kompleksne psihosocijalne patologije je primarna prevencija. Ključ primarne prevencije je edukacija, koja se mora pomeriti ka uzrastu u kome deca još nisu imala kontakt sa PAS (rani školski uzrast) uz rad sa roditeljima i nastavnicima. Naizgled jednostavna formula „nema psihoaktivne supstancije – nema zavisnosti“ krije brojne zamke, među kojima, pre svega treba iskoreniti zablude i usvojiti nova znanja. Ne postoji oštra granica koja razdvaja zavisnost od ponavljane upotrebe PAS bez štetnih posledica, te je jedino sigurno ponašanje – ne uzimati PAS.

#### L I T E R A T U R A

1. *Donovan JE, Molina BS.* Children's introduction to alcohol use: sips and tastes. *Alcohol Clin Exp Res* 2008; 32(1): 108–19.
2. *Sung M, Erkanli A, Angold A, Costello EJ.* Effects of age at first substance use and psychiatric comorbidity on the development of substance use disorders. *Drug Alcohol Depend* 2004; 75(3): 287–99.
3. *Williams JK, Smith DC, Gotman N, Sabri B, An H, Hall JA.* Traumatized youth and substance abuse treatment outcomes: a longitudinal study. *J Trauma Stress* 2008; 21(1): 100–8.
4. *Potenza MN.* Should addictive disorders include non-substance-related conditions? *Addiction* 2006; 101 Suppl 1: 142–51.
5. *Pavlović Z, Jakovljević B.* Frequency and risk factors of the use of psychoactive substances among the young. *Vojnosanit Pregl* 2008; 65(6): 441–8.
6. *Simon P, Striegel H, Aust F, Dietz K, Ulrich R.* Doping in fitness sports: estimated number of unreported cases and individual probability of doping. *Addiction* 2006; 101(11): 1640–4.
7. *Mandić-Gajić G.* Therapy of dependence disorders. In: *Preradović M*, editor. *Dependence disorders – long lasting challenges.* Beograd: Vojnoizdavački zavod; 2005. p. 229–50. (Serbian)





**ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД**  
ВОЈНОМЕДИЦИНСКА АКАДЕМИЈА  
Црнотравска 17, 11040 Београд, Србија  
Тел/факс: +381 11 2669689  
[vmains1@eunet.yu](mailto:vmains1@eunet.yu)  
[vmains2@eunet.yu](mailto:vmains2@eunet.yu)

### Позив на рекламирање у 2008. 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 биомедицине и фармације. Радове равноправно објављују стручњаци из војних и цивилних установа и из иностранства. Штампана се на српском и енглеском језику. Часопис излази већ 75 година, а 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: *Index Medicus (Medline)*, *Excerpta Medica (EMBASE)*, *EBSCO* (преко ове базе ВСП је *on line* доступан од 2002. године у *pdf* формату) и *Biomedicina Serbica*. У току наредне године ВСП треба да испуни све услове чувеног *Thompson's Institute for Scientific Information® – Science Citation index® (ISI-SCI)* у Филаделфији, тј. да добије свој *Impact factor* уласком у *Current Contents*.

Цене реклама и огласа у часопису „Војносанитетски преглед“ у 2008. години су:

1.	Оглас у црно-белој техници А4 формата за један број	15 000,00 динара
2.	Оглас у ц/б техници А4 формата за целу годину (11-12 бројева)	150 000,00 динара
3.	Оглас у боји А4 формата за један број	25 000,00 динара
4.	Оглас у боји А4 формата за целу годину (11-12 бројева)	250 000,00 динара
5.	Оглас у боји на корицама К3 за један број	35 000,00 динара
6.	Оглас у боји на корицама К3 за целу годину (11-12 бројева)	350 000,00 динара
7.	Оглас у боји на корицама К2 и К4 за један број	40 000,00 динара
8.	Оглас у боји на корицама К2 и К4 за целу годину (11-12 бројева)	400 000,00 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*: [vmains1@eunet.yu](mailto:vmains1@eunet.yu) или [vmains2@eunet.yu](mailto:vmains2@eunet.yu)



## Interrelationship of interleukin 6, C-reactive protein and *Chlamydia pneumoniae* IgG antibodies in patients with acute coronary syndromes

Međusobni odnos interleukina 6, C reaktivnog proteina i *Chlamydia pneumoniae* IgG antitela kod bolesnika sa akutnim koronarnim sindromom

Ivana Burazor\*, Aristo Vojdani†, Mirko Burazor\*

Clinical Center, \*Clinic for Cardiovascular Diseases, Niš, Serbia;

†Immunosciences Lab. Inc, Beverly Hills, CA, USA

### Abstract

**Background/Aim.** Inflammation due to infection could be associated with the development of acute coronary syndromes, clinical manifestations of ongoing atherosclerosis in vessel walls. Our aim was to determine whether interleukin 6, C-reactive protein and *Chlamydia pneumoniae* IgG antibodies are connected with the development of acute coronary syndromes, to evaluate their interrelationship and to examine whether they are predictive of new events and mortality.

**Methods.** This prospective study included 211 subjects, of whom 111 were patients with acute coronary syndromes (60% male, mean age 59.42 years) and 100 were healthy controls (58% male, mean age 59.03 years). Blood samples were taken for analysis on admission, before the application of the therapy. Interleukin 6, high sensitivity C-reactive protein and *Chlamydia pneumoniae* IgG antibodies were measured, in a follow-up period of 30 days. **Results.** Levels of interleukin 6 ( $p < 0.001$ ) and C-reactive protein ( $p < 0.001$ ) were significantly higher among the patients with acute coronary syndromes than among controls. Chronic infection caused by *Chlamydia pneumoniae* was present in 72% of patients and in 22% of healthy controls ( $p < 0.001$ ). There was a correlation between interleukin 6 and C-reactive protein, C-reactive protein and *Chlamydia pneumoniae* but not between *Chlamydia pneumoniae* and interleukin 6. Higher levels of interleukin 6 and C-reactive protein were seen with increasing body mass index, smoking exposure, presence of hypertension and diabetes, and decreasing ejection fraction. The patients with ST-segment elevation had higher examined markers than the patients without ST-segment elevation. Interleukin 6 and C-reactive protein were independently related to the clinical outcome. **Conclusion.** Interleukin 6, C-reactive protein and *Chlamydia pneumoniae* infection are connected with the development of acute coronary syndromes and may reflect a clinical outcome of the disease.

### Key words:

coronary disease; inflammation mediators; interleukin-6; c-reactive protein; chlamydia pneumoniae; prognosis.

### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Inflamacija predstavlja patofiziološki mehanizam udružen sa nastankom akutnih koronarnih sindroma – kliničkih manifestacija uznapredovale arterioskleroze. Cilj ovog rada bio je ispitivanje povezanosti interleukina 6, C reaktivnog proteina i *Chlamydiae pneumoniae* sa nastankom akutnih koronarnih sindroma, njihovog međusobnog odnosa i odnosa sa tradicionalnim faktorima rizika, kao i prediktivne uloge u nastanku novih događaja i letalnog ishoda. **Metode** Prospektivnom studijom bilo je obuhvaćeno 211 ispitanika: 111 bolesnika sa akutnim koronarnim sindromom i 100 zdravih osoba (kontrolna grupa). Uzorci krvi izvađeni su na prijemu, pre primene terapije. Određivane su vrednosti interleukina 6, visoko osetljivog C reaktivnog proteina i titar antitela klase imunoglobulin G protiv *Chlamydiae pneumoniae*. Period praćenja iznosio je 30 dana. **Rezultati.** Interleukin 6 ( $p < 0,001$ ) i C reaktivni protein ( $p < 0,001$ ) bili su značajno viši kod osoba obolelih od akutnih koronarnih sindroma u odnosu na pripadnike kontrolne grupe. Hronična infekcija koja je uzrokovana *Chlamydiom pneumoniae* utvrđena je kod 77% bolesnika i 22% zdravih osoba ( $p < 0,001$ ). Utvrđena je korelacija između interleukina 6 i C reaktivnog proteina, zatim C reaktivnog proteina i antitela protiv *Chlamydiae pneumoniae*. Porast vrednosti interleukina 6 i C reaktivnog proteina pratio je porast indeksa telesne mase, pušenje cigareta, prisustvo hipertenzije i dijabetesa, smanjenje ejectione frakcije komora. Ispitivani markeri bili su značajno viši kod bolesnika sa elevacijom ST segmenta. Oba markera bila su prediktori novog događaja u periodu praćenja. **Zaključak.** Interleukin 6, C reaktivni protein i infekcija izazvana *Chlamydiom pneumoniae* povezani su sa nastankom akutnih koronarnih sindroma i mogu uticati na klinički ishod oboljenja.

### Ključne reči:

koronarna bolest; zapaljenje, medijatori; interleukin-6; c-reaktivni protein; chlamydia pneumoniae; prognoza.

## Introduction

Many molecular and cellular mechanisms link inflammation and haemostatic mechanisms in atherothrombosis, from the initiation to the clinical manifestation of the process<sup>1</sup>.

Inflammation may promote thrombosis by acting both locally and systemically. It can affect systemic haemostatic activity by interleukin-6 (IL-6), the major cytokine responsible for the acute phase response. High sensitivity testing for C-reactive protein (CRP), a nonspecific marker of low grade inflammation, has received much attention. Several studies showed a strong link between elevation of CRP and the risk of future events. Other acute phase proteins, such as leucocytes count and various proteins concentration (fibrinogen, von Willebrand factor etc.) also have prognostic significance<sup>2-6</sup>.

Recently, it has been hypothesized that various infective diseases, both bacterial and viral, may activate vessel associated leucocytes or immune reactions in arteriosclerotic process.

On the other hand, acute infections can alter haemodynamics and the clotting and fibrinolytic systems in ways that can precipitate ischemic events. Chronic extravascular infections can augment extravascular production of inflammatory cytokines that may accelerate the evolution of remote arteriosclerotic lesions. Intravascular infection might also provide local inflammatory stimuli that accelerate atherogenesis. Many human plaques show signs of infection by microbial agents such as *Chlamydia pneumoniae* (Cp) which can release heat shock proteins and stimulate the production of proinflammatory mediators by vascular endothelial and smooth muscle cells and infiltrating leucocytes<sup>7-9</sup>.

All of the mentioned components involved in arteriosclerotic process are well studied in apparently healthy subjects.

The aim of the study was to investigate the relationship between levels of IL-6 and CRP and the development of acute coronary syndromes (ACS). Also, among the other widely investigated infectious agents, the aim was to determine the previous exposure to Cp infection in our patient population by measuring the titers of specific antibodies; possible interrelationship between examined markers, correlations with risk factors and clinical characteristics and their prognostic impact.

## Methods

The prospective study included 211 participants of whom 111 were the patients admitted to Coronary Care Unit (CCU) of Clinic for Cardiovascular Diseases, Clinical Center Nis in Serbia between December 2002 and May 2004 due to acute coronary syndromes (ACS) documented by typical electrocardiographic (ECG) findings for myocardial ischemia (T – wave and ST – segment changes) and elevation of sensitive and specific biomarkers (troponin I and CK – MB).

Examination of patients included data about characteristic chest pain. The ECG findings were recorded (initial ST elevation, ST depression, T-wave inversion or nonspecific changes). Patients were monitored continuously in the CCU. All traditional risk factors for coronary artery disease (CAD) were marked: smoking, hypertension, dyslipidemia, diabetes,

body mass index (BMI), family history of CAD. We noted previous myocardial infarction (MI) or previous coronary artery by pass grafting (CABG).

The patients required full medical therapy including various combinations of aspirin, intravenous nitrates, anticoagulants, angiotensin – converting enzyme inhibitors (ACEI), statins and/or  $\beta$ -blockers. Where needed, reperfusion was done by using the fibrinolytic agents. We evaluated the in hospital outcome and end-points in the follow-up period of 30 days. All the patients who entered the study were interviewed by phone. Follow-up information was obtained about cardiac death, MI or new onset of unstable angina.

Healthy volunteers, a total of 100 persons, composed the control group. The group was age and sex matched. The inclusion criteria for the control group were the absence of known coronary artery diseases (previous stable or unstable angina as well as previous myocardial infarction) or CAD. Initial ECG was recorded to confirm the absence of coronary artery disease. Volunteers were asked about the risk factors for CAD (smoking status, family history of CAD, hypertension, dyslipidemia, diabetes) and BMI was determined.

The exclusion criteria in the group of patients and also of controls were concomitant dilated cardiomyopathy, valvular heart disease, atrial fibrillation, major surgery or trauma within the previous months. All the patients and controls with known or suspected thrombotic disorders, systemic illness, autoimmune diseases, sepsis, alcohol liver diseases, chronic obstructive pulmonary diseases, acute respiratory infections, current infections, any etiology or infections within previous three weeks, malignancy and inflammatory diseases were also excluded.

The investigation conformed to the principles outlined in the Declaration of Helsinki. Signed informed consent or witnessed oral informed consent was obtained from all patients and healthy controls in accordance with the guidelines of the Ethical Review Committee of the School Medicine Nis, University of Nis and Clinical Center of Nis which had given a written approval of the study.

Blood was drawn from the patients with ACS immediately after admission, before the application of any therapy. Regular laboratory analyses were performed in our Central Laboratory by using standard methods (white blood cell – WBC counts: reference range  $4.5$  to  $9.0 \times 10^9/L$  and monocytes: reference range  $0.0$  –  $0.8 \times 10^9/L$ ). For further analyses which were not possible to perform in Clinical Center in Nis, 10 ml of serum (patients and controls) were frozen and kept at  $-40$  °C. Tubes were sent on dry ice with special permission of Ministry of Health of Serbia to Immunosciences Lab. Inc, Beverly Hills, California, USA where the analyses were performed between May and October 2004. We measured the levels of IL-6, high sensitive – hs CRP and Cp IgG antibodies.

Levels of IL-6 and hs CRP were measured using kits manufactured by Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA on an IMMULITE Automated Immunoassay Analyzer.

The IMMULITE system utilizes assay-specific, antibody or antigen coated plastic beads as the solid phase, alkaline phosphatase labeled reagent and a chemiluminescent substrate.

The IMMULITE system automates the entire assay process. Light emission was measured by a photomultiplier tube and the results were calculated for each sample using different calibrators and controls.

The established reference ranges of the lab performing the tests were from 0.7 to 4.6 pg/mL for IL-6, and from 0 to 1 mg/dL for hs CRP. The values higher than the established reference ranges were marked as positive.

Sera were tested at 1:200 dilution for Cp IgG antibodies by using an in-house enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Peptide LPTAVLNLTAWNPSLLNATALST from major outer membrane protein of Cp was synthesized by Bio-Synthesis, Louisville, TX, and used in this assay.

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used for testing antibodies against nine different specific antigens, peptides in the sera of the patients with atherothrombosis and control subjects. Antigens or peptides were dissolved in methanol at a concentration of 1.0 mg/ml, and then diluted 1:100 in 0.1 M carbonate bicarbonate buffer, pH 9.5, and 50  $\mu$ l were added to each well of a polystyrene flat-bottom ELISA plate. Plates were incubated overnight at 4°C and then washed three times with 20 mM tris buffer saline (TBS) containing 0.05% Tween 20, pH 7.4. The nonspecific binding of immunoglobulin was prevented by adding a mixture of 1.5% bovine serum albumin (BSA) and 1.5% gelatin in TBS, and then by incubating for 2 h at room temperature, and then overnight at 4 °C. Plates were washed as in the above, and then serum samples diluted 1:200 in 1% BSATBS were added to duplicate wells and incubated for 2 h at room temperature. Sera from patients with *Chlamydia* infection with known high titers of IgG against different Cp antigens were used to rule out nonspecific antibody activities of inter- and intra-assay variability. Plates were washed, and then peroxidase-conjugated goat antihuman IgG antiserum (KPI, Gaithersburg, Maryland) diluted 1:400 in 1% BSA-TBS was added to each well; the plate was incubated for an additional 2 h at room temperature. After washing five times with TBS-Tween buffer, the enzyme reaction was started by adding 100  $\mu$ l of ophenylene diamine in citrate-phosphate buffer, pH 5.0 and hydrogen peroxide diluted 1:10,000. After 45 min, the reaction was stopped with 50  $\mu$ l of 2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. The optical density (O.D.) was read at 492 nm by means of a

microtitre reader. Several control wells containing all reagents, but human serum, were used for detecting nonspecific binding.

The curve was constructed by plotting the mean absorbance obtained from each calibrator against its concentration with absorbance on the vertical (y) axis, and concentration on the horizontal (x) axis. By using the mean absorbance value for each control and unknown samples corresponding concentration were determined. The test validation, calibrators and control sera were run for each test. The performance characteristics of this test were determined by using the serum samples; at 3 S.D. above the negative control, samples were considered positive.

The results of normally distributed continuous variables are expressed as the mean value  $\pm$  standard deviation. Continuous variables with a nonnormal distribution are presented as median values (interquartile interval) and qualitative variables are presented as frequencies. Analysis of normality of the continuous variables was preformed with the Kolmogorov–Smirnov test. Differences between the examined groups were assessed by unpaired *t*-test, Mann–Whitney U test and  $\chi^2$  testing was used for discrete variables.

Correlations between continuous variables were analyzed with two-way Pearson correlation tests. Logistic regression was used to assess the univariate associations. Information regarding the development of combined end-point was available in all the patients included in the study. Binary logistic regression, backward stepwise selection, was used to derive final model of which significance levels of 0.01 and 0.05 were chosen to exclude and include terms, respectively.

The relationship between hs CRP levels and the end point was not of linear nature. Therefore, in order to fulfill the statistical requirement, hs CRP was logarithmically transformed before entering the multiple regression analysis. Differences were considered to be significantly important if the null hypothesis could be rejected with > 95% confidence. All *p* values were two-tailed. The SPSS 10.0 statistical software package was used for all calculations.

## Results

Characteristics of 111 patients with ACS and 100 controls are shown in Table 1.

**Table 1**  
Characteristics of examined groups

Characteristics	Patients (n=111)	Controls (n=100)	<i>p</i>
Age (years), $\bar{x}\pm$ SD	59.42 $\pm$ 5.4	59.03 $\pm$ 3.56	0.63
Male sex [n(%)]	67 (60.3)	58 (58)	0.72
Current or ex- smokers, [n(%)]	72 (64.8)	60 (60)	0.46
Dyslipidemia (%)	47 (42.3)	3 (3)	< 0.001
Hypertension (%)	67 (60.3)	30 (30)	< 0.001
Diabetes (%)	29 (26.1)	0 (0)	< 0.001
Family history of Coronary artery diseases (%)	67 (60.3)	30 (30)	< 0.001
Body masa index (kg/m <sup>2</sup> ), $\bar{x}\pm$ SD	26.98 $\pm$ 2.01	24.88 (1.48)	< 0.001
Total cholesterol (mmol/L), $\bar{x}\pm$ SD	6.03 $\pm$ 1.34	4.82 (0.50)	< 0.001
Triglycerides (mmol/L), $\bar{x}\pm$ SD	2.26 $\pm$ 1.53	1.35 (0.3)	< 0.001
White blood cell count ( $\times 10^9$ /L), $\bar{x}\pm$ SD	10.76 $\pm$ 2.48	6.68 (1.04)	< 0.001
Monocytes ( $\times 10^9$ /L), median (range)	0.9 (0.7–1.22)	0.5 (0.3–0.7)	< 0.001

The majority of the study participants were male (60.3% of the patients). The mean age of the patients was 59.42 and of controls 59.03 ( $p = 0.63$ ). A high proportion of patients, but also of controls were smokers ( $p = 0.46$ ). We found elevated white blood cells count (WBC) in patients with ACS ( $p < 0.001$ ). Also, monocytes were significantly higher in patients than in the controls ( $p < 0.001$ ).

Table 2 outlines clinical characteristics of patients with ACS. Out of 111 patients involved in the study, the presenting ECG showed ST – segment elevation in 50 patients. The mean value of systolic blood pressure was  $132 \pm 35.98$  mmHg. The patients spent in the hospital a period of

had been received by 44 (39.6%) patients. During the hospital stay 106 patients received aspirin and 106 received anticoagulant therapy (chiefly low molecular weight heparin). Intravenous nitrates had been received by 105 patients,  $\beta$ -blockers by 97, ACEI by 72 and statins by 60 of them. Five patients had persistent sinus bradycardia, which required atrial pacing. In our group of patients echo was performed on 89.2% of the patients.

During follow-up, 44 patients had a new event (death, new MI: reinfarction or MI after unstable angina, or new episodes of UA). For the primary composite outcome of death, 13 (11.7%) patients died during the first 48 hours in the hospital. Causes of death are shown in Table 2.

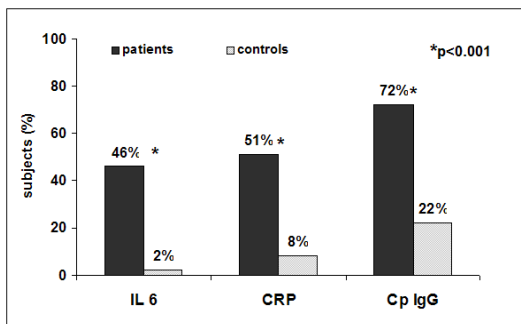
Table 2

Clinical characteristics of patients with acute coronary syndromes (ACS)		
Characteristics of patients with ACS (n = 111)	$\bar{x} \pm SD$	n (%)
Electrocardiography abnormalities at entry		
ST-segment elevation		50 (45)
without ST-segment elevation		61 (55)
Systolic blood pressure (BP) (mmHg)		
< 120		36 (32.4)
120–139		24 (21.6)
140–159		17 (15.4)
$\geq 160$		34 (30.6)
Mean systolic BP (mmHg)	$132 \pm 35.98$	
Mean diastolic BP (mmHg)	$79 \pm 23.33$	
Heart rate (heartbeats/min)		18 (16.3)
< 70		43 (38.7)
70–89		41 (36.9)
90–109		9 (8.1)
$\geq 110$		
Mean heart rate (heartbeats/min)	$85 \pm 22.73$	
Previous disease and drug use		
previous myocardial infarction		33 (29.7)
previous coronary artery by pass grafting		19 (17.1)
aspirin before admission		38 (34.2)
Duration of staying in hospital (days)	$10.8 \pm 5.4$	
Treatment during hospital stay		
fibrinolytic agents		44 (39.6)
aspirin		106 (95.4)
ticlopidin		7 (6.3)
anticoagulant		106 (95.4)
$\beta$ blocker		97 (87.3)
angiotensin converting enzyme inhibitors		72 (64.8)
nitrate (intravenous)		105 (94.5)
antiarrhythmics		32 (28.8)
statins		60 (54)
Left ventricle ejection fraction (%)	$54.4 \pm 13.30$	
Left ventricle ejection fraction < 40		16 (14.4)
New event		44 (39.6)
Death, any cause		13 (11.7)
arrhythmia		4 (3.6)
cardiac rupture		1 (0.9)
cardiogenic shock		5 (4.5)
reinfarction		3 (2.7)

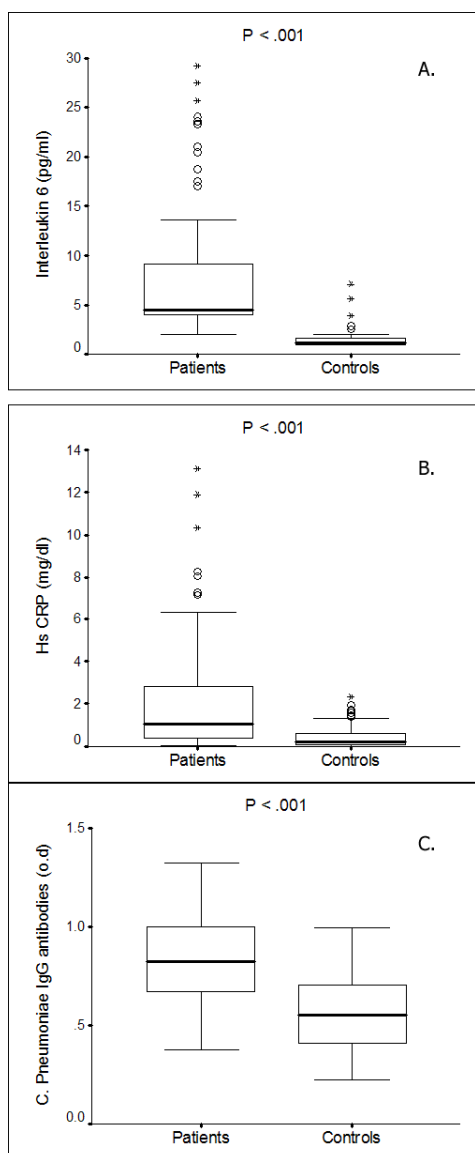
$10.8 \pm 5.4$  days to fulfill medical treatment. Previous MI was recorded in 33 patients and previous CABG in 19 (17.1%). Aspirin had been used before hospital admission by 38 (34.2%) patients. Fibrinolytic therapy (chiefly streptokinase)

Our study showed that 46% of the patients had detectable levels of circulating IL-6 (Figure 1). This proportion is statistically significantly higher as compared to the controls (only 2% positive samples), ( $\chi^2$  test,  $p < 0.001$ ; odds ratio (OR), 41.57;

(95% CI, 9.38 – 258.94). Concentrations of IL-6 were significantly higher in patients compared to controls (4.7 pg/mL (4.00 – 8.85) vs 1.5 pg/mL (1.2 – 1.8),  $p < 0.001$ ) (Figure 2-A).



**Fig. 1 – Percentage of interleukin 6 (IL-6), C-reactive protein (CRP) and *Chlamydia pneumoniae* (Cp) IgG in the examined groups**



**Fig. 2 – Comparison of interleukin 6 (IL-6) (A), C-reactive protein (CRP) (B) and *Chlamydia pneumoniae* IgG (C) levels between the patients and controls. Box and whisker plot for continuous variables in two groups. Circles represent outlier values**

There was a significant difference between the patients and the controls regarding to CRP (Figure 1); 51% of the patients had CRP above the referent range as compared to 8% of controls ( $\chi^2$  test,  $p < 0.001$ ; OR, 11.97; 95% CI, 4.97 – 29.81).

The median of this marker of inflammation was 1.2 mg/dL (0.384 – 2.895) in the patients and 0.225 mg/dL (0.075 – 0.623) in controls (Figure 2-B), (Mann-Whitney U test,  $p < 0.001$ ).

According to our results, there was a significant difference between the patients and the controls in regard to the presence of Cp IgG antibodies: 72% of the patients were positive versus 22% of the controls, ( $\chi^2$  test  $p < 0.001$ ; OR, 9.12; 95% CI, 4.57 – 18.35) (Figure 1). IgG titers were significantly higher in patients compared to the controls: 0.825 o.d. (0.669 – 1.00) vs 0.552 o.d. (0.410 – 0.705), ( $t$ -test,  $p < 0.001$ ) (Figure 2-C).

In an effort to examine, the inflammatory immune reactions concentrations of IL-6 and CRP were analyzed. Pearson’s linear correlation showed a correlation between IL - 6 and CRP ( $r = 0.454$ ;  $p = 0.01$ ).

Our data also showed a correlation between concentration of CRP and circulating Cp IgG antibodies,  $p = 0.01$ . We did not find any correlation between circulating levels of IL-6 and Cp IgG antibodies (Pearson’s linear correlation,  $p = 0.356$ ).

Concentrations of IL-6 were higher in women ( $p = 0.03$ ), patients with previous MI ( $p = 0.03$ ), previous CABG ( $p = 0.03$ ), smokers ( $p = 0.001$ ), patients with hypertension ( $p = 0.001$ ) and with diabetes ( $p = 0.01$ ) and correlated with BMI ( $p = 0.01$ ). Significant correlations were not found between IL-6 levels and age ( $r = 0.185$ ,  $p = 0.081$ ), triglyceride levels ( $p = 0.09$ ), total cholesterol levels ( $p = 0.08$ ), monocytes and WBC count ( $r = 0.008$ ,  $p = 0.947$ ), (Table 3).

In similar fashion, CRP was also higher in women ( $p = 0.03$ ), patients with previous history of MI ( $p = 0.03$ ), previous CABG ( $p = 0.03$ ), smokers ( $p = 0.001$ ), hypertensive patients ( $p = 0.01$ ) and patients with diabetes ( $p = 0.05$ ). Positive and significant relationships were demonstrated between CRP levels and total cholesterol serum levels ( $r = 0.333$ ,  $p = 0.01$ ), with monocytes count ( $p = 0.01$ ) and BMI ( $p = 0.01$ ). Interestingly, CRP levels were not significantly associated with serum triglyceride levels ( $p = 0.085$ ), with WBC count and age ( $r = 0.156$ ,  $p = 0.134$ ) (Table 3).

Increasing WBC count was positively associated with increasing titers of Cp IgG antibodies ( $r = 0.252$ ,  $p = 0.05$ ). Even stronger association was noticed between the increasing number of monocytes and increasing titers of Cp IgG antibodies ( $r = 0.356$ ,  $p = 0.01$ ). Titers of Cp antibodies were higher in smokers than in non-smokers ( $p = 0.001$ ) (Table 4).

In an effort to examine the relationship between ECG findings on admission and vascular inflammatory markers, concentrations of IL-6 and CRP were analyzed in the sub-groups of patients with or without ST-segment elevation. There was a significant correlation regarding to severity of the diseases. The patients with acute MI with ST-segment

**Table 3**  
Correlations of interleukin 6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP) with different parameters

Parameters	IL-6	CRP
	<i>p</i>	<i>p</i>
Age	0.081	0.134
Women	0.03	0.03
Hypertension	0.001	0.01
Diabetes	0.01	0.05
Total cholesterol	0.08	0.01
Triglycerides	0.09	0.085
Body mass index	0.01	0.01
Current smoker	0.001	0.001
Prior myocardial infarction	0.03	0.03
Prior coronary artery by pass grafting	0.03	0.03
White blood cell count	0.947	0.134
Monocytes	0.964	0.01
ST-elevation	0.03	0.05

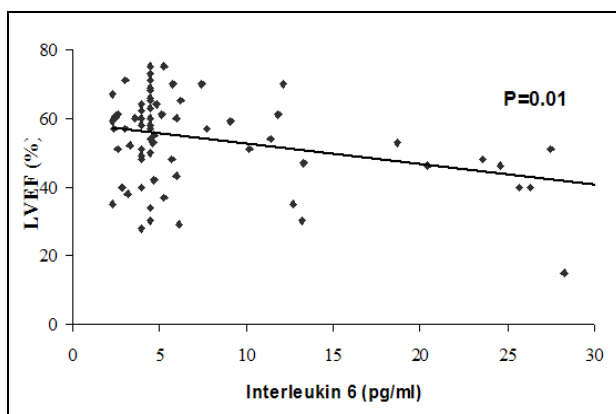
**Table 4**  
Correlations of *Chlamydia pneumoniae* IgG (Cp IgG) with different parameters

Parameters	Cp IgG	
	<i>r</i>	<i>p</i>
White blood cells	0.252	0.05
Monocytes	0.359	0.001
Current smoker	0.368	0.001
Left ventricular ejection fraction	- 0.371	0.619

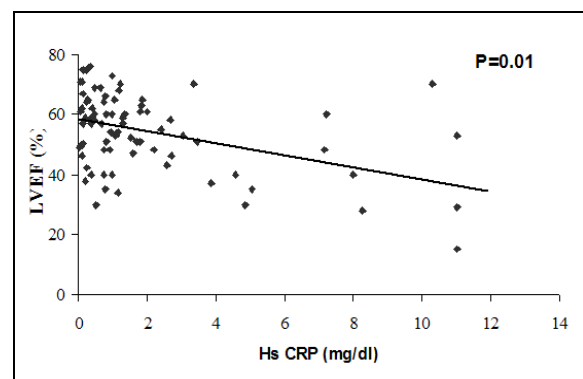
elevation had higher circulating levels of IL-6 ( $p = 0.03$ ) and CRP ( $p = 0.05$ ). The high-risk ECG was followed by higher concentrations of inflammatory markers.

Echocardiography was not essential early after myocardial infarction, but was useful after MI to assess left ventricular function. Left ventricle ejection fraction (LVEF) was an important prognostic variable in the patients with ACS.

Both, IL-6 levels and CRP levels showed a strong and significant correlation with LVEF (Pearson's linear correlation,  $r = -0.359$ ,  $p = 0.01$  for IL - 6 and  $r = -0.371$ ,  $p = 0.01$  for CRP) (Figure 3 and 4). However, there was no correlation between Cp IgG antibodies titer and LVEF ( $r = -0.059$ ,  $p = 0.619$ ).



**Fig. 3 – Correlation between circulating interleukin 6 (IL-6) and left ventricle ejection fraction (LVEF)**



**Fig. 4 – Correlation between high sensitive C- reactive protein (hs CRP) and left ventricular ejection fraction (LVEF)**

Finally, to examine independent correlates of IL-6, CRP and Cp IgG antibodies in prediction of a new event or death in a follow-up period, adjustment analyzes were performed by using binary logistic regression. IL-6 ( $p = 0.007$ ) and WBC count ( $p < 0.001$ ) were strong independent factors of death (Table 5). Kolmogorov Smirnov test previously showed abnormal distribution of CRP. Logarithmically normalized CRP showed positive but weaker correlation ( $p = 0.035$ ) as an independent predictor of death.

Similarly, IL-6 was independently associated with new coronary event ( $p = 0.013$ ), as well as age ( $p < 0.001$ ) (Table 6). There were no associations between CRP and new or recurrent MI or rehospitalization for ACS in 30-day of the follow-up.

**Table 5**  
**Multivariate predictors (Logistic regression) of death in 111 patients with acute coronary syndromes**

	OR	<i>p</i>	95% CI for OR	
			Lower bound	Upper bound
Interleukin-6	1.084	0.007	1.023	1.149
White blood cells	0.629	0.000	0.488	0.809
Log hs CRP*	2.456	0.035	1.065	5.661

\*log Hs CRP, logarithmically transformed high sensitivity C-reactive protein. Variables entered in step 1: *Chlamydia pneumoniae* IgG antibodies, smoking status (including current and ex-smokers), years of age, monocytes count, diabetes, previous myocardial infarction, gender.

**Table 6**  
**Multivariate predictors (Logistic regression) of new event in patients with acute coronary syndromes**

	OR	<i>p</i>	95% CI for OR	
			Lower bound	Upper bound
Interleukin-6	1.059	0.013	1.012	1.108
Years of age	0.984	0.001	0.974	0.993

Variables entered in step 1: *Chlamydia pneumoniae* IgG antibodies, smoking status (including current and ex-smokers), years of age, monocytes count, diabetes, previous myocardial infarction, gender

## Discussion

The aims of this study were to determine the possible relationship between IL-6, CRP and Cp IgG antibodies in patients presented with ACS-clinical manifestation of the latter phase of atherosclerosis.

To our knowledge, these are the first reports of the previous exposure to Cp pathogen and of an association with inflammatory-immune markers in our patient population with ACS.

The results suggest that the high proportion of patients had high titers of Cp IgG, high circulatory levels of both IL-6 and CRP, indicated the ongoing inflammation in ACS.

Our understanding of the pathogenesis of the acute thrombotic complications of the arteriosclerosis has widened in recent years. We now understand that many acute thrombotic coronary occlusions do not necessarily result from critically stenosed sites in the arteries. This distinction between lesions versus lumen diameter challenges our traditional reliance upon coronary anatomy. As in the initiation and progression of arteriosclerosis, ample data support the involvement of inflammation in these thrombotic complications of arteriosclerosis<sup>10-13</sup>. The inflammatory stimuli produced by primary proinflammatory cytokines may undergo amplification through the induction of IL-6 production. Multiple cell types including vascular smooth muscle cells, endothelial cells, adipocytes can produce large amounts of IL-6.

A soluble mediator, IL-6, is a primary stimulant for the hepatic acute phase response and the only cytokine capable of inducing all acute phase proteins involved in the inflammatory response<sup>14</sup>. As such, the induction of CRP by IL-6 underlines atherogenesis. Similar to this finding, our data confirmed the correlation between CRP and IL-6.

C-reactive protein, an acute phase reactant and important component of the innate immune system, has emerged as not only a strong biomarker of vascular disease, but also as a potential participant in it. Multiple prospective epidemiol-

ogical studies are focused on CRP that has been shown to predict incident myocardial infarction, stroke and peripheral arterial diseases. These highly consistent data are supported by laboratory evidence demonstrating that atherosclerosis, in addition to being a disease of lipid accumulation, represents a chronic inflammatory process<sup>15-18</sup>.

If we have a proof of ongoing inflammatory response in the wounded coronary arteries there remains the question of a trigger that might initiate and sustain the process. Among "candidates" that could trigger both inflammatory and autoimmune responses, there is infection<sup>19</sup>. Since the original studies of Saikku et al.<sup>20</sup> published in 1998, Cp bacteria have been considered the main vascular pathogens increasing the risk for CAD. Meta-analysis performed by Danesh et al.<sup>21</sup> in 2000 identified 15 prospective studies of Cp and CAD. In our study Cp antibody titers were also elevated. In the present patient population, the proportion of subjects with a high antibody response against Cp was 72%. The findings of Arnholm et al.<sup>22</sup> are similar. The observed antibody responses for microbes in our study may reflect chronic, but also reactivated latent infections. The findings of Kark et al.<sup>23</sup> and Sheehan et al.<sup>24</sup> do not support an association between specific antigen and ACS.

*Chlamydia pneumoniae* is responsible for a variety of respiratory illnesses and can be distributed via monocytes from respiratory tract to distant sites in the organism<sup>25</sup>. Our study confirmed a correlation between monocytes and Cp antibodies. In the same fashion there was a correlation between WBC and Cp antibodies.

If an infected macrophage attaches to the vessel wall, it may infect the cells lining the arterial surface and the artery would then attract more immune cells. And, the vicious circle is triggered.

The host response to infectious agents usually involves a change in the program of hepatic protein synthesis. The cytokine IL-6 may mediate much of this switch from pro-



duction of 'housekeeping proteins' (such as albumin), to greater synthesis of acute phase reactants. Our study demonstrated a correlation between circulating titers and concentration of CRP, indicating that degree of infection is followed by inflammatory-immune response.

Major traditional risk factors of cardiovascular diseases are smoking and diabetes and hypertension, obesity and dyslipidemia. We found that cigarette smoking may be related to elevated levels of IL-6, CRP and Cp IgG antibodies. The mechanism whereby smoking is related to concentrations of IL-6, CRP and Cp is multifactorial and can be due to bronchial injury, endothelial activation and systemic inflammation, as described elsewhere<sup>26</sup>.

We demonstrated that several other risk factors to be related to levels of IL-6 and CRP - specifically, the presence of hypertension, diabetes and BMI. Nowadays, this cluster of cardiometabolic risk factors is known as metabolic syndrome - a condition underlined by low grade systemic inflammation, or condition with systemic proinflammatory burden<sup>27, 28</sup>.

Inflammation tightly regulates the procoagulant potential of the arteriosclerotic plaque. Thus, in the setting of local inflammation in the plaque or systemic inflammation as reflected by the acute-phase response, inflammatory pathways conspire to promote thrombosis and combat fibrinolysis. Consequently, inflammation promotes clot formation and instability and underlines the thrombotic aspects of atherothrombosis, as well as the lesion initiation and progression<sup>29</sup>. If the thrombi are large or occlusive they lead to the acute coronary syndromes.

Our results showed that IL-6 and CRP concentrations are higher in the patients presented with ACS with ST-

segment elevation compared to patients presented with ACS without ST-segment elevation. Moreover, we found that both, IL-6 and CRP concentration correlate with LVEF. Such results suggest that the levels of inflammatory markers correlate with the severity of a disease.

Importantly, IL - 6 and CRP concentrations, but not Cp antibodies, predict future death in the group of patients with ACS (confirmed by using multiple linear models). These findings indicate that levels of CRP, IL - 6 and WBC are markers of disease activity. In the same fashion, IL - 6 was the best predictor of new cardiovascular event, manifested as new MI or UA.

The finding that an elevated WBC count was associated with a higher mortality rate is in agreement with previous studies<sup>30, 31</sup>. The basis for this remains unknown. It is possible that WBC count is a cause or simply a consequence of ACS and that the degree of elevation of WBC count reflects the severity of a disease.

### Conclusion

Our study indicated that IL-6, CRP and Cp antibodies were connected with the development of ACS, severity of diseases and might reflect the clinical outcome in our patient population. Interleukin-6, CRP and Cp antibodies were also associated with several traditional risk factors, supporting the idea of separate or concurrent pathway towards atherothrombosis and indicating the possibility of direct vascular effect on plaque stability. Future studies should find out the exact evidences of causes or consequences of arteriosclerotic coronary artery disease.

### R E F E R E N C E S

1. *Virmani R, Burke AP, Farb A, Kolodgie FD.* Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47(8 Suppl): C13-8.
2. *Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR.* Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002; 347(20): 1557-65.
3. *Armstrong EJ, Morrow DA, Sabatine MS.* Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes: part I: introduction and cytokines. *Circulation* 2006; 113(6): e72-5.
4. *Ridker PM.* Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003; 107(3): 363-9.
5. *Armstrong EJ, Morrow DA, Sabatine MS.* Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes: part II: acute-phase reactants and biomarkers of endothelial cell activation. *Circulation* 2006; 113(7): e152-5.
6. *Ridker PM.* High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation* 2001; 103(13): 1813-8.
7. *Libby P, Theroux P.* Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation* 2005; 111(25): 3481-8.
8. *Pesonen E, Andsberg E, Ohlin H, Puolakkainen M, Rautelin H, Sarna S, et al.* Dual role of infections as risk factors for coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2007; 192(2): 370-5.
9. *Mublestein JB, Anderson JL.* Infectious serology and atherosclerosis: how burdensome is the risk? *Circulation* 2003; 107(2): 220-2.
10. *Woods A, Brull DJ, Humphries SE, Montgomery HE.* Genetics of inflammation and risk of coronary artery disease: the central role of interleukin-6. *Eur Heart J* 2000; 21(19): 1574-83.
11. *Vorchheimer DA, Fuster V.* Inflammatory markers in coronary artery disease: let prevention douse the flames. *JAMA* 2001; 286(17): 2154-6.
12. *Hansson GK.* Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352(16): 1685-95.
13. *Hansson GK.* Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21(12): 1876-90.
14. *Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH.* Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000; 101(15): 1767-72.
15. *Fan J, Watanabe T.* Inflammatory reactions in the pathogenesis of atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2003; 10(2): 63-71.
16. *Tracy RP, Lemaitre RN, Psaty BM, Ives DG, Evans RW, Cushman M, et al.* Relationship of C-reactive protein to risk of cardiovascular disease in the elderly. Results from the Cardiovascular Health Study and the Rural Health Promotion Project. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17(6): 1121-7.
17. *Koenig W, Sund M, Frohlich M, Fischer HG, Lowel H, Doring A, et al.* C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy

- middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation* 1999; 99(2): 237–42.
18. Pradhan AD, Manson JE, Rossouw JE, Siscovick DS, Mouton CP, Rifai N, et al. Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease: prospective analysis from the Women's Health Initiative observational study. *JAMA* 2002; 288(8): 980–7.
  19. Epstein SE, Zhou YF, Zhu J. Infection and atherosclerosis: emerging mechanistic paradigms. *Circulation* 1999; 100(4): e20–8.
  20. Saikku P, Leinonen M, Mattila K, Ekman MR, Nieminen MS, Mäkelä PH, et al. Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet* 1988; 2(8618): 983–6.
  21. Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, et al. Chlamydia pneumoniae IgG titres and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *BMJ* 2000; 321(7255): 208–13.
  22. Arnholm B, Gabriel A, Gnorepe J, Hallander H, Martinsson A, Nyquist O. Carriage of Chlamydia pneumoniae in patients with acute myocardial infarction of coronary heart disease and in subjectively healthy controls. A prospective study. In: Stephens R, Byrne GI, Christiansen G, Clarke IN, Grayson JT, Rank RG, et al. editors. Chlamydial infection. Proceedings of the 9th International Symposium of Human Chlamydial Infection. 1998 June 21–28; San Francisco, California, USA. Napa: International Chlamydia Symposium; 1998. p. 175–8.
  23. Kark JD, Leinonen M, Paltiel O, Saikku P. Chlamydia pneumoniae and acute myocardial infarction in Jerusalem. *Int J Epidemiol* 1997; 26(4): 730–8.
  24. Sheehan J, Kearney PM, Sullivan SO, Mongan C, Kelly E, Perry IJ. Acute coronary syndrome and chronic infection in the Cork coronary care case-control study. *Heart* 2005; 91(1): 19–22.
  25. Stöllberger C, Finsterer J. Role of infectious and immune factors in coronary and cerebrovascular arteriosclerosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9(2): 207–15.
  26. Bermudez EA, Rifai N, Buring J, Manson JE, Ridker PM. Interrelationships among circulating interleukin-6, C-reactive protein, and traditional cardiovascular risk factors in women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22(10): 1668–73.
  27. Grundy SM, Hansen B, Smith SC Jr, Cleeman JJ, Kahn RA; American Heart Association, et al. Clinical management of metabolic syndrome: report of the American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute/American Diabetes Association conference on scientific issues related to management. *Circulation* 2004; 109(4): 551–6.
  28. Kob KK, Han SH, Quon MJ. Inflammatory markers and the metabolic syndrome: insights from therapeutic interventions. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46(11): 1978–85.
  29. Libby P, Ridker P. Inflammation and atherothrombosis: From population biology and bench research to clinical practice. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 33–46.
  30. Cannon CP, McCabe CH, Wilcox RG, Bentley JH, Braunwald E. Association of white blood cell count with increased mortality in acute myocardial infarction and unstable angina pectoris. OPUS-TIMI 16 Investigators. *Am J Cardiol* 2001; 87(5): 636–9, A10.
  31. Sabatine MS, Morrow DA, Cannon CP, Murphy SA, Demopoulos LA, DiBattiste PM, et al. Relationship between baseline white blood cell count and degree of coronary artery disease and mortality in patients with acute coronary syndromes: a TACTICS-TIMI 18 (Treat Angina with Aggrastat and determine Cost of Therapy with an Invasive or Conservative Strategy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 18 trial) substudy. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40(10): 1761–8.

The paper was received on November 5, 2007.



## ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

ВОЈНОМЕДИЦИНСКА АКАДЕМИЈА

Црнотравска 17, 11040 Београд, Србија

Тел/факс: +381 11 2669689

[vmaini1@eunet.yu](mailto:vmaini1@eunet.yu)

[vmaini2@eunet.yu](mailto:vmaini2@eunet.yu)

### ПОЗИВ НА ПРЕТПЛАТУ ЗА 2008. ГОДИНУ

У прилици смо да вам понудимо претплату за 2008. годину на часопис „Војносанитетски преглед“, званични орган лекара и фармацеута Војске СЦГ.

Часопис „Војносанитетски преглед“ (ВСП) је научно-стручног карактера и објављује радове из свих области биомедицине и фармације. У ВСП-у радове равноправно објављују стручњаци из ВСЦГ, из цивилних установа и из иностранства. Штампана се на српском и енглеском језику. Претплата је обавезна за све ауторе (и коауторе) радова прихваћених за објављивање у ВСП-у.

ВСП излази већ 75 година, а непрекидно од 1944. године до сада. Данас је ВСП једини часопис у земљи који излази месечно (12 бројева), на 100–120 страна А4 формата, а повремено се објављују и тематски додаци (суплементи) на српском или енглеском језику. Путем размене или претплате ВСП се шаље у 23 земље света. Радове објављене у ВСП-у индексирају: *Index Medicus (Medline)*, *Excerpta Medica (EMBASE)*, *EBSCO* (преко ове базе ВСП је *on line* доступан од 2002. године у *pdf* формату) и *Biomedicina Serbica*. Садржаје ВСП-а објављују *Giornale di Medicina Militare* и *Revista de Medicina Militara*. Приказе оригиналних радова и изводе из садржаја објављује *International Review of the Armed Forces Medical Services*. У току наредне године ВСП треба да испуни све услове чувеног *Thompson's Institute for Scientific Information*<sup>®</sup> – *Science Citation index*<sup>®</sup> – *ISI-SCI* у Филадельфији, тј. да добије свој *Impact factor* уласком у *Current Contents*.

Годишња претплата за 2008. годину износи: 3 000 динара за грађане СЦГ, 6 000 динара за установе СЦГ и 9 000 динара (100 €) за стране држављане и установе. 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** или на девизни рачун код Народне банке број: **54104-ознака валуте-549**. Уплатницу (доказ о уплати) доставити лично или поштом (писмом, факсом, *e-mail*-ом) на адресу: Војносанитетски преглед, Црнотравска 17, 11000 Београд; тел/факс: 011 2669689, *e-mail*: [vmaini1@eunet.yu](mailto:vmaini1@eunet.yu) или [vmaini2@eunet.yu](mailto:vmaini2@eunet.yu). За запослене у Војсци СЦГ омогућена је претплата у 12 месечних рата путем трајног налога, тј. „одбијањем од плате“. Попуњен и оверен образац, штампан на последњим страницама часописа, заинтересовани шаљу на адресу ВСП-а.



## Uporedna imunohistohemijska i kvantitativna analiza ćelija zapaljenskog infiltrata kod simptomatskih i asimptomatskih hroničnih periapeksnih lezija

Comparative immunohistochemical and quantitative analysis of inflammatory cells in symptomatic and asymptomatic chronic periapical lesions

Aleksandra Lukić\*, Vesna Danilović\*, Renata Petrović†

Stomatološki fakultet, \*Klinika za bolesti zuba, †Institut za histologiju i embriologiju, Beograd

### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Rezultati ranijih imunohistohemijskih studija pokazali su da su najbrojnije ćelije u hroničnim periapeksnim lezijama limfociti, plazmociti, makrofagi i neutrofilni granulociti, dok ostale ćelije, pre svega mastociti, eozinofilni granulociti i dendritske ćelije predstavljaju manje, ali funkcionalno značajne ćelijske populacije. Cilj ovog rada bio je da se korišćenjem relevantne imunohistohemijske metode determiniše fenotipski profil ćelija zapaljenskog infiltrata dentalnih granuloma, kao i da se odrede razlike u kvantitativnim odnosima i distribuciji ćelija između simptomatskih i asimptomatskih hroničnih periapeksnih lezija. **Metode.** Materijal za analizu dobijen je od 42 bolesnika sa kliničkom i radiografskom dijagnozom hronične periapeksne lezije. Tkivo je uzeto tokom periradikalne hirurške intervencije ili ekstrakcije zuba. Metoda primenjena na smrznutim isečcima bila je alkalna fosfataza-antialkalna fosfataza (APAAP). Korišćen je panel monoklonskih antitela: CD3, CD4, CD8, CD19, CD38, CD14, CD1a, CD83, CD80, CD86, CD45 i CD123. **Rezultati.** Rezultati analize pokazali su da nije postojalo homogeno područje zapaljenja, predodređeno da bude infiltrisano određenim tipom zapaljenskih ćelija. Utvrdili smo da su najbrojnije ćelije zapaljenskog infiltrata bili limfociti i plazmociti, zatim CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> i CD14<sup>+</sup>, dok je broj CD80<sup>+</sup>, CD86<sup>+</sup> i CD83<sup>+</sup> i CD1a<sup>+</sup> ćelija bio znatno manji. Srednje vrednosti broja zapaljenskih ćelija nisu pokazivale statistički značajne razlike između grupe simptomatskih i asimptomatskih periapeksnih lezija, osim CD86<sup>+</sup> ćelija, čiji je broj bio statistički značajno veći u grupi simptomatskih lezija. **Zaključak.** Među ćelijama zapaljenskog infiltrata u dentalnim granulomima dominiraju T i B limfociti. To ukazuje na kompleksnost imunopatogenetskih zbivanja u inicijalnoj fazi i progresiji dentalnih granuloma u koje su uključeni mehanizmi celularnog i humoralnog imuniteta. U pogledu kvantitativne zastupljenosti imunokompetentnih ćelija u simptomatskim i asimptomatskim lezijama nije ustanovljena statistički značajna razlika, osim u pogledu zrelih dendritskih ćelija koje su bile zastupljenije kod simptomatskih lezija.

### Ključne reči:

periapeksni granulom; imunohistohemija; evaluaciona studija.

### Abstract

**Background/Aim.** It has been demonstrated that lymphocytes, plasma cells, macrophages and neutrophil granulocytes represent the predominant cells of the inflammatory lesion of the dental granulomas. Other cells, such as mast cells, eosinophils, dendritic cells comprise minor, but functionally important cell populations. Most of the data considering cells that take part in these processes have been derived from immunohistological studies. This study was undertaken with the aim to determine the phenotype profile of inflammatory cells of dental granulomas using immunohistochemical method in order to study the differences of their quantitative properties and distribution between symptomatic and asymptomatic lesions. **Methods.** The material for the analysis originated from 42 individuals with clinic and radiographic diagnosis of chronic periapical lesions. The tissue was taken either during the periradicular surgery, or tooth extraction. Cryostat tissue sections were stained using the alkaline phosphatase-antialkaline phosphatase assay (APAAP). This method is highly valid and sensitive using a panel of specific monoclonal antibodies: CD3, CD4, CD8, CD19, CD38, CD14, CD1a, CD83, CD80, CD86, CD45 and CD123. **Results.** The composition of the cell population revealed that there was no homogenous and site-specific pattern of the distribution of inflammatory cells. The results of our investigation revealed that the majority of inflammatory cells comprised lymphocytes and plasma cells, followed by subpopulations CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> and CD14<sup>+</sup> cells. Much lower in number were CD80<sup>+</sup>, CD86<sup>+</sup> and CD83<sup>+</sup> and CD1a<sup>+</sup> cells. There were no statistically significant differences in mean values of inflammatory cells number between symptomatic and asymptomatic lesions, with the exception of CD86<sup>+</sup> cells, the number of which was statistically higher in symptomatic lesions. **Conclusion.** Inflammatory infiltrate cells in dental granulomas are dominated by T- and B-lymphocytes. It points out the complexity of immunopathogenic events in initiating and progressing of dental granulomas that involve mechanisms of both cellular and humoral immunity. Regarding the quantitative presence of immunocompetent cells in symptomatic and asymptomatic lesions no statistically significant difference was determined unless in mature dendritic cells present in symptomatic lesions.

### Key words:

periapical granuloma; immunohistochemistry; evaluation studies.

## Uvod

Hronični periodontitis karakteriše prisustvo zapaljenske lezije koja je nastala najčešće kao posledica infekcije kanala korena. Tokom razvoja bolesti uspostavlja se dinamička ravnoteža između egzogenih štetnih noksi, najčešće bakterija i njihovih produkata i odbrambenih mehanizama domaćina<sup>1</sup>. Budući da odbrambeni mehanizmi kojima domaćin raspolaže često ne mogu da eliminišu štetnu noks u potpunosti, vremenom će se uspostaviti morfološka i funkcionalna barijera, koja će uspešno sprečavati dalju bakterijsku invaziju dubljih parodontnih tkiva<sup>2</sup>. Periradikulni granulom čini jasno inkapsulirano granulozno tkivo, infiltrirano zapaljenskim ćelijama, fibroblastima, malim krvnim sudovima, a često i trakama inflamiranog epitelnog tkiva<sup>3</sup>. Na osnovu patohistoloških kriterijuma, dentalni granulomi mogu biti klasifikovani kao ekzudativni, granulomatozni, granulomatozno-fibrozni i nekrotični<sup>4</sup>. Većina podataka o ćelijama zapaljenskog infiltrata potiče iz prethodnih imunohistohemijskih studija<sup>5-8</sup>. Rezultati ovih studija pokazali su da limfociti, plazmociti, makrofagi i neutrofilni granulociti predstavljaju predominantne ćelije u zapaljenskom infiltratu. Ostale ćelije, naročito mastociti, eozinofilni granulociti, dendritske ćelije i *natural killer* (NK) limfociti prisutne su u manjem broju, ali predstavljaju funkcionalno važne ćelijske populacije<sup>9,10</sup>. Rezultati prethodnih studija koji se odnose na broj, međusobni odnos i distribuciju inflamacijskih ćelija razlikuju se u velikoj meri, što se može posmatrati u svetlu velikog polimorfizma osnovnih histoloških karakteristika periapeksnih granuloma, koji je posledica različite dužine razvoja procesa i specifičnosti odbrambenog odgovora domaćina. Uloga ćelija zapaljenskog infiltrata i njihovih produkata, posebno citokina u imunopatogenezi periapeksnih lezija u velikoj meri je još uvek nejasna<sup>7</sup>.

Cilj ovog rada bio je da se pomoću relevantnih imunohistohemijskih metoda utvrde razlike u fenotipskom profilu ćelija zapaljenskog infiltrata, njihove brojčane zastupljenosti i distribucije između simptomatskih i asimptomatskih hroničnih inflamacijskih lezija kod dentalnih granuloma.

## Metode

Materijal za analizu dobijen je od 42 bolesnika, oba pola, starosti 18–56 godina, sa kliničkom i radiografskom dijagnozom hronične periapeksne lezije. Izabrani bolesnici nisu imali sistemsko oboljenje koje bi moglo imati uticaja na razvoj periapeksne lezije, niti su u poslednja tri meseca primali antibiotsku terapiju. Kod 23 bolesnika bolest se razvijala asimptomatski, dok su kod 19 bolesnika bili prisutni određeni klinički simptomi u smislu bola i osetljivosti zuba na zagrižaj i perkusiju, lokalnog otoka, fistule i supuracije, kao i umerenog lokalnog limfadenita. U skladu sa prisutnim kliničkim nalazom uzorci su podeljeni na hronične asimptomatske i hronične simptomatske. Tkivo za analizu dobijeno je prilikom ekstrakcije zuba (19) ili apikotomije (23 uzorka), koje su bile indikovane u cilju terapije periapeksne lezije.

Tkivo je odmah postavljeno u transportni medijum koji se sastojao od RPMI 1640 medijuma (Sigma, Munich, Germany), antibiotika i antifungicida i smrznuto u tečnom

azotu na temperaturi  $-70^{\circ}\text{C}$ . Tkivo je fiksirano u hladnom acetonu na temperaturi  $-20^{\circ}\text{C}$  u trajanju 10 min, osušeno na sobnoj temperaturi i sečeno pomoću mikrotoma, pri čemu su dobijeni iseći debljine  $5\ \mu\text{m}$ . Na fiksirane preparate naneto je primarno monoklonsko antitelo (mAb) – 20% inaktivisani kuničev serum u odgovarajućem razblaženju u *Tris-buffered saline* (TBS)  $\text{pH} = 7,6$ . Nakon toga, preparati su isprani u TBS i inkubirani sa kunič anti-mišijim imunoglobulinom (Ig) (DAKO LTD Glostrup, Denmark) u prisustvu 10% humanog AB seruma, prethodno inaktivisanog na  $56^{\circ}\text{C}$  u toku 45 minuta. Preparati su zatim isprani u TBS i inkubirani 30 minuta u rastvoru alkalna fosfatasa-antialkalna fosfatasa (APAAP, DAKO LTD Glostrup, Denmark), razblaženim 1 : 50 u TBS. Po isteku inkubacije i ispiranja, preparatima je, u trajanju od 20 minuta, dodat supstrat alkalne fosfatase (*Fast Red Substrate System*, DAKO A/S Denmark). U završnoj fazi tehnike, preparati su isprani od supstrata u destilovanoj vodi ili TBS i kontrastirani nekoliko sekundi sa hematoksilinom (Alaun Hg hematoksilin, Apoteka VMA) koji je razblažen 1 : 3 u destilovanoj vodi. Posle kontrastiranja preparati su isprani u tekućoj vodi i montirani u Kajzer gelu.

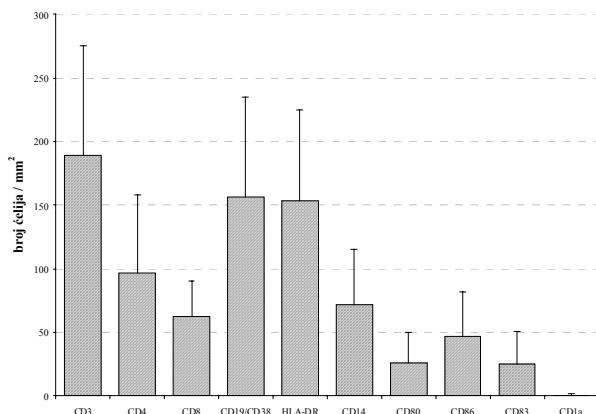
Kriostatski preseći periapeksnih lezija obojeni su monoklonskim antitelima (mAb) specifičnim za ukupne T limfocite (CD3), ukupne B limfocite i plazma ćelije (kombinacija CD19 i CD38) subpopulacije T limfocita (CD4 i CD8), monocite/makrofage (CD14) i MHC molekule II klase ispoljenih na antigen prezentujućim ćelijama (APC). Za identifikaciju subpopulacija dendritskih ćelija (DC) korišćena su monoklonska antitela prema CD1a antigenu (marker Langerhansovog tipa DC) i CD83 (marker zrelih DC). Antitelima prema CD80 i CD86 identifikovane su APC koje ispoljavaju kostimulatorne molekule. Korišćena mAb CD45, CD3, CD19, CD14, CD123, CD83 bila su obeležena *fluorescein isothiocyanatom* (FITC), dok je HLA-DR mAb konjugovano *phycoerythrinom* (Serotec, Oxford, UK). Antitelo CD1a -FITC bilo je poreklom iz Caltag Laboratorije; CD45, CD3, CD19, CD14 su ankonjugovana mAbs poreklom iz DAKO, Denmark, dok je CD123 ankonjugovano mAbs bilo od RD Systems. Zečiji anti-mišiji Ig ankonjugovan i peroksidaza – konjugovana antitela, kao i alkalna fosfatasa anti alkalna fosfatasa (APAAP) bili su dobavljeni iz firme DAKO, dok je streptavidin – alkalna fosfatasa dobavljena iz firme Serotec.

Ovako pripremljeni preparati analizirani su svetlosnim mikroskopom Laica, Germany. Stereološka analiza napravljena je pomoću Weiblovog mnogonamenskog testnog sistema. Broj imunopozitivnih ćelija izražavan je u odnosu na ukupan broj inflamacijskih ćelija. Brojanje ćelija izvršeno je u 10 različitih vidnih polja, pri uveličanju  $100\times$ , na reprezentativnom isečku svakog uzorka<sup>11</sup>.

Dobijeni rezultati obrađeni su pomoću relevantnih statističkih metoda, koje su uključivale izračunavanje srednje vrednosti, standardne greške i standardne devijacije. Komparacija dobijenih rezultata izvršena je upotrebom Studentovog *t* testa za male uzorke. Razlike predstavljene sa  $p < 0,05$  nisu smatrane značajnim. Korelacija između gustine ćelija zapaljenskog infiltrata izražena je pomoću Spearmanovog koeficijenta korelacije (*r*).

## Rezultati

Histološkom analizom isečaka obojenih hematoksilin-eozinom (HE) utvrdili smo da su sve analizirane zapaljenske lezije bile hroničnog, granulomatoznog tipa. Utvrdili smo da su najbrojnije ćelije zapaljenskog infiltrata u svim analiziranim uzorcima bile mononuklearne ćelije, organizovane u obliku difuznih infiltrata ili fokalnih agregata. U 11 ispitivanih uzoraka uočili smo trake proliferišućeg epitela. Rezultati kvantitativne analize prikazani su na slici 1.



**Sl. 1 – Rezultati fenotipske analize inflamacijskih ćelija u periapiksnim lezijama. Stubići predstavljaju srednji broj ćelija/mm<sup>2</sup> preseka tkiva ±SD za periapiksne lezije**

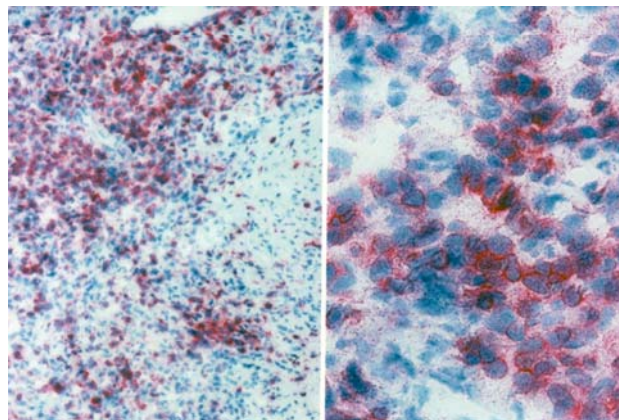
Uočava se da dominantnu populaciju inflamacijskih ćelija čine T limfociti, B limfociti / plazmociti, nakon toga subpopulacije CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> i CD14<sup>+</sup> ćelija, a zatim po broju slede ćelije koje ispoljavaju CD80<sup>+</sup>, CD86<sup>+</sup> i CD83<sup>+</sup>. Broj CD1a<sup>+</sup> ćelija bio je najmanji.

### *Rezultati kvantitativne analize i distribucije ćelija zapaljenskog infiltrata u periapiksnoj leziji*

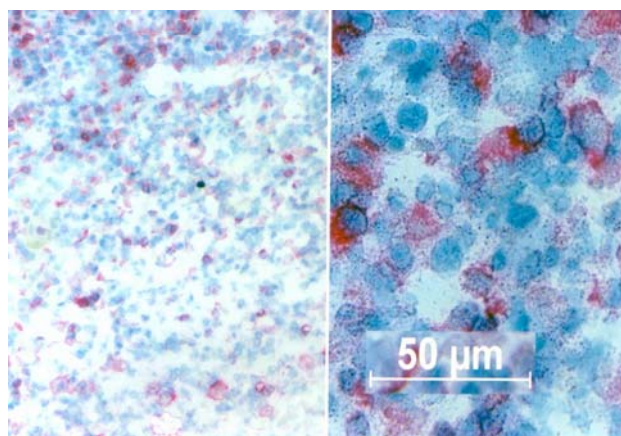
Rezultati kvantitativne analize pokazali su da su CD3<sup>+</sup> ćelije (T limfociti) činile najbrojniju populaciju inflamacijskih ćelija u svim ispitivanim uzorcima, sa prosečno 189,0±86,6 ćelija po mm<sup>2</sup> tkiva. Analizom preparata ustanovili smo da su T limfociti u najvećem broju uzoraka bili difuzno raspoređeni po čitavom preseku tkiva, dok je kod jednog manjeg broja uzoraka uočena fokalna distribucija u obliku limfnih agregata. Broj T limfocita bio je znatno veći u fokalnim nego difuznim infiltratima. Uočili smo da u pojedinim manjim fokalnim infiltratima, koji su bili raspoređeni u blizini krvnih sudova sa visokim endotelom, CD3<sup>+</sup> su činili preko 90% ćelijskog infiltrata. Pojedinačne CD3<sup>+</sup> ćelije bile su prisutne i unutar proliferišućeg epitela, najčešće između epitelnih ćelija (slika 2).

Rezultati naših istraživanja pokazali su da je raspored CD4<sup>+</sup> ćelija bio sličan rasporedu CD3<sup>+</sup> ćelija, ali je njihov broj bio znatno manji i iznosio je 96,5±61,6 ćelija/mm<sup>2</sup> tkiva. Međutim, za razliku od tipične limfocitne morfologije CD3<sup>+</sup> ćelija, izvestan broj CD4<sup>+</sup> ćelija imao je karakteristike izduženih, vretenastih ili zvezdastih ćelija koje po svojim morfološkim

odlikama podsećaju na dendritske ćelije (DC). Ovakve ćelije bile su najčešće lokalizovane u blizini proliferišućeg epitela, organizovane u obliku limfnih agregata ili difuzno rasute u tkivu. Takođe, neke CD4<sup>+</sup> ćelije bile su krupnije u odnosu na tipične limfocite i po izgledu su podsećale ili na limfoblaste, monocitima slične ćelije ili na makrofage (slika 3).



**Sl. 2 – Fokalni infiltrati CD3<sup>+</sup> ćelija u blizini proliferišućeg epitela (HE, × 100)**

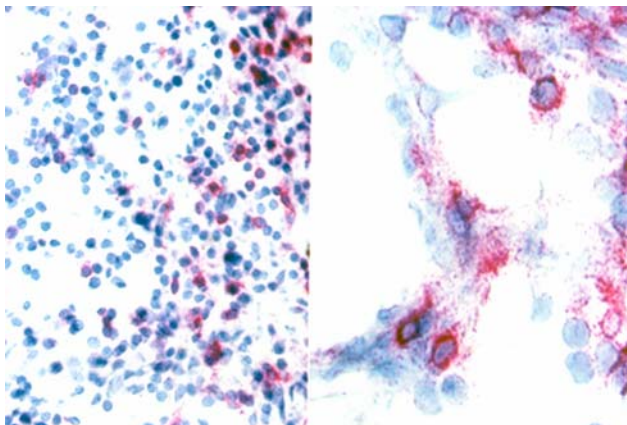


**Sl. 3 – Ćelije CD4<sup>+</sup> u zapaljenskom infiltratu hronične periapiksne lezije (HE, × 100)**

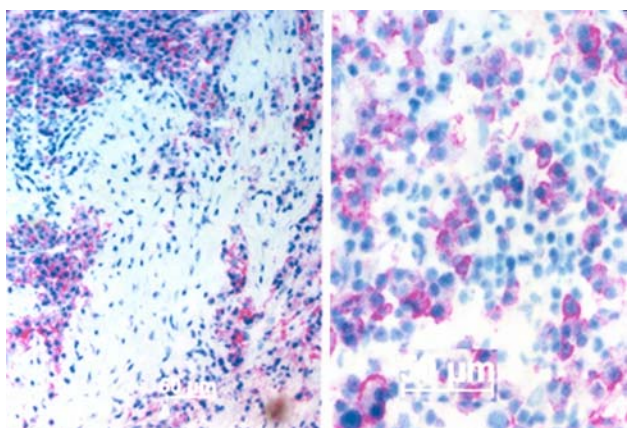
Kvantitativnom analizom uočili smo da je broj CD8<sup>+</sup> ćelija bio znatno manji u odnosu na CD3<sup>+</sup> i CD4<sup>+</sup> i iznosio je u proseku 62,2±28,2 ćelija/mm<sup>2</sup> tkiva. Za razliku od CD4<sup>+</sup> koje su uglavnom bile organizovane u obliku limfnih agregata, CD8<sup>+</sup> ćelije bile su najčešće difuzno raspoređene u vezivnom tkivu zapaljenske lezije. Kod manjeg broja uzoraka uočili smo da su CD8<sup>+</sup> limfociti bili raspoređeni u grupama u perifernim područjima B limfocitnih/plazmocitnih infiltrata. Ćelije CD8<sup>+</sup> bile su posebno brojne u nekim lezijama sa proliferišućim epitelom, uključujući i njihovu intraepitelnu lokalizaciju (slika 4).

Za identifikaciju B limfocita i njihovih efektoru korišćena je kombinacija anti-CD19/CD38 antitela. Analizom isečaka ustanovili smo da su B limfociti i plazmociti bili prisutni u svim ispitivanim lezijama, ali postojale su značajne varijacije u broju ćelija između različitih uzoraka. U najvećem broju uzoraka, B limfociti bili su organizovani u obliku ćelij-

skih agregata, dok je kod manjeg broja uzoraka uočena njihova difuzna distribucija. Neki limfoidni agregati, koji su imali izgled folikula, bili su preko 90% sastavljeni od plazmocita i plazmoblasta (krupne ćelije ekscentrično postavljene jezdra intenzivne membranske pozitivnosti) (slika 5). Prosečan broj  $CD19^+/CD38^+$  ćelija bio je  $156,1 \pm 79,0$  ćelija/ $mm^2$  preseka tkiva.



Sl. 4 – Ćelije  $CD8^+$  u zapaljenskom infiltratu hronične periapske lezije (HE,  $\times 100$ )



Sl. 5 – Ćelija  $CD19^+/38^+$  u zapaljenskom infiltratu hronične periapske lezije (HE,  $\times 100$ )

Ćelije  $HLA-DR^+$  (APC) činile su veoma brojnu populaciju infiltrišućih ćelija, ali i značajnu komponentnu tkivne strome u svim ispitivanim uzorcima. Raspored pozitivnih ćelija bio je difuzni ili u obliku fokalnih agregata. Prosečan broj APC bio je  $153,4 \pm 71,6$  ćelija/ $mm^2$  tkiva. U agregatima  $HLA-DR^+$  ćelije imale su izgled limfocita ili makrofaga sa velikim brojem kraćih ili dužih dendritskih nastavaka (morfologija dendritskih ćelija). Ove druge bile su krupnije i pokazivale su jaku pozitivnost. U granulomima sa proliferišućim epitelom bile su zapažene  $HLA-DR^+$  ćelije unutar epitela (Langerhasov tip dendritskih ćelija), ali i u tkivu između epitelnih traka.

Ćelije  $CD14^+$  činile su značajnu populaciju infiltrišućih ćelija u svim ispitivanim lezijama. Prosečan broj iznosio je  $71,6 \pm 43,9$  ćelija/ $mm^2$  preseka tkiva. Uočili smo podjednak

broj fokalnih i difuznih infiltrata. Najveći broj ćelija imao je karakteristike krupnih monojedarnih ćelija izgleda monocita/makrofaga. Međutim, u difuznim ćelijskim infiltratima bile su zapažene i ćelije izduženog fibroblastoidnog izgleda. Na nekim tkivnim presecima blaga pozitivnost identifikovana je i na nekim endotelnim ćelijama.

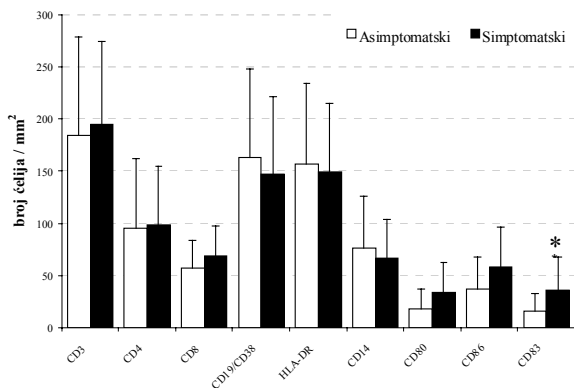
Analizom ekspresije  $CD80$  i  $CD86$  markera identifikovane su APC koje ispoljavaju kostimulatorne molekule. Njihova ekspresija značajno je varirala ne samo između različitih lezija, već i na presecima u okviru individualnih lezija. Broj  $CD80^+$  ćelija iznosio je u proseku  $25,5 \pm 24,6$  ćelija/ $mm^2$  tkiva, dok je broj  $CD86^+$  ćelija bio nešto veći i u proseku iznosio  $46,3 \pm 35,3$  ćelija/ $mm^2$  tkiva. Distribucija pozitivnih ćelija uglavnom je bila difuzna, ali su se uočavali i manje grupe pozitivnih ćelija, uglavnom u limfoidnim agregatima. Jako pozitivne ćelije su najčešće posedovale morfološke karakteristike dendritskih ćelija.

Broj  $CD83^+$  ćelija značajno je varirao od skoro jedva detektabilne pozitivnosti ( $1-2$  ćelije/ $mm^2$  tkiva), pa do maksimalnog broja od  $80-90$  ćelija/ $mm^2$  tkiva. U proseku, broj  $CD83^+$  ćelija iznosio je  $25,0 \pm 26,0$  ćelija/ $mm^2$  tkiva i bio je sličan broju  $CD80^+$  ćelija. Ćelije  $CD83^+$  bile su najzastupljenije u fokalnim limfocitnim infiltratima. Uočili smo da je broj  $CD83^+$  ćelija bio značajno veći kod simptomatskih nego kod asimptomatskih periapskih lezija. Najveći broj ćelija bio je izduženog ili zvezdastog izgleda, i posedovao je morfološke karakteristike dendritskih ćelija. Serijski preseki bojeni sa  $HLA-DR$  i  $CD83$  pokazali su visok stepen korelacije ova dva ćelijska tipa, tako da je najveći broj  $CD83^+$  ćelija bio prisutan u zonama u kojima su dominirale jako pozitivne  $HLA-DR$  ćelije. U nekim simptomatskim lezijama u kojima su identifikovane fokalne nakupine granulocita zapažena je i slabija pozitivnost granulocita. Međutim, ove ćelije nisu obuhvaćene analizom. Takođe, neke endotelne ćelije postkapilarnih venula bile su slabo  $CD83$  pozitivne.

Ćelije  $CD1a^+$  pokazivale su tipičnu intraepitelnu lokalizaciju. Na ispitivanim uzorcima njihova gustina varirala je od jedva detektabilne do nekoliko  $CD1a^+$  ćelija na 100 epitelnih ćelija. Po svojim morfološkim karakteristikama (izdužene ili zvezdaste ćelije) pripadale su tipičnim Langerhansovim ćelijama. Serijski preseki bojeni sa  $HLA-DR$  i  $CD1a$  su jasno pokazivali da su  $CD1a^+$  ćelije istovremeno  $HLA-DR^+$ . Samo retke  $CD1a^+$  pozitivne ćelije identifikovane su u tkivu van epitela (najčešće u blizini epitelnih struktura). Najveći broj periapskih lezija bez epitela nije sadržavao  $CD1a^+$  ćelije.

#### *Poređenje rezultata fenotipske analize između simptomatskih i asimptomatskih lezija*

Rezultati uporedne fenotipske analize inflamacijskih ćelija u simptomatskim ( $n = 19$ ) i asimptomatskim lezijama ( $n = 23$ ) prikazani su na slici 6. Zapažaju se značajne varijacije u broju svih ispitivanih subpopulacija inflamacijskih ćelija u obe grupe lezija, ali su srednje vrednosti vrlo slične tako da za najveći broj markera razlike nisu statistički značajne. Jedina razlika nađena je u zastupljenosti  $CD83^+$  ćelija čija je brojnost bila veća u grupi simptomatskih lezija ( $p < 0,05$ ).



Sl. 6 – Usporedna fenotipska analiza inflamacijskih ćelija između simptomatskih i asimptomatskih lezija  
\* < 0,05 u odnosu na asimptomatske lezije

### Diskusija

Prikazana studija usmerena je na razlike u fenotipskom profilu ćelija zapaljenskog infiltrata hroničnih periapeksnih lezija, njihovih kvantitativnih odnosa i distribucije između simptomatskih i asimptomatskih hroničnih periapeksnih lezija. Primljena imunohistohemijska metoda, APAAP, predstavlja osetljivu i pouzdanu metodu i pogodna je za identifikaciju imunokompetentnih ćelija u zapaljenskoj leziji<sup>12,13</sup>. Rezultati studije pokazali su visok stepen heterogenosti zapaljenskih infiltrata, kao i stalnu sklonost ka promeni njihovog sastava i strukture, što se dovodi u vezu sa progresijom bolesti. Takođe, utvrdili smo da ne postoje homogena područja zapaljenja predodređena da budu infiltrisana određenom vrstom ćelija. Rezultati naše studije pokazali su da CD3<sup>+</sup> predstavljaju najbrojniju ćelijsku populaciju u najvećem broju ispitivanih uzoraka, bez statističke razlike između simptomatskih i asimptomatskih lezija, što je u skladu sa podacima Liapataša i sar.<sup>7</sup>, kao i rezultatima naših ranijih studija koje su pokazale predominaciju T limfocita u odnosu na B limfocite<sup>14,15</sup>. Ovakav nalaz ukazuje da mehanizmi kojima ćelularni imunitet raspoložuje imaju ključnu ulogu u hroničnim zapaljenskim reakcijama koje se odvijaju kod periapeksnih lezija<sup>16,17</sup>.

Odnos između CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> ćelija indikator je imunoregulatornog statusa domaćina i menja se tokom razvoja hronične inflamacijske lezije<sup>7</sup>. Rezultati naše studije pokazali su da je srednja vrednost CD4<sup>+</sup> ćelija iznosila 96,5±61,6 ćelija/mm<sup>2</sup> tkiva, dok je srednja vrednost CD8<sup>+</sup> ćelija iznosila 62,2±28,2 ćelija/mm<sup>2</sup> tkiva. Rezultati ranijih studija pokazali su da u ranim fazama razvoja dentalnih granuloma postoji dominacija CD4<sup>+</sup> ćelija u odnosu na CD8<sup>+</sup> ćelije, kao i da postoji tendencija da tokom razvoja bolesti dođe do inverzije tog odnosa<sup>18</sup>. Ovi rezultati ukazuju da je prisustvo CD4<sup>+</sup> ćelija povezano sa progresijom inflamacijske lezije i destrukcijom kosti koja karakteriše rane faze bolesti, dok je nalaz CD8<sup>+</sup> ćelija povezan sa stabilizacijom hronične inflamacijske lezije, što se dovodi u vezu sa imunosupresivnim efektima koje ove ćelije ispoljavaju. Rodini i Lara<sup>6</sup> povezuju odnos između CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> ćelija sa tipom hronične periapeksne lezije. Oni su u svojoj studiji pokazali razliku u strukturi ćelija zapaljenskog infiltrata između

periradikalnih cista i dentalnih granuloma, i ukazali na značajno veći broj CD4<sup>+</sup> u cistama nego u dentalnim granulomima. Akamine i sar.<sup>19</sup> u svojoj studiji pokazali su da u inicijalnim fazama razvoja bolesti postoji dominacija T limfocita, dok kod manifestne periapeksne lezije postoji dominacija B limfocita, ukazujući da reakcije humoralnog imuniteta imaju ključnu ulogu u kasnijim fazama razvoja bolesti, koje karakteriše tendencija ka stabilizaciji. Rezultati naše studije pokazali su da nije postojala statistička značajnost u broju CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> ćelija između simptomatskih i asimptomatskih lezija.

Rezultati naše studije pokazali su da je broj makrofaga bio veći u simptomatskim, nego u asimptomatskim lezijama, ali bez statističke značajnosti. Ovakav nalaz u saglasnosti je sa rezultatima naših ranijih studija, koje su pokazale da se broj makrofaga kretao od 15% do 30% u odnosu na ukupan broj zapaljenskih ćelija, i da je 40–70% ovih ćelija bilo aktivisano (HLA-DR<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>), kao i da je broj ovih ćelija bio značajno veći u lezijama u kojima su dominirali T limfociti u odnosu na B limfocite<sup>15</sup>. Metzger<sup>20</sup> u svojoj studiji ukazao je da aktivisani makrofagi predstavljaju izvor citokina odgovornih za resorpciju kosti. Rezultati ranijih studija pokazali su da se kod eksperimentalnih životinja sa odstranjenim timusom, hronični periodontit razvija nezavisno od T limfocita, sugerišući ključnu ulogu makrofaga u inicijaciji i progresiji ove bolesti. Ma i sar.<sup>21</sup> u svom radu pokazali su da je prisustvo makrofaga izuzetno važno u zaštitnim reakcijama tokom inicijacije, progresije i akutne egzacerbacije hronične zapaljenske lezije. Oni predstavljaju ćelije prve linije odbrane, učestvujući u fagocitozi, sekreciji prostaglandina, enzima i citokina. Pojedini citokini, posebno IL-1 i TNF- $\alpha$  doprinose resorpciji kosti i ispoljavaju inhibitorne efekte u odnosu na reparativne procese u apikalnom parodonticijumu<sup>9</sup>. Makrofagi, takođe, ispoljavaju antigen-predstavljajuću ulogu i imaju značaja u inicijaciji imunskih reakcija<sup>22</sup>.

Rezultati naše analize imunokompetentnih ćelija pokazali su da je broj HLA-DR<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup> i CD1a bio značajno veći u lezijama u kojima je uočeno prisustvo proliferišućeg, inflamacijskog epitela. Stiče se utisak da je distribucija Langerhansovih ćelija u vezi sa proliferacijom i stepenom diferencijacije epitelnog tkiva, prisutnog u periapeksnoj leziji, što je u saglasnosti sa nalazima drugih autora<sup>23</sup>. Cury i sar.<sup>24</sup> u svojoj studiji pokazali su da promene u strukturi epitelnog tkiva mogu imati uticaja na razvoj zapaljenske lezije u apikalnom parodonticijumu.

### Zaključak

Rezultati naših istraživanja potvrdili su da među ćelijama zapaljenskog infiltrata u dentalnim granulomima dominiraju T i B limfociti i makrofagi. Ovakav nalaz upućuje na kompleksnost imunopatogenetskih zbivanja u inicijaciji i progresiji dentalnih granuloma u koja su uključeni mehanizmi kako ćelularnog, tako i humoralnog imuniteta. Usporedna analiza kvantitativne zastupljenosti imunokompetentnih ćelija u simptomatskim i asimptomatskim lezijama pokazala je da između ove dve grupe ne postoje statistički značajne razlike, osim u pogledu zrelih dendritskih ćelija, čiji je broj bio signifikantno veći kod simptomatskih lezija, ukazujući na značaj ovih ćelija u inicijaciji i progresiji periapeksnih lezija.



## L I T E R A T U R A

1. *Kiss C.* Cell-to-cell interactions. *Endodontic Topics* 2004; 8(1): 88–103.
2. *Nair PN.* Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontol* 2000 1997; 13: 121–48.
3. *Nair PN.* Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; 15(6): 348–81.
4. *Ramachandran Nair PN, Pajarola G, Schroeder HE.* Types and incidence of human periapical lesions obtained with extracted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; 81(1): 93–102.
5. *Piattelli A, Artese L, Rosini S, Quaranta M, Musiani P.* Immune cells in periapical granuloma: morphological and immunohistochemical characterization. *J Endod* 1991; 17(1): 26–9.
6. *Rodini CO, Lara VS.* Study of the expression of CD68+ macrophages and CD8+ T cells in human granulomas and periapical cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 92(2): 221–7.
7. *Liapatas S, Nakou M, Rontogianni D.* Inflammatory infiltrate of chronic periradicular lesions: an immunohistochemical study. *Int Endod J* 2003; 36(7): 464–71.
8. *de Oliveira Rodini C, Batista AC, Lara VS.* Comparative immunohistochemical study of the presence of mast cells in apical granulomas and periapical cysts: possible role of mast cells in the course of human periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97(1): 59–63.
9. *Márton IJ, Kiss C.* Protective and destructive immune reactions in apical periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 2000; 15(3): 139–50.
10. *Kaneke T, Okiji T, Kan L, Takagi M, Suda H.* Ultrastructural analysis of MHC class II molecule-expressing cells in experimentally induced periapical lesions in the rat. *J Endod* 2001; 27(5): 337–42.
11. *Alavi AM, Gulabivala K, Speight PM.* Quantitative analysis of lymphocytes and their subsets in periapical lesions. *Int Endod J* 1998; 31(4): 233–41.
12. *Tani N, Osada T, Watanabe Y, Umemoto T.* Comparative immunohistochemical identification and relative distribution of immunocompetent cells in sections of frozen or formalin-fixed tissue from human periapical inflammatory lesions. *Endod Dent Traumatol* 1992; 8(4): 163–9.
13. *Tani-Ishii N, Osada T, Watanabe Y, Umemoto T.* Histological findings of human leprosy periapical granulomas. *J Endod* 1996; 22(3): 120–2.
14. *Lukić A, Arsenijević N, Vujanović G, Ramić Z.* Quantitative analysis of the immunocompetent cells in periapical granuloma: correlation with the histological characteristics of the lesions. *J Endod* 1990; 16(3): 119–22.
15. *Lukić A, Vasilijević S, Majstorović I, Vučević D, Mojsilović S, Gaživoda D, et al.* Characterization of antigen-presenting cells in human apical periodontitis lesions by flow cytometry and immunocytochemistry. *Int Endod J* 2006; 39(8): 626–36.
16. *Nilsen R, Johannessen AC, Skaug N, Matre R.* In situ characterization of mononuclear cells in human dental periapical inflammatory lesions using monoclonal antibodies. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1984; 58(2): 160–5.
17. *Torabinejad M, Kettering JD.* Identification and relative concentration of B and T lymphocytes in human chronic periapical lesions. *J Endod* 1985; 11(3): 122–5.
18. *Stasbenko P, Yu SM, Wang CY.* Kinetics of immune cell and bone resorptive responses to endodontic infections. *J Endod* 1992; 18(9): 422–6.
19. *Akamine A, Hashiguchi I, Toriya Y, Maeda K.* Immunohistochemical examination on the localization of macrophages and plasma cells in induced rat periapical lesions. *Endod Dent Traumatol* 1994; 10(3): 121–8.
20. *Metzger Z.* Macrophages in periapical lesions. *Endod Dent Traumatol* 2000; 16(1): 1–8.
21. *Ma J, Chen T, Mandelin J, Ceponis A, Miller NE, Hukkanen M, et al.* Regulation of macrophage activation. *Cell Mol Life Sci* 2003; 60(11): 2334–46.
22. *Suzuki N, Okiji T, Suda H.* Enhanced expression of activation-associated molecules on macrophages of heterogeneous populations in expanding periapical lesions in rat molars. *Arch Oral Biol* 1999; 44(1): 67–79.
23. *Suzuki T, Kumamoto H, Ooya K, Motegi K.* Immunohistochemical analysis of CD1a-labeled Langerhans cells in human dental periapical inflammatory lesions – correlation with inflammatory cells and epithelial cells. *Oral Dis* 2001; 7(6): 336–43.
24. *Cury VC, Sette PS, da Silva JV, de Araújo VC, Gomez RS.* Immunohistochemical study of apical periodontal cysts. *J Endod* 1998; 24(1): 36–7.

Rad je primljen 26. XI 2007.

## Zahvalnica:

Autori se zahvaljuju akedmiku prof. dr Miodragu Čoliću i njegovim saradnicima iz Instituta za medicinska istraživanja VMA na pomoći u imunohistohemijskim analizama preparata. Ova istraživanja su deo projekta koji je finansiralo Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj.



## Učestalost i faktori rizika od upotrebe psihoaktivnih supstancija kod mladih

### Frequency and risk factors of the use of psychoactive substances among the young

Zorana Pavlović\*, Branko Jakovljević†

Klinički centar Srbije, \*Institut za psihijatriju, Beograd;  
Medicinski fakultet, †Institut za higijenu i medicinsku ekologiju, Beograd

#### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Socijalne i ekonomske promene nastale nakon raspada bivše Jugoslavije imale su za posledicu pojavu socijalne patologije, a jedna od njih je porast upotrebe psihoaktivnih supstancija. U našoj zemlji do sada nije sprovedena sveobuhvatna epidemiološka studija istraživanja upotrebe psihoaktivnih supstancija. Cilj ovog rada bio je utvrđivanje vrste i obrasca upotrebe psihoaktivnih supstancija prema polu i školskom uzrastu, kao i faktora rizika od upotrebe psihoaktivnih supstancija kod dece i adolescenata. **Metode.** Istraživanje je sprovedeno među 1 011 učenika osnovnih (sedmi i osmi razred) i srednjih (sva četiri razreda) škola u Beogradu, u periodu oktobar 2003. – januar 2004. godine. Bilo je obuhvaćeno 457 (45,2%) učenika osnovnih i 554 (54,8%) učenika srednjih škola, muškog pola 524 (51,8%), ženskog pola 487 (48,2%), prosečne starosti 15,3 godine. Instrument istraživanja bio je Upitnik evropskog projekta istraživanja upotrebe alkohola i ostalih psihoaktivnih supstancija. U statističkoj obradi podataka korišćeni su  $\chi^2$  test, Mann-Whitney test, Studentov *t* test i test multivarijantne logističke regresije. **Rezultati.** Psihoaktivne supstancije probalo je 14,2% učenika osnovnih i srednjih škola. Najčešća psihoaktivna supstancija pri prvom kontaktu bila je marihuana (10,8%), i to u 15. godini života, koju je probalo ukupno 12,7% ispitanika, zatim inhalanti (4,4%), zatim amfetamini (4,1%), sedativi (3,7%), alkohol u kombinaciji sa marihuanom (3,9%), kokain (2,8%), heroin (2,3%), alkohol sa tabletama (2,2%) i ekstazi (1,6%). Slede anabolički steroidi, heroin, dietilamid lizergične kiseline (LSD) i magične gljive. Utvrđeno je da su češći večernji izlasci, pušenje, *binge* obrazac pijenja (pet i više pića u nizu) i upotreba sintetičkih supstancija u okruženju ispitanika povezani sa češćom upotrebom psihoaktivnih supstancija. **Zaključak.** Kontakt sa psihoaktivnim supstancijama ostvarilo je 14,2% naših ispitanika, najčešće sa marihuanom, slede inhalanti, amfetamini, pa ostale psihoaktivne supstancije. Nove tendencije upotrebe psihoaktivnih supstancija karakteriše povećana upotreba sintetičkih supstancija, kombinovana upotreba više psihoaktivnih supstancija istovremeno i pomeranje starosne granice ka sve mlađem životnom uzrastu. Faktori rizika su češći večernji izlasci, pušenje, konzumiranje alkohola po *binge* obrascu i upotreba sintetičkih supstancija u okruženju. Naše istraživanje ukazuje na neophodnost sprovođenja primarne prevencije.

#### Ključne reči:

adolescenti; srbija; psihotropni lekovi; faktori rizika; populacija, epidemiološka ispitivanja.

#### Abstract

**Background/Aim.** Socio-economic changes that occurred in the wake of dismemberment of former Yugoslavia resulted in the appearance of social pathology, one of which was the increase in the use of psychoactive substances. The overwhole epidemiological research in the use of psychoactive substances has not been conducted so far. The aim of this study was to establish the type and form of the use of psychoactive substances considering sex and age, as well as risk factors for the use of psychoactive substances among the children and adolescents. **Methods.** The research was carried out among 1011 elementary school children (seventh and eighth grades) and secondary school children (all four grades) in the area of Belgrade from October 2003 to January 2004. Out of the total number 457 (45.2%) were elementary school pupils and 554 (54.8%) secondary school pupils. There were 524 (51.8%) boys and 487 (48.2%) girls, aged from 12 to 18 years (the average age being 15.3 years). The method used was the European School Survey Project on Alcohol and Other Drugs Questionnaire. Chi-square test, Mann-Whitney, Student's *t* test and Logistic Regression test were used in statistical processing of the data. **Results.** Totally 14.2% examinees tried psychoactive substances. The most frequent drug used at the first contact was marijuana (10.8%) at the age of 15 tried by 12.7% examinees, inhalants (4.4%), amphetamines (4.1%), sedatives (3.7%), alcohol combined with marijuana (3.9%), then cocaine (2.8%), heroine (2.3%), alcohol combined with sedatives (2.2%), and ecstasy (1.6%), followed by anabolic steroids, heroin, diethylamid lisergic acid (LSD) and magic mushrooms. It was determined that going out in the evening, smoking and binge form drinking were directly connected with the use of psychoactive substances. **Conclusion.** Totally 14.2% of the examinees used psychoactive substances, mostly marijuana, followed by amphetamines and others. New tendencies of use characterized by the increase in the use are of synthetic substances, simultaneous use of more psychoactive substances and younger age. The risk factors are going out in the evening, smoking, binge drinking and use of synthetic substances among peers. Our research indicates the necessity of primary prevention.

#### Key words:

adolescent; yugoslavia; psychotropic drugs; risk factors; population groups.

## Uvod

Socijalne i ekonomske promene nastale nakon raspada bivše Jugoslavije imale su za posledicu pojavu socijalne patologije, a jedna od njih je i porast upotrebe psihoaktivnih supstancija (PAS).

Tendencije upotrebe PAS menjaju se, takođe. Porast upotrebe sintetičkih supstancija, kombinovanje psihoaktivnih supstancija (čime se njihovo dejstvo pojačava i produžava) i pomeranje starosne granice ka sve mlađem uzrastu, karakterišu nove obrasce PAS.

Nažalost, na ovim prostorima nisu rađena sveobuhvatna istraživanja koja bi u potpunosti pružila pravu epidemiološku sliku upotrebe PAS, što je preduslov za razvoj i formiranje programa prevencije bolesti zavisnosti. Mora se imati na umu da je samo organizovanim preventivnim aktivnostima moguće zaustaviti širenje epidemije novoga veka i svih onih zdravstvenih i socijalnih posledica koje ona sobom nosi.

Istraživanja ove vrste sprovodi na četiri godine Švedski savet za informisanje o alkoholu i ostalim psihoaktivnim supstancijama, počev od 1995. godine u 35 evropskih zemalja<sup>1,2</sup>. Naša zemlja nije učestvovala u ovom istraživanju, što je i razumljivo, s obzirom na politička i društvena zbivanja u tom periodu. Naše istraživanje koristilo je isti instrument istraživanja – Upitnik evropskog projekta istraživanja upotrebe alkohola i ostalih psihoaktivnih supstancija (ESPAD upitnik)<sup>1,2</sup>.

Cilj ovog rada bio je utvrđivanje vrste i obrasca upotrebe PAS, prema polu i školskom uzrastu, kao i faktora rizika od upotrebe PAS kod dece i adolescenata.

## Metode

Studija preseka tipa ankete, sprovedena je u Beogradu u periodu oktobar 2003. – januar 2004. godine. Ispitivanje je uključilo 1 011 učenika sedmog i osmog razreda osnovnih škola i sva četiri razreda srednje škole, dobijenih slučajnim izborom. Od srednjih škola, ispitivanje je sprovedeno u gimnazijama, medicinskoj i saobraćajnoj školi. Među ispitanicima bili su 457 (45,2%) učenici osnovnih škola i 554 (54,8%) učenici srednjih škola; muških ispitanika bilo je 524 (51,8 %), a ženskih 487 (48,2%), starosti 12–18 godina, prosečne starosti 15,3 godine. Prosečna ocena u školi iznosila je 3,9. Svi učenici kojima je ponuđeno testiranje dobrovoljno su pristali da učestvuju. Nije bilo neko- rektno popunjenih upitnika.

Kao instrument, korišćen je Upitnik Evropskog projekta istraživanja upotrebe alkohola i ostalih psihoaktivnih supstancija, koji se sastoji od 47 pitanja, koja obuhvataju sledeće oblasti: opšte podatke, socioekonomski status porodice i odnose u porodici, navike, interesovanja i uspeh u školi ispitanika, upotrebu i stavove u vezi sa cigaretama i alkoholnim pićem, upotrebu i stavove o ilegalnim psihoaktivnim supstancijama, stavove o adiktivnom ponašanju, uopšte, i pitanja u vezi sa iskrenošću u toku testiranja<sup>1,2</sup>. Učenici su sami ispunjavali upitnik, i to anonimno.

Od metoda deskriptivne statistike korišćeni su relativni brojevi i procenti, kao i mere centralne tendencije i mere varijabiliteta (srednja vrednost, standardna devijacija). Razlike među grupama procenjene su parametarskim testovima –  $\chi^2$  test i Studentov  $t$  test. Od neparametarskih testova u radu korišćen je Mann-Whitney test. Model multivarijantne logističke regresije korišćen je za utvrđivanje onih psihosocijalnih faktora koji mogu uticati na povećanje rizika od započinjanja upotrebe ilegalnih psihoaktivnih supstancija.

Statistička značajnost uspostavljena je na nivou  $p < 0,05$ .

Statistička analiza urađena je u statističkom programu Epi Info 6.

## Rezultati

U kompletnoj porodici živelo je oko 75% ispitanika. Kod više od polovine socioekonomski status porodice ocenjen je „poput drugih“, dok oko 40% njih navelo je da je „bolji od drugih“. Kod više od 40% ispitanika oba roditelja imala su završen fakultet (tabela 1).

**Tabela 1**

### Sociodemografske karakteristike primarne porodice ispitanika

Karakteristike porodice ispitanika		Ispitanici (%)
Kompletnost porodice	oba roditelja	74,6
	samo otac ili samo majka	13,7
	ostale kategorije	11,7
Materijalni status porodice	bolje od drugih	39,5
	poput drugih	53,2
	lošije od drugih	7,1
Stepen obrazovanja oca	završen fakultet	46,5
	srednja škola	45,6
	osnovna škola	5,9
Stepen obrazovanja majke	završen fakultet	40,1
	srednja škola	52,8
	osnovna škola	7,1

Kompjuterske igre igrala je 1/4 učenika bar jedanput nedeljno, dok u nešto većem procentu (preko 30%), u istom vremenskom periodu, bavilo se sportom. Oko 40% ispitanika daka izlazilo je uveče svake nedelje.

Najveći broj naših ispitanika, preko 90%, znalo je za marihuanu i heroin. Informisanost za ostale PAS kretala se oko 90% za kokain, ekstazi 87%, LSD 57% i 36% za amfetamine. Želju da proba neku od PAS pokazalo je 13,1% ispitanika, a kontakt sa PAS ostvarilo je 14,2% naših ispitanika, i to najčešće sa marihuanom (12,7%).

U tabeli 2 prikazana je distribucija i učestalost upotrebe psihoaktivnih supstancija prema polu. Devojčice su češće samo probale psihoaktivne supstancije, dok je ponovljena upotreba češća kod dečaka. Marihuana je najčešće upotrebljavana PAS, koju je probalo 12,7% ispitanika, i to 15,6% dečaka i 9,5% devojčica. Osim marihuane statistički značajna razlika dobijena je i za anaboličke steroide koje su takođe češće upotrebljavali dečaci. Supstanciju intravenskim putem koristile su samo devojčice, ali ponovljene upotrebe nije bilo. Iz tabele 2 vidi se da je istovremeno pušenje marihuane i pi-

jenje alkohola, kao i uzimanje tableta (anksiolitici, analgetici, sintetičke supstancije i antiparkisonici) sa alkoholom bilo zastupljenije kod dečaka.

Tabela 3 prikazuje upotrebu PAS prema školskom uzrastu. Marihuanu je koristilo 6,8% učenika osnovne i 17,3% učenika srednje škole (ukupno 12,7%), što je na nivou visoke

Tabela 2

**Raspodela ispitanika prema polu u odnosu na učestalost upotrebe psihoaktivnih supstancija (PAS)**

Vrsta PAS	Pol	Učestalost upotrebe PAS				Ukupno (n)	p
		0 n (%)	1–2 puta n (%)	3–19 puta n (%)	20 i više puta n (%)		
Marihuana	muški	443 (84,5)	21 (4,0)	38 (7,0)	22 (4,2)	524	0,002
	ženski	441 (90,6)	23 (4,7)	18 (3,7)	5 (1,0)	487	
Anabolički steroidi	muški	511 (97,5)	5 (1,0)	6 (1,1)	2 (0,4)	524	0,016
	ženski	484 (99,4)	3 (0,6)	0 (0)	0 (0)	487	
Heroin (intravenski)	muški	524 (100,0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	524	0,072
	ženski	484 (99,4)	3 (0,6)	0 (0)	0 (0)	487	
Magične gljive	muški	524 (100,0)	0 (0,0)	0 (0)	0 (0)	524	0,142
	ženski	485 (99,6)	2 (0,4)	0 (0)	0 (0)	487	
Alkohol i marihuana	muški	500 (95,4)	10 (1,9)	14 (2,6)	0 (0)	524	0,187
	ženski	472 (96,9)	13 (2,7)	2 (0,4)	0 (0)	487	
Heroin (pušenje)	muški	515 (98,3)	8 (1,5)	1 (0,2)	0 (0,0)	524	0,220
	ženski	473 (97,1)	14 (2,9)	0 (0,0)	0 (0,0)	487	
Krek	muški	514 (98,1)	7 (1,3)	3 (0,6)	0 (0,0)	524	0,235
	ženski	472 (96,9)	13 (2,7)	2 (0,4)	0 (0,0)	487	
Amfetamini	muški	499 (95,2)	13 (2,5)	12 (2,3)	0 (0,0)	524	0,300
	ženski	470 (96,5)	11 (2,3)	6 (1,2)	0 (0,0)	487	
LSD	muški	513 (97,9)	11 (2,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	524	0,427
	ženski	480 (98,6)	7 (1,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	487	
Inhalanti	muški	499 (95,2)	12 (2,3)	11 (2,1)	2 (0,4)	524	0,452
	ženski	468 (96,1)	19 (3,9)	0 (0,0)	0 (0,0)	487	
Kokain	muški	507 (96,8)	11 (2,1)	5 (0,5)	1 (0,2)	524	0,466
	ženski	475 (97,5)	6 (1,2)	4 (0,4)	2 (0,8)	487	
Alkohol i tablete	muški	510 (97,3)	1 (0,2)	6 (1,1)	7 (1,3)	524	0,780
	ženski	476 (97,9)	5 (1,0)	1 (0,2)	4 (0,8)	487	
Sedativi	muški	505 (96,4)	9 (1,7)	10 (1,9)	0 (0,0)	524	0,833
	ženski	468 (96,1)	12 (2,5)	7 (1,4)	0 (0,0)	487	
Ekstazi	muški	515 (98,3)	6 (1,1)	2 (0,4)	1 (0,2)	524	0,923
	ženski	479 (98,4)	6 (1,2)	2 (0,4)	0 (0)	487	

Mann-Whitney test

LSD – dietilamid lizergične kiseline

Tabela 3

**Raspodela ispitanika prema školskom uzrastu u odnosu na učestalost upotrebe psihoaktivnih supstancija (PAS)**

Vrsta PAS	Uzrast	Učestalost upotrebe PAS				Ukupno (n)	p
		0 n (%)	1–2 puta n (%)	3–19 puta n (%)	20 i više puta n (%)		
Marihuana	osnovna škola	426 (93,2)	3 (0,7)	22 (4,8)	6 (1,3)	457	0,000
	srednja škola	458 (82,7)	41 (7,4)	34 (6,1)	21 (3,8)	554	
Kokain	osnovna škola	454 (99,3)	0 (0,0)	2 (0,4)	1 (0,2)	457	0,000
	srednja škola	528 (95,3)	17 (3,1)	7 (1,3)	2 (0,4)	554	
Inhalanti	osnovna škola	427 (93,4)	17 (3,7)	11 (2,4)	2 (0,4)	457	0,001
	srednja škola	540 (97,5)	14 (2,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	554	
Amfetamini	osnovna škola	448 (98,0)	7 (1,5)	0 (0,0)	2 (0,4)	457	0,001
	srednja škola	521 (94,0)	17 (3,1)	10 (1,8)	6 (1,1)	554	
Heroin puš.	osnovna škola	440 (96,3)	16 (3,5)	1 (0,2)	0 (0,0)	457	0,005
	srednja škola	548 (98,9)	6 (1,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	554	
Alkohol i marihuana	osnovna škola	442 (96,7)	6 (1,3)	6 (1,3)	3 (0,7)	457	0,005
	srednja škola	521 (94,0)	17 (3,1)	7 (1,3)	9 (1,6)	554	
Anabolički steroidi	osnovna škola	455 (99,6)	1 (0,2)	1 (0,2)	0 (0,0)	457	0,008
	srednja škola	540 (97,5)	7 (1,3)	5 (0,9)	2 (0,4)	554	
LSD	osnovna škola	454 (99,3)	3 (0,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	457	0,014
	srednja škola	539 (97,3)	15 (2,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	554	
Sedativi	osnovna škola	447 (97,8)	6 (1,3)	2 (0,4)	2 (0,4)	457	0,017
	srednja škola	526 (94,9)	15 (2,7)	7 (1,2)	6 (1,1)	554	
Heroin (intravenski)	osnovna škola	455 (99,6)	0 (0,0)	2 (0,4)	0 (0,0)	457	0,116
	srednja škola	550 (99,5)	3 (0,5)	1 (0,2)	0 (0,0)	554	
Magične gljive	osnovna škola	457 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	457	0,199
	srednja škola	552 (99,6)	2 (0,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	554	
Ekstazi	osnovna škola	451 (98,7)	3 (0,7)	2 (0,4)	1 (0,2)	457	0,414
	srednja škola	543 (98,0)	9 (1,6)	2 (0,4)	0 (0,0)	554	
Alkohol i tablete	osnovna škola	446 (97,6)	0 (0,0)	6 (1,3)	5 (1,1)	457	0,420
	srednja škola	539 (97,3)	6 (1,1)	5 (0,9)	4 (0,7)	554	
Krek	osnovna škola	447 (97,8)	8 (1,7)	2 (0,4)	0 (0,0)	457	0,909
	srednja škola	540 (97,5)	12 (2,2)	0 (0,0)	2 (0,4)	554	

Mann-Whitney test

LSD – dietilamid lizergične kiseline

statističke značajnosti. Slede kokain, inhalanti, amfetamini, pušenje heroina, alkohol u kombinaciji sa marihuanom, anabolički steroidi, LSD i sedativi. Učenici osnovne škole više su koristili inhalante i pušenje heroina, dok su sve ostale PAS više koristili ispitanici starijeg školskog uzrasta.

I devojčice i dečaci probali su marihuanu sa prosečno 14,8 godina. Dečaci su ranije probali sedative (razlika visoko statistički značajna), kao i kokain, krek i alkohol u kombinaciji sa tabletama (razlika statistički značajna) (tabela 4).

Najveći broj ispitanika (10,8%) kao prvu PAS navelo je marihuanu ili hašiš, sedative bez recepta 1,3%, ekstazi i amfetamine 0,2% i 0,1% LSD (tabela 5).

Ukupno 3,4% ispitanika dobilo je PAS od prijatelja, 2,9% supstanciju je kupilo, a 1,2% delilo u grupi sa prijateljima.

Kao razlog uzimanja PAS najveći broj ispitanika naveli su znatiželju (7,2%), zatim i želju da se oseće „haj“ (1,5%) i „nije imalo šta drugo da radi“ (1,4%) (tabela 6).

Tabela 4

Raspodela ispitanika po polu u odnosu na godine života kada su prvi put probali psihoaktivnu supstanciju

Psihoaktivna supstancija (PAS)	Uzrast u kom je prvi put upotrebljena PAS/god.		
	Pol	$\bar{x} \pm SD$	<i>p</i>
Sedativi	muški (n=24)	13,2 ± 2,3	0,001*
	ženski (n=23)	15,4 ± 1,5	
	ukupno (n = 47)	14,3 ± 2,2	
Kokain	muški (n=10)	12,7 ± 1,6	0,009*
	ženski (n=8)	14,8 ± 0,5	
	ukupno (n=18)	13,6 ± 1,6	
Krek	muški (n=6)	12,0 ± 1,3	0,022*
	ženski (n=12)	14,0 ± 0,9	
	ukupno (n=18)	13,0 ± 1,5	
Alkohol sa sedativima	muški (n=17)	12,9 ± 2,2	0,029*
	ženski (n=7)	15,0 ± 1,2	
	ukupno (n=24)	13,5 ± 2,1	
Inhalanti	muški (n=4)	12,8 ± 1,5	0,066*
	ženski (n=3)	15,0 ± 0,0	
	ukupno (n=7)	13,7 ± 1,6	
Amfetamini	muški (n=12)	12,7 ± 1,7	0,085*
	ženski (n=6)	14,2 ± 1,7	
	ukupno (n=18)	13,2 ± 1,8	
Ekstazi	muški (n=12)	13,8 ± 2,3	0,117*
	ženski (n=5)	15,4 ± 0,9	
	ukupno (n=17)	14,3 ± 2,1	
LSD ili halucinogeni	muški (n=7)	12,4 ± 0,8	0,190*
	ženski (n=2)	13,0 ± 0,0	
	ukupno (n=9)	12,6 ± 0,7	
Heroin	muški (n=6)	13,3 ± 1,9	0,361*
	ženski (n=4)	14,5 ± 0,6	
	ukupno (n=10)	13,8 ± 1,5	
Magične gljive	muški (n=3)	12,3 ± 2,3	0,543*
	ženski (n=2)	14,0 ± 0,0	
	ukupno (n=5)	13,0 ± 1,9	
Marihuana ili hašiš	muški (n=57)	14,8 ± 2,3	0,898 <sup>†</sup>
	ženski (n=30)	14,8 ± 1,8	
	ukupno (n=87)	14,8 ± 2,1	
Anabolički steroidi	muški (n=14)	15,1 ± 3,0	0,949*
	ženski (n=2)	15,0 ± 0,0	
	ukupno (n=16)	15,1 ± 2,8	

\* Mann-Whitney test

<sup>†</sup>Studentov *t* test

LSD – dietilamid lizergične kiseline

Tabela 5

Raspodela ispitanika po polu u odnosu na psihoaktivnu supstanciju koja je prva probana

Psihoaktivna supstancija		Pol		Ukupno
		muški	ženski	
Nikada nisam probao	n	445	439	884
	%	84,9	90,1	87,5
Ekstazi	n	1	1	2
	%	0,2	0,2	0,2
Sedativi bez recepta	n	9	4	13
	%	1,8	0,8	1,3
Marihuana ili hašiš	n	67	42	109
	%	12,8	8,6	10,7
LSD	n	1	0	1
	%	0,2	0,0	0,1
Amfetamini	n	1	1	2
	%	0,2	0,2	0,2
Ukupno	n	524	487	1011
	%	100,0	100,0	100,0

LSD – dietilamid lizergične kiseline

Od značajnih pojedinačnih psihosocijalnih faktora formiran je model multivarijantne logističke regresije (tabela 7),

Istraživanjem socioekonomskog statusa ustanovljeno je da je preko 2/3 naših ispitanika živelo u kompletnoj porodici.

**Tabela 6**  
**Raspodela ispitanika po polu u odnosu na razlog da se proba psihoaktivna supstancija (PAS)**

Razlog za probanje PAS		Pol		Ukupno
		muški	ženski	
Nije probao PAS	n	462	447	909
	%	88,4	91,6	90,0
Želja da se oseća "haj"	n	8	6	14
	%	1,7	1,3	1,5
Dosada	n	10	3	13
	%	2,1	0,6	1,4
Znatiželja	n	44	31	75
	%	7,9	6,5	7,2
Ukupno	n	524	487	1011
	%	100,0	100,0	100,0

**Tabela 7**

**Analiza varijabli povezanih sa upotrebom ilegalnih psihoaktivnih supstancija**

Varijable	B	p	Unakrsni odnos	95% interval poverenja
Stepen obrazovanja majke	-4,753	0,098	0,009	0,000–2,419
Večernji izlasci	0,537	0,000	1,711	1,305–2,244
Procena konzumacije ekstazija u okruženju ispitanika	7,409	0,026	1650,217	2,411–1129574,716
Pušenje cigareta (popušene cigarete u poslednjih 30 dana)	-1,853	0,017	0,157	0,034–0,722
Binge obrazac konzumacije	1,689	0,041	5,412	1,075–27,255
Pijenje alkohola u poslednjih 30 dana	-2,600	0,071	0,074	0,004–1,245

Multivarijantna logistička regresija

na osnovu čega su izdvojeni najznačajniji prediktori rizika od upotrebe psihoaktivnih supstancija. Model multivarijantne logističke regresije pokazao je visoku statističku značajnost ( $p < 0,01$ ) i njime se može objasniti 68,5% varijabiliteta za upotrebu psihoaktivnih supstancija. U model smo uključili one varijable koje su u pojedinačnom testiranju pokazale statistički značajnu povezanost sa korišćenjem psihoaktivnih supstancija: stepen obrazovanja majke, večernji izlasci, upotreba ekstazija u okruženju ispitanika, pušenje cigareta (broj popušenih cigareta u poslednjih 30 dana), binge obrazac konzumiranja alkohola, količina konzumiranog alkohola u poslednjih 30 dana i status porodice. Analiza završnog modela logističke regresije pokazala je da češći večernji izlasci, konzumiranje PAS u okruženju ispitanika, pušačke navike i binge obrazac konzumiranja alkohola predstavljaju faktore koji se sa visokim stepenom statističke značajnosti mogu koristiti u proceni rizika od započinjanja konzumiranja PAS.

### Diskusija

U Beogradu ne postoje sveobuhvatna istraživanja upotrebe PAS kod mladih. Jedna takva studija, „Upotreba supstancija među učenicima osnovnih i srednjih škola u Republici Srbiji“, Komisije za prevenciju bolesti zavisnosti među omladinom (Studija ispitanika iz unutrašnjosti) rađena je 2002. godine u unutrašnjosti Srbije na uzorku od oko 1 500 ispitanika istog uzrasta kao naši ispitanici<sup>3</sup>.

Preko 40% njihovih roditelja ima visoku stručnu spremu. Više od polovine navelo je da je materijalni status sličan drugim porodicama. Naše istraživanje pokazalo je da kompletnost porodice ne utiče statistički značajno na upotrebu PAS. Slične rezultate navodi Stojanović-Ristić<sup>4</sup> u istraživanju zdravstvenog ponašanja studentske i srednoškolske omladine, gde se navodi da među korisnicima PAS nema statistički značajne razlike u odnosu na to da li žive u potpunoj ili nepotpunoj porodici. Rezultati našeg istraživanja pokazali da je upotreba PAS nešto zastupljenija kod onih sa boljim materijalnim statusom, i to se posebno odnosilo na kokain, što je i objašnjivo s obzirom na više cene kokaina u odnosu na heroin, koji se inače češće upotrebljava kod osoba sa lošijim materijalnim statusom. Stojanović-Ristić<sup>4</sup> navodi da PAS nešto više koriste oni sa slabijim i boljim materijalnim statusom, dok manje ispitanici srednjeg materijalnog statusa. U poređenju sa učenicima iz unutrašnjosti postoji razlika u pogledu stručne spreme roditelja, gde je najzastupljenija srednja stručna sprema, dok se ostali parametri ne razlikuju značajnije<sup>3</sup>.

Kod ispitivanja navika, interesovanja i uspeha u školi, interesovalo nas je na koji način mladi provode slobodno vreme. Najveći deo slobodnog vremena 1/3 naših ispitanika provodila je baveći se sportom bar jedanput nedeljno, odnosno u istom procentu igrajući kompjuterske igre, dok je broj noćnih izlazaka bio češći. Utvrđeno je da oni koji češće izlaze uveče više konzumiraju PAS, što se može objasniti time što najveći broj dece i adolescenata nabavlja supstanciju od prijatelja i dilera, i to često u diskotekama i kaficima.

Istraživanjem upotrebe i stavova o korišćenju PAS pokazalo se da su naši ispitanici bili informisani o većini PAS, a da su najviše znali o marihuani i heroinu. Naši ispitanici pokazali su sličan stepen informisanosti u poređenju sa vršnjacima u evropskim zemljama obuhvaćenim ESPAD istraživanjem, osim za amfetamin, o kome manje znaju<sup>1,2</sup>. Među našim ispitanicima, učenici Medicinske škole u Beogradu bili su znatno bolje informisani o amfetaminu u odnosu na svoje vršnjake iz drugih škola, što je razumljivo s obzirom na medicinsko obrazovanje.

Tokom našeg istraživanja uočili smo da je kontakt sa PAS ostvarilo više ispitanika nego što je pokazalo želju da proba, što ukazuje da određene okolnosti i situacije imaju uticaja na probanje (na primer žurevi). Najčešća ilegalna PAS sa kojom mladi ostvaruju prvi kontakt je marihuana. Najveći broj učenika nabavljali su PAS od prijatelja, zatim dilera, a kao najčešće mesto nabavke naveli su diskoteku, ali i školu. Ovaj podatak ukazuje na važan uticaj vršnjačke grupe i školske sredine, kao i na značaj edukacije kako učenika, tako i nastavnika. Kao razlog probanja, mladi su naveli znatiželju, kao i želju da se osete „haj“, što je jasno s obzirom da period adolescencije odlikuje radoznalost i želja za eksperimentisanjem, pa tako i sklonost ka raznim oblicima rizičnog ponašanja, u koje spada i upotreba PAS. Kada smo naše ispitanike uporedili sa njihovim vršnjacima iz unutrašnjosti Srbije, primetili smo da su učenici iz našeg istraživanja više i u ranijem uzrastu probali PAS. U evropskim zemljama, prema istraživanjima ESPAD studije, prevalencija probanja nađena je u Velikoj Britaniji (36%), dok su niske stope na Kipru (3%) i Rumuniji (1%)<sup>1</sup>.

Marihuanu je probalo 12,7% ispitanika, pri čemu je evidentirana statistički značajna razlika kako prema polu, tako i prema stepenu školskog uzrasta, tako da su ovu PAS više koristili ispitanici muškog pola, i to starijeg uzrasta (učenici srednjih škola). U pogledu nabavke, oko 15% smatralo je da marihuanu može da nabavi lako. Ispitanici obuhvaćeni istraživanjem iz unutrašnjosti probali su marihuanu u manjem broju i smatrali su da je nabavka teža<sup>3</sup>. Moguće je da je manja dostupnost marihuani bila jedan od razloga za njenu manju upotrebu. U svim evropskim zemljama najčešće upotrebljavana PAS je, takođe, marihuana, gde se incidencija kreće od 1% u Rumuniji do 35% u Velikoj Britaniji, Francuskoj i Češkoj<sup>1</sup>. Prema Nacionalnom institutu za zloupotrebu droge (NIDA), oko 15% učenika osmog razreda i preko 30% učenika desetog razreda koristi marihuanu<sup>5</sup>. Učestalost korišćenja ostalih PAS znatno je manja kako kod nas, tako i u ostalim zemljama Evrope, i to od 12% u Velikoj Britaniji do 1% u Rumuniji<sup>1</sup>. Naši ispitanici probali su heroin i ušmrkavanjem i intravenskim putem. U oba slučaja bile su zastupljenije devojčice. Heroin ušmrkavanjem probalo je više osnovaca, što nije slučaj kod intravenskog korišćenja heroina. Kod intravenske primene heroina radilo se isključivo o probanju i nije bilo ponovne upotrebe – moguće da je u pitanju situaciona upotreba, jer su ovi daci pohađali isti razred. U našoj studiji primećen je raniji prvi kontakt sa heroinom u odnosu na ispitanike studije iz unutrašnjosti, kao i one iz ESPAD studije, i uopšte poznatu činjenicu da se heroin koristi u starijem uzrastu<sup>1-3</sup>. To bi se moglo objasniti time što se

ne radi o upotrebi, već isključivo o probanju. Kod korišćenja kokaina nema statistički značajne razlike među polovima. Prema školskom uzrastu vidi se da srednjoškolci prednjače u probanju kokaina. U poređenju sa ispitanicima iz unutrašnjosti, naši ispitanici češće su probali kokain procenjujući da je nabavka ove supstancije lakša, što je moguće i razlog češćeg korišćenja<sup>3</sup>. Sedative bez recepta u našem istraživanju koristili su i dečaci i devojčice, bez statistički značajne razlike među polovima, dok prema školskom uzrastu prednjačili su učenici srednjih škola. U ESPAD ispitivanju rađenom 2003. godine u Hrvatskoj primećeno je da su sedative više koristile devojčice, a to je objašnjeno činjenicom da sedative inače više upotrebljava ženska populacija<sup>6</sup>. Ispitanici iz studije iz unutrašnjosti manje su koristili sedative. Pelisololo i sar.<sup>7</sup> 2001. godine istraživali su načine uzimanja PAS u porodici. Ukazali su na značaj uticaja porodice i primetili da u porodicama u kojima su sedative koristile majke i devojčice su ih češće koristile, odnosno da je postojala polna identifikacija, posebno u periodu adolescencije. Kod korišćenja LSD, nije postojala statistički značajna razlika među polovima, dok prema školskom uzrastu LSD više su koristili srednjoškolci. U svim slučajevima u pitanju je bilo probanje 1–2 puta, a dalje upotrebe nije bilo. U poređenju sa vršnjacima studije iz unutrašnjosti vidi se da je upotreba kod naših ispitanika bila veća, i u mlađem uzrastu<sup>3</sup>. Kod korišćenja ekstazija nije postojala statistički značajna razlika među polovima i školskom uzrastu. U odnosu na vršnjake iz pilot studije u unutrašnjosti, upotreba ekstazija kod naših ispitanika bila je veća. Korišćenje amfetamina ne razlikuje se statistički značajno prema polu ispitanika, dok se prema školskom uzrastu uočava veće konzumiranje kod srednjoškolaca. Iako su amfetamini druga PAS po učestalosti korišćenja u našoj sredini, još uvek su i informisanost i upotreba manje zastupljeni nego u evropskim zemljama obuhvaćenim ESPAD istraživanjem 2003. godine<sup>2</sup>. Inhalante češće su probale devojčice, ali kod njih nije bilo ponovljene upotrebe. Takođe, učenici osnovne škole više su upotrebljavali inhalante od srednjoškolaca. Jedna od novih tendencija korišćenja PAS predstavlja kombinovanje pojedinih PAS, jer se tako njihovo dejstvo pojačava i produžava. Tako, mladi alkohol kombinuju sa tabletama (anksiolitici, analgetici, sintetičke supstancije i antiparkinsonici), kao i sa marihuanom. U našem istraživanju postojala je veća zastupljenost adolescenata koji alkoholno piće kombinuju sa marihuanom. Ovakav obrazac upotrebe podjednako je prisutan kod ispitanika oba pola, a kad se posmatra školski uzrast primećuje se da su učenici starijih razreda više skloni ovakom obrascu upotrebe. Vršnjaci iz unutrašnjosti u istom broju koristili su alkohol sa tabletama (anksiolitici, analgetici, sintetičke supstancije i antiparkinsonici), dok je kombinaciju sa marihuanom koristilo manje njih<sup>3</sup>. U ESPAD istraživanju rađenom u Hrvatskoj 2003. godine konzumiranje alkohola sa sedativima veće je kod devojčica, što je moguće rezultat tradicionalno veće upotrebe sedativa među ženskim polom i sve većeg probanja alkoholnog pića<sup>6</sup>.

Posle marihuane, naši ispitanici najviše su koristili amfetamine, inhalante, zatim sedative, alkohol u kombinaciji sa marihuanom, sledili su kokain, krek, alkohol sa tabletama i ekstazi. Prema ESPAD studiji iz 2003. godine posle marihu-

ane, takode, najviše su se koristili amfetamini, a zatim ekstazi<sup>2</sup>. Broj ilegalnih laboratorija u svetu (*cook joints*) za proizvodnju sintetičkih supstancija raste, proizvodnja je jednostavna i jeftina, a opasnost postoji ne samo od dotične supstancije, već i nekontrolisane sinteze i kontaminacije PAS. Ovakva proizvodnja čini sintetičke supstancije relativno jeftinim i šire dostupnim, pa je i mogućnost upotrebe veća, što bi trebalo imati u vidu pri planiranju preventivnih programa<sup>8-10</sup>.

Našim istraživanjem utvrđena je povezanost pušenja i upotrebe alkohola sa upotrebom ilegalnih psihoaktivnih supstancija. Naime, pokazalo se da osobe koje alkohol konzumiraju po *binge* obrascu (pet i više pića u nizu), kao i pušači, češće koriste ilegalne psihoaktivne supstancije. Ovi podaci poklapaju se sa nalazima Lukasa i Orozcoa<sup>11</sup>, Slatera i sar.<sup>12</sup>, Collinsa i sar.<sup>13</sup> i Liguoria i sar.<sup>14</sup> koji su ukazali da su mladi skloni istovremenoj upotrebi više psihoaktivnih supstancija. Rezultati Faeha i sar.<sup>15</sup> iz 2006. godine govore o povezanosti pušenja i *binge drinking*, kao i između pijenja i upotrebe ilegalnih psihoaktivnih supstancija. Pušači 20 i više cigareta dnevno imaju pet puta veći rizik od pijenja alkohola i deset puta od uzimanja ilegalnih PAS nego nepušači.

Prema ESPAD istraživanjima iz 1999. godine, posle marihuane najviše su se koristili amfetamini i ekstazi, što odgovara rezultatima dobijenim tokom našeg istraživanja<sup>1</sup>. Upotreba amfetamina, kokaina, multipla upotreba supstancija, kombinacija alkohola i tableta pokazuje trend porasta. Upotreba heroina u Evropi pokazuje trend stagnacije. Amfetamin u Evropi, pored ekstazija, najčešće je upotrebljavana PAS posle marihuane i njegova upotreba pokazuje trend porasta, što je utvrđeno i rezultatima naših istraživanja. Kokain se manje upotrebljava od amfetamina i ekstazija, ali i njegova upotreba pokazuje trend porasta, kao i multipla upotreba PAS. Ova istraživanja pokazuju da je kod devojčica uočljivo češće konzumiranje alkohola sa sedativima, što među našim ispitanicima nije potvrđeno.

U 12 zemalja ESPAD studije, više od 75% učenika kao prvu PAS probalo je marihuanu, a u Velikoj Britaniji i Irskoj preko 90%. U šest zemalja sedativi su bili prva PAS, sa procentom od 25% i više. Ukupno 60% učenika koji su probali

PAS navelo je da je to uradilo iz radoznalosti, a 22% da je to uradilo radi postizanja „haj“ efekata.

Prema ESPAD studiji iz 2003. godine<sup>2</sup> probanje marihuane kod mladih najčešće je u Češkoj (44%), slede Francuska, Irska, Švajcarska i Engleska (38–40%), a najmanje u Grčkoj, Rumuniji i na Kipru (3–7%). Takođe, PAS i dalje više koriste dečaci, ali se te razlike smanjuju, posebno u Rusiji, Bugarskoj, Hrvatskoj, Slovačkoj, Sloveniji i Irskoj. Amfetamine najviše koriste adolescenti u Estoniji i Nemačkoj, kao i Irskoj, a ekstazi u Češkoj, Hrvatskoj, Estoniji, Irskoj i Engleskoj.

Prema NIDA istraživanju (kategorije osmog, desetog i dvanaestog razreda), upotreba ilegalnih PAS pokazuje trend opadanja, i to marihuane na 31,8%, ekstazija od 30,2 na 27,4%<sup>16,17</sup>. Korišćenje kokaina iznosilo je oko 5% za dvanaesti razred, dok je u ostalim kategorijama bilo manje. Korišćenje kreka opada, kao i heroina (iznosi 1% u svim kategorijama), dok je u prethodnim istraživanjima upotreba kreka rasla, a heroina stagnirala. Inhalanti se koriste u procentu od 15% među učenicima osmog razreda, manje u ostalim kategorijama, pokazuju trend opadanja i najmanju upotrebu od 1991. godine. Upotreba halucinogena opada i kreće se od 3,5% za dvanaesti razred do 2,6%, odnosno 1,5% za ostale kategorije.

### Zaključak

Kontakt sa PAS imao je značajan broj naših ispitanika (14,2%). Najčešće upotrebljavana PAS je marihuana, slede amfetamini, inhalanti, dok se na poslednjem mestu nalaze magične gljive. Evidentne su promene obrazaca, tj. nove tendencije upotrebe koje se karakterišu povećanom upotrebom sintetičkih PAS, kombinovanom upotrebom više psihoaktivnih supstancija istovremeno (politoksikomanija) i pomeranjem starosne granice ka sve mlađem životnom uzrastu. Faktori rizika od upotrebe psihoaktivnih supstancija su češći večernji izlasci, pušenje (za marihuanu), konzumiranje alkohola po *binge* obrascu i upotreba sintetičkih supstancija (ekstazi) u okruženju. Komparativna analiza našeg i evropskih istraživanja upotrebe psihoaktivnih supstancija ukazuje na niže stope prevalencije korišćenja kod nas.

### L I T E R A T U R A

- Hibell B, Andersson B, Ahlström S, Balakireva O, Bjarnasson T, Kokkevi A, et al. The 1999 ESPAD Report. Alcohol and Other Drug Use Among Students in 30 European Countries. Stockholm: The Swedish Council for Information on Alcohol & Other Drugs (CAN) and the Popidon Group at the Council of Europe; 2000.
- Hibell B, Andersson B, Ahlstrom S, Balakireva O, Bjarnasson T, Kokkevi A, et al. The 2003 ESPAD Report. Alcohol and Other Drug Use Among Students in 30 European Countries. Stockholm: The Swedish Council for Information on Alcohol & Other Drugs (CAN) and the Popidon Group at the Council of Europe; 2004.
- Dimitrijević I. Addiction diseases. Beograd: Centar; 2004. (Serbian)
- Stojanović-Ristić S. Smoking, alcoholism, and other drug abuse, aggressive behavior of the secondary school pupils. In: Mirković J, editor. Health behavior of the students and the secondary school pupils under contemporary condition. Beograd: Zavod za zdravstvenu zaštitu studenata; 2000. p. 77–81. (Serbian)
- Falkowski C. Dangerous Drugs: An easy-to-Use reference for Parents and Professionals. Hazelden: Center City; 2000.
- Kuzman M. Additional Behavior among the pupils in Croatian and Europe. Paediatr Croat 2003; 47(1): 173–84. (Croatian)
- Pélissolo A, Gourion D, Notides C, Bouvard M, Lépine JP, Mouren-Siméoni MC. Familial factors influencing the consumption of anxiolytics and hypnotics by children and adolescents. Eur Psychiatry 2001; 16(1): 11–7.
- Marić J. Clinical psychiatry. Beograd: Megraf; 2005. (Serbian)
- Valter K, Arriabalaga P. Designer drugs directory. Amsterdam: Elsevier; 1998.
- Dimitrijević I. Synthetic drugs. Niš: Galeb; 2003. (Serbian)
- Lukas SE, Orozco S. Ethanol increases plasma Delta(9)-tetrahydrocannabinol (THC) levels and subjective effects after marihuana smoking in human volunteers. Drug Alcohol Depend 2001; 64(2): 143–9.
- Slater MD, Kelly KJ, Edwards RW, Thurman PJ, Pleded BA, Keefe TJ, et al. Combining in-school and community-based media ef-



- forts: reducing marijuana and alcohol uptake among younger adolescents. *Health Educ Res* 2006; 21(1): 157–67.
13. *Collins RL, Ellickson PL, Bell RM*. Simultaneous polydrug use among teens: prevalence and predictors. *J Subst Abuse* 1998; 10(3): 233–53.
  14. *Liguori A, Gatto CP, Jarrett DB*. Separate and combined effects of marijuana and alcohol on mood, equilibrium and simulated driving. *Psychopharmacology (Berl)* 2002; 163(3–4): 399–405.
  15. *Faeb D, Viswanathan B, Chiolero A, Warren W, Bovei P*. Clustering of smoking, alcohol drinking and cannabis use in adolescents in a rapidly developing country. *BMC Public Health* 2006; 6: 169.
  16. *Sadock BJ, Sadock VA*. Substance – Related Disorders. In: *Kaplan HI, Sadock BJ*, editors. *Comprehensive Textbook of Psychiatry*. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 2002. p-413–8.
  17. *Friedman L*. *Source book of substance abuse*. Baltimore: Williams and Wilkins; 1996.

Rad je primljen 26. XI 2007.



## Senzibilitet vagine rekonstruisane McIndoe metodom u okviru sindroma Mayer-Küster-Rokitansky-Hauser

Sensibility of vagina reconstructed by McIndoe method in Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome

Svetlana Vesanović\*, Ljubomir Panajotović\*, Elijana Garalejić†

Vojnomedicinska akademija, \*Klinika za plastičnu hirurgiju i opekotine, Beograd;  
Klinički centar Srbije, †Ginekološko-akušerska klinika „Narodni front“, Beograd

### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Urođena anomalija osoba ženskog pola – nedostatak vagine (*aplasia vaginae*) javlja se u okviru sindroma Mayer-Küster-Rokitansky-Hauser. Lečenje ove anomalije sprovodi se različitim neoperativnim i operativnim procedurama. Rekonstrukcija vagine upotrebom autotransplantata kože parcijalne debljine nosi naziv McIndoe metoda. Cilj ovog rada bio je utvrđivanje postojanja senzibiliteta vagine rekonstruisane McIndoe metodom i poređenje sa senzibilitetom normalne vagine. **Metode.** Istraživanje je obuhvatilo 21 osobu ženskog pola sa rekonstruisanom vaginom po McIndoe metodi i 21 osobu sa normalnom vaginom. Sve ispitanice su svrstane u grupe i podgrupe (prema životnoj dobi). Ispitivan je senzibilitet (dodir, toplota i hladnoća) primenom VonFrey esteziometra i termoestezimetra za hladno i za toplo. Registrovan je broj pozitivnih odgovora, dodirivanjem površine sluzokože u predelu ulaza, dela zida u sredini i na dnu vagine u trajanju od pet sekundi, pet puta. **Rezultati.** Dobijeni rezultati pokazali su da je osećaj dodira u sredini zida i dna vagine izraženiji kod ispitanica kod kojih je vagina rekonstruisana McIndoe metodom. Pored toga, osećaj toplote u regiji sredine zida vagine, kao i osećaj hladnoće u regiji dna vagine bio je izraženiji kod ispitanica kod kojih je vagina rekonstruisana na isti način, odnosno autotransplantatom kože tipa Thiersch (McIndoe metoda). Ostali rezultati nisu pokazali razlike u senzibilitetima između rekonstruisane i normalne vagine. **Zaključak.** Različiti tipovi senzibiliteta (dodir, toplota, hladnoća) vagine rekonstruisane McIndoe metodom, bolje su ili jednako zastupljeni u odnosu na vrednosti odgovarajućih senzibiliteta normalne vagine. Navedeni rezultati možda se mogu objasniti sposobnošću kožnih transplantata za oporavak senzibiliteta.

### Ključne reči:

anomalije; vagina; lečenje; hirurgija, rekonstruktivna, procedure; senzitivnost i specifičnost; procena, istraživanja.

### Abstract

**Background/Aim.** Congenital absence of vagina is a failure present in Mayer-Küster-Rokitansky-Hauser syndrome. Treatment of this anomaly includes nonoperative and operative procedures. McIndoe procedure uses split skin graft by Thiersch. The aim of this study was to determine sensitivity (touch, warmth, coldness) of a vagina reconstructed by McIndoe method in Mayer-Küster-Rokitansky-Hauser syndrome and compare it with the normal vagina. **Methods.** A total of 21 female persons with reconstructed vagina by McIndoe method and 21 female persons with normal vagina were observed. All female persons were divided into groups and subgroups (according to age). Sensibility to touch, warmth and coldness were examined, applying VonFrey's esthesiometer and thermoesthesiometer for warmth and coldness in three regions of vagina (enter, middle wall, bothom). The number of positive answers was registered by touching the mucosa regions for five seconds, five times. **Results.** The obtained results showed that female patients with a reconstructed vagina by McIndoe method, felt touch at the middle part of wall and in the bottom of vagina better than patients with normal one. Also, the first ones felt warmth at the middle part of wall and coldness in the bottom of vagina, better than the patients with normal vagina. Other results showed no difference in sensibility between reconstructed and normal vagina. **Conclusion.** Various types of sensibility (touch, warmth, coldness) are better or the same in vaginas reconstructed by McIndoe method, in comparison with normal ones. This could be explained by the fact that skin grafts are capable of recovering sensibility.

### Key words:

abnormalities; vagina; therapeutics; reconstructive surgical procedures; sensitivity and specificity; evaluation studies.

## Uvod

Urođena anomalija osoba ženskog pola – nedostatak vagine (*aplasia vaginae*), poznata je još od doba Hipokrata<sup>1</sup>. Pod ovim nazivom prvi put je opisao Realdus Columbus 1572. god.<sup>2</sup>. Karl Freiherr von Rokitansky i August Franz Joseph Karl Mayer tokom prve polovine XIX veka, a Hermann Küster i Hauser početkom XX veka istraživali su taj sindrom. Hauser je ustanovio da sindrom Mayer-Küster-Rokitansky-Hauser (MKRH), ima sledeće karakteristike: aplaziju vagine sa normalnom vulvom i sekundarnim seksualnim karakteristikama, aplastičan ili hipoplastičan uterus, hipoplastične Falopijeve tube, normalne ovarijume i kariotip 46xx, kao i da je moguća i udružena anomalija urogenitalnog trakta i/ili skeletnog sistema. Razlog za nastajanje tog složenog sindroma su fuzioni poremećaj Milerovih kanala i malformacije urogenitalnog sinusa. Pored poznatih anomalija u okviru navedenih sistema organa, prema novijim podacima u okviru ovog sindroma postoji mogućnost prisustva kardiovaskularnih malformacija i malformacija slušnog aparata<sup>3-7</sup>.

U medicinskoj literaturi opisane su mnogobrojne neoperativne i operativne procedure rekonstrukcije vagine kod osoba ženskog pola u okviru sindroma MKRH<sup>8-10</sup>. Operativne procedure obuhvataju upotrebu autotransplantata kože, lokalnih režnjeva ili delova creva.

Rekonstrukciju vagine primenom autotransplantata kože parcijalne debljine prvi je izveo Abbe 1898. godine. Tokom XX veka ovu metodu popularisao je i osavremenio McIndoe (1938), prikazavši izvanrednu seriju od 63 operacije za 12 godina. Zbog toga danas mnogi smatraju da operaciju treba nazvati Abbe-McIndoe, jer je Abbe prvi uočio mogućnost upotrebe autotransplantata parcijalne debljine kože za rekonstrukciju vagine<sup>1</sup>.

Vagina je neparni unutrašnji polni organ žene. Kod anatomske normalne osoba, vagina ima oblik sluzokožnomišićne cevi dužine 8–10 cm. Na njoj se razlikuju dva zida (prednji i zadnji), dve bočne ivice, gornji i donji kraj. Zid vagine inervisan je preko *plexus uterovaginalis* koji dovodi simpatička i parasimpatička vlakna iz *plexus pelvineus*<sup>11</sup>.

Kod osoba sa MKRH sindromom najčešće nedostaju vagina i uterus, koji se nekada može uočiti samo kao rudimentni uterus.

Podaci o učestalosti ove anomalije različiti su: u SAD učestalost anomalije je od 1/4 000 do 1/10 000, a u Indiji se procenjuje na 1/5 000 do 1/20 000<sup>12, 13</sup>.

Nema pouzdanih podataka o učestalosti ove anomalije za naše područje. Pored toga, u postojećim podacima iz literature nema pojedinosti o ispitivanju senzibiliteta kod osoba sa vaginom rekonstruisanom McIndoe metodom.

U okviru preoperativne obrade, pored standardne internističke pripreme za operaciju u opštoj anesteziji, endokrinolog proverava pol bolesnica (genotip XX), a ginekolog sprovodi dijagnostičku laparoskopiju, da bi se potvrdila dijagnoza i verifikovalo stanje unutrašnjih polnih organa, jer postoji mogućnost da pored aplazije vagine postoji normalno razvijena materica koja zahteva prezervaciju. Drugi medicinski centri u svetu pored laparoskopije koriste i magnetnu re-

zonanciju, radi preciznijeg dijagnostikovanja sindroma i utvrđivanja prisustva anomalija drugih organa. U okviru preoperativne pripreme, sprovodi se poseban dijetetsko-higijenski režim ishrane, sa aplikacijom klizmi prema određenom rasporedu, u cilju potpunog pražnjenja creva pre operacije.

Neposredno pre operacije, plasira se Foleyev urinarni kateter (Ch. 16–18) radi identifikacije uretre. Operativna procedura započinje incizijama kože u delu između uretralnog i analnog otvora u obliku krstića (+), slova X ili H, radi pristupanja prostoru između uretre i mokraćne bešike, sa jedne strane, i rektuma, sa druge. U tom delu tupom preparacijom pravi se buduće ležište za modlu obloženu poliuretanskom spužvom, preko koje se postavlja autotransplantat kože tipa *Thiersch*. Nakon pripreme ležišta, tj. kavuma neovagine, sa desne ili leve natkolenice bolesnice uzima se kožni transplantat parcijalne debljine. Potom, transplantat se postavi na modlu obloženu poliuretanskom spužvom, ranjavom površinom prema spolja, i plasira u već pripljumljeno ležište. Modla se fiksira kožnim pojedinačnim šavovima iznad i ispod vrata za tkivo velikih usana.

U ranom postoperativnom toku, po potpunom zarastanju transplantata, najčešće sedam dana nakon operacije, plasirana modla pažljivo se vadi, uklanja se poliuretanska spužva, vrši se inspekcija aplikovanog transplantata i prostor ispira fiziološkim rastvorom. Potom se modla ponovo vraća i bolesnica se upućuje u način održavanja i nege rekonstruisane vagine. Obavezno je stalno nošenje modle u prvih 3 do 6 meseci, radi očuvanja dobijenih dimenzija. Kada je transplantat u potpunosti prihvaćen, dopušteno je stupanje u odnose mesec dana posle operacije. Bolesnice se prate 3–6 meseci (jednom mesečno), radi uvida u izgled i adaptaciju kožnog transplantata, kao i radi opservacije davajućeg regiona natkolenice. Istražujući postojeću medicinsku dokumentaciju uočava se relativno kratak vremenski period postoperativnog praćenja (1–2 godine), što prema postojećim stavovima nije dovoljno dug vremenski period. Moguća je pojava tumorskih tvorevina na sluzokoži rekonstruisane vagine, posle više godina, deceniju ili dve nakon izvođenja procedure McIndoe operacije<sup>14-19</sup>.

Cilj rada bio je utvrditi da li vagina rekonstruisana McIndoe metodom poseduje senzibilitet koji odgovara senzibilitetu normalne vagine, odnosno utvrditi da li postoji senzibilitet vagine rekonstruisane McIndoe metodom kod ispitanica sa MKRH sindromom i uporediti ga sa senzibilitetom normalne vagine, godinu dana posle rekonstrukcije.

## Metode

Ispitivanjem su obuhvaćene osobe ženskog pola, u dobi od 18 ili više godina, sa kongenitalnom anomalijom nedostatka vagine (*aplasia vaginae*) u okviru MKRH sindroma, kod kojih je učinjena rekonstrukcija vagine McIndoe metodom (grupa R) i osobe genotipa XX, ginekološki zdrave, sa normalnom vaginom (grupa K).

Sve ispitanice, unutar grupa R i K, svrstane su u odnosu na životnu dob u tri podgrupe: do 30 godina, od 30 do 50 godina i preko 50 godina. Prema tom kriterijumu, ispitanice iz grupe R svrstane su u podgrupe 1R, 2R i 3R, a ispitanice iz grupe K u podgrupe 1K, 2K i 3K.

Senzibilitet (dodir, toplota i hladnoća) ispitivan je primenom VonFrey esteziometra i termoesteziometra. Ispitanicama su data objašnjenja o samoj proceduri testiranja u cilju bolje saradnje i dobijanja pouzdanih rezultata<sup>20,21</sup>.

Ispitivanje senzibiliteta na dodir vršeno je pomoću VonFrey esteziometra (slika 1), dodirivanjem površine sluzokože pritiskom koji ne dovodi do depresije ispitivane površine u predelu ulaza, dela zida u sredini i na dnu vagine, u trajanju od pet sekundi, po pet puta. Registrovan je broj pozitivnih odgovora (BPO) od 1 do 5.



Sl. 1 – VonFrey esteziometar

Ispitivanje senzibiliteta na toplotu, odnosno za hladnoću vršeno je pomoću termoesteziometra (slika 2). Za ispitivanje senzibiliteta za toplotu staklena epruveta bila je ispunjena vodom temperature 40 °C i zatvorena gumenim zatvaračem kroz koji je provučen termometar. Na dnu staklene epruvete nalazio se bakarni nastavak oblika cilindra koji je posedovao završetak površine 1 mm<sup>2</sup>. Zahvaljujući termometru postojao je uvid u jednakost temperaturnih stimulusa tokom ispitivanja senzibiliteta na toplotu.



Sl. 2 – Termoesteziometar

Vrh bakarnog nastavka postavljan je na deo sluzokože na ulazu u vaginu, na deo zida u sredini i na dno vagine, u trajanju od pet sekundi, po pet puta. Registrovan je BPO od 1 do 5.

Za ispitivanje senzibiliteta na hladno staklena epruveta bila je ispunjavana vodom i kockicama leda temperature 10–15 °C i zatvarana gumenim zatvaračem kroz koji je bio provučen termometar. Zahvaljujući termometru postojao je uvid u jednakost temperaturnih stimulusa tokom ispitivanja senzibiliteta

na hladno. Vrh bakarnog nastavka postavljan je na deo sluzokože na ulazu u vaginu, na deo zida u sredini i na dno vagine u trajanju od pet sekundi, po pet puta. Registrovan je BPO od 1 do 5.

Za obradu podataka korišćen je neparametarski Mann-Whitney *U* test, zbog manjeg broja uzoraka.

## Rezultati

Poređenjem starosti ispitanica sa rekonstruisanom vaginom i ispitanica sa normalnom vaginom po grupama i podgrupama nije nađena statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ).

Rezultati ispitivanja senzibiliteta na dodir prikazani su u tabelama 1–3, senzibiliteta na toplotu u tabelama 4–6, a na hladnoću u tabelama 7–9.

Nije nađena statistički značajna razlika u osećaju dodira u području ulaza u vaginu između ispitanica sa rekonstruisanom i ispitanica sa normalnom vaginom, niti u grupama R vs K, niti u podgrupama 1R vs 1K, 2R vs 2K, 3R vs 3K (tabela 1).

Nađena je statistički značajna razlika u osećaju dodira u delu sredine zida vagine između ispitanica grupe R i K ( $p < 0,05$ ). Nije nađena statistički značajna razlika u osećaju dodira u sredini zida vagine između ispitanica starosti do 30 godina (1R vs 1K), kao ni starosti od 30 do 50 godina (2R vs 2K), dok se razlika u osećaju kod ispitanica starijih od 50 godina (3R vs 3K) nalazila na granici statističke značajnosti ( $p = 0,05$ ) (tabela 2).

Postojala je visoko statistički značajna razlika u osećaju dodira u području dna vagine između ispitanica sa rekonstruisanom i normalnom vaginom (R vs K) ( $p < 0,01$ ).

Pored toga, razlika je bila na granici statističke značajnosti ( $p = 0,058$ ) za ispitanice dobi do 30 godina (1R vs 1K), dok je postojala statistički značajna razlika u osećaju dodira u području dna vagine između ispitanica dobi od 30 do 50 godina (2R vs 2K). Nasuprot tome, nije nađena statistički značajna razlika u dobijenim rezultatima kod najstarijih ispitanica (3R vs 3K) (tabela 3).

Rezultati ispitivanja osećaja toplote u delu ulaza u vaginu dati su u tabeli 4, u delu sredine zida vagine u tabeli 5, a na dnu vagine u tabeli 6.

Nije bilo statistički značajne razlike u osećaju toplote na ulazu u vaginu između ispitanica svih grupa (R vs K) i podgrupa (1R vs 1K, 2R vs 2K, 3R vs 3K) (tabela 4).

Nađena je visoko statistički značajna razlika u osećaju toplote u području sredine zida vagine ispitanica između grupe R i K ( $p < 0,01$ ). Pored toga, postojala je statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) u osećaju toplote u sredini zida vagine kod ispitanica u dobi od 30 do 50 godina (2R vs 2K). Nije utvrđena statistički značajna razlike u osećaju toplote u delu sredine zida vagine kod najmladih (1R vs 1K) i kod najstarijih ispitanica (3R vs 3K) (tabela 5).

Postojala je visoko statistički značajna razlika u osećaju toplote na dnu vagine kod ispitanica u dobi od 30 do 50 godina (2R vs 2K) ( $p < 0,01$ ). Nasuprot tome, nije bilo statistički značajne razlike u osećaju toplote u dnu vagine između ispitanica u dobi do 30 godina (1R vs 1K), niti između ispitanica starijih od 50 godina (3R vs 3K), kao ni svih ispitanica zajedno (R vs K) (tabela 6).

Rezultati ispitivanja osećaja hladnoće u delu ulaza u vaginu dati su u tabeli 7, u delu sredine zida vagine u tabeli 8, a na dnu vagine u tabeli 9.

Postojala visoko statistički značajna razlika u osećaju hladnoće na ulazu u vaginu između ispitanica grupe R i K ( $p < 0,01$ ). Takođe, postojala je visoko statistički značajna razlika u osećaju hladnoće na ulazu u vaginu kod ispitanica u

Tabela 1

**Osećaj dodira u delu ulaza u vaginu ispitanica sa rekonstruisanom vaginom (R) i ispitanica kontrolne grupe (K)**

Broj pozitivnih odgovora	Grupe ispitanica			Podgrupe ispitanica (životna dob)								
	R vs K			do 30 godina			30–50 godina			preko 50 godina		
	R	K	ukupno	1R	1K	ukupno	2R	2K	ukupno	3R	3K	ukupno
2	1	2	3	0	0	0	1	0	1	0	2	2
3	16	14	30	4	4	8	7	7	14	5	3	8
4	4	5	9	3	3	6	1	2	3	0	0	0
Ukupno	21	21	42	7	7	14	9	9	18	5	5	10
	$Z = -0,048$ $p = 0,962$			$Z = 0,000$ $p = 1,000$			$Z = -0,974$ $p = 0,330$			$Z = -1,500$ $p = 0,134$		

Tabela 2

**Osećaj dodira u delu sredine zida vagine ispitanica sa rekonstruisanom vaginom (R) i ispitanica kontrolne grupe (K)**

Broj pozitivnih odgovora	Grupe ispitanica			Podgrupe ispitanica (životna dob)								
	R vs K			do 30 godina			30–50 godina			preko 50 godina		
	R	K	ukupno	1R	1K	ukupno	2R	2K	ukupno	3R	3K	ukupno
2	3	10	13	1	3	4	2	4	6	0	3	3
3	17	11	28	6	4	10	6	5	11	5	2	7
4	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Ukupno	21	21	42	7	7	14	9	9	18	5	5	10
	$Z = -2,420$ $p = 0,016$			$Z = -1,140$ $p = 0,254$			$Z = -1,183$ $p = 0,237$			$Z = -1,964$ $p = 0,05$		

Tabela 3

**Osećaj dodira u delu dna vagine ispitanica sa rekonstruisanom vaginom (R) i ispitanica kontrolne grupe (K)**

Broj pozitivnih odgovora	Grupe ispitanica			Podgrupe ispitanica (životna dob)								
	R vs K			do 30 godina			30–50 godina			preko 50 godina		
	R	K	ukupno	1R	1K	ukupno	2R	2K	ukupno	3R	3K	ukupno
1	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	6	14	20	0	2	2	0	6	6	3	4	7
3	15	4	19	3	4	7	9	2	11	2	1	3
4	0	1	1	4	1	5	0	1	1	0	0	0
Ukupno	21	21	42	7	7	14	9	9	18	5	5	10
	$Z = -2,911$ $p = 0,004$			$Z = -1,893$ $p = 0,058$			$Z = -2,315$ $p = 0,021$			$Z = -0,655$ $p = 0,513$		

Tabela 4

**Osećaj toplote u delu ulaza u vaginu ispitanica sa rekonstruisanom vaginom (R) i ispitanica kontrolne grupe (K)**

Broj pozitivnih odgovora	Grupe ispitanica			Podgrupe ispitanica (životna dob)								
	R vs K			do 30 godina			30–50 godina			preko 50 godina		
	1R	1K	ukupno	1R	1K	ukupno	2R	2K	ukupno	3R	3K	ukupno
1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
3	13	17	30	3	4	7	5	8	13	5	5	10
4	7	4	11	3	3	6	4	1	5	0	0	0
Ukupno	21	21	42	7	7	14	9	9	18	5	5	10
	$Z = -0,736$ $p = 0,462$			$Z = -0,286$ $p = 0,775$			$Z = -1,534$ $p = 0,125$			$Z = 0,000$ $p = 1,000$		

Tabela 5

**Osećaj toplote u delu sredine zida vagine ispitanica sa rekonstruisanom vaginom (R) i ispitanica kontrolne grupe (K)**

Broj pozitivnih odgovora	Grupe ispitanica			Podgrupe ispitanica (životna dob)								
	R vs K			do 30 godina			30–50 godina			preko 50 godina		
	R	K	ukupno	1R	1K	ukupno	2R	2K	ukupno	3R	3K	ukupno
1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
2	1	10	11	0	2	2	1	6	7	0	2	2
3	16	11	27	6	5	11	5	3	8	5	3	8
4	3	0	3	0	0	0	3	0	3	0	0	0
Ukupno	21	21	42	7	7	14	9	9	18	5	5	10
	$Z = -2,838$ $p = 0,005$			$Z = -0,445$ $p = 0,656$			$Z = -2,584$ $p = 0,010$			$Z = -1,500$ $p = 0,134$		

Tabela 6

Osećaj toplote u delu dna vagine ispitanica sa rekonstruisanom vaginom (R) i ispitanica kontrolne grupe (K)												
Broj pozitivnih odgovora	Grupe ispitanica			Podgrupe ispitanica (životna dob)								
	R vs K			do 30 godina			30–50 godina			preko 50 godina		
	R	K	ukupno	1R	1K	ukupno	2R	2K	ukupno	3R	3K	ukupno
1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
2	5	9	14	2	1	3	0	5	5	3	3	6
3	10	12	22	4	6	10	4	4	8	2	2	4
4	5	0	5	0	0	0	5	0	5	0	0	0
Ukupno	21	21	42	7	7	14	9	9	18	5	5	10
	Z = -1,585 p = 0,113			Z = -1,209 p = 0,227			Z = -3,073 p = 0,002			Z = 0,000 p = 1,000		

Tabela 7

Osećaj hladnoće u delu ulaza u vaginu ispitanica sa rekonstruisanom vaginom (R) i ispitanica kontrolne grupe (K)												
Broj pozitivnih odgovora	Grupe ispitanica			Podgrupe ispitanica (životna dob)								
	R vs K			do 30 godina			30–50 godina			preko 50 godina		
	R	K	ukupno	1R	1K	ukupno	2R	2K	ukupno	3R	3K	ukupno
3	6	17	23	3	4	7	1	8	9	2	5	7
4	15	2	17	4	1	5	8	1	9	3	0	3
5	0	2	2	0	2	2	0	0	0	0	0	0
Ukupno	21	21	42	7	7	14	9	9	18	5	5	10
	Z = -2,881 p = 0,004			Z = -0,070 p = 0,944			Z = -3,207 p = 0,001			Z = -1,964 p = 0,050		

Tabela 8

Osećaj hladnoće u delu sredine zida vagine ispitanica sa rekonstruisanom vaginom (R)  
i ispitanica kontrolne grupe (K)

Broj pozitivnih odgovora	Grupe ispitanica			Podgrupe ispitanica (životna dob)								
	R vs K			do 30 godina			30–50 godina			preko 50 godina		
	R	K	ukupno	1R	1K	ukupno	2R	2K	ukupno	3R	3K	ukupno
2	0	13	13	0	4	4	0	7	7	0	2	2
3	14	8	22	6	3	9	6	2	8	2	3	5
4	7	0	7	1	0	1	3	0	3	3	0	3
Ukupno	21	21	42	7	7	14	9	9	18	5	5	10
	Z = -4,563 p = 0,000			Z = -2,343 p = 0,019			Z = -3,207 p = 0,001			Z = -2,154 p = 0,031		

Tabela 9

Osećaj hladnoće u delu dna vagine ispitanica sa rekonstruisanom vaginom (R)  
i ispitanica kontrolne grupe (K)

Broj pozitivnih odgovora	Grupe ispitanica			Podgrupe ispitanica (životna dob)								
	R vs K			do 30 godina			30–50 godina			preko 50 godina		
	R	K	ukupno	1R	1K	ukupno	2R	2K	ukupno	3R	3K	ukupno
2	0	10	10	0	3	3	0	6	6	0	1	1
3	16	11	27	6	4	10	5	3	8	5	4	9
4	5	0	5	1	0	1	4	0	4	0	0	0
Ukupno	21	21	42	7	7	14	9	9	18	5	5	10
	Z = -3,929 p = 0,000			Z = -2,015 p = 0,044			Z = -3,130 p = 0,002			Z = -1,000 p = 0,317		

dobi od 30 do 50 godina (2R vs 2K) i statistički značajna razlika u osećaju hladnoće na ulazu u vaginu između najstarijih ispitanica, (preko 50 godina) (3R vs 3K). Nasuprot tome, nije bilo statistički značajne razlike u osećaju hladnoće na ulazu u vaginu kod ispitanica u dobi do 30 godina (1R vs 1K) (tabela 7).

Postojala je visoko statistički značajna razlika u osećaju hladnoće u sredini zida vagine između ispitanica grupe R i K, kao i kod ispitanica u dobi od 30 do 50 godina (2R vs 2K)

( $p < 0,01$ ). Pored toga, uočena je statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) u osećaju hladnoće u sredini zida vagine kod ispitanica mlađih od 30 godina (1R vs 1K) i kod ispitanica starijih od 50 godina (3R vs 3K) (tabela 8).

Postojala je visoko statistički značajna razlika u osećaju hladnoće u dnu vagine između ispitanica grupe R i K, kao i ispitanica u dobi od 30 do 50 godina (2R vs 2K). Pored toga, nađena je statistički značajna razlika u osećaju hladnoće u dnu vagine kod ispitanica mlađih od 30 godina (1R vs 1K).

Nasuprot tome, nije bilo statistički značajne razlike u osećaju hladnoće najstarijih ispitanica (3R vs 3K) u delu dna vagine (tabela 9).

### Diskusija

Rekonstrukcija vagine operativnom procedurom McIn-doe u kliničkoj praksi primenjuje se duže od sto godina. Međutim, nisu detaljno određivane biološke karakteristike rekonstruisane vagine tom i drugim operativnim tehnikama, kao ni poređenje sa karakteristikama normalne vagine.

Dosadašnja istraživanja bila su bazirana na proučavanju anomalija vagine, najčešće prikazima bolesnika i upotrebi starih i novih metoda, istorijskim prikazima razvoja rekonstruktivnih procedura, prikazu iskustava, utvrđivanju postojanja udruženih anomalija u okviru ovog sindroma i kasnoj pojavi tumoroznih formacija<sup>3-7, 8, 10, 12, 14-19, 22</sup>.

S obzirom da su Hilliges i sar.<sup>23</sup> 1995. godine sproveli ispitivanja nervnih završetaka samo kod osoba sa normalnom vaginom (imunohistohemijskim metodama), možemo reći da je ovo istraživanje jedinstveno.

Ispitivanje senzibiliteta obuhvatilo je ispitivanje osećaja dodira, toplote i hladnoće na tri različita mesta (ulaz, sredina zida i dno), kod ispitanica sa rekonstruisanom i ispitanica sa normalnom vaginom. U literaturi nema podataka o ispitivanju senzibiliteta, izvršenom na ovaj način za rekonstruisanu sluzokožu vagine, ali postoje podaci o ispitivanju senzibiliteta transplantata kože i reznjeva u drugim oblastima rekonstruktivne hirurgije<sup>20, 21, 24, 25</sup>.

Dobijeni rezultati pokazali su da nije bilo razlike u osećaju dodira na ulazu u vaginu između ispitanica sa rekonstruisanom i normalnom vaginom, u odnosu na sve dobne grupe, odnosno da su ispitanice sa rekonstruisanom vaginom imale isti osećaj dodira u delu ulaza, kao ispitanice sa normalnom vaginom.

Nadalje pokazano je da je postojala razlika u osećaju dodira između ispitanica svih dobnih grupa, sa rekonstruisanom i onih sa normalnom vaginom odnosno da su ispitanice sa rekonstruisanom vaginom imale bolji osećaj dodira u sredini zida vagine ( $p < 0,05$ ). Nije bilo razlike u osećaju kod ispitanica mladih od 30 godina i ispitanica u dobi od 30 do 50 godina, što znači da su jednako osećale kao i osobe sa normalnom vaginom. Razlika u osećaju dodira u sredini zida vagine kod najstarijih ispitanica bila je statistički značajna ( $p < 0,05$ ), što znači da su osobe sa rekonstruisanom vaginom imale bolji osećaj dodira od osoba sa normalnom vaginom u delu sredine zida vagine.

Rezultati dobijeni merenjem osećaja dodira u dnu vagine za ispitanice sa rekonstruisanom vaginom i za one sa normalnom vaginom, u odnosu na sve dobne grupe, pokazali su da ima statistički značajne razlike u osećaju dodira ( $p < 0,01$ ) u delu dna vagine. Po podgrupama, rezultati su bili na granici statističke značajnosti za najmlađe ispitanice (do 30 godina) ( $p = 0,058$ ), statistički značajni ( $p = 0,021$ ) za ispitanice od 30 do 50 godina i bez statističke značajnosti za najstarije ispitanice. To znači da su ispitanice sa rekonstruisanom vaginom imale bolji osećaj dodira u dnu (forniksu) vagine nego ispitanice sa normalnom vaginom.

Ispitivanje osećaja za toplotu u delu ulaza u vaginu, ispitanica svih dobnih grupa, dalo je rezultate koji nisu bili statistički značajni, kako kod ispitanica svih dobnih grupa zajedno, tako i kod ispitanica svih starosih podgrupa. To znači da su osobe sa rekonstruisanom vaginom jednako osećale toplotu u delu ulaza kao osobe sa normalnom vaginom.

Međutim, ispitivanje osećaja za toplotu u delu sredine zida vagine pokazalo je da postoji visoko statistički značajna razlika ( $p < 0,01$ ) kod svih ispitanica, tako da su ispitanice sa rekonstruisanom vaginom, imale bolji osećaj za toplotu od osoba sa normalnom vaginom. Ovo je potvrđeno kod ispitanica u dobi od 30 do 50 godina ( $p = 0,010$ ), dok najmlađe i najstarije ispitanice nisu pokazale razliku u osećaju, odnosno jednako su osećale toplotu u delu sredine zida vagine, kao i osobe sa normalnom vaginom.

Ispitivanje osećaja toplote u delu dna vagine, ispitanica svih dobnih grupa zajedno, kod najmladih i najstarijih ispitanica, dalo je rezultate koji nisu bili statistički značajni. Samo kod ispitanica koje su imale od 30 do 50 godina, rezultati su pokazali da postoji visoko statistički značajna razlika ( $p < 0,01$ ) u osećaju toplote na dnu vagine. To znači da su osobe sa rekonstruisanom vaginom, jednako ili nešto bolje osećale toplotu u delu dna vagine od osoba sa normalnom vaginom.

Ispitivanje osećaja na hladnoću u delu ulaza u vaginu, ispitanica svih dobnih grupa dalo je visoko statistički značajnu razliku ( $p < 0,01$ ), što govori da su ispitanice sa rekonstruisanom vaginom imale bolji osećaj za hladnoću od ispitanica sa normalnom vaginom. Poredeći ispitanice u okviru podgrupa, najmlađe ispitanice sa rekonstruisanom vaginom imale su jednak osećaj hladnoće kao one sa normalnom. Međutim, ispitanice sa rekonstruisanom vaginom koje su imale od 30 do 50 godina značajno bolje ( $p < 0,01$ ), a najstarije ispitanice bolje ( $p = 0,050$ ) su osećale hladnoću na ulazu u vaginu od osoba sa normalnom vaginom.

Ispitivanje osećaja na hladno u delu sredine zida vagine, pokazalo je da su ispitanice svih dobnih grupa kojima je vagina rekonstruisana, imale značajno bolji osećaj za hladnoću od osoba sa normalnom vaginom ( $p < 0,001$ ). Poređenjem ispitanica u okviru podgrupa, nađeno je da su najmlađe ispitanice sa rekonstruisanom vaginom bolje osećale hladnoću u delu sredine zida od svojih vršnjakinja sa normalnom vaginom ( $p < 0,05$ ), iako je vrednost  $p = 0,019$  bliža visoko statistički značajnoj razlici. Kod ispitanica koje su imale od 30 do 50 godina postojala je visoko statistički značajna razlika ( $p < 0,01$ ) i osobe sa rekonstruisanom vaginom bolje su osećale hladnoću u delu sredine zida vagine od osoba sa normalnom vaginom. Najstarije ispitanice sa rekonstruisanom vaginom, takođe, bolje su osećale hladnoću od onih sa normalnom vaginom ( $p < 0,05$ ).

Ispitivanje osećaja na hladnoću u delu dna vagine, pokazalo je da postoji visoko statistički značajna razlika ( $p < 0,001$ ) kod ispitanica svih dobnih grupa, gde su ispitanice kojima je rekonstruisana vagina, imale bolji osećaj za hladnoću u delu dna od osoba sa normalnom vaginom. Poređenjem ispitanica u okviru podgrupa, nađeno je da su najmlađe ispitanice sa rekonstruisanom vaginom bolje osećale hladno-

ću u delu dna vagine od onih sa normalnom ( $p < 0,05$ ). Kod ispitanica od 30 do 50 godina postojala je visoko statistički značajna razlika ( $p < 0,01$ ), tako da su osobe sa rekonstruisanom vaginom bolje osećale hladnoću u delu dna vagine od osoba sa normalnom. Najstarije ispitanice sa rekonstruisanom vaginom imale su isti osećaj za hladnoću kao i osobe sa normalnom, jer nije bilo statistički značajne razlike u dobijenim vrednostima.

Sumirajući dobijene rezultate može se reći da je osećaj dodira u sredini zida i dna vagine izraženiji kod ispitanica kod kojih je vagina rekonstruisana McIndoe metodom. Pored toga, osećaj toplote u delu sredine zida vagine, kao i osećaj hladnoće u delu dna vagine izraženiji su kod ispitanica kod

kojih je vagina rekonstruisana na isti način, odnosno autotransplantatom kože tipa Thiersch (McIndoe metoda).

Ovakvi rezultati najverovatnije su posledica sposobnosti transplantata kože za oporavak senzibiliteta, prorastanjem nervnih završetaka u transplantat iz okoline<sup>20, 21, 24, 25</sup>.

### Zaključak

Različiti tipovi senzibiliteta (dodir, toplota, hladnoća) vagine rekonstruisane McIndoe metodom bolje su ili jednako zastupljeni u odnosu na vrednosti odgovarajućih senzibiliteta normalne vagine.

### L I T E R A T U R A

1. *Converse JM*. Reconstructive plastic surgery. 2nd ed. Volume 7. Philadelphia: Saunders; 1985.
2. *McCarthy J*. Plastic surgery. 1st ed. Volume 6. Philadelphia: Saunders; 1990.
3. *Pittock ST, Babović-Vuksanović D, Lteif A*. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser anomaly and its associated malformations. *Am J Med Genet A* 2005; 135(3): 314–6.
4. *Kula S, Saygili A, Tunaoglu FS, Olguntürk R*. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome associated with pulmonary stenosis. *Acta Paediatr* 2004; 93(4): 570–2.
5. *Linke F, Kraemer W, Ansoerge M, Brzeźzinska R, Berger S*. Right esophageal lung in a preterm child with VACTERL association and Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Pediatr Surg Int* 2005; 21(4): 285–8.
6. *Ulrich U, Schrickel J, Dorn C, Richter O, Lewalter T, Lüderitz B*, et al. Mayer-von Rokitansky-Küster-Hauser syndrome in association with a hitherto undescribed variant of the Holt-Oram syndrome with an aorto-pulmonary window. *Hum Reprod* 2004; 19(5): 1201–3.
7. *Morcel K, Camborieux L; Programme de Recherches sur les Aplasies Müllériennes, Guerrier D*. Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser (MRKH) syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2007; 2: 13.
8. *Dobroński P, Czapliski M, Borkowski A*. History of vaginal reconstruction. *Ginekol Pol* 2004; 75(1): 65–75. (Polish)
9. *Graziano K, Teitelbaum DH, Hirschl RB, Coran AG*. Vaginal reconstruction for ambiguous genitalia and congenital absence of the vagina: a 27-year experience. *J Pediatr Surg* 2002; 37(7): 955–60.
10. *Karim RB, Hage JJ, Dekker JJ, Schoot CM*. Evolution of the methods of neovaginoplasty for vaginal aplasia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1995; 58(1): 19–27.
11. *Šjivić B*. Systematic and topographic anatomy – abdomen and pelvis. 3rd ed. Belgrade: Zavod za udžbenike; 1979. (Serbian)
12. *ACOG Committee on Adolescent Health Care*. ACOG Committee Opinion No. 355: Vaginal agenesis: diagnosis, management, and routine care. *Obstet Gynecol* 2006; 108(6): 1605–9.
13. *Kumar A, Manou SJ*. Palmar dermatoglyphics as diagnostic tool: Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2003; 69(2): 95–6.
14. *Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, Smets M, Donnez J*. Pelvic mass in a woman with Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Fertil Steril* 2004; 81(1): 203–4.
15. *Liebrich C, Reinecke-Lüthge A, Kühnle H, Petry KU*. Squamous cell carcinoma in neovagina at Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Zentralbl Gynakol* 2006; 128(5): 271–4. (German)
16. *Steiner E, Woernle F, Kubn W, Beckmann K, Schmidt M, Pilch H*, et al. Carcinoma of the neovagina: case report and review of the literature. *Gynecol Oncol* 2002; 84(1): 171–5.
17. *Edmonds DK*. Multiple fibroids in a postmenopausal woman with Mayer Rokitansky Küster Hauser syndrome. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2003; 16(2): 65–6.
18. *Enatsu A, Harada T, Yoshida S, Inabe T, Terakawa N*. Adenomyosis in a patient with the Rokitansky-Küster-Hauser syndrome. *Fertil Steril* 2000; 73(4): 862–3.
19. *Uršić-Vrščaj M, Lindtner J, Lamovec J, Novak J*. Adenocarcinoma in a sigmoid neovagina 22 years after Wertheim-Meigs operation. Case report. *Eur J Gynaecol Oncol* 1994; 15(1): 24–8.
20. *Ponten B*. Grafted skin. *Acta Chir Scand Suppl* 1960; Suppl 257: 1–78.
21. *Kožarski J*. Biologic values of transplanted microvascular flaps. Belgrade: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva 2000. (Serbian)
22. *Powell DM, Newman KD, Randolph J*. A proposed classification of vaginal anomalies and their surgical correction. *J Pediatr Surg* 1995; 30(2): 271–5.
23. *Hilliges M, Falconer C, Ekman-Ordeberg G, Johansson O*. Innervation of the human vaginal mucosa as revealed by PGP 9.5 immunohistochemistry. *Acta Anat (Basel)* 1995; 153(2): 119–26.
24. *Converse JM*. Reconstructive plastic surgery. 2nd ed. Volume 1. Philadelphia: Saunders; 1985.
25. *Kožarski JV*. Some biological characteristics of transferred free flaps. *Microsurgery* 2007; 27(5): 360–8.

Rad je primljen 21. II 2008.





## Analiza dimenzija sele turcike kod bolesnika sa mandibularnim prognatizmom

### Analysis of dimensions of sella turcica in patients with mandibular prognathism

Tatjana Čutović\*, Jasna Pavlović‡, Ružica Kozomara†

Vojnomedicinska akademija, \*Klinika za stomatologiju, †Klinika za maksilofacijalnu hirurgiju, Beograd; ‡Medicinski fakultet, Priština/Kosovska Mitrovica

#### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Bolesnici sa mandibularnim prognatizmom, kao dominantnim simptomom kliničke slike, imaju poremećene sagitalne međuvilične odnose, koji ovoj dentokraniofacijalnoj anomaliji, pored hiperplazije mandibule i obrnutog preklopa frontalnih zuba, stvaraju upadljiv spoljašnji izgled. Cilj ovog rada bio je da ispitamo razlike u dimenzijama sele turcike između bolesnika sa mandibularnim prognatizmom i eugnatih osoba. **Metode.** Na telerendgenskim snimcima 30 eugnatih osoba i 30 bolesnika sa mandibularnim prognatizmom analizirana su 3 parametra koji predstavljaju dimenzije sele turcike (površina, širina i dubina). **Rezultati.** Ustanovljena je statistička značajnost razlika u vrednosti parametara između grupa. Sva tri merena parametra (površina širina i dubina) značajno su bili veći kod bolesnika sa mandibularnim prognatizmom ( $p < 0,01$ ). **Zaključak.** Kod bolesnika sa mandibularnim prognatizmom povećane su sve merene dimenzije sele turcike, ona je u celini povećana, ali to povećanje nije u korelaciji sa stepenom ispoljenosti same anomalije.

#### Ključne reči:

kefalometrija; sela turcika; prognatizam.

#### Abstract

**Introduction/Aim.** Patients with mandibular prognathism as dominant symptom have disordered sagittal interjaw relations that make prominent appearance to this dental craniofacial anomaly beside hyperplastic mandibles and inverted front teeth overlap. The aim of this study was to examine the differences in dimensions of sella turcica in patients with mandibular prognathism and in eugathic. **Methods.** On profile teleradiographs of 30 eugathic control and 30 patients with mandibular prognathism, three parameters, which represent dimensions of sella turcica, were measured (surface, width and depth). **Results.** Statistically significant difference in values between the groups was found. All the three measured parameters were significantly higher in the patients with mandibular prognathism ( $p < 0.01$ ). **Conclusion.** In the patients with mandibular prognathism all the measured dimensions of sella turcica were bigger, and so was sella turcica, but that enlargement was not in correlation with the degree of anomaly itself.

#### Key words:

cephalometry; sella turcica; prognathism.

#### Uvod

Sela turcika (ST) zauzima centralno mesto u skoro svim kefalometrijskim analizama neurokranijuma i viscerokranijuma. Tačnije, njena središnja tačka – tačka sele (S), u sastavu je mnogih referentnih ravni prema kojima se orijentisu ostale strukture. Zato, njen oblik, dimenzije i položaj u odnosu na okolne strukture od velikog su značaja<sup>1,2</sup>. Ona leži na intrakranijumskoj strani tela sfenoidne kosti i sastoji se od centralne (pituitarne) jame, napred ograničene tuberkulumom sele, a pozadi dorzumom sele. Četiri klinoidna procesusa, dva prednja i dva zadnja, projektuju se iznad nje, natkriljujući je, nekad delimično, a nekad u potpunosti. Postoje tri osnovna anatomski oblika ST: okrugli, ovalni i ravan (pljosnat). Najčešće, ST je okruglog ili ovalnog oblika.

Već dugo postoji težnja autora da se dimenzije ST što objektivnije odrede, pre svega zbog njenog bliskog odnosa sa tako važnom žlezdom kao što je hipofiza. Verovalo se da uvećana ST znači i uvećanu hipofizu. Danas, međutim, zna se da svako uvećanje ST ne znači i uvećanje hipofize, kao što ni svako oboljenje hipofize ne mora biti praćeno uvećanjem ST. Ona je skoro uvek uvećana kod ekspanzivnih lezija hipofize i kod nekih oblika povećanog intrakranijumskog pritiska.

Mnogi autori, različitih profila, merili su dimenzije ST, sa različitim ciljevima i metodama, ali još uvek ne postoje jasni standardi za način merenja kada je ova anatomski struktura u pitanju. Pošto se merenja vrše na različitim materijalu i različitim orijentacionim tačkama, primenom različitih tehnika snimanja i merenja, nije lako uporediti dobijene rezultate. I dok su pojedini autori koristili kadavere<sup>3</sup>, ostali su merenja, uglavnom, vršili na telerendgenskim snimcima gla-

ve, pre svega lateralnim, a pojedini autori su uveli i antero-posteriorne (AP) telerendgenske snimke, analizirajući treću dimenziju ST u cilju što preciznijeg izračunavanja njene zapremine<sup>4-7</sup>.

Dimenzije ST uglavnom se određuju u cilju iznalaženja standarda merenja, prosečnih vrednosti za zdravu populaciju, razlika među polovima i među osobama različitog životnog doba, usklađenosti rasta ST sa opštim somatskim rastom ili hronološkim dobom, kao i radi utvrđivanja promena oblika i dimenzija kod pojedinih oboljenja.

Ustanovljena je izmena oblika i dimenzija ST kod mnogih urođenih anomalija: rascepi usne i nepca<sup>8</sup>, lumbosakralna mijelomeningokela<sup>9</sup>, Seckl sindrom<sup>10</sup>, Riegerov sindrom<sup>11</sup>, urođene kraniofacijalne anomalije<sup>12,13</sup>, pa čak i kod urođenih dentalnih anomalija, kao što su palatinalna pozicija gornjih očnjaka i anodoncija drugih donjih premolara<sup>14</sup>.

Neka oboljenja takođe u svojoj kliničkoj slici imaju izmenjen oblik i dimenzije ST: akromegalija<sup>15</sup>, hipo- i hipertireoidizam<sup>6</sup>, sindrom prazne sele, miotonična distrofija<sup>7</sup>. Zabeležena su i asimptomatska uvećanja ST, pronađena slučajno, koja ne treba zanemariti jer mogu predstavljati početak nekog oboljenja koje još uvek nije klinički manifestno<sup>16</sup>.

Među autorima postoje različita mišljenja o tome koje dimenzije ST imaju veći značaj za merenje, odnosno koje dimenzije ST, izmerene na telerendgenskom snimku, su objektivnije (linearne, površinske, indeksne ili zapremina procenjena preko tri linearne dimenzije).

Budući da je ST u sastavu kranijumske baze, oblik i dimenzije kranijumske baze utiču na poziciju i dimenzije ST. Sa druge strane, oblik i dimenzije kranijumske baze, zavise od sagitalnih međuviličnih odnosa<sup>1,2</sup>. Nameće se zaključak da i dimenzije i pozicija ST, takođe, zavise od sagitalnih međuviličnih odnosa. Mandibularni prognatizam, kao dominantan simptom, ima upravo poremećene sagitalne međuvilične odnose koji ovoj dentokraniofacijalnoj anomaliji, pored hiperplazije mandibule i obrnutog preklopa frontalnih zuba, stvaraju upadljiv spoljašnji izgled. Smatra se da bi u cilju uočavanja različitosti u dimenzijama ST između bolesnika sa mandibularnim prognatizmom i eugnatih osoba, trebalo meriti pre svega površinu, ali i linearne dimenzije (dubinu i širinu), s obzirom da je ustanovljeno da su one najizloženije varijacijama<sup>13,17,18</sup>.

Imajući to u vidu, cilj ovog rada bio je da se ustanove razlike u dimenzijama ST (površine, širine i dubine) između bolesnika sa mandibularnim prognatizmom i eugnatih osoba koje, po ortodontski važećim kriterijumima, imaju harmoničan izgled lica.

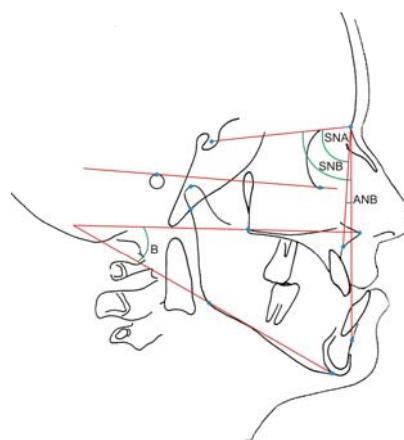
## Metode

Ovim istraživanjem bilo je obuhvaćeno ukupno 60 bolesnika Klinike za stomatologiju Vojnomedicinske akademije i to 30 bolesnika sa mandibularnim prognatizmom (studijska grupa) i 30 eugnatih osoba (kontrolna grupa). Svi bolesnici bili su muškog pola i starosti 18–30 godina.

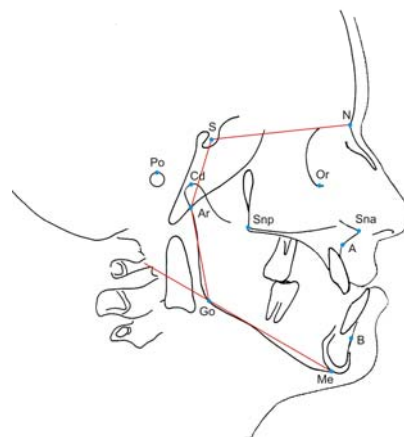
Za svakog bolesnika urađen je profilni telerendgenski snimak glave u standardnim uslovima (aparatus marke Philips, jačina struje 20 mA, napon 75–80 kV, vreme ekspozicije

11–12 sec). Glava je bila fiksirana u kefalostat, a snimanje je vršeno sa rastojanja od 1,5 m. Analizi telerendgenskih snimaka predhodilo je prenošenje odgovarajućih struktura na paus papir fiksiran za film. Zatim, označene su orjentacione tačke i ravni koje će se koristiti u analizama određenih angulusnih i linearnih dimenzija.

Na osnovu orjentacionih tačaka i ravni, mereni su i analizirani sledeći angulusni parametri koji predstavljaju stepen ispoljenosti anomalije i na osnovu kojih je izvršena ortodontska diferencijacija grupa: ugao mandibularnog prognatizma (SNB); ugao sagitalnih međuviličnih odnosa (ANB); mandibularni ili gonijalni ugao – Go (ugao između korpusa i ramusa mandibule), ugao vertikalnih međuviličnih odnosa (B), ugao koji grade ravni SpP i MP, ugao turskog sedla (NSAr), artikularni ugao (SARGo) i Bjorkov poligon (zbir tri ugla NSAr, SARGo i Go) (slike 1 i 2).



Sl. 1 – Angulusni parametri



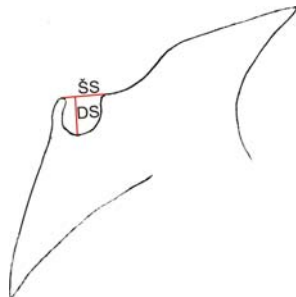
Sl. 2 – Uglovi Bjorkovog poligona

Svrstavanje bolesnika u grupe obavljeno je na osnovu sledećih ortodontskih kriterijuma:

– bolesnici iz studijske grupe imali su sledeće vrednosti parametara:  $SNB \geq 80^\circ$ ,  $ANB \leq 0$ ,  $Go \geq 130^\circ$  i tip rasta lica po Bjorku – unazad (Bjorkov poligon  $\geq 396^\circ$ );

– bolesnici iz kontrolne grupe imali su sledeće vrednosti parametara:  $SNB \leq 80^\circ$ ,  $ANB = 0-4^\circ$ ,  $Go \leq 130^\circ$  i tip rasta lica po Bjorku – unapred (Bjorkov poligon  $\leq 396^\circ$ ).

Merene su sledeće dimenzije ST: površina – Ps (komputerski (korišćen je *AutoCad* program) izmerena površina unutar iscrtane konture ST, premošćene ravnom linijom koja spaja tuberkulum i dorzum sele), širina – Šs (pravolinijsko rastojanje između tuberkuluma i dorzuma ST) i dubina – Ds (normalno rastojanje između linije koja predstavlja širinu sele i najniže tačke na konturi sele) (slika 3).



Sl. 3 – Dimenzije sele turcike

Statističkom obradom dobijeni su rezultati za svaki izmereni parametar i za obe grupe bolesnika. Upoređivanje merenih parametara između grupa i utvrđivanje statističke značajnosti, izvršeno je primenom Studentovog *t* testa, sa nivoom pouzdanosti od 5% ( $p < 0,05$ ). Za svaki parametar određena je distribucija ispitanika prema srednjim vrednostima dobijenim za eugnatne osobe. Ispitivanje međusobne zavisnosti parametara testirano je utvrđivanjem postojanja koeficijenta korelacije po Pearsonu.

## Rezultati

Analizom dobijenih rezultata ispitivanih parametara utvrdili smo statistički značajnu razliku za srednje vrednosti Ps između bolesnika studijske i kontrolne grupe (tabela 1). Kada se analizira distribucija ispitanika prema srednjoj vrednosti Ps izmerenoj za eugnatne osobe ( $69,26 \text{ mm}^2$ ), vrednosti površine ST veće od referentnih izmerene su kod 90% ispitanika studijske grupe, u odnosu na 43,3% ispitanika kontrolne grupe (tabela 2).

Kod bolesnika sa mandibularnim prognatizmom srednja vrednost Šs bila je  $11,60 \pm 1,90 \text{ mm}$ , dok je kod eugnatnih osoba iznosila  $9,93 \pm 1,48 \text{ mm}$  što se pokazalo kao statistički visoko značajna razlika (tabela 1). Kada se analizira distribucija ispitanika prema srednjoj vrednosti Šs izmerenoj za eugnatne osobe ( $9,93 \text{ mm}$ ), vrednosti Šs veće od referentnih izmerene su kod 90% ispitanika studijske grupe, u odnosu na 56,7% ispitanika kontrolne grupe (tabela 3).

U studijskoj grupi srednja vrednost Ds bila je  $10,07 \pm 2,23 \text{ mm}$ , što je statistički značajno veća vrednost nego u kontrolnoj grupi u kojoj je iznosila  $8,02 \pm 1,37 \text{ mm}$  (tabela 1). Kada se analizira distribucija ispitanika prema srednjoj vrednosti Ds izmerenoj za eugnatne osobe ( $8,02 \text{ mm}$ ), vrednosti Ds veće od referentnih izmerene su kod 76,6% ispitanika studijske grupe, u odnosu na 40% ispitanika kontrolne grupe (tabela 4).

U studijskoj grupi nije bilo statistički značajnih korelacija između izmerenih parametara Ps, Šs i Ds sa jedne strane

Tabela 1

### Prosečne vrednosti i standardne devijacije proučavanih dimenzija sele turcike i značajnost njihovih razlika između grupa

Parametar	Kontrolna grupa ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ )	Studijska grupa ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ )
Ps ( $\text{mm}^2$ )	$69,26 \pm 14,54$	$93,67 \pm 20,88^*$
Šs (mm)	$9,93 \pm 1,48$	$11,60 \pm 1,90^*$
Ds (mm)	$8,02 \pm 1,37$	$10,07 \pm 2,23^*$

$p < 0,01$

Ps – površina sele turcike; Šs – širina sele turcike; Ds – dubina sele turcike

Tabela 2

### Distribucija ispitanika prema srednjim vrednostima površine sele turcike (Ps) izmerenim kod eugnatnih osoba

Ps ( $\text{mm}^2$ )	< 69,26	= 69,26	> 69,26
Studijska grupa	10,0 % (3/30)	0,0 % (0/30)	90,0 % (27/30)
Kontrolna grupa	56,7 % (17/30)	0,0 % (0/30)	43,3 % (13/30)

Tabela 3

### Distribucija ispitanika prema srednjim vrednostima širine sele turcike (Šs) izmerenim kod eugnatnih osoba

Šs (mm)	< 9,93	= 9,93	> 9,93
Studijska grupa	10,0 % (3/30)	0,0 % (0/30)	90,0 % (27/30)
Kontrolna grupa	43,7 % (13/30)	0,0 % (0/30)	56,7 % (17/30)

Tabela 4

### Distribucija ispitanika prema srednjim vrednostima dubine sele turcike (Ds) izmerenim kod eugnatnih osoba

Ds (mm)	< 8,02	= 8,02	> 8,02
Studijska grupa	23,3 % (7/30)	0,0 % (0/30)	76,6 % (23/30)
Kontrolna grupa	60,0 % (18/30)	0,0 % (0/30)	40,0 % (12/30)

i pokazatelja ispoljenosti mandibularnog prognatizma (uglova SNB, ANB, Go, B i Bjorkovog poligona) sa druge strane (tabela 5). Kod bolesnika sa mandibularnim prognatizmom Ps je značajno pozitivno korelisao samo sa Ds, od linearnih parametara, dok za Šs nisu pronađene značajnije korelacije.

i linearne dimenzije na telerendgenskim snimcima i zapreminu na kadaverima dokazao da je površina bolji pokazatelj realnih dimenzija ST.

Silverman<sup>19</sup> u velikoj longitudinalnoj studiji pratio je decu od rođenja do dvadesete godine. Merio je površinu ST

**Tabela 5**  
**Korelacija između dimenzija sele turcike (Ps, Šs, Ds) i parametara koje pokazuju stepen ispoljenosti mandibularnog prognatizma (SNB, ANB, Go, Bjork, B)**

P	SNB	ANB	Go	Bjork	B	Ps	Šs	Ds
SNB	/		$r = -0,425$ $p = 0,019$	$r = -0,393$ $p = 0,032$				
ANB	/	/						
Go	$r = -0,425$ $p = 0,019$	/	/					
Brojk	$r = -0,393$ $p = 0,032$			/	/			
B					/			
Ps						/		$r = 0,493$ $p = 0,006$
Šs							/	
Ds						$r = 0,493$ $p = 0,006$		/

Ps – površina sele turcike; Šs – širina sele turcike; Ds – dubina sele turcike; SNB – ugao mandibularnog prognatizma; ANB – ugao sagitalnih međuviličnih odnosa; Go – mandibularni ili gonijalni ugao; B – ugao vertikalnih međuviličnih odnosa; Bjork – Bjorkov poligon

## Diskusija

Izgled ST kod bolesnika sa različitim kraniofacijalnim anomalijama, kod kojih je planirana ortodontsko-hirurška terapija, u cilju korekcije postojećeg deformiteta ispitali su Bector i sar.<sup>12</sup> i Jones i sar.<sup>13</sup>. Jones i sar.<sup>13</sup> ispitali su dimenzije ST kod pomenutih bolesnika, poredeći ih sa bolesnicima koji su tretirani samo ortodontski, dok su Bector i sar.<sup>12</sup> merili učestalost pojavljivanja izmenjenog oblika ST kod ovih bolesnika (ističući učestalost pojavljivanja premošćene ST klinoidnim nastavcima). Obe grupe autora pronašle su značajne razlike u ispitivanoj grupi bolesnika u odnosu na opštu populaciju, s tim što su naglasili da je kod većine bolesnika sa kraniofacijalnim anomalijama kasnije urađena hirurška intervencija na mandibuli.

Mereći dimenzije ST kod osoba sa mandibularnim prognatizmom, kao jednom od sagitalnih kraniofacijalnih nepravilnosti, i poredeći ih sa dimenzijama kod eugnatih osoba, ustanovili smo statistički vrlo značajne razlike. Da bi rezultati bili što precizniji, grupu smo učinili homogenom, birajući u nju samo osobe muškog pola i starosti 18–30 godina i tako izbegli uticaj pola i godina starosti na dimenzije sele turcike<sup>7, 17–19</sup>.

Rezultati ove studije pokazali su da je površina ST kod osoba sa mandibularnim prognatizmom statistički značajno veća nego kod eugnatih osoba (93,67 mm<sup>2</sup> vs 69,26 mm<sup>2</sup>). Utvrdili smo da je 90% bolesnika sa mandibularnim prognatizmom imalo veću površinu ST od srednje vrednosti dobijene za eugnatne osobe.

Mnogi autori na različite načine i kod različitih grupa merili su ovu dimenziju<sup>3, 13, 15, 19</sup>. Karlos<sup>3</sup> je mereći površinu

polarnim planimetrom i dobijene vrednosti poredio između različitih individua istog godišta, kao i kod iste individue tokom rasta i razvoja. Ustanovio je da površina ST raste proporcionalno sa godištem kao i sa stasom deteta. Takođe, ustanovio je da je površina ST veća kod dečaka nego kod devojčica, osim u periodu od 11 do 15 godina, kada devojčice ulaze u pubertet dve godine ranije nego dečaci, što kasnije biva nadoknađeno.

Jones i sar.<sup>13</sup> poredili su površinu ST između bolesnika kod kojih je planirana ortodontsko-hirurška terapija (radi korekcije različitih dentofacijalnih deformiteta) i onih kod kojih je planirana samo ortodontska terapija. Ustanovili su da je površina ST kod prve grupe statistički značajno veća (69,1 mm<sup>2</sup> vs 65,2 mm<sup>2</sup>). U našoj studijskoj grupi površina ST, takođe, bila je značajno veća od istog parametra kontrolne grupe (srednja vrednost ovog parametra je bila veća i od srednje vrednosti u ispitivanoj grupi kod Jonesa i sar.<sup>13</sup>, jer su u našoj grupi bili samo bolesnici sa mandibularnim prognatizmom).

Površina ST kod osoba sa mandibularnim prognatizmom značajno pozitivno koreliše, samo sa dubinom ST, od linearnih parametara, dok sa širinom ST ne koreliše značajno. Ovo se može objasniti činjenicom, da se povećanje površine ST odigrava na račun povećanja parametra, dubine ST i najvećeg anteroposteriornog dijametra, dok rastojanje tuberkulum-dorzum najduže odoleva promenama<sup>8, 10, 11, 15</sup>.

Sa parametrima koji pokazuju ispoljenost mandibularnog prognatizma, nije bilo značajnih korelacijskih odnosa, što znači da povećanje površine ST kod ispitivane anomalije, ne zavisi od stepena njene ispoljenosti.

Širina ST kod bolesnika sa mandibularnim prognatizmom, po rezultatima ove studije, statistički je značajno veća

nego kod eugnatih osoba (11,3 mm vs 9,93 mm). Pri tome, 90% osoba sa mandibularnim prognatizmom imalo je vrednosti širine ST veće od izračunatih prosečnih vrednosti za eugmate osobe.

Širinom sele najčešće se naziva rastojanje tuberkulum-dorzum, mereno na lateralnom telerendgenskom snimku, pa smo se i mi odlučili za isti naziv i istu metodu<sup>13, 18, 19</sup>.

Silverman<sup>19</sup> je koristio skoro identičnu metodu merenja, ali u radu nije objavio dobijene numeričke vrednosti, već je ustanovio standarde za izračunavanje dimenzija ST i mnogobrojne korelacije pomenutih dimenzija sa godinama starosti, polom i pokazateljima rasta i razvoja. U našoj studiji korišćeni su upravo ti standardi za sve parametre vezane za ST.

Di Chiro i Nelson<sup>4</sup> u cilju određivanja zapremine ST da bi na osnovu toga procenili zapreminu hipofize, merili su, između ostalog, i sagitalni dijametar ST. Ni oni nisu precizno naveli metodu koju su koristili.

Chilton i sar.<sup>7</sup>, kao i Di Chiro<sup>20</sup>, računali su zapreminu ST pomoću tri linearna parametra. Za sagitalni parametar izabrali su najveći anteroposteriorni dijametar i za njega izračunali srednju vrednost od 11 mm. U našoj studiji, mereno je rastojanje tuberkulum-dorzum, koje je značajno manje od najvećeg anteroposteriornog dijametara.

Axelsson i sar.<sup>18</sup> merili su, između ostalog, dva sagitalna parametra: rastojanje tuberkulum-dorzum i anteroposteriorni dijametar, kao rastojanje između tuberkuluma i najudaljenije tačke na konturi unutrašnje strane zadnjeg zida ST. Tom prilikom, ustanovili su da se samo rastojanje tuberkulum-dorzum razlikuje između polova. Srednja vrednost ovog rastojanja kod muškaraca preko 18 godina iznosila je 9,0 mm. Različitost koja se pojavila u odnosu na naše rezultate dobijene za kontrolnu grupu može se tumačiti različitim rendgenskim tehnikama.

Alkofide<sup>21</sup> je, takođe, merio pomenuta dva sagitalna parametra i poredio ih između različitih skeletnih klasa, ustanovivši da je kod bolesnika sa skeletnom klasom III najveći anteroposteriorni dijametar značajno veći nego kod ostalih analiziranih klasa.

Jones i sar.<sup>13</sup> merili su širinu ST po Silvermanovim standardima i nisu potvrdili statistički značajne razlike za rastojanje tuberkulum-dorzum između bolesnika sa kraniofacijalnim anomalijama kod kojih je planirana ortodontsko-hirurška terapija i bolesnika koji su lečeni samo ortodontski, dok je interklinoidni razmak kod bolesnika kod kojih je planirana ortodontsko-hirurška terapija bio značajno manji. Srednja vrednost širine ST za ortodontski lečene bolesnike bila je skoro identična sa rezultatima dobijenim u ovoj studiji za eugmate osobe (10,0 mm). Razlike u srednjim vrednostima pojavile su se između analizirane grupe sa mandibularnim prognatizmom i bolesnika analiziranih u studiji koju su vršili Jones i sar.<sup>13</sup> u kojoj je planirana ortodontsko-hirurška terapija, jer su pomenuti autori pored osoba sa mandibularnim

prognatizmom analizirali i osobe sa raznim dentofacijalnim anomalijama.

Za širinu ST nisu pronađene nikakve korelacije sa ostalim parametrima njenih dimenzija, kao ni sa parametrima koji pokazuju ispoljenost mandibularnog prognatizma.

Mereći dubinu ST, kao normalno rastojanje od linije koja predstavlja njenu širinu, do najniže tačke konture poda, dobili smo statistički vrlo značajnu razliku između osoba sa mandibularnim prognatizmom i eugnatih osoba (10,07 mm vs 8,02 mm). U grupi osoba sa mandibularnim prognatizmom 76,6% ispitanika imalo je dubinu ST veću od srednje vrednosti ovog parametra izmerenog kod eugnatih osoba.

Za ovu dimenziju postojalo je slaganje oko načina merenja kod skoro svih autora<sup>6, 7, 13, 18-20</sup>. Chilton i sar.<sup>7</sup> da bi izračunali zapreminu ST po metodi koju su ustanovili Di Chiro i Nelson<sup>4</sup>, merili su, između ostalih parametara, i njenu dubinu. Tom prilikom, pronašli su da je srednja vrednost dubine ST kod odraslih 8,0 mm, što potvrđuje rezultate naše studije dobijene za eugmate osobe. Axelsson i sar.<sup>18</sup> u svojoj opsežnoj studiji nisu pronašli statistički značajne razlike između polova za ovaj parametar, ali su dobili nešto niže srednje vrednosti od vrednosti dobijenih u ovoj studiji (dubina ST kod muškaraca bila je 7,4 mm, a kod žena 7,1 mm).

Jones i sar.<sup>13</sup> nisu pronašli statistički značajne razlike za dubinu sele turcike između bolesnika sa dentofacijalnim deformitetima kod kojih je planirana ortodontsko-hirurška terapija i bolesnika koji su tretirani samo ortodontski. Srednje vrednosti ovog parametra za obe grupe bile su iste i iznosile su 8,6 mm. Ova vrednost se ne razlikuje mnogo od rezultata dobijenog za eugmate osobe u ovoj studiji, ali je značajno različita od one koju smo dobili za osobe sa mandibularnim prognatizmom. Razlog ovome, svakako, leži u različitosti analiziranih grupa.

Ispitivanjem korelacija, ustanovili smo da dubina ST pozitivno koreliše sa njenom površinom. Ovo se može povezati sa činjenicom da su pod ST kao i njen prednji i zadnji zid najpodložniji promenama<sup>8, 11, 15, 16</sup>. Ispitivanjem korelacija između parametara koji pokazuju ispoljenost mandibularnog prognatizma i parametara koji predstavljaju dimenzije ST, ustanovili smo da stepen ispoljenosti mandibularnog prognatizma nema uticaja na veličinu promena u dimenzijama ST.

## Zaključak

Rezultati ovog ispitivanja pokazuju da su sve tri merene dimenzije ST (površina, širina i dubina) statistički značajno veće kod bolesnika sa mandibularnim prognatizmom u odnosu na eugmate osobe, ali da stepen ispoljenosti anomalije nema uticaja na veličinu promena u pomenutim dimenzijama. Zbog toga, ovi rezultati mogu se, pored ostalih, svrstati u grupu kefalometrijskih diferencijalno-dijagnostičkih znakova mandibularnog prognatizma.

## L I T E R A T U R A

1. *Mouakeb M.* Cephalometric evaluation of craniofacial pattern of Syrian children with Class III malocclusion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2001; 119(6): 640-9.
2. *Dhopatkar A, Bhatia S, Rock P.* An investigation into the relationship between the cranial base angle and malocclusion. *Angle Orthod* 2002; 72(5): 456-63.

3. *Karlos GA*. Morphological observations on superior surface of body of sphenoid bone in human adults [dissertation]. Helsinki: University of Helsingfors; 1984.
4. *Di Chiro G, Nelson Kb*. The volume of the sella turcica. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1962; 87: 989–1008.
5. *McLachlan MS, Williams ED, Fortt RW, Doyle FH*. Estimation of pituitary gland dimensions from radiographs of the sella turcica. A post-mortem study. *Br J Radiol* 1968; 41(485): 323–30.
6. *Yamada T, Tsukui T, Ikejiri K, Yukimura Y, Kotani M*. Volume of sella turcica in normal subjects and in patients with primary hypothyroidism and hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1976; 42(5): 817–22.
7. *Chilton LA, Dorst JP, Garn SM*. The volume of the sella turcica in children: new standards. *AJR Am J Roentgenol* 1983; 140(4): 797–801.
8. *Nielsen BW, Mølsted K, Kjaer I*. Maxillary and sella turcica morphology in newborns with cleft lip and palate. *Cleft Palate Craniofac J* 2005; 42(6): 610–7.
9. *Kjaer I, Wagner A, Madsen P, Blichfeldt S, Rasmussen K, Russell B*. The sella turcica in children with lumbosacral myelomeningocele. *Eur J Orthod* 1998; 20(4): 443–8.
10. *Kjaer I, Hansen N, Becktor KB, Birkebaek N, Balslev T*. Craniofacial morphology, dentition, and skeletal maturity in four siblings with Seckel syndrome. *Cleft Palate Craniofac J* 2001; 38(6): 645–51.
11. *Koshino T, Konno T, Ohzeki T*. Bone and joint manifestations of Rieger's syndrome: a report of a family. *J Pediatr Orthop* 1989; 9(2): 224–30.
12. *Becktor JP, Einersen S, Kjaer I*. A sella turcica bridge in subjects with severe craniofacial deviations. *Eur J Orthod* 2000; 22(1): 69–74.
13. *Jones RM, Faqir A, Millett DT, Moos KF, McHugh S*. Bridging and dimensions of sella turcica in subjects treated by surgical-orthodontic means or orthodontics only. *Angle Orthod* 2005; 75(5): 714–8.
14. *Leonardi R, Barbato E, Vichi M, Caltabiano M*. A sella turcica bridge in subjects with dental anomalies. *Eur J Orthod* 2006; 28(6): 580–5.
15. *Dostálová S, Sonka K, Smabel Z, Weiss V, Marek J*. Cephalometric assessment of cranial abnormalities in patients with acromegaly. *J Craniomaxillofac Surg* 2003; 31(2): 80–7.
16. *Weisberg LA*. Asymptomatic enlargement of the sella turcica. *Arch Neurol* 1975; 32(7): 483–5.
17. *Choi N, Baumann M, Flentje M, Kellokumpu-Lehtinen P, Senan S, Zamboglou N, et al*. Predictive factors in radiotherapy for non-small cell lung cancer: present status. *Lung Cancer* 2001; 31(1): 43–56.
18. *Axelsson S, Storhaug K, Kjaer I*. Post-natal size and morphology of the sella turcica. Longitudinal cephalometric standards for Norwegians between 6 and 21 years of age. *Eur J Orthod* 2004; 26(6): 597–604.
19. *Silverman FN*. Roentgen standards fo-size of the pituitary fossa from infancy through adolescence. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1957; 78(3): 451–60.
20. *Di Chiro G*. The width (third dimension) of the sella turcica. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1960; 84: 26–37.
21. *Alkofide EA*. The shape and size of the sella turcica in skeletal Class I, Class II, and Class III Saudi subjects. *Eur J Orthod* 2007; 29(5): 457–63.

Rad je primljen 26. XI 2007.



## Efekat lokalne primene plazme bogate trombocitima i vodene tkivne regeneracije na stepen koštane resorpcije kod rano ugrađenih dentalnih implantata

Effect of local administration of platelet-rich plasma and guided tissue regeneration on the level of bone resorption in early dental implant insertion

Miloš Duka, Zoran Lazić, Marija Bubalo

Vojnomedicinska akademija, Klinika za maksilofacijalnu, oralnu hirurgiju i implantologiju, Beograd

### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Oseointegracija dentalnih implantata je rezultat ćelijske migracije, diferencijacije, formiranja i remodeliranja kosti duž površine implantata. Svaki od ovih procesa zavisi od trombocita i krvnog koaguluma. Plazma bogata trombocitima (PRP) primenjuje se da bi se povećala oseointegracija odnosno stabilnost implantata. Cilj rada bio je da se ispita uticaj PRP i vodene tkivne regeneracije u defektima kosti na popunjenost defekta kosti i stepen resorpcije kosti kod rane ugradnje dentalnih implantata. **Metode.** Eksperimentalna studija sprovedena je na 10 pasa kojima je ugrađeno 40 BCT implantata i to po četiri (dva sa leve strane i dva sa desne strane) uz vođenu tkivnu regeneraciju. Rendgenološka merenja implantata vršena su neposredno nakon ugradnje i 10 nedelja nakon ugradnje, a popunjenost defekata kosti merena je graduisanom sondom 10 nedelja nakon ugradnje. Testirani su sledeći protokoli: I – PRP u kombinaciji sa bovinom deproteinizovanom kosti (BDK) i resorptivnom membranom bovinog porekla (RBDM), II – BDK + RBDM, III – PRP + RBDM i IV – RBDM. **Rezultati.** Primenjeni protokoli uticali su različito na ispunjenost defekata kosti i stepen resorpcije kosti. Značajno bolji rezultati u smislu manje resorpcije koštano tkiva postignuti su protokolom I (PRP + BDK + RBDM) u odnosu na protokole III (PRP + RBDM) i IV (RBDM). Između protokola II (BDK + RBDM) i protokola III (PRP + RBDM) i IV (RBDM) nije nađena statistički značajna razlika u resorpciji koštano tkiva. **Zaključak.** Popunjenost koštanih defekata najveća je, a stepen koštane resorpcije najmanji u protokolu primene PRP u kombinaciji sa bovinom deproteinizovanom kosti i resorptivnom membranom bovinog porekla.

### Ključne reči:

stomatološka enossalna implantacija; tkivo, vođena regeneracija; plazma bogata trombocitima; kost, resorpcija; lečenje, ishod.

### Abstract

**Background/Aim.** Osseointegration is a result of cellular migration, differentiation, bone formation, and bone remodeling on the surface of an implant. Each of these processes depends on platelets and blood coagulum. Platelet-rich plasma (PRP) is used to improve osseointegration and stability of implants. The aim of the research was to test the influence that PRP and guided tissue regeneration in bone defects have on bone defect filling and the level of bone resorption in early implant insertion. **Methods.** This experimental study included 10 dogs. A total of 40 BCT implants were inserted, 4 in each dog (two on the left side and two on the right side), with guided tissue regeneration. Radiologic analyses were done immediately after the insertion and 10 weeks after the insertion. Bone defect filling was measured by a graduated probe 10 weeks after the implant insertion. The following protocols were tested: I – PRP in combination with bovine deproteinized bone (BDB) and resorptive membrane of bovine origin (RBDM), II – BDB + RBDM, III – PRP + RBDM and IV – RBDM. **Results.** The applied protocols affected differently the bone defect filling and the level of bone resorption. Significantly better results (the lowest bone resorption) were achieved with protocol I (PRP + BDB + RBDM) in comparison with protocols III (PRP + RBDM) and IV (RBDM), but not with protocol II (BDB + RBDM). On the other hand, no significant difference was found among protocols II (BDB + RBDM), III (PRP + RBDM) and IV (RBDM) in the level of bone tissue resorption. **Conclusion.** The bone defect filling was largest and the level of bone resorption was lowest in the protocol with PRP applied in combination with BDB and RBDM.

### Key words:

dental implantation, endosseus; guided tissue regeneration; platelet-rich plasma; bone resorption; treatment outcome.

## Uvod

Osnovni cilj ugradnje dentalnih implantata je da se postigne strukturna i funkcionalna integracija implantata na mestu njegove ugradnje, uz očuvanje estetskih kriterijuma. Ključni proces kod uspostavljanja strukturne i funkcionalne celovitosti enosealnih implantata je oseointegracija. Oseointegracija je morfološki i funkcionalni odnos između kosti i površine dentalnog implantata. Ovo fiziološko stanje se može stvoriti i održavati samo uz potpuno shvatanje osnovnih bioloških principa od strane implantologa vodeći računa o tome da je kost dinamičko tkivo, organ i sistem.

Ugradnja enosealnih implantata direktno u ekstrakcionu alveolu uvedena je u implantologiju radovima Schultea i sar.<sup>1</sup> i danas predstavlja jednu od važnih alternativa terapije bezubosti. Proces zarastanja dovodi do postepenog smanjenja svih unutrašnjih dimenzija ekstrakcione alveole. U roku od šest meseci od ekstrakcije, vertikalna dimenzija alveole redukuje se 3–4 mm ili prosečno 50% od njene početne visine<sup>2,3</sup>. Redukcija horizontalne dimenzije ekstrakcione alveole na približno 2/3 njene početne širine takođe nastaje u roku od šest meseci od ekstrakcije zuba<sup>2-4</sup>.

Rendgenološka analiza je pokazala da u periodu od 12 meseci nakon ekstrakcije dolazi do istovremenog formiranja kosti u prostoru alveole i smanjenja visine alveolnog grebena<sup>5</sup>. Najveći deo apozicije kosti i gubitka nastaje u prva tri meseca nakon ekstrakcije zuba. Istovremeno, pokazano je da u periodu opservacije od 12 meseci nivo kosti u predelu grebena susednih zuba ostaje relativno nepromenjen (gubi se 0,1 mm). Sa druge strane, mezijalna i distalna redukcija visine grebena ekstrakcione alveole je 0,3 mm. Stepenn regeneracije kosti na mestu ekstrakcione alveole nikada ne dostigne visinu koštanog grebena susednog zuba.

Postoji više protokola za ugradnju dentalnih implantata u ekstrakcionu alveolu. Jasnije definisanje tipova ugradnje dentalnih implantata nakon ekstrakcije mora biti zasnovano na morfološkim i histološkim promenama koje nastaju nakon ekstrakcije zuba. Prema Hammerleu i Langu<sup>6</sup> postoje četiri protokola za postavljanje implantata u ekstrakcionu alveolu: ugradnja implantata u alveolu neposredno nakon ekstrakcije zuba (imedijatna ugradnja), ugradnja implantata nakon pokrivanja ekstrakcione alveole mekim tkivom (tipično, u periodu od 4 do 8 nedelja nakon ekstrakcije), ugradnja implantata u ekstrakcionu alveolu nakon njene značajne popune koštanim tkivom, što se odigrava obično posle 12–16 nedelja od ekstrakcije zuba i ugradnja implantata u ekstrakcionu alveolu nakon potpunog zarastanja kako mekog tako i koštanog tkiva, što se obično dešava nakon 16 nedelja od ekstrakcije.

Osnovne pretpostavke za uspešno zarastanje kosti kod imedijatne i odložene ugradnje implantata su iste bez obzira na to da li se radi o ugradnji u ekstrakcionu alveolu ili u već zarasli alveolni greben. Značajna je činjenica da u slučaju ugradnje u ekstrakcionu alveolu obično postoji izvesni određeni prostor između površine implantata i alveolnog zida, koji mora biti ispunjen koštanim tkivom da bi se ostvarila oseointegracija implantata. To zarastanje kosti zavisi od sta-

bilnosti inicijalno formiranog koaguluma u ovom prostoru. Eksperimentalna istraživanja na životinjama pokazala su da su kritični faktori u stabilizaciji koaguluma rastojanje od kosti do implantata i osobine njegove površine<sup>7-10</sup>. Negativan uticaj na stabilnost krvnog koaguluma i formiranje kosti može imati nedostatak intaktnih alveolnih zidova. U ovakvoj situaciji potrebno je primeniti tehniku vođene tkivne regeneracije kako bi se ostvarila regeneracija kosti i oseointegracija implantata<sup>9,11</sup>.

Vođena tkivna regeneracija u implantologiji je metoda koja je zasnovana na principu razdvajanja kosti od mekog tkiva primenom membrane, čime se stvara prostor u koji urasta novostvorena kost<sup>12</sup>. Veliki broj eksperimentalnih i kliničkih ispitivanja potvrdio je njenu efikasnost u postizanju popune koštanih defekata oko dentalnih implantata<sup>13-16</sup>.

Plazma bogata trombocitima (*platelet-rich plasma* – PRP) je koncentrat trombocita u maloj zapremini plazme koja se može proizvesti centrifugiranjem krvi bolesnika u banci krvi ili preoperativno, u stomatološkoj ordinaciji. Faktori rasta koji se nalaze u granulama trombocita sastavni su deo PRP i oslobađaju se pri aktivaciji trombocita inicirajući zarastanje rane<sup>17-19</sup>. Jednostavnost primene i dostupnost izdvojila je pre dve godine plazmu bogatu koncentrovanim trombocitima kao najčešće primenjivani izvor faktora rasta u implantologiji, sa ciljem postizanja što većeg kontakta površine implantata sa kosti (izraženo u %) čime se obezbeđuje veća stabilnost i brže funkcionalno opterećenje implantata.

Istraživanja koja se tiču efekta primene PRP u oralnoj i parodontnoj hirurgiji kreću se danas u tri pravca: primena PRP u kombinaciji sa dentalnim implantatima, primena PRP u kombinaciji sa koštanim transplantatima, primena PRP u rekonstruktivnoj parodontnoj hirurgiji.

Faktori rasta značajni za koštanu regeneraciju koji se nalaze u PRP su: 1) trombocitni faktor rasta (*platelet derived growth factor* – PDGF) i 2) faktor transformacije rasta beta (*transforming growth factor* – TGF-beta).

Cilj rada bio je da se ispita uticaj PRP i vođene tkivne regeneracije u koštanim defektima kod rane ugradnje dentalnih implantata na popunjenost koštanih defekata i stepen resorpcije kosti.

## Metode

Eksperimentalna studija sprovedena je u Klinici za maksilofacijalnu, oralnu hirurgiju i implantologiju Vojnomedicinske akademije (VMA) i Institutu za medicinska istraživanja Vojnomedicinske akademije. Eksperiment se odvijao u tri faze, na 10 odraslih pasa rase nemački ovčar, uz poštovanje svih etičkih principa, po zahtevima akta VMA int. br. 282-12 od 02.11.2002. godine.

Kao premedikacija korišćen je acepromazin (Combelen<sup>®</sup>) intravenski (*iv*) u dozi od 0,03 ml/kg i atropin u dozi od 0,01 mg/kg telesne mase supkutano. Petnaest minuta posle premedikacije, intramuskularno ubrizgavan je 5% ketamin-hlorid u dozi od 0,3 ml/kg telesne mase.

U kratkotrajnoj *iv* anesteziji vršena je ekstrakcija drugog i trećeg premolara u donjoj vilici obostrano. Ekstrak-



cija zuba radena je da bi se nakon zarastanja ekstrakcionih rana na poziciji drugog i trećeg premolara ugradili dentalni implantati. Ekstrakcione rane su ušivane pojedinačnim hirurškim šavom (Dexon 3,0, Davis & Gack). Smatra se dovoljnim osam nedelja za zarastanje kosti pošto je stepen zarastanja kosti kod pasa nešto veći nego kod humane populacije.

Svim eksperimentalnim životinjama je *iv* ordiniran antibiotik (Jugocillin® 1 600 000 ij), a 12 h posle intervencije psi su dobijali hranu i vodu. Hranjeni su sve vreme kašastom hranom i čuvani u podešenim uslovima vlažnosti vazduha i temperature od 21 °C u specijalnim boksovima namenski napravljenim od prohroma koji se lako održavaju i dezinfikuju.

Osam nedelja od obostrane ekstrakcije drugog i trećeg premolara, od eksperimentalnih životinja je uzimana krv iz donje vilice u tri sterilne epruvete. U svaku epruvetu sa 0,5 ml Na-citrata ulivano je 4,5 ml krvi. Epruvete su centrifugovane u aparatu za centrifugovanje. Prva i treća epruveta korišćene su za određivanje broja trombocita. U prvoj je određivan broj trombocita neposredno po uzimanju krvi, a u trećoj nakon sprovođenja procedure dobijanja PRP.

Centrifugovanje je obavljano u aparatu ALC PK 110. Prvo centrifugovanje je obavljano pri brzini od 1 200 obrtaja/min (160 G) u trajanju od 20 minuta.

Nakon tog centrifugovanja dobijane su dve frakcije u epruveti: donja (krvno ćelijske komponente – eritrociti, trombociti, leukociti) i gornja (plazma).

Unutar zone donje frakcije razlikovana su dva nivoa: gornji nivo sa najvećom koncentracijom trombocita (prvih 6 mm), donji nivo (preostale ćelijske komponente krvi).

Određivana je demarkaciona granica između donje i gornje frakcije i na 6 mm od nje u pravcu donje frakcije na epruveti je označavana granica. Sadržaj iznad označene granice aspiriran je i drugi put centrifugovan na 2 000 obrtaja/min (400 G) u trajanju od 15 minuta.

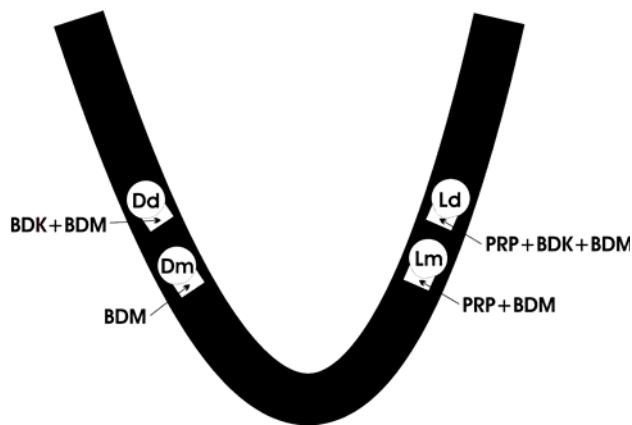
Nakon drugog centrifugovanja ponovo su se odvajale gornja (plazma i malo trombocita) i donja frakcija PRP.

Pipetiranjem je uklanjana gornja frakcija, a ostatak je pripreman za upotrebu. Ovako pripremljeni trombocitni koncentrat prelazi u gel stanje za 15–20 min i može biti korišćen u narednih 60 minuta (metoda dobijanja PRP preuzeta od Sonnleitnera i sar.<sup>19</sup>).

Druga faza eksperimenta obuhvatala je ranu ugradnju dentalnih implantata, uz čiji vratni deo su načinjeni veštački perimplantatni defekti kosti sa mezijalne strane implantata u dužini od 2 mm, dok je dubina iznosila 4 mm. U ekstrakcione alveole je ugrađivan cilindrični BCT implantat sa 5 navoja, SLA površine (jetkana kiselinom i peskirana), ukupne dužine vrata i tela implantata 13,7 mm i prečnika implantata u vratnom delu 4,5 mm, dok je u telu implantata to iznosilo 3 mm, sa rastojanjem između navoja 1,75 mm.

Neposredno po postavljanju implantata u koštano ležište vršena je popuna defekata kosti po odgovarajućem protokolu, i pri tom korišćena PRP dobijena od svake eksperimentne životinje jedan sat pre hirurške intervencije.

Raspored ugrađenih dentalnih implantata i popune načinjenih defekata kosti prikazan je slikom 1.



**Sl. 1 – Raspored ugrađenih dentalnih implantata i popune načinjenih defekata kosti**

Dd – desno mezijalno; Ld – levo distalno; Lm – levo mezijalno; BDK – bovina deproteinizovana kost; BDM – bovina demineralizovana membrane; PRP – plazma bogata trombocitima

Za popunu veštački načinjenih defekata kosti primenjena je vođena tkivna regeneracija pomoću: I) PRP u kombinaciji sa bovinom deproteinizovanom kosti (BDK) i resorptivnom membranom bovinog porekla (RBDM) debljine 150 μ sa leve strane donje vilice u ekstrakcionoj alveoli trećeg premolara (levo distalno), II) BDK i RBDM debljine 150 μ sa desne strane donje vilice u ekstrakcionoj alveoli trećeg premolara (desno distalno), III) PRP i RBDM debljine 150 μ sa leve strane donje vilice, u ekstrakcionoj alveoli drugog premolara (levo mezijalno) i IV) RBDM debljine 150 μ sa desne strane donje vilice u ekstrakcionoj alveoli drugog premolara (desno mezijalno).

Postoperativna antibiotska terapija podrazumevala je *iv* aplikaciju 1 600 000 ij kristalnog penicilina u trajanju od dva dana.

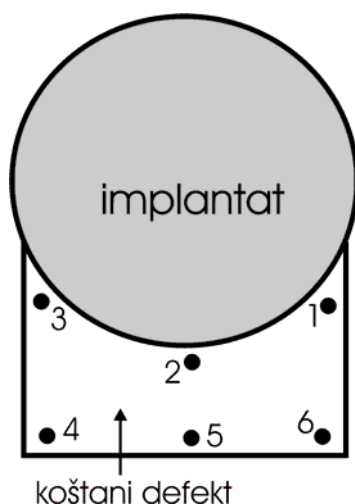
Potom su načinjeni radiografski snimci retroalveolnih operativnih regija.

Deset nedelja nakon ugradnje implantata u donju vilicu, eksperimentne životinje su na isti način, kao i u prvoj fazi istraživanja, uvedene u anesteziju. Zatim su načinjeni radiografski retroalveolni snimci.

Radiografski snimci retroalveolne mandibule obostrano, zajedno sa implantatima, urađeni su pod uglom od 90° sa ekspozicijom 2,1 mA sekundi. Snimci su napravljeni aparatom marke Simens-DOZIMATIC, jačine 56 kW, uz fiksiranu poziciju mandibule, sa kontaktom tubusa sa mandibulom. Na radiografskom simku merena je visina kosti od vrata do vrha implantata sa mezijalne i distalne strane implantata prema jednačini:  $\frac{1}{2}(h_1 + h_2)$ , u kojoj je  $h_1$  visina kosti od vrata implantata do vrha sa mezijalne strane, a  $h_2$  visina kosti od vrata implantata do vrha sa distalne strane.

Interne referentne vrednosti su visina vrata implantata i hod navoja. Na taj način se dobija srednja vrednost visine kosti oko vrata implantata.

Procena popunjenosti defekta u kosti vršena je sondiranjem graduisanom sondom na šest tačaka u oblasti defekta kosti na mezijalnoj strani implantata. Merenja su izražena u milimetrima. Shema tačaka za sondiranje prikazana je na slici 2.



Sl. 2 – Shema tačaka na kojima je izvršeno sondiranje

## Rezultati

Rezultati merenja popune defekta u kosti izraženi u procentima, računato u odnosu na vertikalnu dimenziju i osnovni statistički parametri za svaki od protokola vođene koštane regeneracije prikazani su u tabeli 1.

protokola I i II ( $p = 0,05$ ), protokola I i III ( $p = 0,05$ ) i protokola I i IV ( $p = 0,001$ ). Drugim rečima, protokol I je u pogledu popune defekta kosti efikasniji od protokola II, III i IV, dok između protokola II, III i IV nije nađena statistički značajna razlika u efikasnosti ispunjene defekta kosti.

Deset nedelja nakon ugradnje implantata meren je stepen resorpcije koštanog tkiva, u distalnoj i mezijalnoj horizontalnoj ravni. Stepenn resorpcije izražen je u milimetrima, kao aritmetička sredina izmerenih visina resorpcije  $h_1$  (distalno) i  $h_2$  (mezijalno), uz vrat implantata. U tabeli 2 data je deskriptivna statistika uzoraka u pogledu stepena resorpcije.

Na osnovu podataka prikazanih u tabeli 2, može se uočiti da je najniži stepen resorpcije koštanog tkiva zabeležen u protokolu I (aritmetička sredina 1,25 mm), a najviši u protokolu IV (2,65 mm), što nas navodi na pomisao da je prvi protokol bolji od ostalih i kada je resorpcija kosti oko vrata implantata u pitanju. Statističkom obradom podataka nađena je statistički značajna razlika između aritmetičkih sredina uzorka protokola I i III ( $p < 0,01$ ) i protokola I i IV ( $p < 0,01$ ). Drugim rečima, protokolom I postižu se značajno bolji rezultati u smislu manje resorpcije koštanog tkiva u odnosu na protokole III i IV, ali ne i u odnosu na protokol II. Između protokola II, III i IV nije nađena statistički značajna razlika u resorpciji koštanog tkiva.

Tabela 1

Rezultati merenja stepena popune defekta kosti i osnovni statistički parametri

Protokol vođene tkivne regeneracije	Broj opservacija u uzorku	Ispunjenost koštanog defekta (%) $\bar{x} \pm SD$	95% interval poverenja za aritmetičku sredinu		Min. (%)	Max. (%)
			donja granica	gornja granica		
I – PRP+BDK+RBDM	10	67,50 ± 23,717	50,53	84,47	25	100
II – BDK+RBDM	10	37,50* ± 17,678	24,85	50,15	25	75
III – PRP+RBDM	10	40,00* ± 26,874	20,78	59,22	0	75
IV – RBDM	10	22,50† ± 21,890	6,84	38,16	0	50

\* $p < 0,05$  u odnosu na protokol „I“; † $p < 0,01$  u odnosu na protokol „I“; PRP – plazma bogata trombocitima; BDK – bovina deproteinizovana kost; RBDM – resorptivna membrana bovinog porekla

Tabela 2

Stepen resorpcije koštanog tkiva (u mm)

Protokol vođene tkivne regeneracije	Broj opservacija u uzorku	Stepen resorpcije koštanog tkiva (mm) $\bar{x} \pm SD$	95% interval poverenja za aritmetičku sredinu		Min. (%)	Max. (%)
			donja granica	gornja granica		
I – PRP+BDK+RBDM	10	1,25 ± 0,825	0,670	1,840	0,00	2,50
II – BDK+RBDM	10	2,00 ± 0,471	1,663	2,337	1,00	2,50
III – PRP+RBDM	10	2,50 ± 0,849	1,892	3,108	2,00	4,50
IV – RBDM	10	2,60 ± 1,081	1,876	3,424	1,50	5,00

\* $p < 0,01$  u odnosu na protokol „I“; PRP – plazma bogata trombocitima; BDK – bovina deproteinizovana kosti; RBDM – resorptivna membrana bovinog porekla

Najviše vrednosti ispunjenosti defekta kosti, tj. aritmetička sredina 67,50%, nivoi donje i gornje granice 50,53–84,47% (CI = 95%), najviše minimalne i maksimalne vrednosti (25–100%) zabeležene su u grupi I – PRP-BDK-RBDM, što nas navodi na pomisao da je ova metoda zaslužna za najviši stepen regeneracije defekta kosti. Nasuprot tome, najniže vrednosti popune defekta kosti, aritmetička sredina 22,50%, min = 0%, max = 50%, zabeležene su u uzorku u kojem je primenjen protokol IV – RBDM. Statističkom analizom ustanovljene su statistički značajne razlike između: aritmetičkih sredina uzorka

## Diskusija

Ako bi trebalo da se jednom reči okarakterise savremena implantologija onda je ta reč sigurno oseointegracija. Klinički uspeh enosalnih implantata zavisi u najvećoj meri od stanja, formacije i neposrednog održanja optimalnog odnosa implantat-kost.

Klinička i eksperimentalna istraživanja fokusirana su na reakciju okolnog tkiva kod ugradnje implantata. Razlike u reakciji prate se standardizovanom radiografijom kao i pato-

histološkom analizom. Veoma pouzdano se mogu meriti vrednosti gubitka kosti po visini oko implantata. Na rendgenskom filmu obeležavaju se tačke merenja.

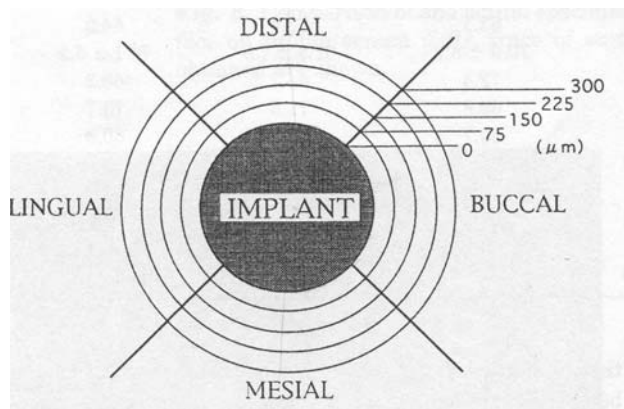
Albreksston i sar.<sup>20</sup> su na osnovu svojih ispitivanja izneli stav da gubitak kosti u periimplantatnom tkivu treba da se kreće 0,9–1,6 mm. Gubitak koštane mase u ovim vrednostima javlja se godišnje i ne sme da pređe granicu od 0,02 mm. Značajno veći gubitak zabeležen je kod implantata pre opterećenja, a razlike su nađene i u zavisnosti od anatomske lokacije. Naime, maksilarni implantati imali su znatno veću stopu resorpcije marginalne kosti u odnosu na implantate ugrađene u mandibulu.

Histološka ispitivanja pokazala su da je formiranje kosti uz implantat kontinuiran i dinamičan proces.

Radovi Deportera i sar.<sup>21</sup> iz 1986. godine i Steflika i sar.<sup>22</sup> iz 1996. godine histološki i morfometrijski analiziraju spoj kosti i implantata pri čemu je morfometrijska analiza zasnovana na analizi preseka koji su fotografisani, a crno bele fotografije su analizirane i markirane.

U novijim radovima, u kojima je za istraživanje korišćena i kompjuterski potpomognuta histomorfometrija kao nezaobilazna metoda za utvrđivanje tog procenta, komentariše se postizanje kontakta kost-implantat u zoni 58–85%.

Tako, Wadamoto i sar.<sup>23</sup> su kod tri eksperimentne životinje (majmuna) nakon ekstrakcije prvog i drugog premolara tri meseca kasnije ugradili tri implantata. Tri meseca nakon ugradnje životinje su žrtvovane, a patohistološki nalazi dobijenih preseka analizirani. Interesantno je da analiza autora nije bila ograničena samo na neposredan kontakt kost-implantat, već je bila usmerena i na tkivo u zonama koje idu u polje od implantata (slika 3).



Sl. 3 – Pozicija implantata

Uvodeći indeks kontakta kosti i implantata (BCR) za određivanje procenta kontakta kosti i implantata, dali su jedinačinu za njegovo izračunavanje:

$$\text{BCR} = \frac{\text{broj tačaka u kojima postoji apozicija kosti na implantatu}}{\text{broj svih tačaka koje su u dodiru sa implantatom}} \times 100\%$$

Drugi indeks jeste indeks kontakta između kosti i okolnog tkiva (BVR) koji označava nivo zapremine kosti u

koncentričnim zonama od implantata (zone su raspredene na svakih 75 μm).

Jednačina za izračunavanje procenta prisustva kosti u zonama od implantata glasi:

$$\text{BVR} = \frac{\text{broj koštanih tačaka u zoni}}{\text{broj svih tačaka u zoni}} \times 100\%$$

Analizom dobijenih podataka iz prikupljenih regiona, kao finalni rezultat izračunat je BCR indeks 68,8–80,8%, a BCV indeks 58,1–80,8%<sup>23</sup>.

Korišćenjem slične metodologije i drugi autori dolaze do rezultata koji su u zoni prethodno navedenih rezultata.

Tako, Akagawa i sar.<sup>24</sup> daju vrednost od 66,7%, Shain i sar.<sup>25</sup> 64–69,3%, Hayashi i sar.<sup>26</sup> 85,5%, Weinlaender i sar.<sup>27</sup> 71,4%.

Postizanje što većeg kontakta kost-implantat svakako je imperativ za implantologa i za timove istraživača iz ove oblasti.

Primena RBDM u protokolu vodene koštane regeneracije u našim istraživanjima dala je slabiji rezultat u odnosu na kombinaciju membrane sa drugim elementima protokola (koštani zamenik i/ili PRP). Ovakav nalaz je u suprotnosti sa rezultatima istraživanja Beckera i sar.<sup>28</sup>, ali se slaže sa nalazima Kohala i sar.<sup>29</sup>. Svakako da je primena RBDM u kombinaciji sa PRP i koštanim zamenicima protokol izbora kada se radi o popuni periimplantatnih defekata kosti.

Primena PRP u kombinaciji sa koštanim transplantatima predstavlja najveći segment dosadašnjih istraživanja i dobijeni rezultati pokazuju veliku varijabilnost.

Tako su Marx i sar.<sup>17</sup> u kontrolisanoj kliničkoj studiji na 88 bolesnika, sa kontinuiranim defektom donje vilice od minimum 5 cm, koji su nadoknađivani autolognom spongioznom kosti ili autolognom spongiozom u kombinaciji sa PRP, pokazali radiografsko povećanje gustine kosti za 1,62–2,16 puta, te histološko i histomorfometrijsko uvećanje gustine kosti kod primene PRP. Šest meseci posle početka ogle-da koštana čvrstoća u grupi tretiranoj sa PRP bila je veća za 25% nego u kontrolnoj grupi. Rezultati histomorfometrijskih ispitivanja u našem ogledu ukazuju na to da se najveća srednja ocena defekta kosti postiže u I protokolu, kod koga je primenjen PRP u kombinaciji sa BDK i RBDM. Istovremeno, najmanje vrednosti srednje ocene histoloških karakteristika dobijene su u IV protokolu, po kome je primenjena samo RBDM.

Primena PRP sa koštanim transplantatima predstavlja najveći segment dosadašnjih istraživanja i dobijeni rezultati u ovoj grupi u najvećoj su suprotnosti.

Tako Aghaloo i sar.<sup>30</sup> ispituju uticaj PRP kod kranijalnih defekata kod zečeva i to tako što su postojeće defekte ispunili autogenim koštanim transplantatom, samo PRP, autogenim koštanim transplantatom i PRP, uz postojanje kontrolne grupe.

Dobijeni rezultati ukazali su na značajno povećanje koštane zone i radiografskog povećanja koštanog denziteta u grupi u kojoj je primenjen koštani autotransplantat bez i sa PRP u odnosu na preostale dve grupe.

Iako autori primećuju da je koštana regeneracija u prvom mesecu najizraženija u grupi u kojoj je primenjen PRP u kombinaciji sa koštanim graftom, zaključuju da rezultati dobijeni primenom PRP u kombinaciji sa kosti ukazuju da nema značajnog opravdanja za njenu primenu<sup>30</sup>.

Nasuprot njima, Marx i sar.<sup>17</sup> u sličnoj studiji pokazuju radiografsko povećanje densiteta kosti 1,62–2,16 puta, kao i histološko i histomorfometrijsko uvećanje densiteta kosti kod primene PRP.

Analizirajući primenu PRP u postizanju efekta na kost, u slučaju ugrađenih implantata, Garg<sup>31</sup> faktore rasta koje poseduje PRP smatra kritičnim za postizanje oseointegracije.

Postavljanjem PRP u ležište implantata pre njegovog fiksiranja aktivira se uticaj PDGF i *transforming growth factor* (TGF)<sup>31</sup>. To aktiviranje dešava se u inicijalnoj fazi zarastanja kosti, a faktori rasta se oslobađaju nakon degranulacije trombocita, za koju autor smatra da se dešava u periodu tri do pet dana po aplikaciji.

Novija istraživanja u implantologiji sve više se zasnivaju na otkrićima u drugim bazičnim naukama. Tako, rezultati istraživanja matičnih ćelija poslednjih nekoliko godina uspešno se primenjuju u oblasti implantologije i ovom vrstom istraživanja posebno se bavi grupa autora iz Japana. Koliki je značaj kombinovanja PRP sa mezenhimnim stem

ćelijama pokazuju rezultati istraživanja Yamada i sar.<sup>32</sup>, koji posebno naglašavaju uspešnu primenu kombinovanog tretmana mezenhimnim matičnim ćelijama sa PRP u terapiji defekata kosti gornje ili donje vilice kod ljudi, kojima su nakon toga ugrađeni implantati. Ispitivanja Ito i sar.<sup>33</sup> ukazala su da se kombinovanjem PRP sa mezenhimnim stem ćelijama i fibrinom mogu postići odlični rezultati u regeneraciji defekata kosti oko alveola u toku ugradnje implantata.

Mehaničke osobine popunjenih defekata kosti nakon više nedelja implantacije bile su tema istraživanja Ito i sar.<sup>34</sup>. Prema nalazima ove studije najbolje rezultate, na osnovu Vickersovog testa čvrstoće, imali su defekti popunjeni kombinacijom kosti mezenhimnih ćelija i PRP. Ovakav nalaz govori u prilog upotrebe PRP i u slučaju kada se primenjuju najsavremeniji protokoli implantacije sa matičnim ćelijama i koštanim zamenicama.

### Zaključak

Najveća popuna defekata kosti postiže se primenom protokola vodene koštane regeneracije, su kombinacijom plazme bogate trombocitima, bovine deproteinizovane kosti i resorptivne membrane bovinog porekla.

### L I T E R A T U R A

1. Schulte W, Kleinekenscheidt H, Lindner K, Schreyer R. The Tübingen immediate implant in clinical studies. Dtsch Zahnärztl Z 1978; 33(5): 348–59. (German)
2. Leković V, Camargo PM, Klokkevold PR, Weinlaender M, Kenney EB, Dimitrijević B, et al. Preservation of alveolar bone in extraction sockets using bioabsorbable membranes. J Periodontol 1998; 69(9): 1044–9.
3. Leković V, Kenney EB, Weinlaender M, Han T, Klokkevold P, Nedić M, et al. A bone regenerative approach to alveolar ridge maintenance following tooth extraction. Report of 10 cases. J Periodontol 1997; 68(6): 563–70.
4. Camargo PM, Leković V, Weinlaender M, Klokkevold PR, Kenney EB, Dimitrijević B, et al. Influence of bioactive glass on changes in alveolar process dimensions after exodontia. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2000; 90(5): 581–6.
5. Schropp L, Kostopoulos L, Wenzel A. Bone healing following immediate versus delayed placement of titanium implants into extraction sockets: a prospective clinical study. Int J Oral Maxillofac Implants 2003; 18(2): 189–99.
6. Hämmerle CH, Lang NP. Single stage surgery combining transmucosal implant placement with guided bone regeneration and bioresorbable materials. Clin Oral Implants Res 2001; 12(1): 9–18.
7. Knox R, Caudill R, Meffert R. Histologic evaluation of dental endosseous implants placed in surgically created extraction defects. Int J Periodontics Restorative Dent 1991; 11(5): 364–75.
8. Stentz WC, Mealey BL, Gunsolley JC, Waldrop TC. Effects of guided bone regeneration around commercially pure titanium and hydroxyapatite-coated dental implants. II. Histologic analysis J Periodontol 1997; 68(10): 933–49.
9. Akimoto K, Becker W, Donath K, Becker BE, Sanchez R. Formation of bone around titanium implants placed into zero wall defects: pilot project using reinforced e-PTFE membrane and autogenous bone grafts. Clin Implant Dent Relat Res 1999; 1(2): 98–104.
10. Botticelli D, Berglundh T, Buser D, Lindhe J. The jumping distance revisited: An experimental study in the dog. Clin Oral Implants Res 2003; 14(1): 35–42.
11. Gher ME, Quintero G, Assad D, Monaco E, Richardson AC. Bone grafting and guided bone regeneration for immediate dental implants in humans. J Periodontol 1994; 65(9): 881–91.
12. Hockers T, Abensur D, Valentini P, Legrand R, Hammerle CH. The combined use of bioresorbable membranes and xenografts or autografts in the treatment of bone defects around implants. A study in beagle dogs. Clin Oral Implants Res 1999; 10(6): 487–98.
13. Dablin C, Lekholm U, Becker W, Becker B, Higuchi K, Callens A, et al. Treatment of fenestration and dehiscence bone defects around oral implants using the guided tissue regeneration technique: a prospective multicenter study. Int J Oral Maxillofac Implants 1995; 10(3): 312–8.
14. Dablin C, Lekholm U, Linde A. Membrane-induced bone augmentation at titanium implants. A report on ten fixtures followed from 1 to 3 years after loading. Int J Periodontics Restorative Dent 1991; 11(4): 273–81.
15. Buser D, Brägger U, Lang NP, Nyman S. Regeneration and enlargement of jaw bone using guided tissue regeneration. Clin Oral Implants Res 1990; 1(1): 22–32.
16. Jovanović SA, Spiekermann H, Richter EJ. Bone regeneration around titanium dental implants in dehiscence defect sites: a clinical study. Int J Oral Maxillofac Implants 1992; 7(2): 233–45.
17. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998; 85(6): 638–46.
18. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. Int J Oral Maxillofac Implants 1999; 14(4): 529–35.
19. Sonneckner D, Huemer P, Sullivan DY. A simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for in-

- traoral bone grafting techniques: a technical note. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000; 15(6): 879–82.
20. *Albrektsson T, Jansson T, Lekholm U*. Osseointegrated dental implants. *Dent Clin North Am* 1986; 30(1): 151–74.
  21. *Deporter DA, Watson PA, Pilliar RM, Melcher AH, Winslow J, Howley TP*, et al. A histological assessment of the initial healing response adjacent to porous-surfaced, titanium alloy dental implants in dogs. *J Dent Res* 1986; 65(8): 1064–70.
  22. *Steflik DE, Lake FT, Sisk AL, Parr GR, Hanes PS, Davis HC*, et al. A comparative investigation in dogs: 2-year morphometric results of the dental implant-bone interface. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996; 11(1): 15–25.
  23. *Wadamoto M, Akagawa Y, Sato Y, Kubo T*. The three-dimensional bone interface of an osseointegrated implant. I: A morphometric evaluation in initial healing. *J Prosthet Dent* 1996; 76(2): 170–5.
  24. *Akagawa Y, Wadamoto M, Sato Y, Tsuru H*. The three-dimensional bone interface of an osseointegrated implant: a method for study. *J Prosthet Dent* 1992; 68(5): 813–6.
  25. *Sabin S, Akagawa Y, Wadamoto M, Sato Y*. The three-dimensional bone interface of an osseointegrated implant. II: A morphometric evaluation after three months of loading. *J Prosthet Dent* 1996; 76(2): 176–80.
  26. *Hayashi K, Uenoyama K, Matsuguchi N, Sugioka Y*. Quantitative analysis of in vivo tissue responses to titanium-oxide- and hydroxyapatite-coated titanium alloy. *J Biomed Mater Res* 1991; 25(4): 515–23.
  27. *Weinlaender M, Kenney EB, Leković V, Beumer J 3rd, Moy PK, Lewis S*. Histomorphometry of bone apposition around three types of endosseous dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1992; 7(4): 491–6.
  28. *Becker W, Lynch SE, Lekholm U, Becker BE, Caffesse R, Donath K*, et al. A comparison of ePTFE membranes alone or in combination with platelet-derived growth factors and insulin-like growth factor-I or demineralized freeze-dried bone in promoting bone formation around immediate extraction socket implants. *J Periodontol* 1992; 63(11): 929–40.
  29. *Kobal RJ, Trejo PM, Wirsching C, Hürzeler MB, Caffesse RG*. Comparison of bioabsorbable and bioinert membranes for guided bone regeneration around non-submerged implants. An experimental study in the mongrel dog. *Clin Oral Implants Res* 1999; 10(3): 226–37.
  30. *Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG*. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60(10): 1176–81.
  31. *Garg AK*. The use of platelet-rich plasma to enhance the success of bone grafts around dental implants. *Dent Implantol Update* 2000; 11(3): 17–21.
  32. *Yamada Y, Ueda M, Hibi H, Nagasaka T*. Translational research for injectable tissue-engineered bone regeneration using mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma: from basic research to clinical case study. *Cell Transplant* 2004; 13(4): 343–55.
  33. *Ito K, Yamada Y, Nagasaka T, Baba S, Ueda M*. Osteogenic potential of injectable tissue-engineered bone: a comparison among autogenous bone, bone substitute (Bio-oss), platelet-rich plasma, and tissue-engineered bone with respect to their mechanical properties and histological findings. *J Biomed Mater Res A* 2005; 73(1): 63–72.
  34. *Ito K, Yamada Y, Naiki T, Ueda M*. Simultaneous implant placement and bone regeneration around dental implants using tissue-engineered bone with fibrin glue, mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma. *Clin Oral Implants Res* 2006; 17(5): 579–86.

Rad je primljen 2. III 2008.



## Upitnik za procenu kvaliteta života povezanog sa zdravljem u pedijatriji. I deo: Opšte smernice za selekciju

### Pediatric health-related quality of life instrument. Part I: General guidelines for selection

Dejan Stevanović

Dom zdravlja Odžaci, Odžaci

#### Ključne reči:

upitnici; kvalitet života; zdravlje; deca; deca, predškolska; adolescenti.

#### Key words:

questionnaires; quality of life; health; child; child, preschool; adolescent.

#### Uvod

Koncept kvalitet života\* prošao je kroz ekspanziju u sistemu zdravstvene zaštite dece i adolescenata, postavši važan instrument za praćenje u prevenciji, lečenju i rehabilitaciji raznih hroničnih bolesti i stanja. Ubrzan razvoj i šira primena rezultovali su pojavom različitih teorijskih modela i upitnika za njegovo merenje i evaluaciju<sup>1-4</sup>. Međutim, u odnosu na veliki broj postojećih i široko polje primene, odabir pravog upitnika za istraživanje ili svakodnevnu praksu složen je proces, a postojeće preporke se, uglavnom, odnose na generalnu procenu kvaliteta života<sup>4-6</sup>.

Kod nas, ovaj instrument počinje više da se koristi u praćenju ishoda lečenja hroničnih bolesti, a ređe u prevenciji ili rehabilitaciji<sup>7</sup>. Kako ne posedujemo upitnike i standardizovane metode za procenu kvaliteta života razvijene na našoj populaciji, primorani smo da koristimo upitnike sa drugih govornih područja. Korišćenje jednog takvog upitnika, naročito u unakrsnim kulturološkim istraživanjima, povezano je sa pravom selekcijom, prevodom i njegovom validacijom u našoj sredini<sup>8</sup>. Ukoliko se zanemari ovaj princip, rezultati procene u kojoj je korišćen neadekvatan upitnik mogu se dovesti u pitanje.

Cilj ovog pregleda bio je da se odrede opšte smernice za selekciju upitnika za procenu i praćenje kvaliteta života u pedijatriji. Sledeća dva pregleda odnose se na preporuke za prevod i kulturološku adaptaciju takvih upitnika<sup>9</sup> i psihometrijsku evaluaciju (u prapremi).

Za potrebe pregleda, napravljena je pretraga literature u MEDLINE bazi, koja se odnosi na dizajn, razvoj i standardizaciju upitnika za procenu i praćenje kvaliteta života kod dece i adolescenata. Nakon toga, izdvojene su studije koje se

bave preporukama za primenu tih upitnika u pedijatrijskoj praksi i istraživanjima<sup>1-6, 10-15</sup>. Pregledane su i opšte preporuke za evaluaciju upitnika za procenu kvaliteta života<sup>16-22</sup>.

Kao glavni atributi koji determinišu selekciju upitnika razmatrani su: cilj i dizajn procene, karakteristike ispitanika i karakteristike upitnika (tabela 1). S obzirom da karakteristike upitnika indirektno utiču na odabir ispitanika, one će biti prvo predstavljane.

U ovom pregledu date su osnovne smernice za selekciju upitnika za procenu kvaliteta života u pedijatriji i savetovan je dalji pregled preporuka u zavisnosti od potreba procene.

#### Karakteristike upitnika

Četiri glavne odlike upitnika, razvoj, tip, psihometrijske osobine i kulturološki okvir, utiču na selekciju upitnika za procenu kvaliteta života.

#### Razvoj upitnika

Svaki upitnik razvijen je na osnovu teorijskog modela, kao proizvoda ukupnog shvatanja kvaliteta života određene populacije. Stoga, prvi korak kod selekcije jeste definisanje koncepta koji će biti praćen, odnosno šta upitnik treba da procenjuje<sup>4, 16-18</sup>. Savetovano je da sa definiše koncept ili prilagodi već postojeći, mada postoje i pristupi *ad hoc* istraživanju i definisanju koncepta tokom selekcije. Zatim, neophodno je testiranje i provera, odnosno procena generalizovanosti koncepta na populaciji u kojoj će se procena vršiti<sup>9</sup>.

Sledeći parametri pri selekciji su sadržaj i struktura<sup>4, 11, 19</sup>. Ovi parametri su pokazatelji koncepta od interesa. Sadržaj upitnika predstavlja raspoređenost teorijskog modela u skale – glavni domeni, podskale – poddomeni i pitanja – indikatori kvaliteta života. Struktura upitnika odnosi se na postojanje jedno- ili multidimenzionosti u sadržaju i ona je bitna za

\* U radu korišćen je termin *kvalitet života*, koji označava *kvalitet života povezan sa zdravljem* – *health-related quality of life* (HRQoL).

Tabela 1

## Kontrolna lista pri odabiru upitnika za procenu kvaliteta života u pedijatriji

<i>Cilj procene</i>	<i>Karakteristike ispitanika</i>
Procena u primarnoj zdravstvenoj zaštiti	Ko su ispitanici (deca, adolescenti ili roditelji) i osnovne socio-demografske karakteristike (pol, godine, rasna i etička pripadnost, i sl.)
Klinička evaluacija	Razvojne karakteristike
Javno zdravstvena evaluacija/epidemiološka evaluacija	
Istraživanje	<i>Karakteristike bolesti</i>
<i>Dizajn procene</i>	Tip
Praćenje pojedinaca ili grupe	Početak
Intragrupna poređenja	Trajanje
Intergrupna poređenja	Tok
<i>Dizajn studije</i>	Primenjeni tretmani
Longitudinalna studija	<i>Karakteristike upitnika</i>
Studija preseka	Razvoj upitnika – teorijska osnova, struktura, sadržaj, reprezentativnost
	Tip upitnika – generički, specifični, baterija, screening, prediktivni, diskriminativni, evaluacioni
	Osnovne metričke osobine – pouzdanost, validnost, osetljivost na promene, pouzdanost otkrivanja promene, interpretabilnost
	Prevod i kulturološka adaptacija – dostupnost prevoda, potrebna kulturološka adaptacija
Komentar	

formiranje ukupnog skora na upitniku. Samo jednodimenzioni upitnik, bez obzira na broj domena koje prati, može dati ukupni skor i biti adekvatan za procenu i praćenje<sup>16,18,19</sup>. Multidimenzioni upitnici pogodni su za teorijska istraživanja.

Nakon određenog koncepta, selekcija zavisi od opšte reprezentativnosti upitnika, koju čine prihvatljivost od strane ispitanika, primenjivosti i formata upitnika<sup>16-20</sup>. Ove odlike upitnika su visoko zavisne od karakteristika ispitanika<sup>2,4,5</sup>. U kontekstu prihvatljivosti upitnika od strane ispitanika, pažnju treba obratiti na stepen nedostajućih odgovora u dosadašnjim studijama, preglednu i sadržajnu validnost. Ovi parametri su naročito važni za upitnike koji će biti korišćeni u kliničkoj evaluaciji i istraživanjima. Primenjivost upitnika odnosi se na način primene (strukturisani intervju, samopunjavanje ili *proxy* popunjavanje – roditelji, staratelji, lekari itd.), vreme popunjavanja, alternativne forme (duža, kraća verzija) i slično. Primenjivost značajno utiče na dizajn procene. Na kraju, format obuhvata strukturu pitanja i odgovora, tipove odgovora, uputstva za popunjavanje i celokupnu prezentaciju upitnika.

*Tip upitnika*

Svi upitnici za procenu kvaliteta života u pedijatriji su ili generički ili specifični<sup>1,11</sup>. Specifični upitnici poseduju domene određene za pojedinu bolest/stanje, dok generički imaju domene od važnosti za svu decu i adolescente uopšte. To znači da su specifični upitnici visoko senzitivni i specifični za otkrivanje karakteristika i poređenje kvaliteta života dece sa određenom bolešću, odnosno stanjem. Na drugoj strani, generičkim upitnicima moguće je poređenje kvaliteta života dece sa različitim bolestima i/ili zdrave dece i oni ne poseduju visok stepen senzitivnosti i specifičnosti<sup>16,21</sup>.

Jedan generički upitnik može biti profil zdravlja ili upitnik za procenu koristi<sup>4,16</sup>. Specifičan upitnik može biti specifičan za bolest, za populaciju, za funkciju i za problem/stanje<sup>4,16</sup>. Skup

više specifičnih upitnika koji se skoruju odvojeno, a interpretiraju kao individualni skor, predstavljaju bateriju upitnika<sup>4</sup>.

Prema nameni, upitnici mogu biti: diskriminativni – otkrivaju razliku između pojedinaca ili grupa u odnosu na dimenziju koja se prati, prediktivni – klasifikuju pojedince u određene kategorije i evaluacioni – otkrivaju promene kod pojedinaca ili grupa nastale tokom vremena<sup>1,4,16</sup>. Posebnu grupu čine *screening* upitnici; kratki upitnici za brzu orijentaciju o kvalitetu života pojedinca, sa elementima različitih tipova upitnika.

*Psihometrijske karakteristike upitnika*

Formalna procena kvaliteta života u pedijatriji zasnovana je na standardizovanom upitniku<sup>4,17</sup>. To je upitnik razvijen detaljnim psihometrijskim testiranjem, kome su proverene metričke osobine i čiji je ukupni skor pravi pokazatelj uticaja hronične bolesti/stanja na život deteta. Osnovne karakteristike takvog upitnika su proverena pouzdanost, validnost, mogućnost otkrivanja promene, osetljivost na promene i interpretabilnost. Pouzdanost i validnost su najčešće prijavljivane metričke karakteristike i predstavljaju minimum zahteva koje bi trebalo da ispuni jedan upitnik u selekciji<sup>4,11,22,23</sup>.

Pouzdanost je stepen do koga je određeni upitnik slobodan od greške merenja i predstavlja odnos varijacija pravo skora i onog dobijenog upitnikom. Karakteriše se doslednošću ispitanika u davanju odgovora, a tiče se provere preciznosti merenja (unutrašnje konzistentnosti) i stabilnosti tokom vremena (reproducibilnosti)<sup>23,24</sup>. Kao opšte pravilo važi da se pri selekciji upitnika obrati pažnja na oba tipa pouzdanosti i da ti koeficijenti treba da budu u domenu od zadovoljavajućeg do dobrog. Reproducibilnost je odlika evaluacionih upitnika.

Validnost je stepen do koga određeni upitnik predstavlja koncept koji treba da meri, a ne neki drugi. To je sposobnost

upitnika da meri ono za šta je dizajniran. Postoji nekoliko tipova validnosti: sadržajna, pregledna, validnost kriterijuma i validnost sastava<sup>23,24</sup>. Testiranje validnosti je složen proces, a osnovni zahtevi koje treba da ispuni upitnik za procenu kvaliteta života su visoka sadržajna (reprezentativnost sadržaja) i dobra validnost sastava (teoretski zasnovana procena).

Pouzdanost otkrivanja promene (*responsiveness*) i osetljivost na promene (*sensitivity to change*) predstavljaju sposobnost upitnika da detektuje nastalu promenu tokom vremena, bez obzira koliko je ona velika, i sposobnost, odnosno osetljivost upitnika, da otkrije promenu koja je klinički važna<sup>23,25</sup>. Oba parametra predstavljaju odnos realne promene koja je nastala i varijabilnosti skora tokom vremena koji nije povezan sa realnom promenom<sup>16,24</sup>. Pouzdanost otkrivanja i osetljivost na promene su odlike specifičnih, evaluacionih upitnika.

Interpretabilnost (tumačenje) skora dobijenog upitnikom predstavlja mogućnost da se taj skor protumači u odnosu na određeno realno stanje<sup>16,24</sup>. To podrazumeva da se na jasan način interpretira nalaz dobijen u sirovom obliku u odnosu na postojeće norme, kliničke parametre za koje se vezuje, ili se standardizuje, i na taj način se dobija klinička značajnost skora<sup>23,24,26</sup>. Interpretabilnost treba da bude važna karakteristika svih upitnika.

#### *Prevod i kulturološka adaptacija*

Kvalitet života zavisi od kulturoloških i socioloških osobina populacije. To je u osnovi poslednja smernica za selekciju koja se tiče karakteristika upitnika – dostupnost na jeziku na kome će se procena vršiti<sup>12,16,18</sup>. U unakrsnim kulturološkim i multicentarskim studijama neophodni su upitnici čije su karakteristike uniformne kroz različite kulturološke okvire<sup>27</sup>.

Većina upitnika koji su do sada razvijeni nastali su na nekom od zapadnoevropskih jezika i naknadno su prevedeni i adaptirani, a mali je broj onih koji su simultano razvijeni na nekoliko jezika. Međutim, razvoj upitnika za više govornih područja povezan je sa adekvatnim prevodom, kulturološki senzitivnom adaptacijom i proverom metričkih osobina verzijama, kako bi oni bili ekvivalentni originalu<sup>28,29</sup>. Proveru jednakosti između originala i prevoda čine lingvistički, konceptni i metrički aspekt, kojim se obezbeđuje doslednost prevoda<sup>30</sup>. Jedino takav upitnik može se pravilno upotrebiti u multinacionalnim studijama o kvalitetu života. Stoga, pri odabiru upitnika treba voditi računa da li je upitnik dostupan za naš jezik i u kom obliku ili ga treba prevoditi i adaptirati<sup>9</sup>.

#### **Cilj i dizajn procene**

Cilj procene kvaliteta života određuje glavnu smernicu za odabir adekvatnog upitnika.

U osnovi, kvalitet života prati se u domenima prevencije, lečenja i rehabilitacije dece i adolescenata sa hroničnim bolestima, pa stoga govorimo o proceni u primarnoj zdravstvenoj zaštiti, kliničkoj, javno zdravstvenoj i epidemiološkoj evaluaciji i proceni u istraživanjima. Razlike u selekciji upitnika, koji će biti korišćen u odnosu na cilj, tiču se prvenstveno tipa upitnika i njegovih metričkih osobina.

Tako na primer, za potrebe procene kvaliteta života u primarnoj zdravstvenoj zaštiti, koje uključuju veliki broj dece sa različitim hroničnim bolestima, najpogodniji je kratak, generički upitnik, koji je dobro interpretabilan. U javno zdravstvenoj i epidemiološkoj evaluaciji praktični su duži, deskriptivni ili prediktivni upitnici. Kliničku evaluaciju i kliničke studije karakteriše primena dužih, visoko pouzdanih, validnih i dobro interpretabilnih upitnika ili baterije upitnika, senzitivnih na otkrivanje promena. Ipak, jasnije definisanje ciljeva i dizajn procene diktiraju preciznije karakteristike upitnika koji će biti upotrebljen<sup>31</sup>. Na primer, za praćenje ishoda određenih preventivnih mera, koje se tiču sprečavanja socijalnih problema dece sa blažim oblikom cerebralne paralize treba koristiti specifičan, prediktivan, reproducibilan i visoko validan upitnik za kvalitet života u odnosu na socijalne kriterijume/zahteve.

Određivanje cilja, definiše i način na koji će se procena vršiti – dizajn procene. Dizajn procene može biti: praćenje pojedinaца ili grupe/a bez poređenja, poređenje (sa ili bez praćenja) pojedinaca unutar jedne grupe i poređenje (sa ili bez praćenja) grupa ili grupe/a sa nekom populacijom. Pojedinci (grupe) najčešće su zdrava deca, deca sa hroničnim bolestima/stanjima i deca sa malignitetom<sup>1,2,4,11</sup>. Suštinska razlika među upitnicima u pogledu ispitnika je u razvoju i tipu upitnika.

U odnosu na dizajn studije kojim se procenjuje kvalitet života najčešće se koriste studija preseka ili longitudinalna studija<sup>4,16,31</sup>. Osnovna razlika je što se u longitudinalnim studijama koriste evaluacioni upitnici, sa dobrom validnošću i senzitivnošću otkrivanja promena, dok je u studijama preseka naročito važna dobra interpretabilnost<sup>18,30-33</sup>.

#### **Karakteristike ispitnika**

Nakon određenog dizajna procene (dizajn studije), potrebno je odrediti kriterijume za selekciju ispitnika, koji će svojim odlikama uticati na selekciju upitnika. Oni koji će koristiti upitnik, trebalo bi da detaljno odrede karakteristike ispitnika, jer greške pri odabiru ispitnika mogu drastično da se odraze na primenu neadekvatnog dizajna procene ili upotrebu neadekvatnog upitnika.

Prvo, treba odrediti osnovne sociodemografske karakteristike: ko će biti ispitanici – sama deca, adolescenti, njihovi roditelji/staratelji ili oba, ili neko treći, iz koje sredine potiču ispitanici (rasno-etničke odlike) i slično. Zatim, treba odrediti godine od interesa i osnovne razvojne karakteristike. U pogledu razvojnih karakteristika treba obratiti pažnju na kognitivni razvoj, emocionalnu zrelost, fizički i socijalni razvoj i akademska postignuća<sup>2,4,11-13</sup>.

Upitnici za decu i adolescente gotovo uvek imaju i verzije za roditelje/staratelje, a mali broj ima posebne verzije za grupe 1-3, 4-7, 8-12, 13-16 (18) godina<sup>1,4</sup>. Međutim, iako važne tokom razvoja upitnika, razvojne karakteristike deteta dobijaju na značaju tokom same procene kvaliteta života. Stoga, važan je odabir pravog upitnika za decu i adolescente prema godinama i stepenu razvoja, jer od toga zavisi stepen razumevanja pitanja, odgovora i instrukcija za popunjavanje, što omogućuje adekvatno popunjavanje i način prilagođavanja upitnika. Na primer, adaptirani upitnik sa sličicama za vrlo malu decu, strukturisani intervju za decu koja loše čitaju, verzija upitnika sa detaljnim pitanjima za decu sa kognitivnim poremećajima i slično.



Karakteristike ispitanika, koji će biti uključeni u procenu, tiču se i karakteristika bolesti ili stanja. Tako, cilj studije i dizajn mogu da zahtevaju: tip bolesti/stanja (jedna bolest, komorbiditet, nedostatak, hendikep itd.), početak, trajanje, tok (egzacerbacije, remisije, hospitalizacije itd.) i primenjeni tretmani (lekovi, rehabilitacioni tretman, operativni tretman itd.). Postoje upitnici specifični za ove zahteve<sup>1-4</sup>.

### Zaključak

Ubrzan razvoj koncepta kvaliteta života u pedijatriji omogućio je razvoj velikog broja upitnika za njegovu procenu.

Odabir pravog upitnika zahtevan je i složen proces i svi koji će ga koristiti moraju pri selekciji da obrate pažnju na niz zahteva. Selekciju određuju precizno postavljen cilj, adekvatan dizajn procene (ili dizajn studije), određene karakteristike ispitanika i karakteristike upitnika. Ovi koraci, sa svim svojim elementima, značajno su zavisni i međusobno povezani. Ukoliko neki od njih bude izostavljen, neadekvatan upitnik može biti značajan izvor greške u proceni kvaliteta života, a naročito u poređenju podataka dobijenih iz drugih izvora. Stoga, važno je razumeti da kombinacija ovih atributa određuje populaciju za procenu, način i tip procene, rezultate i zaključke procene, a ne samo upitnik za merenje kvaliteta života.

### L I T E R A T U R A

1. *Davis E, Waters E, Mackinnon A, Reddihough D, Graham HK, Mehmet-Radji O, et al.* Paediatric quality of life instruments: a review of the impact of the conceptual framework on outcomes. *Dev Med Child Neurol* 2006; 48(4): 311–8.
2. *De Civita M, Regier D, Alamgir AH, Anis AH, Fitzgerald MJ, Marra CA.* Evaluating health-related quality-of-life studies in paediatric populations: some conceptual, methodological and developmental considerations and recent applications. *Pharmacoeconomics* 2005; 23(7): 659–85.
3. *Clarke SA, Eiser C.* The measurement of health-related quality of life (QOL) in paediatric clinical trials: a systematic review. *Health Qual Life Outcomes* 2004; 2: 66.
4. *Eiser C, Morse R.* Quality-of-life measures in chronic diseases of childhood. *Health Technol Assess* 2001; 5(4): 1–157.
5. *Christakis DA, Johnston BD, Connell FA.* Methodologic issues in pediatric outcomes research. *Ambul Pediatr* 2001; 1(1): 59–62.
6. *Erling A.* Methodological considerations in the assessment of health-related quality of life in children. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88(428): 106–7.
7. *Stevanović D.* Pediatric health-related quality of life in Serbia: A concept development. *Med Pregl* 2008; 61: *In press*.
8. *Stevanović D, Ložanović-Miladinović D, Jović N, Šarenac M.* The Serbian QOLIE-AD-48: translation, cultural adaptation, and preliminary psychometric evaluation. *Epilepsy Behav* 2005; 7(2): 240–5.
9. *Stevanović D.* Pediatric health-related quality of life instrument. II part: General guidelines for translation and cultural adaptation. *Vojnosanit Pregl* 2008; 65: *In press*.
10. *Varni JW, Burwinkle TM, Lane MM.* Health-related quality of life measurement in pediatric clinical practice: an appraisal and precept for future research and application. *Health Qual Life Outcomes* 2005; 3: 34.
11. *Rajmil L, Herdman M, Fernandez de Sanmamed MJ, Detmar S, Bruil J, Ravens-Sieberer U, et al.* Generic health-related quality of life instruments in children and adolescents: a qualitative analysis of content. *J Adolesc Health* 2004; 34(1): 37–45.
12. *Matza LS, Swensen AR, Flood EM, Secnik K, Leidy NK.* Assessment of health-related quality of life in children: a review of conceptual, methodological, and regulatory issues. *Value Health* 2004; 7(1): 79–92.
13. *Barnes PM, Jenney ME.* Measuring quality of life. *Cur Paediatrics* 2002; 12(6): 476–80.
14. *Eiser C, Morse R.* The measurement of quality of life in children: past and future perspectives. *J Dev Behav Pediatr* 2001; 22(4): 248–56.
15. *Jenney ME, Campbell S.* Measuring quality of life. *Arch Dis Child* 1997; 77(4): 347–50.
16. *Guyatt GH, Feeny DH, Patrick DL.* Measuring health-related quality of life. *Ann Intern Med* 1993; 118(8): 622–9.
17. *Testa MA, Simonson DC.* Assessment of quality-of-life outcomes. *N Engl J Med* 1996; 334(13): 835–40.
18. *Verdugo MA, Schalock RL, Keith KD, Stancliffe RJ.* Quality of life and its measurement: important principles and guidelines. *J Intellect Disabil Res* 2005; 49(Pt 10): 707–17.
19. *Guyatt GH, Kirshner B, Jaeschke R.* Measuring health status: what are the necessary measurement properties? *J Clin Epidemiol* 1992; 45(12): 1341–5.
20. *Downard LC, Meads DM, Thorsen H.* Requirements for quality of life instruments in clinical research. *Value Health* 2004; 7 Suppl 1: S13–6.
21. *Patrick DL, Deyo RA.* Generic and disease-specific measures in assessing health status and quality of life. *Med Care* 1989; 27(3 Suppl): S217–32.
22. *Assessing health status and quality-of-life instruments: attributes and review criteria.* *Qual Life Res* 2002; 11(3): 193–205.
23. *Lohr KN.* Health outcomes methodology symposium: summary and recommendations. *Med Care* 2000; 38(9 Suppl): II194–208.
24. *Health outcomes methodology.* *Med Care* 2000; 38(9 Suppl): II7–13.
25. *Beaton DE, Bombardier C, Katz JN, Wright JG.* A taxonomy for responsiveness. *J Clin Epidemiol* 2001; 54(12): 1204–17.
26. *Guyatt GH.* Making sense of quality-of-life data. *Med Care* 2000; 38(9 Suppl): II175–9.
27. *Guillemin F, Bombardier C, Beaton D.* Cross-cultural adaptation of health-related quality of life measures: literature review and proposed guidelines. *J Clin Epidemiol* 1993; 46(12): 1417–32.
28. *Wild D, Grove A, Martin M, Eremenco S, McElroy S, Verjee-Lorenz A, et al.* Principles of Good Practice for the Translation and Cultural Adaptation Process for Patient-Reported Outcomes (PRO) Measures: report of the ISPOR Task Force for Translation and Cultural Adaptation. *Value Health* 2005; 8(2): 94–104.
29. *Herdman M, Fox-Rushby J, Badiu X.* A model of equivalence in the cultural adaptation of HRQoL instruments: the universalist approach. *Qual Life Res* 1998; 7(4): 323–35.
30. *Hyland ME.* A brief guide to the selection of quality of life instrument. *Health Qual Life Outcomes* 2003; 1: 24.
31. *Garratt A, Schmidt L, Mackintosh A, Fitzpatrick R.* Quality of life measurement: bibliographic study of patient assessed health outcome measures. *BMJ* 2002; 324(7351): 1417.
32. *Sanders C, Egger M, Donovan J, Tallon D, Frankel S.* Reporting on quality of life in randomised controlled trials: bibliographic study. *BMJ* 1998; 317(7167): 1191–4.
33. *Higginson IJ, Carr AJ.* Measuring quality of life: Using quality of life measures in the clinical setting. *BMJ* 2001; 322(7297): 1297–300.

Rad je primljen 7. IX 2007.



## Primena matičnih ćelija u lečenju neuroloških oboljenja – da li je budućnost već stigla?

Stem cells use in the treatment of neurologic disorders – Has the future already arrived?

Dragana Obradović\*, Bela Balint<sup>†</sup>, Evica Dinčić\*, Ranko Raičević\*, Slobodan Obradović<sup>‡</sup>, Gordana Tončev<sup>§</sup>, Vladimir Kostić<sup>||</sup>

Vojnomedicinska akademija, \*Klinika za neurologiju, <sup>†</sup>Institut za transfuziologiju, <sup>‡</sup>Klinika za urgentnu internu medicinu, Beograd; Klinički centar Kragujevac, <sup>§</sup>Klinika za neurologiju, Kragujevac; Klinički centar Srbije, <sup>||</sup>Institut za neurologiju, Beograd

### Ključne reči:

nervni sistem, centralni, bolesti; nervni sistem, periferni, bolesti; kičmena moždina, povrede; transplantacija matičnih ćelija.

### Key words:

central nervous system diseases; peripheral nervous system diseases; spinal injuries; stem cell transplantation.

### Uvod

Velika naučna dogma o nemogućnosti neurogeneze, odnosno nemogućnosti stvaranja novih neurona nakon embrionalnog i ranog postnatalnog razvoja u centralnom nervnom sistemu (CNS), odbačena je tek sredinom devedesetih godina, kada je otkriveno postojanje neurogeneze u ograničenim područjima CNS odraslih sisara, uključujući i čoveka<sup>1-3</sup>. Nosioci neurogeneze u adultnom CNS su matične ćelije (MĆ) – neuralne progenitorske ćelije, koje imaju sposobnost samoobnavljanja, tj. stvaranja identične ćerke-ćelije, ali i diferencijacije ka ćelijama neuronskog ili glijalnog tipa<sup>4, 5</sup>. Broj ovih ćelija relativno je mali i ograničen na dve regije adultnog CNS – hipokampus, odnosno subgranularnu zonu (SGZ)<sup>6</sup> *gyrus dentatus* i subventrikularnu zonu lateralnih komora (SVZ)<sup>7</sup>. Neuralne progenitorske ćelije izolovane su i iz drugih delova CNS kao odgovor na oštećenje, s tim što se u ovim regijama ne odvija spontani proces neurogeneze<sup>6</sup>.

Količina MĆ, kao i brzina neurogeneze u adultnom CNS nisu dovoljni za reparaciju i regeneraciju oštećenja koja postoje kod neuroloških oboljenja, iako je dokazano da neurogenezu stimuliše oštećenje moždanog tkiva, kao i pojedini hormoni i neurotransmiteri, ali i da u krvi postoji cirkulišuća populacija MĆ koja bi mogla da vrši dopunu neuralnih progenitorskih ćelija adultnog CNS<sup>3, 8</sup>.

Mogući terapijski egzogeni izvori MĆ su embrionalne i fetalne matične ćelije, ćelije pupčane vrpce, masno tkivo, ko-

stna srž i kloniranje<sup>9</sup>. Primena embrionalnih i fetalnih MĆ, pored etičke dileme, nosi rizik od formiranja teratoma nakon CNS transplantacije. Kloniranje podrazumeva transfer jedra iz somatske ćelije u jajnu ćeliju iz koje je uklonjeno jedro, što bi omogućilo stvaranje velikog broja MĆ za autolognu transplantaciju, s tim što ostaju zakonska i etička ograničenja vezana za ovu proceduru. Matične ćelije iz pupčane vrpce uzete nakon rođenja i pohranjene u banku MĆ predstavljaju značajan izvor ovih ćelija, koje se mogu koristiti u slučaju kasnijeg razvoja bolesti<sup>10</sup>. Kostna srž ostaje najveći i najdostupniji izvor MĆ, uz mogućnost relativno lakog sakupljanja i krioprezervacije ovih ćelija<sup>11</sup>, sa ili bez njihove *in vitro* diferencijacije i naknadne transplantacije u ciljni deo CNS. Nedavni eksperimentni radovi pokazali su veliki potencijal transdiferencijacije ovih ćelija, odnosno mogućnost ekspresije neuronskih markera i posledičnu funkcionalnost ćelija nakon ciljane fokalne aplikacije<sup>12-14</sup>. Ostaje pitanje da li eksprimirani neuronski markeri predstavljaju posledicu ćelijske fuzije ili se zbilja radi o ekstremnoj plastičnosti ovih ćelija, odnosno mogućnosti njihove raznolike transdiferencijacije, popularno označene kao „pretvaranje krvi u mozak“<sup>12, 15</sup>. U svakom slučaju, publikovani rezultati potvrđuju postojanje funkcionalnog oporavka, koje je često u disproporciji sa postignutom reparacijom, odnosno stepenom zamenjenosti oštećenih ćelija novoformiranim iz MĆ<sup>13</sup>. To bi značilo da je zamena oštećenih ćelija samo jedan od mehanizama ćelijske terapije, moguće i manje značajan, dok bi ključni faktor

predstavljalo delovanje MĆ na faktore lokalnog miljea u smislu neuroprotekcije i indukovanja mehanizama samozaštite i oporavka<sup>13, 15</sup>. Najviše kliničkih iskustava ima sa primenom MĆ u infarktu miokarda, pri čemu objavljeni rezultati govore u prilog značaja parakrinog delovanja MĆ<sup>16, 17</sup>.

### Parkinsonova bolest

Kod Parkinsonove bolesti (PB) dolazi do progresivne degeneracije dopaminergičkih neurona u *pars compacta substantia nigra* sa posledičnom denervacijom strijatumata i kliničkom slikom bradikinezije, rigiditeta, tremora i posturalne nestabilnosti. Osnova lečenja je supstitucija L-dopom, s tim što vremenom dolazi do slabljenja postignutih terapijskih rezultata i pojave neželjenih efekata lečenja<sup>18</sup>.

Pokazano je da se simptomi PB ispoljavaju tek kada nivo dopamina u strijatumu padne ispod 70%, tako da se transplantacija fetalnih mezencefaličnih dopaminergičkih neurona, odnosno supstitucija degenerisanih dopaminergičkih neurona, činila kao logičan izbor u pokušaju lečenja, pre svega kod medikamentno rezistentnih i uznapredovalih formi PB<sup>19, 20</sup>. Rezultati prvih, malih kliničkih studija sa intrastrijatalnom transplantacijom fetalnih dopaminergičkih neurona pokazali su da transplantirani neuroni preživljavaju, otpuštaju dopamin i reinervišu strijatum<sup>21–23</sup>. Što se tiče kliničkog efekta, kod pojedinih bolesnika postignuta je dobra i dugotrajna kontrola PB<sup>23, 24</sup>. Pokazano je, na autopsijskom materijalu transplantiranih, da je za dobar klinički oporavak potrebno preživljavanje bar 100 000 dopaminergičkih neurona u putamenu, odnosno reinervacija 1/3–1/2 putamena<sup>22</sup>. Ovi prvi pozitivni rezultati inicirali su randomizovanu placebo-kontrolisanu studiju u koju je bilo uključeno 40 bolesnika sa teškom formom PB (kod 20 je rađena implantacija fetalnog mezencefaličnog tkiva u putamen bilateralno, a kod drugih 20 „lažna neurohirurgija – bez implantacije“) <sup>25</sup>. Rezultati su bili neočekivano skromni. Naime, izvesno poboljšanje postignuto je kod bolesnika mladih od 60 godina, ali je došlo do razvoja distonije i diskinezija kod 15% transplantiranih bolesnika nakon godinu dana<sup>25</sup>. Istovremeno, potvrđeno je preživljavanje i očuvanost funkcije transplantiranih MĆ bogatih dopaminom. U drugoj placebo-kontrolisanoj studiji koja je takođe obuhvatala bolesnike sa uznapredovalom PB, čak 56% bolesnika razvilo je diskinezije, a postignuto kliničko poboljšanje bilo je na granici statističke značajnosti<sup>26</sup>. Naknadnom analizom utvrđeno je da je loš ishod bio kod onih bolesnika kod kojih je i preoperativno postojala degeneracija dopaminskih neurona u delovima gde nije implantiran graft, kao i da implantacija MĆ ne zaustavlja dalju degeneraciju dopaminskih neurona u neimplantiranim regionima<sup>27</sup>. Neuroni poreklom iz grafta nisu podlegali procesu degeneracije<sup>26, 27</sup>. Za graftom-indukovane diskinezije utvrđeno je da nisu posledica preteranog otpuštanja dopamina iz grafta, već moguće posledica neravnomerne i delimične reinervacije strijatumata<sup>27, 28</sup>. Dakle, bolja selekcija bolesnika, odnosno odabir onih sa manje uznapredovalom bolešću, omogućio bi i bolje kliničke efekte nakon transplantacije. Upotreba MĆ iz kostne srži koje bi *in vitro* bile umnožene i diferencirane ka dopaminskim neuronima, značajno bi unapredila transplantaciju u

PB, obzirom na etička ograničenja koja nosi primena fetalnih MĆ i činjenicu da je potreban veći broj fetusa za jednu transplantaciju<sup>24</sup>. Takođe, neophodno je pre same transplantacije locirati mesta degeneracije dopaminskih neurona korišćenjem<sup>18</sup> F-dopa pozitron emisije tomografije (*positron emission tomography* – PET) i nakon toga vršiti ciljne multiple implantacije MĆ u te delove, što bi rezultovalo boljim kliničkim oporavkom i odsustvom diskinezija<sup>27</sup>. Nedavno su objavljeni ohrabrujući rezultati primene *glial cell line-derived neurotrophic factor* (GDNF) u vidu direktnih infuzija u putamen obolelih od PB tokom godinu dana<sup>29</sup>. Ovaj faktor rasta ekspimiraju transplantirane MĆ u eksperimentalnom modelu PB. Pokazano je da on ispoljava snažno neuroprotektivno delovanje, utičući na oporavak disfunkcionalnih dopaminergičkih neurona, što otvara mogućnost njegove primene u kombinaciji sa transplantacijom MĆ kod PB<sup>29</sup>.

Interesantno je pitanje neurogeneze kod PB. Naime, pokazano je da klasičnoj kliničkoj slici PB prethodi period depresivnosti, poremećaja prostorne orijentacije i poremećaja mirisa, s tim šta su ovi simptomi nezavisni od nivoa dopamina i, uglavnom, prođu neopaženo<sup>30</sup>. Pojedini autori skloni su da ih pripišu insuficijentnoj neurogenezi u SVZ i SGZ, s obzirom da se indentični simptomi izazivaju eksperimentalnom inhibicijom neurogeneze u ovim područjima<sup>30, 31</sup>. Pokazano je da dopamin stimuliše adultnu neurogenezu preko D2 receptorima sličnih receptora, prisutnih na neuralnim progenitorskim ćelijama u SVZ<sup>30</sup>. Kod obolelih od PB u autopsijskom materijalu nađena je redukcija broja neuralnih progenitorskih ćelija u SVZ i SGZ, što može biti posledica deplecije dopamina i razlog za insuficijentnu neurogenezu kod PB<sup>32</sup>. Mogućnost aplikacije dopamimetičkih lekova sa ciljem stimulacije endogene neurogeneze u SVZ i SGZ predstavlja značajan potencijal za lečenje PB stimulacijom reparacionih procesa. U adultnoj *substantia nigra* obolelih od PB identifikovane su progenitorske neuralne ćelije sa sposobnošću diferencijacije u neurone<sup>33</sup>. Stimulacija svrsishodne i dovoljne neurogeneze na ovom nivou, značila bi verovatno ključni pomak u lečenju i izlečenju PB.

### Alchajmerova bolest

Kod Alchajmerove bolesti (AB) dolazi do progresivnog propadanja neurona i neuralnih sinapsi u različitim delovima mozga – korteks, hipokampus, amigdala, *nucleus basalis* Meynert. Naročito je značajna deplecija holinergičkih neurona u *nucleus basalis* Meynert, s obzirom da je ova regija zadužena za holinergičku inervaciju korteksa i hipokampusa i upravo se manjak acetilholina smatra ključnim za nastanak i ispoljavanje AB. Kliničku sliku karakteriše progresivni gubitak pamćenja i drugih kognitivnih funkcija sa posledičnom demencijom. Raspoloživa terapija se zasniva na pojačavanju holinergičke funkcije u mozgu primenom inhibitora acetilholin esterase, ali ima skroman i ograničen učinak. U radovima na eksperimentalnom modelu AB pokazano je da postoji insuficijencija neurogeneze u hipokampusu<sup>34</sup>. S druge strane, u nedavno objavljenoj studiji na humanom materijalu AB, u hipokampusu nađen je povećan broj ćelija koje ekspimiraju rane, razvojne neuronalne markere, što bi se moglo

tumačiti kao povećanje neurogeneze kod AB<sup>35</sup>. Ovo bi moglo da bude od ključnog kliničkog i terapijskog značaja imajući u vidu ulogu hipokampusa u procesu učenja i pamćenja. Već je pokazano da sa starenjem dolazi do smanjenja neurogeneze u hipokampusu i to u korelaciji sa poremećajem pamćenja, kao i da estrogen i kognitivno stimulišuće aktivnosti smanjuju rizik od razvoja AB<sup>36-38</sup>. Eksperimentalno je dokazano da se transplantacijom neuralnih progenitorskih ćelija u mozak pacova popravljaju poremećaj pamćenja izazvan procesom starenja<sup>39</sup>. Dakle, hipokampus, odnosno stimulacija neurogeneze u hipokampusu mogla bi da bude terapijski cilj u lečenju AB. Prema podacima dobijenim na eksperimentnim životinjama, neurogenezu u hipokampusu stimulišu učenje, socijalni kontakti, fizička aktivnost, visok nivo estrogena, dijetetski režim ishrane, dok kortikosteroidi, stres, inflamacija i podređeni, inferiorni položaj jedinke deluju inhibitoryno<sup>36</sup>. Interesantno, u depresiji smanjena je neurogeneza, a svi poznati antidepressivi, čak i elektrokonvulzivna terapija, stimulišu neurogenezu<sup>36,40</sup>.

Druga terapijska opcija kod AB je primena NGF (*Nerve Growth Factor*), koji sprečava propadanje holinergičkih neurona, deluje neuroprotektivno i dovodi do poboljšanja pamćenja na animalnom modelu AB<sup>41</sup>. Objavljeni su rezultati I faze kliničke studije sa primenom NGF u lečenju AB kod ljudi<sup>42</sup>. Naime, rađena je autologa transplantacija genetski modifikovanih fibroblasta – korišćenjem retrovirusa kao vektora osposobljeni su da proizvode NGF, pri čemu je vršena njihova stereotaksična aplikacija u širi region *nucleus basalis* Meynert. Nisu registrovani neželjeni efekti terapije nakon dve godine praćenja, a nađeno je značajno usporenje napredovanja kognitivnih oštećenja. Kod bolesnika u ranoj fazi AB nađen je smanjen broj cirkulišućih CD34+ ćelija, odnosno hematopoetskih MĆ<sup>43</sup>. Imajući u vidu potencijal hematopoetskih MĆ da se diferenciraju prema neuronima, ovaj nalaz bi mogao da govori u prilog insuficijenciji hematopoetskih MĆ u uslovima pojačane potrebe za reparacijom oštećenih delova kod AB<sup>12,44</sup>. Na ovaj način bi čak i sistemska aplikacija hematopoetskih MĆ, ili pak mezenhimnih MĆ imala opravdanje u lečenju AB. Dakle, čini se da buduća ispitivanja i kliničke studije kod AB mogu ići u nekoliko pravaca – stimulacija neurogeneze u hipokampusu i SVZ, ali i u delovima mozga gde se ona ne odvija spontano, a gde postoje MĆ koje mogu biti indukovane ka daljoj diferencijaciji; primena faktora rasta koji imaju neuroprotektivni potencijal korišćenjem genetski modifikovanih MĆ. Zbog difuznosti procesa i raznolikosti oštećenih neurona lokalna ili sistemska aplikacija MĆ, predstavlja najveći terapijski izazov.

### Amiotrofična lateralna skleroza

Kod amiotrofične lateralne skleroze (ALS) dolazi do degeneracije motornih neurona i u kičmenoj moždini (donji motorni neuron), i u velikom mozgu i moždanom stablu (gornji motorni neuron) sa posledičnim progresivnim razvojem mišićne slabosti, respiratornom insuficijencijom i smrću nakon par godina. Kod oko 5% slučajeva radi se o dominantnom nasleđivanju mutacije u genu za Cu-Zn (bakar-cink) superoksid-dizmutazu (SOD1). Ne postoji terapija koja

bi značajnije usporila napredovanje bolesti. S obzirom da se radi o neuronima koji imaju najduže aksone (desetine centimetara), primena MĆ sa ciljem njihove diferencijacije i zamene oštećenih motoneurona ima malo izgleda za uspeh. Ali, kao što je već pomenuto, zamena oštećenih ćelija matičnim ćelijama najverovatnije i nije ključni mehanizam evidentiranog funkcionalnog oporavka<sup>13,15</sup>. Kao i kod drugih neurodegenerativnih bolesti, i kod ALS veoma je bitna interakcija između neurona – motoneurona i glijalnih ćelija za održavanje morfološke i funkcionalne sposobnosti neurona<sup>45</sup>. Naime, na eksperimentnom modelu – analog familijarne SOD1 forme ALS, pokazano je da je neophodno prisustvo mutacije za SOD1 i u motoneuronima i u glijalnim ćelijama da bi se bolest ispoljila, odnosno degeneracija SOD1+ motoneurona bila je značajno usporena ukoliko su u njihovom okruženju bile glijalne ćelije koje ne ekspimiraju SOD1 mutaciju<sup>46,47</sup>. Ovo govori u prilog neuroprotektivnog delovanja glijalnih ćelija, a upravo MĆ imaju sposobnost da indukuju promene u lokalnom okruženju, stimulišući neuroprotektivno delovanje i/ili diferencirajući se ka ćelijama glije<sup>15,24</sup>. Nedavno su objavljeni rezultati koji potvrđuju da transplantacija neuralnih progenitorskih ćelija kod SOD1 transgenog miša – analog ALS, dovodi do diferencijacije u neurone i integracije donorskih ćelija u kičmenu moždinu, kao i pojačane produkcije faktora rasta IGF-1 (*Insulin Growth Factor 1*) i VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) sa posledičnim pozitivnim kliničkim efektom<sup>48</sup>.

Na animalnom modelu pokazano je da intravenska aplikacija humanih MĆ iz pupčane vrpce i kostne srži dovodi do produženja života i to dozno zavisno, kao i da MĆ nakon intravenske aplikacije migriraju ka oštećenim motoneuronima<sup>47,49</sup>. Ovi nalazi su i inicirali prve pokušaje lečenja pomoću MĆ koje potiču iz kostne srži kod obolelih od ALS. Tako, kod tri bolesnika urađena je intratekalna aplikacija autologih CD34+ ćelija poreklom iz kostne srži, pri čemu nije bilo neželjenih efekata, ali nije registrovan ni pozitivan klinički pomak nakon 12 meseci<sup>50</sup>. Autologa transplantacija MĆ iz kostne srži u spinalnu regiju T7–T9 kod sedam bolesnika, bila je praćena prolaznim dizestetičnim smetnjama, pri čemu je nakon tri meseca kod šest bolesnika evidentiran pozitivan klinički efekat – usporavanje mišićne slabosti kod četvoro i čak pojačavanje mišićne snage kod dvoje<sup>51</sup>. Nakon tri godine u ovoj grupi bolesnika, pozitivan klinički efekat i dalje je prisutan<sup>52</sup>. Stimulacija neurogeneze u SGZ hipokampusa i SVZ lateralnih komora, ali i u delovima mozga gde se normalno ne odvija neurogeneza (cerebralni korteks i kičmena moždina), predstavlja važno potencijalno mesto terapijskog delovanja u ALS. Na animalnom modelu ALS pokazano je da dolazi do stimulacije neurogeneze na spinalnom nivou, i to ne samo na nivou stvaranja novih neuralnih progenitora, nego i njihove migracije i dalje diferencijacije u područja degeneracije motoneurona<sup>53</sup>.

Nedavno je razvijena i neurohirurška endoskopska metoda za izolaciju neuralnih progenitora iz SVZ bočnih komora, uz mogućnost njihove i *in vitro* ekspanzije pre naknadne transplantacije<sup>47,54</sup>. Ovaj sofisticiraniji, usmereni pristup mogao bi da bude od značaja u slučajevima sa značajnom lokalnom degeneracijom motornih neurona, dok dosadašnji re-

zultati iniciranih kliničkih studija i ispitivanja vijabilnosti MĆ iz kostne srži ALS bolesnika, govore u prilog autologe sistemske aplikacije MĆ, s obzirom na očuvanu sposobnost diferencijacije MĆ<sup>55</sup>.

### Povreda kičmene moždine

Povrede kičmene moždine dovode do prekida uzlaznih i silaznih aksonskih puteva sa posledičnom kliničkom slikom motorne slabosti, gubitka senzibiliteta i autonomne disfunkcije ispod mesta povrede. Lokalno, dolazi do gubitka neurona, glije, inflamacije i demijelinizacije, inicijalno zbog povrede, a kasnije i kao posledica sekundarne degeneracije. Ne postoji uspešna terapija. Dva su osnovna pravca u reparaciji oštećene kičmene moždine kada je u pitanju ćelijska terapija: transplantacija (ne)diferenciranih MĆ i stimulacija endogene neurogeneze. Praćenje transplantiranih MĆ pomoću magnetne rezonancije (MR) na eksperimentnom modelu pokazalo je da nezavisno od načina aplikacije, MĆ tokom prve nedelje migriraju ka mestu oštećenja i vidljive su u tom regionu oko 30 dana, što je praćeno funkcionalnim oporavkom i smanjenjem veličine lezije<sup>56</sup>. Studije na eksperimentnom modelu pokazale su da transplantirane embrionalne MĆ preživljavaju, diferenciraju se i dovode do funkcionalnog oporavka, najverovatnije putem sekrecije trofičkih faktora i remijelinizacije<sup>57-59</sup>. Rezultati ovih studija ukazuju na rizik koji sa sobom nosi nekontrolisana diferencijacija MĆ nakon transplantacije. Naime, postoji mogućnost ekscesivne diferencijacije u astrocite i aberantno grananje aksona sa posledičnim razvojem alodinije<sup>60</sup>. Dodatno je pitanje optimalnog vremena za transplantaciju MĆ, odnosno postizanja boljih kliničkih efekata u slučaju akutne ili hronične povrede. Zna se da je intenzitet inflamatorne reakcije na mestu povrede kičmene moždine kod nižih primata čak deset puta veći nego kod sisara, kao i da oni imaju sposobnost potpunog funkcionalnog oporavka nakon povrede<sup>61</sup>. Istraživanja su pokazala da ovaj inflamatorni odgovor na mestu oštećenja u velikom broju čine autoreaktivni T limfociti, upereni na antigene nervnog tkiva, kao oni u multiploj sklerozi<sup>61</sup>. Takođe, administracijom autoreaktivnih T limfocita u eksperimentnom modelu u periodu do 15 dana od povrede, postiže se gotovo potpuna reparacija organa i oporavak funkcije<sup>61, 62</sup>. Ovo se najverovatnije postiže sekrecijom neurotrofina – faktora rasta i diferencijacije od strane autoreaktivnih T limfocita<sup>61, 62</sup>. Polazeći od ovih rezultata, Moviglia i sar.<sup>63</sup> pokazali su da u zajedničkoj kulturi, autoreaktivni T limfociti uzeti od bolesnika sa povredom kičmene moždine, uzrokuju diferencijaciju mezenhimnih MĆ porekla iz kostne srži u neurone – neuralne MĆ. Ovi autori otišli su i korak dalje, pa su bolesnicima sa hroničnom povredom kičmene moždine preko spinalne arterije nivoa povrede, ubacili autologe autoreaktivne T limfocite, a nakon 48 sati i transdiferencirane neuralne MĆ (nastale kokulturom mezenhimnih MĆ i autoreaktivnih T limfocita)<sup>64</sup>. Nakon šest meseci praćenja postignut je značajan oporavak motornih i senzitivnih funkcija kod oba bolesnika<sup>64</sup>. Olfaktorne *ensheathing* ćelije (OEC) predstavljaju jedinstvene ćelije glije prisutne samo u olfaktornom sistemu, poseduju izuzetnu plastičnost i nosioci su neurogeneze za granični deo

perifernog nervnog sistema i CNS u olfaktivnom regionu<sup>65</sup>. Najviše se koriste upravo u povredama kičmene moždine, s obzirom na dokazan lokalni neuroprotektivni efekat, stimulišu rast i remijelinizaciju aksona, kao i angiogenezu<sup>65</sup>. Njihovom transplantacijom – graftingom u područje povrede, kod sedam bolesnika sa hroničnom povredom kičmene moždine postignut je oporavak na skali motornih i senzitivnih funkcija, izvestan oporavak autonomnih funkcija, kao i MR verifikovano delimično ili potpuno ispunjenje lezije<sup>66</sup>. U slučaju povrede kičmene moždine (eksperimentni model), procesom endogene neurogeneze dolazi do diferenciranja progenitorskih MĆ u oligodendrocite i astrocite, sa posledičnom remijelinizacijom i izvesnim stepenom funkcionalnog oporavka<sup>67</sup>. Stimulacija ovog procesa određenim faktorima rasta i diferencijacije, omogućila bi lokalnu *in situ* reparaciju sa željenim oporavkom oštećenih funkcija<sup>68</sup>.

### Multipla skleroza

Multipla skleroza (MS) predstavlja imunoposredovano/autoimuno oboljenje CNS, koje pogađa osobe mlađeg životnog doba i vremenom dovodi to teškog invaliditeta<sup>69</sup>. U patogenezi bolesti ulogu igraju faktori sredine za koje se smatra da pokreću aberantni autoimuni odgovor kod osoba sa izvesnom genetskom predispozicijom<sup>70</sup>. Autoimuni odgovor, dominantno posredovan autoreaktivnim CD4+ T ćelijama, uzrokuje inflamaciju i demijelinizaciju unutar CNS, s tim da je nedavno utvrđeno postojanje i primarne degeneracije aksona u ranoj fazi bolesti, što govori u prilog neurodegenerativne komponente MS<sup>69, 71</sup>. Najveći broj bolesnika pripada grupi remitentno-relapsnih (RR) (80%), s tim da nakon 5–15 godina većina ovih bolesnika prelazi u sekundarno-progresivnu formu MS, dok primarno progresivnu formu bolesti ima do 15% bolesnika. Ne postoji efikasan lek za MS, a postojeći koncept lečenja zasniva se na imunosupresiji i imunomodulaciji. Za RR formu bolesti koriste se interferon beta i glatiramer acetat, koji imaju za cilj da spreče pojavu novih pogoršanja MS i time uspore napredovanje bolesti, s tim što se kod 30–40% lečenih bolesnika ne postiže željeni efekat<sup>72</sup>. Za terapijski rezistentne i progresivne forme bolesti, koristi se citostatik mitoksantron, koji s obzirom na kumulativni kardiotskični efekat ima dozno ograničenu primenu. Tako, jedan značajan broj bolesnika po iscrpljivanju navedenih terapijskih režima, ostaje bez efikasnog lečenja.

Po analogiji sa drugim autoimunim bolestima, razmatrana je, a 1995. godine prvi put i urađena, autologa transplantacija matičnih ćelija (ATMĆ) nakon prethodno sprovedene imunoablativne terapije<sup>73</sup>. Do sada je urađeno oko 300 ATMĆ u svetu<sup>74-77</sup>. Kriterijume i protokol za ATMĆ kod MS predložilo je 2000. godine Evropsko udruženje neurologa<sup>78</sup>. Osnovna postavka ove terapije je poništavanje autoreaktivnog, patološkog imunog sistema intenzivnim imunoablativnim režimom – kombinacijom citostatika i naknadnom ATMĆ, poreklom iz periferne krvi samog bolesnika, radi uspostavljanja novog funkcionalnog imunog sistema<sup>79</sup>. Dakle, cilj je da se zaustavi dalje inflamatorno, imunološki posredovano oštećenje u CNS, dok još nije postignuta kritična deplecija aksona sa postizanjem ireverzibilnih neuroloških ošteće-

nja. Ovakav vid ATMĆ predstavlja transplantaciju CD34+, odnosno hematopoetskih MĆ. Pomenuto je da su neka istraživanja pokazala njihov potencijal diferencijacije i u progenitore neuralnih i ćelija glije, što bi značilo da pored restitucije novog imunog sistema dolazi možda i do ćelijske reparacije (proces remijelinizacije demijelinizovanih aksona, regeneracije ćelija lokalnog *milieu* i nastanak novih neurona)<sup>12</sup>. U prilog ovoj tezi govore nalazi *post mortem* studija osoba transplantiranih zbog leukemije, gde su donori bili HLA podudarni, ali drugog pola od primaoca, tako da se bojenjem polnih hromozoma mogu indentifikovati ćelije donora godinama kasnije. Naime, kod ovih osoba je desetinama godina posle transplantacije u brojnim tkivima, uključujući mozak i mišiće, nađeno prisustvo ćelija koje potiču od donora, visokodiferenciranih i funkcionalno integrisanih u lokalnu sredinu<sup>80</sup>.

Analiza prvih 85 objavljenih ATMĆ pokazala je da čak 74% bolesnika nema pogoršanja u periodu od tri godine, značajno je redukovan broj aktivnih lezija registrovanih MR pregledom (sa 33 na 8%), poboljšanje EDSS skora, (*Expanded Disability Status Scele*) koji predstavlja meru težine neurološkog deficita, za 0,5, a kod 20% bolesnika čak više od 1,0<sup>81</sup>. Najveći rizik ovakvog lečenja je preproceduralni mortalitet zbog imunoablacije, koji je u ovoj analizi iznosio 6%, starost iznad 45 godina, EDSS skor iznad 6,0 (teško pokretni bolesnici) i ekstenzivna T-deplecija, definisani su kao faktori rizika<sup>81</sup>. U toku je evropska studija – ASTIMS trial (*Autologous Stem Cell Transplantation International Multiple Sclerosis*), koja direktno poredi efikasnost mitoksantrona i ATMĆ na zaustavljanje progresije terapijski rezistentnih, progresivnih fromi MS<sup>82</sup>. Klinike za neurologiju i hematologiju, kao i Institut za transfuziologiju Vojnomedicinske akademije (VMA) učesnici su ove studije. Pre dve godine urađena je prva ATMĆ u VMA (neobjavljeni podaci). Van ove evropske studije, u toku su monocentrične studije u SAD i Kanadi<sup>74</sup>.

Stimulacija remijelinizacije i neuroprotekcija aksona predstavljaju ključne terapijske ciljeve kod MS, za razliku od sada prisutnih lekova koji se baziraju na menjanju imunog odgovora i supresiji inflamacije<sup>24, 83</sup>. Spontana remijelinizacija odvija se tokom trajanja bolesti i to zahvaljujući postojanju prekursora oligodendrocita (POD) u sivoj i belojoj masi CNS odraslih, te bi se ona mogla smatrati jedinstvenom endogenom terapijom MĆ. Najintenzivnija je u ranoj fazi RR forme MS, pri čemu je reč o vrlo efikasnom regenerativnom procesu sa ponovnim uspostavljanjem morfologije i funkcije lediranih aksona<sup>84–86</sup>. Remijelinizacija se odvija u prisustvu inflamatornih ćelija, te se čini da inflamacija ne deluje inhibitorno na POD, već da je čak i neophodna za remijelinizaciju<sup>83</sup>. U hroničnim plakovima postoje inaktivni, retki POD, mnoštvo astrocita, mikroglija i retke inflamatorne ćelije. U njima se gotovo i ne odvija remijelinizacija, ali je na eksperimentnom modelu pokazano da bi transplantacija egzogenih POD mogla da dovede do remijelinizacije, pod uslovom da postoji dovoljan broj očuvanih aksona<sup>83</sup>. S obzirom da hronični plakovi predstavljaju korelat teškog, ireverzibilnog neurološkog oštećenja, ovakav vid terapije bio bi izuzetno značajan i potencijalno predstavlja jedini mogući vid morfološ-

kog i funkcionalnog oporavka kod teških i najtežih lezija CNS.

Dakle, terapija bi trebalo da se zasniva na stimulaciji remijelinizacije od strane POD i otkrivanju i uklanjanju faktora koji je onemogućavaju. Pokazano je da hijaluronan pokretno od astrocita, koji se nagomilava u demijelinizacionim lezijama, sprečava maturaciju endogenih POD<sup>24</sup>. Interesantno je da sami oligodendrociti nemaju sposobnost remijelinizacije, već isključivo njihovi progenitori<sup>86</sup>.

Remijelinizacija bi se mogla pospešiti transplantacijom MĆ, moguće i hematopoetskih CD34+, izvesno adultnih i embrionalnih POD i mezenhimnih MĆ (MMĆ). Pokazano je da sistemski date neuralne MĆ migriraju do ognjišta demijelinizacije, neke se diferenciraju u POD i remijelinizuju aksona, dok druge ostaju nediferencirane i deluju imunosupresivno<sup>24, 87</sup>. Takođe, embrionske POD i POD iz adultnog ljudskog mozga vrše remijelinizaciju demijelinizovanog mozga i kičmene moždine<sup>24, 88</sup>. Naravno, reč je o eksperimentnim modelima MS. Izdvajanje pobrojanih ćelija i njihova naknadna fokalna ili sistemska aplikacija kod ljudi, skopčana je sa brojnim tehničkim ograničenjima<sup>83</sup>.

Posebno je interesantna mogućnost transplantacije MMĆ koje imaju dokazan i siguran potencijal transdiferencijacije u prekursora neurona i OD, uz to su i lako dostupne, s obzirom da se nalaze u kostnoj srži<sup>89</sup>. Tamo ih ima u daleko manjem broju nego hematopoetskih, 1 : 10 000, nešto se teže izdvajaju, ali se relativno lako mogu umnožiti *in vitro* i naknadno plasirati intratekalnim ili sistemskim putem<sup>90</sup>. Rezultati studija na eksperimentnom modelu MS govore da intravenska aplikacija MMĆ dovodi do zaustavljanja demijelinizacije i inflamacije i kliničkog oporavka bolesnih životinja<sup>91</sup>. Pokazano je njihovo imunomodulatorno delovanje – supresija T, B i NK (*Natural Killer*) ćelijskog odgovora, anergija T limfocita i sekrecija *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) sa efektom na proliferaciju OD prekursora<sup>92</sup>. Ovi rezultati inicirali su prve pilot studije sa autologom transplantacijom MMĆ u MS, bez prethodne imunoablativne terapije<sup>90</sup>. Iranski autori objavili su rezultate svoje pilot studije na 10 bolesnika rezistentnih na standardnu terapiju, kojima su intratekalno date MMĆ iz kostne srži, ekspanzirane *in vitro*<sup>93</sup>. U periodu praćenja od 13 do 26 meseci, kod četiri bolesnika nije bilo kliničkih promena, jedan se značajno popravio (EDSS od 5 na 2,5), kod petoro je došlo do povećanja EDSS skora (od 0,5 na 2,5, što znači da su potpuno funkcionalno aktivni), dok je MR nalaz bio stacionaran kod devet bolesnika<sup>93</sup>. Ozbiljniji komentar opravdanosti i efikasnosti ovakvog lečenja zahteva rezultate drugih, započetih pilot studija. Mogućnost primene MMĆ se ne ograničava samo na MS, već i na druge neurodegenerativne i inflamatorne neurološke oblasti.

Da li je i neurogeneza u MS insuficijentna? Ukoliko je suditi po broju perifernih CD34+ ćelija, odgovor bi bio potvrdan<sup>94</sup>. Tok bolesti govori u prilog suficijentne neurogeneze u ranoj fazi MS, kada još dolazi do reparacije oštećenog mijelina i funkcionalnog oporavka. U svakom slučaju, MĆ iz SVZ i SGZ, sa dokazanom sposobnošću migracije, parakrinog delovanja i diferencijacije ka POD, doprinose samo ograničeno reparaciji demijelinizacionih lezija, pa se MĆ iz

SVZ smatraju odgovornim za remijelinizaciju ograničenu na regiju *corpus calosum*<sup>86</sup>. Iako je pokazano da pojava nove demijelinizacione lezije dovodi do četverostrukog porasta broja pluripotentnih MĆ, tzv. B ćelija i trenutne ekspresije markera POD<sup>95</sup>, ova vrsta autoreparacije očigledno nije dostatna za saniranje lezija kod MS. Pojedini autori smatraju da stimulacija neurogeneze u SGZ i SVZ ne bi znatnije doprinela procesu remijelinizacije u udaljenim demijelinizacionim lezijama, s obzirom da bi moglo da dođe do kompeticije sa lokalnim POD i uzajamne inhibicije<sup>83</sup>, dok drugi nemogućnost *in situ* reparacije, čak lokalizaciono bliskih periventricularnih demijelinizacionih lezija, objašnjavaju prostornim promjenama unutar SVZ koje su uzrokovane inflamacijom, što dovodi do terminalne diferencijacije ćelija<sup>95</sup>.

kularnih demijelinizacionih lezija, objašnjavaju prostornim promjenama unutar SVZ koje su uzrokovane inflamacijom, što dovodi do terminalne diferencijacije ćelija<sup>95</sup>.

### Zaključak

Budućnost ćelijske terapije u lečenju neuroloških bolesti je počela. Ostaju važna pitanja na koja odgovor mogu dati samo dobro osmišljene međunarodne studije, a tiču se vrste ćelija, načina njihovog umnožavanja i aplikacije, kao i optimalnog vremenskog okvira za ovakvu vrstu lečenja.

### L I T E R A T U R A

- Rakić P. Limits of neurogenesis in primates. *Science* 1985; 227(4690): 1054–6.
- Jobansson CB, Svensson M, Wallstedt L, Janson AM, Frisén J. Neural stem cells in the adult human brain. *Exp Cell Res* 1999; 253(2): 733–6.
- Ming GL, Song H. Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. *Annu Rev Neurosci* 2005; 28: 223–50.
- Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science* 2000; 287(5457): 1433–8.
- Temple S. The development of neural stem cells. *Nature* 2001; 414(6859): 112–7.
- Elder GA, De Gasperi R, Gama Sosa MA. Research update: neurogenesis in adult brain and neuropsychiatric disorders. *Mt Sinai J Med* 2006; 73(7): 931–40.
- Alvarez-Buylla A, Garcia-Verdugo JM. Neurogenesis in adult subventricular zone. *J Neurosci* 2002; 22(3): 629–34.
- Ortiz-Gonzalez XR, Keene CD, Verfaillie CM, Low WC. Neural induction of adult bone marrow and umbilical cord stem cells. *Curr Neurovasc Res* 2004; 1(3): 207–13.
- Rice CM, Halppenny CA, Scolding NJ. Stem cells for the treatment of neurological disease. *Transfus Med* 2003; 13(6): 351–61.
- Škorić D, Balint B, Petakov M, Sindić M, Rodić P. Collection strategies and cryopreservation of umbilical cord blood. *Transfus Med* 2007; 17(2): 107–13.
- Balint B, Ivanović Z, Petakov M, Taseski J, Jovčić G, Stojanović N, et al. The cryopreservation protocol optimal for progenitor recovery is not optimal for preservation of marrow repopulating ability. *Bone Marrow Transplant* 1999; 23(6): 613–9.
- Mezey E, Chandross KJ, Harta G, Maki RA, McKercher SR. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated *in vivo* from bone marrow. *Science* 2000; 290(5497): 1779–82.
- Zhao LR, Duan WM, Reyes M, Keene CD, Verfaillie CM, Low WC. Human bone marrow stem cells exhibit neural phenotypes and ameliorate neurological deficits after grafting into the ischemic brain of rats. *Exp Neurol* 2002; 174(1): 11–20.
- Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res* 2000; 61(4): 364–70.
- Tai YT, Svendsen CN. Stem cells as a potential treatment of neurological disorders. *Curr Opin Pharmacol* 2004; 4(1): 98–104.
- Schächinger V, Erbs S, Eksässer A, Haberbosch W, Hambrecht R, Hölschermann H, et al. Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction: final 1-year results of the REPAIR-AMI trial. *Eur Heart J* 2006; 27(23): 2775–83.
- 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.
- Kostić VS, Marinković J, Svetel M, Stefanova E, Pržedoborski S. The effect of stage of Parkinson's disease at the onset of levodopa therapy on development of motor complications. *Eur J Neurol* 2002; 9(1): 9–14.
- Geraerts M, Kryshchukina O, Debysse Z, Baekelandt V. Concise review: therapeutic strategies for Parkinson disease based on the modulation of adult neurogenesis. *Stem Cells* 2007; 25(2): 263–70.
- Fillmore HL, Holloway KL, Gillies GT. Cell replacement efforts to repair neuronal injury: a potential paradigm for the treatment of Parkinson's disease. *NeuroRehabilitation* 2005; 20(3): 233–42.
- Lindvall O, Rehncrona S, Brundin P, Gustavii B, Astedt B, Widner H, et al. Human fetal dopamine neurons grafted into the striatum in two patients with severe Parkinson's disease. A detailed account of methodology and a 6-month follow-up. *Arch Neurol* 1989; 46(6): 615–31.
- Kordover JH, Freeman TB, Snow BJ, Vingerboets FJ, Mufson EJ, Sanberg PR, et al. Neuropathological evidence of graft survival and striatal reinnervation after the transplantation of fetal mesencephalic tissue in a patient with Parkinson's disease. *N Engl J Med* 1995; 332(17): 1118–24.
- Picini P, Brooks DJ, Björklund A, Gunn RN, Grasby PM, Rimoldi O, et al. Dopamine release from nigral transplants visualized *in vivo* in a Parkinson's patient. *Nat Neurosci* 1999; 2(12): 1137–40.
- Lindvall O, Kokaia Z. Stem cells for the treatment of neurological disorders. *Nature* 2006; 441(7097): 1094–6.
- Freed CR, Greene PE, Breeze RE, Tsai WY, DuMouchel W, Kao R, et al. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2001; 344(10): 710–9.
- Olanow CW, Goetz CG, Kordover JH, Stoessl AJ, Sossi V, Brin MF, et al. A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003; 54(3): 403–14.
- Picini P, Pavese N, Hagell P, Reimer J, Björklund A, Oertel WH, et al. Factors affecting the clinical outcome after neural transplantation in Parkinson's disease. *Brain* 2005; 128(Pt 12): 2977–86.
- Carlsson T, Winkler C, Lundblad M, Cenci MA, Björklund A, Kirik D. Graft placement and uneven pattern of reinnervation in the striatum is important for development of graft-induced dyskinesia. *Neurobiol Dis* 2006; 21(3): 657–68.
- Gill SS, Patel NK, Hottel GR, O'Sullivan K, McCarter R, Bunnage M, et al. Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nat Med* 2003; 9(5): 589–95.
- Borta A, Höglinger GU. Dopamine and adult neurogenesis. *J Neurochem* 2007; 100(3): 587–95.

31. Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 2003; 301(5634): 805–9.
32. Höglinger GU, Rizk P, Muriel MP, Duyckaerts C, Oertel WH, Caille I, et al. Dopamine depletion impairs precursor cell proliferation in Parkinson disease. *Nat Neurosci* 2004; 7(7): 726–35.
33. Lie DC, Dzięczapolski G, Willboite AR, Kaspar BK, Shults CW, Gage FH. The adult substantia nigra contains progenitor cells with neurogenic potential. *J Neurosci* 2002; 22(15): 6639–49.
34. Wang R, Dineley KT, Sweatt JD, Zheng H. Presenilin 1 familial Alzheimer's disease mutation leads to defective associative learning and impaired adult neurogenesis. *Neuroscience* 2004; 126(2): 305–12.
35. Jin K, Peel AL, Mao XO, Xie L, Cottrell BA, Henshall DC, et al. Increased hippocampal neurogenesis in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(1): 343–7.
36. Elder GA, De Gasperi R, Gama Sosa MA. Research update: neurogenesis in adult brain and neuropsychiatric disorders. *Mt Sinai J Med* 2006; 73(7): 931–40.
37. Cholerton B, Gleason CE, Baker LD, Asthana S. Estrogen and Alzheimer's disease: the story so far. *Drugs Aging* 2002; 19(6): 405–27.
38. Wilson RS, Mendes De Leon CF, Barnes LL, Schneider JA, Bienias JL, Evans DA, et al. Participation in cognitively stimulating activities and risk of incident Alzheimer disease. *JAMA* 2002; 287(6): 742–8.
39. Hodges H, Veizovic T, Bray N, French SJ, Rashid TP, Chadwick A, et al. Conditionally immortal neuroepithelial stem cell grafts reverse age-associated memory impairments in rats. *Neuroscience* 2000; 101(4): 945–55.
40. Malberg JE. Implications of adult hippocampal neurogenesis in antidepressant action. *J Psychiatry Neurosci* 2004; 29(3): 196–205.
41. Fischer W, Wictorin K, Björklund A, Williams LR, Varon S, Gage FH. Amelioration of cholinergic neuron atrophy and spatial memory impairment in aged rats by nerve growth factor. *Nature* 1987; 329(6134): 65–8.
42. Tuszyński MH, Thal L, Pay M, Salmon DP, U HS, Bakay R, et al. A phase 1 clinical trial of nerve growth factor gene therapy for Alzheimer disease. *Nat Med* 2005; 11(5): 551–5.
43. Maler JM, Spitzer P, Lewczuk P, Kornhuber J, Herrmann M, Wiltfang J. Decreased circulating CD34+ stem cells in early Alzheimer's disease: Evidence for a deficient hematopoietic brain support? *Mol Psychiatry* 2006; 11(12): 1113–5.
44. Cogle CR, Yachnis AT, Laywell ED, Zander DS, Wingard JR, Steindler DA, et al. Bone marrow transdifferentiation in brain after transplantation: a retrospective study. *Lancet* 2004; 363(9419): 1432–7.
45. Silani V, Cona L, Corbo M, Ciammola A, Polli E. Stem-cell therapy for amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet* 2004; 364(9429): 200–2.
46. Clement AM, Nguyen MD, Roberts EA, Garcia ML, Boillée S, Rule M, et al. Wild-type nonneuronal cells extend survival of SOD1 mutant motor neurons in ALS mice. *Science* 2003; 302(5642): 113–7.
47. Ende N, Weinstein F, Chen R, Ende M. Human umbilical cord blood effect on sod mice (amyotrophic lateral sclerosis). *Life Sci* 2000; 67(1): 53–9.
48. Corti S, Locatelli F, Papadimitriou D, Del Bo R, Nizzardo M, Nardi M, et al. Neural stem cells LewisX+ CXCR4+ modify disease progression in an amyotrophic lateral sclerosis model. *Brain* 2007; 130(Pt 5): 1289–305.
49. Garbuzova-Davis S, Willing AE, Zigova T, Saporta S, Justen EB, Lane JC, et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood cells in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis: distribution, migration, and differentiation. *J Hematother Stem Cell Res* 2003; 12(3): 255–70.
50. Janson CG, Ramesh TM, During MJ, Leone P, Heywood J. Human intrathecal transplantation of peripheral blood stem cells in amyotrophic lateral sclerosis. *J Hematother Stem Cell Res* 2001; 10(6): 913–5.
51. Mazzini L, Fagioli F, Boccaletti R, Mareschi K, Oliveri G, Olivieri C, et al. Stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis: a methodological approach in humans. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2003; 4(3): 158–61.
52. Mazzini L, Mareschi K, Ferrero I, Vassallo E, Oliveri G, Boccaletti R, et al. Autologous mesenchymal stem cells: clinical applications in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Res* 2006; 28(5): 523–6.
53. Chi L, Ke Y, Luo C, Li B, Gozal D, Kalyanaraman B, et al. Motor neuron degeneration promotes neural progenitor cell proliferation, migration, and neurogenesis in the spinal cords of amyotrophic lateral sclerosis mice. *Stem Cells* 2006; 24(1): 34–43.
54. Westerlund U, Moe MC, Varghese M, Berg-Johnsen J, Ohlsson M, Langmoen LA, et al. Stem cells from the adult human brain develop into functional neurons in culture. *Exp Cell Res* 2003; 289(2): 378–83.
55. Svendsen CN, Langston JW. Stem cells for Parkinson disease and ALS: replacement or protection? *Nat Med* 2004; 10(3): 224–5.
56. Syková E, Jendelová P. Magnetic resonance tracking of transplanted stem cells in rat brain and spinal cord. *Neurodegener Dis* 2006; 3(1–2): 62–7.
57. McDonald JW, Liu XZ, Qu Y, Liu S, Mickey SK, Turetsky D, et al. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nat Med* 1999; 5(12): 1410–2.
58. Cummings BJ, Uchida N, Tamaki SJ, Salazar DL, Hooshmand M, Summers R, et al. Human neural stem cells differentiate and promote locomotor recovery in spinal cord-injured mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(39): 14069–74.
59. Ogawa Y, Sawamoto K, Miyata T, Miyao S, Watanabe M, Nakamura M, et al. Transplantation of in vitro-expanded fetal neural progenitor cells results in neurogenesis and functional recovery after spinal cord contusion injury in adult rats. *J Neurosci Res* 2002; 69(6): 925–33.
60. Hofstetter CP, Holmström NA, Lilja JA, Schweinhardt P, Hao J, Spenger C, et al. Allodynia limits the usefulness of intraspinal neural stem cell grafts; directed differentiation improves outcome. *Nat Neurosci* 2005; 8(3): 346–53.
61. Moalem G, Leibowitz-Amit R, Yoles E, Mor F, Cohen IR, Schwartz M. Autoimmune T cells protect neurons from secondary degeneration after central nervous system axotomy. *Nat Med* 1999; 5(1): 49–55.
62. Hauben E, Butovsky O, Nevo U, Yoles E, Moalem G, Agranov E, et al. Passive or active immunization with myelin basic protein promotes recovery from spinal cord contusion. *J Neurosci* 2000; 20(17): 6421–30.
63. Moviglia GA, Varela G, Gaeta CA, Brizuela JA, Bastos F, Saslavsky J. Autoreactive T cells induce in vitro BM mesenchymal stem cell transdifferentiation to neural stem cells. *Cytotherapy* 2006; 8(3): 196–201.
64. Moviglia GA, Fernández Viña R, Brizuela JA, Saslavsky J, Vrsalovic F, Varela G, et al. Combined protocol of cell therapy for chronic spinal cord injury. Report on the electrical and functional recovery of two patients. *Cytotherapy* 2006; 8(3): 202–9.
65. Richter MW, Roskams AJ. Olfactory ensheathing cell transplantation following spinal cord injury: hype or hope? *Exp Neurol* 2008; 209(2): 353–67.
66. Lima C, Pratas-Vital J, Escada P, Hasse-Ferreira A, Capucho C, Peduzzi JD. Olfactory mucosa autografts in human spinal cord injury: a pilot clinical study. *J Spinal Cord Med* 2006; 29(3): 191–203.
67. Yang H, Lu P, McKay HM, Bernot T, Keirstead H, Steward O, et al. Endogenous neurogenesis replaces oligodendrocytes and as-



- trocytes after primate spinal cord injury. *J Neurosci* 2006; 26(8): 2157–66.
68. *Johansson BB*. Regeneration and plasticity in the brain and spinal cord. *J Cereb Blood Flow Metab* 2007; 27(8): 1417–30.
  69. *Dorđević D, Raičević R, Marić D, Jovičić A*. Multiple sclerosis – a new approach to pathophysiology, diagnosis and therapy. *Vojnosanit Pregl* 1995; 52(4): 377–87. (Serbian)
  70. *Dinčić E, Živković M, Stanković A, Obradović D, Alavantić D, Kostić V*, et al. Association of polymorphisms in CTLA-4, IL-1ra and IL-1beta genes with multiple sclerosis in Serbian population. *J Neuroimmunol* 2006; 177(1–2): 146–50.
  71. *Tončev G, Miličić B, Tončev S, Samardžić G*. Serum uric acid levels in multiple sclerosis patients correlate with activity of disease and blood-brain barrier dysfunction. *Eur J Neurol* 2002; 9(3): 221–6.
  72. *Obradović D, Dinčić E, Raičević R*. Modern therapy of multiple sclerosis evidence based. In: *Proceedings – Main Lectures. Mihačević J*, editor. Proceedings of the introductory lectures on the major topics of the 12th Congress of Neurologists of Serbia and Montenegro with foreign participants; 2004 Oct 6–10; Novi Sad, Serbia. Novi Sad: 2004. p. 61–8. (Serbian)
  73. *Fassas A, Anagnostopoulos A, Kazis A, Kapinas K, Sakellari I, Kimiskidis V*, et al. Peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of progressive multiple sclerosis: first results of a pilot study. *Bone Marrow Transplant* 1997; 20(8): 631–8.
  74. *Freedman MS*. Bone marrow transplantation: does it stop MS progression? *J Neurol Sci* 2007; 259(1–2): 85–9.
  75. *Burt RK, Traynor AE, Cohen B, Karlin KH, Davis FA, Stefoski D*, et al. T cell-depleted autologous hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis: report on the first three patients. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21(6): 537–41.
  76. *Saiž A, Carreras E, Berenguer J, Yagüe J, Martínez C, Marín P*, et al. MRI and CSF oligoclonal bands after autologous hematopoietic stem cell transplantation in MS. *Neurology* 2001; 56(8): 1084–9.
  77. *Mancardi GL, Saccardi R, Filippi M, Gualandi F, Murialdo A, Inglese M*, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation suppresses Gd-enhanced MRI activity in MS. *Neurology* 2001; 57(1): 62–8.
  78. *Comi G, Kappos L, Clanet M, Ebers G, Fassas A, Fazekas F*, et al. Guidelines for autologous blood and marrow stem cell transplantation in multiple sclerosis: a consensus report written on behalf of the European Group for Blood and Marrow Transplantation and the European Charcot Foundation. *BMT-MS Study Group. J Neurol* 2000; 247(5): 376–82.
  79. *Fassas A, Kimiskidis VK*. Stem cell transplantation for multiple sclerosis: what is the evidence? *Blood Rev* 2003; 17(4): 233–40.
  80. *Scolding N, Marks D, Rice C*. Autologous mesenchymal bone marrow stem cells: practical considerations. *J Neurol Sci* 2008; 265(1–2): 111–5.
  81. *Fassas A, Passweg JR, Anagnostopoulos A, Kazis A, Kozak T, Havrdova E*, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis. A retrospective multicenter study. *J Neurol* 2002; 249(8): 1088–97.
  82. *Saccardi R, Kozak T, Bocelli-Tyndall C, Fassas A, Kazis A, Havrdova E*, et al. Autologous stem cell transplantation for progressive multiple sclerosis: update of the European Group for Blood and Marrow Transplantation autoimmune diseases working party database. *Mult Scler* 2006; 12(6): 814–23.
  83. *Duncan ID*. Replacing cells in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2008; 265(1–2): 89–92.
  84. *Patrikios P, Stadelmann C, Kutzelnigg A, Rauschkka H, Schmidbauer M, Laursen H*, et al. Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients. *Brain* 2006; 129(Pt 12): 3165–72.
  85. *Franklin RJ*. Why does remyelination fail in multiple sclerosis? *Nat Rev Neurosci* 2002; 3(9): 705–14.
  86. *Zhao C, Zawadzka M, Roulois AJ, Bruce CC, Franklin RJ*. Promoting remyelination in multiple sclerosis by endogenous adult neural stem/precursor cells: defining cellular targets. *J Neurol Sci* 2008; 265(1–2): 12–6.
  87. *Pluchino S, Zanotti L, Rossi B, Brambilla E, Ottoboni L, Salani G*, et al. Neurosphere-derived multipotent precursors promote neuroprotection by an immunomodulatory mechanism. *Nature* 2005; 436(7048): 266–71.
  88. *Windrem MS, Nunes MC, Rasbbaum WK, Schwartz TH, Goodman RA, McKhann G 2nd*, et al. Fetal and adult human oligodendrocyte progenitor cell isolates myelinate the congenitally dysmyelinated brain. *Nat Med* 2004; 10(1): 93–7.
  89. *Giordano A, Galderisi U, Marino IR*. From the laboratory bench to the patient's bedside: an update on clinical trials with mesenchymal stem cells. *J Cell Physiol* 2007; 211(1): 27–35.
  90. *Karussis D, Kassis I, Kurkalli BG, Slavin S*. Immunomodulation and neuroprotection with mesenchymal bone marrow stem cells (MSCs): a proposed treatment for multiple sclerosis and other neuroimmunological/neurodegenerative diseases. *J Neurol Sci* 2008; 265(1–2): 131–5.
  91. *Zhang J, Li Y, Chen J, Cui Y, Lu M, Elias SB*, et al. Human bone marrow stromal cell treatment improves neurological functional recovery in EAE mice. *Exp Neurol* 2005; 195(1): 16–26.
  92. *Spaggiari GM, Capobianco A, Becchetti S, Mingari MC, Moretta L*. Mesenchymal stem cell-natural killer cell interactions: evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell proliferation. *Blood* 2006; 107(4): 1484–90.
  93. *Mohyeddin Bonab M, Yazdanbakhsh S, Lotfi J, Alimoghaddom K, Talebian F, Hooshmand F*, et al. Does mesenchymal stem cell therapy help multiple sclerosis patients? Report of a pilot study. *Iran J Immunol* 2007; 4(1): 50–7.
  94. *Papadaki HA, Tsagournisakis M, Mastorodemos V, Pontikoglou C, Damianaki A, Pyrovolaki K*, et al. Normal bone marrow hematopoietic stem cell reserves and normal stromal cell function support the use of autologous stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36(12): 1053–63.
  95. *Pluchino S, Martino G*. The therapeutic plasticity of neural stem/precursor cells in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2008; 265(1–2): 105–10.

Rad je primljen 5. II 2008.



## Povrede retrohepatičkog dela donje šuplje vene i jetre

### Injuries of the retrohepatic inferior vena cava and the liver

Radenko Koprivica\*, Radiša Cvijović\*, Ranka Koprivica†, Radmila Smiljanić‡

Zdravstveni Centar Užice, \*Hirurška služba, †Radiološka služba,

‡Služba transfuziologije, Užice

#### Apstrakt

**Uvod.** Tupe povrede retrohepatičkog dela donje šuplje vene (*vena cava inferior* – VCI) i jetre imaju mortalitet od 71–78%. U radu je prikazano zbrinjavanje bolesnika sa kombinovanim povredom retrohepatičkog dela donje šuplje vene, povredama jetre, kraniocerebralnim povredama i povredama toraksa zadobijenim u saobraćajnoj nesreći. **Prikaz bolesnika.** Muškarac, star 20 godina, povređen je u saobraćajnom udesu. Na prijemu, 20 minuta posle povrede, bolesnik je bio komatozan i hipotenzivan. Punkcijom abdomena dobijen je krvav sadržaj. Povređeni je hitno operisan, uz upotrebu *cell saver* aparata. U abdomenu je nađeno oko dva litra krvi i veliki retroperitoneumski hematoma. Učinjena je manualna kompresija jetre, perihepatička tamponada, kompletna vaskularna ekskluzija i mobilizacija desnog lobusa jetre. Zbog izrazite hemodinamske nestabilnosti aorta je klemovana supracelijačno. Eksplozacijom su uočeni višestruki rascepi retrohepatičkog dela donje šuplje vene, desne hepatičke vene i njena avulzija od ušća. Povreda VII i VIII segmenta jetre pripadala je grupi V po Moore klasifikaciji. Nađen je i neekspanzivni hematoma hepatoduodenumskog ligamenta i povreda II i III segmenta jetre grupe II/III po Mooreu. Učinjena je venorafija donje šuplje vene u području ušća desne hepatičke vene čiji je deo iskorišćen kao autologni venski pač. Distalna lezija donje šuplje vene zbrinuta je direktnom venorafijom. Vreme klemovanja donje šuplje vene i aorte trajalo je 41 minut. Ultraharmoničnim skalpelom učinjen je resekcioni debridman destruisanog tkiva VII i VIII segmenta jetre. Hepatoduodenumski ligament bio je deklemovan nakon 65 minuta. Na resekcionu površinu jetre aplikovan je fibrinski lepak. Bilo je autotrasfundovano 3,2 l krvi, uz pet jedinica deplazmatisanih eritrocita, šest doza sveže smrznute plazme, 13 jedinica koncentrovanih trombocita i 15 jedinica krioprecipitata. Zbog stečene koagulopatije ordiniran je rekombinantni faktor VIIa. Obostrano je učinjena drenaža toraksa. Dijagnostikovane su manje bilateralne kontuzione lezije frontalnog režnja mozga. Bolesnik se uspešno oporavio i nakon tri nedelje otpušten je iz bolnice. **Zaključak.** Udružene povrede VCI i jetre spadaju u najkompleksnije vaskularne traume i predstavljaju izazov za kompletan medicinski tim koji učestvuje u njihovom zbrinjavanju. U prikazanom slučaju bolesnik je bio brzo transportovan do bolnice, hitno operisan uz primenu savremene anesteziološke, transfuziološke i vaskularne hirurške doktrine što je rezultovalo povoljnim ishodom lečenja bez udaljenih komplikacija.

#### Ključne reči:

jetra, povrede; v. cava inferior; povrede, multiple; hirurgija digestivnog sistema, procedure.

#### Abstract

**Background.** Injuries of the retrohepatic inferior vena cava, and the liver have mortality rate up to 71–78%. We presented a patient with combined injury of the retrohepatic inferior vena cava, liver, craniocerebral and thoracic traumas, inflicted in a traffic accident. **Case report.** Man, 20 years old has been injured in a traffic accident. At admission, 20 minutes after the injury, the patient was comatose and hypotensive. Bloody content was obtained by abdominal tracer. The patient underwent emergent laparotomy, utilizing trifurcated incision and cell saver device. Abdominal exploration revealed two litres of free blood and massive retroperitoneal hematoma. Manual compression of the liver was done, as well as perihepatic packing, complete hepatic vascular exclusion and mobilization of the right liver lobe. Due to impressive chemodynamic instability supraceliac aortic clamping was performed. Upon exposure of the retrohepatic inferior vena cava and right liver lobe, multiple lacerations of retrohepatic inferior vena cava and right hepatic vein, and right hepatic vein avulsion were found. We also identified an injury of VII and VIII segments of the liver (grade V according to the Moore's classification). Nonexpansive hepatoduodenal ligament hematoma and the injury of II and III segments of the liver group II/III according to Moore were found. Venorrhaphy of the inferior vena cava was done in the area of circumference of the right hepatic vein, a portion of which served as autologous vein patch. Continuous prolene 3/0 venorrhaphy of the distal caval laceration was done. Total caval and aorta clamping time of the inferior vena cava was 41 minutes. Atypical resection, debridment, of hepatic segments was done by using a harmonic scalpel. Hepatoduodenal ligament was declamped after 65 minutes. Fibrin glue was applied on the resected area of liver. The patient received 3.2 l of autologous blood transfusion with 5 units of packed red blood cells, 6 units of fresh frozen plasma, 13 units of concentrated thrombocytes and 15 units of cryoprecipitates. Due to coagulopathy, factor rVIIa was administered. Bilateral toracal drainage was done. Small bilateral contusions of the frontal part of the brain were noticed but the patient successfully recovered and was dismissed after three weeks. **Conclusion.** Combined injuries of the inferior vena cava and the liver befall into the most complex vascular traumas, thus representing a challenge for any complete medical team to manage them. The patient presented in our study was urgently transported to the hospital, immediately operated on applying modern doctrines of anesthesiology, transfusiology and vascular surgery that, all together, resulted into favorable treatment outcome with no distant complications.

#### Key words:

liver; vena cava, inferior; wounds and injuries; digestive system surgical procedures.

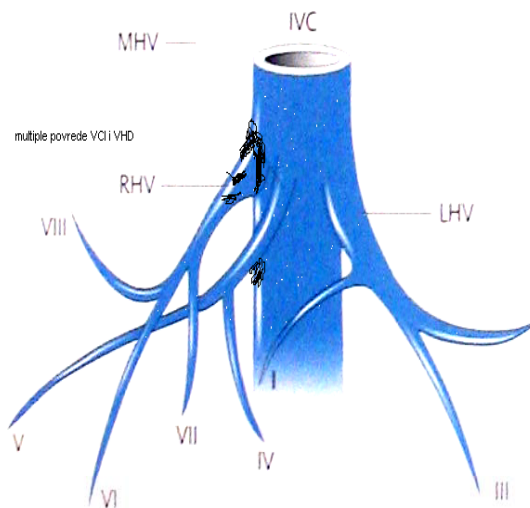
## Uvod

Donja šuplja vena (*vena cava inferior* – VCI) najčešće je povređivana retroperitoneumska vaskularna struktura<sup>1</sup>. Kombinovane povrede retrohepatičkog dela VCI i jetre kod tupe traume abdomena sreću se kod 37% slučajeva<sup>1</sup>. Težina i udruženost povreda, teškoće u postavljanju dijagnoze i tretmanu šoka, kao i složenost operativnog lečenja rezultuju mortalitetom od 71–78%<sup>2</sup>. Prediktori preživljavanja nakon povrede su tip povrede, anatomski nivo povrede VCI, trauma skor, hipotenzija, gubitak krvi, slobodna perforacija i udružene povrede organa abdomena, posebno jetre<sup>3</sup>. Prikazali smo zbrinjavanje bolesnika sa kombinovanom povredom retrohepatičkog dela VCI, povredama jetre, kraniocerebralnim povredama i povredama toraksa.

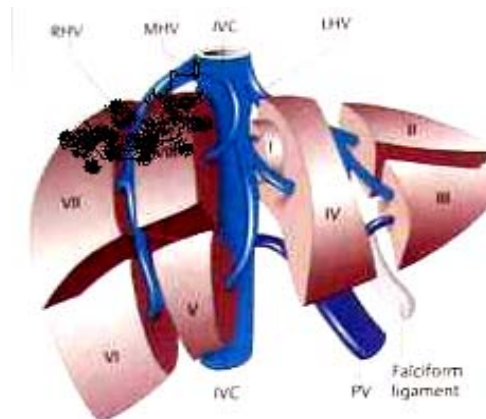
## Prikaz bolesnika

Muškarac, star 20 godina, povređen je u saobraćajnom udesu. Na prijemu, 20 minuta posle povrede, bolesnik je bio komatozan, *Glasgow coma scale* (GCS) 8, hipotenzivan, sistolni krvni pritisak bio je oko 70 mmHg. Inspekcijom je bio vidljiv supkutani hematoma u desnom grudno-trbušnom regionu i povrede mekih tkiva pogravnine i lica. Odmah na prijemu bile su preduzete mere intenzivne reanimacije. Punkcijom abdomena dobijen je krvav sadržaj. Nepunih 20 min po prijemu, bolesnik je uveden u operacionu salu. Abdomen je otvoren mercedes laparotomijom. Tokom operacije korišćen je aparat za intraoperativno spašavanje krvi (*cell saver*). U abdomenu je nađeno oko 2 l krvi, veliki retroperitoneumski hematoma i parenhimska destrukcija VII i VIII segmenta jetre. Bilo je prisutno vensko krvarenje suprahepatičko i sa bočne strane jetre. Brzo je izvedena manuelna kompresija jetre i perihepatička tamponada, aspiracija krvi i koherizacija duodenuma što je omogućilo klemovanje infrahepatičke VCI i hepatoduodenumskog ligamenta. Nakon presecanja desnog triangulusnog, koronarnog i falciformnog ligamenta klemovan je suprahepatički deo VCI. Tokom manevra kompletne vaskularne ekskluzije jetre krvarenje je bilo izrazito jako. Zbog pada krvnog pritiska na vrednost 40 mmHg i pretećeg srčanog zastoja klemovana je aorta supracelijačno. Nakon toga bolesnik je hemodinamski stabilizovan. Eksploracijom su konstatovani rascepi retrohepatičkog dela VCI i desne hepaticne vene, u smeru kraniokaudalno na VCI u dužini od 2 cm i avulzija desne hepaticne vene u više od 60% cirkumferencije, te povreda VCI distalno od predhodne u dužini od 1 cm. Proksimalni deo desne hepaticne vene bio je sa multiprim laceracijama. Nađene su i lezije jetre VII i VIII segmenta, grupe V po Moore klasifikaciji, uz neekspanzivni hematoma hepatoduodenumskog ligamenta i povrede II i III segmenta grupe II/III po Moore klasifikaciji. Učinjena je venorafija VCI prolenom 3,0 kontinuiranim šavom u području ušća desne hepaticke vene čiji je dvostruko dupliran deo iskorišćen kao autologni venski pač. Distalna lezija VCI zbrinuta je direktnom venorafijom prolenom 3,0 produžnim šavom. Ligiran je i reseciran proksimalni segment desne hepaticne vene. Skinute su klemo sa aorte, supra i infrahepatičke VCI. Vreme klemovanja VCI bilo je 41 minut. Nismo mogli

selektivno klemovati desnu portnu trijadu zbog hematoma hepatoduodenumskog ligamenta, hitnosti operacije i mogućnosti lezije u *porti hepatis*, već smo i dalje koristili kompletno klemovanje hepatoduodenumskog ligamenta uz tranzitno deklemovanje u trajanju od 5 minuta. Ultraharmoničnim skalpelom učinjena je atipična resekcija (resekcioni debridman destruisanog tkiva) VII i VIII segmenta jetre. Konstatovani smo postojanje razvijene donje desne hepaticne vene. Zbog postojanja iste nije bilo standardnih 8–12 malih retrohepatičkih vena koje se direktno ulivaju u VCI, što je olakšalo hemostazu. Vreme totalne vaskularne ekskluzije jetre iznosilo je 65 minuta. Zbog masivnog krvarenja, koje je dovelo do stečene koagulopatije, i pored učinjene hirurške hemostaze, imali smo prisustvo venskog, difuznog krvarenja. Uz nadoknadu krvi i komponenti krvi, ordiniran je i rekombinantni faktor VIIa (*Novo Seven*<sup>®</sup>). Dve doze fibrinskog lepka i *surgical* aplikovani su na mesto resekcione površine jetre i VCI. Desetak minuta potom hemostaza je bila zadovoljavajuća. Tokom operacije vraćeno je 3,2 l autologne krvi, uz transfuziju pet jedinica deplazmatisanih eritrocita, po šest doza sveže smrznute plazme, 15 jedinica krioprecipitata i 13 jedinica koncentrovanih trombocita. Na kraju operacije učinjena je desna torakalna drenaža i dobijeno 550 ml hemoragičnog sadržaja (slike 1 i 2).

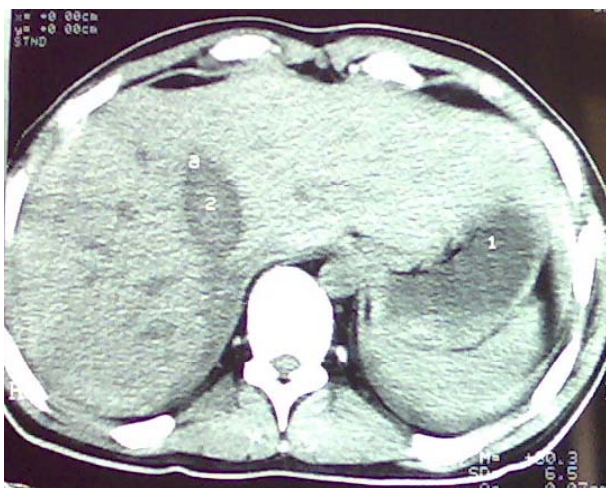


Sl. 1 – Shema povrede donje šuplje vene



Sl. 2 – Shema povrede VII/VIII segmenta jetre

Povrede toraksa bile su hematotoraks desnog plućnog krila i pleuralni izliv levo. Na kontrolnom radiografskom snimku grudnog koša registrovan je pleuralni izliv i sa leve strane, koji je dreniran i dobijeno je oko 700 ml bistrog sadržaja. Kranio cerebralno su postojale manje obostrane kontuzije frontalnog režnja mozga koje su konzervativno tretirane. Postoperativno ordiniran je niskomolekulski heparin u profilaktičkoj dozi. Bolesnik se probudio iz kome šestog postoperativnog dana, a dan kasnije je ekstubiran. Od komplikacija imao je prolaznu febrilnost do 38,5 °C i hematoma veličine 2,5 cm na mestu suturne linije VCI. Dilatacija desnog srca bila je posledica kontuzije i konzervativno je sanirana. Kontrolni pregledi kompjuterizovanom tomografijom (KT) i kolor dopler ultrasonografijom (CDS) pokazali su regresiju opisanih promena. Nakon tri nedelje lečenja bolesnik je otpušten iz bolnice. Po otpustu je ordinirana antiagregaciona terapija u trajanju od šest meseci. Redovni kontrolni pregledi bili su uredni, bez stenoze i tromboze VCI (slika 3).



Sl. 3 – Postoperativni nalaz kompjuterizovane tomografije abdomena

### Diskusija

Učestalost vaskularnih povreda nakon tupe traume abdomena kod operisanih bolesnika je oko 3%<sup>1</sup>. Asensio i sar.<sup>1</sup> navode arterijske povrede kod 49%, a venske kod 51% vaskularnih povreda abdomena. Najčešće povređivana vaskularna struktura je VCI kod 25%, aorta 21%, ilijačne arterije 20%, ilijačne vene 17%, gornja mezenterična vena 11% i gornja mezenterična arterija kod 10% bolesnika. Penetrantne povrede abdomena kod oko 70–80% slučajeva uzrok su povrede VCI, a tupa trauma odgovorna je za 13–28% povreda VCI<sup>2,3</sup>. Uz povredu VCI najčešće povređena je jetra (37,2%), tanka creva (26,4%), želudac (15,6%), pankreas (12,7%) i duodenum (10%). Zona konfulensa VCI povređena je kod 7%, infrarenalni i renalni segment kod 52%, suprarenalni kod 21%, suprahepatični i retrohepatični deo kod 20%<sup>2</sup>. Polovina bolesnika sa povredom VCI umire pre ukazane medicinske pomoći. Kod onih koji stignu u bolnicu mortalitet se kreće oko 52–57%<sup>2-4</sup>. Tupa trauma VCI ima znatno veću smrtnost od penetrantne traume (63% vs.

48%)<sup>5,6</sup>. Generalno, povrede koje su proksimalnije lokalizovane bliže srcu udružene su sa većim mortalitetom (suprahepatično 100%; retrohepatično 71–78%; suprarenalno 33–68%; infrarenalno 33%)<sup>3,6</sup>.

Bolesnici u stanju hemoragijskog šoka (arterijski pritisak < 80 mmHg) imaju znatno veći mortalitet od hemodinamski stabilnih bolesnika (76% vs. 30%). Na prijemu, preko 50% bolesnika u stanju je hemoragijskog šoka, što je povezano sa nekontrolisanim krvarenjem u abdomenu ili razvojem retroperitoneumskog hematoma i posledične prolazne stabilizacije hemodinamike<sup>6,7</sup>. Preoperativna primena rastvora elektrolita i krvi je u korelaciji sa preživljavanjem (preživeli-stradali: krv 16±4 vs. 23±4 jedinice; elektroliti 8,6±1,4 vs. 10,6±1,4)<sup>5</sup>.

Prediktori preživljavanja nakon povrede VCI su tupa trauma abdomena, slobodna perforacija, lokalizacija povrede, kombinovane povrede, hipotenzija, gubitak krvi. Huerta i sar.<sup>4</sup> navode kao važne prediktore mortaliteta lokalizaciju povrede VCI i GCS, s tim da je nezavisan prediktor mortaliteta jedino GCS. Gubitak krvi pre, intra- i postoperativno vodeći je uzrok smrti kod ovih povreda<sup>3,4,6</sup>.

Mercedes laparotomija optimalan je operativni pristup. Obezbeđuje dobru ekspoziciju abdomena i omogućava mobilizaciju jetre, ascendentnog kolona, duodenuma i pristup svim segmentima VCI<sup>8,9</sup>. Manuelna i tranzitorna perihepatička tamponada, brza mobilizacija desnog lobusa jetre i kompletna vaskularna ekskluzija su od izuzetne važnosti<sup>8,10,11</sup>. Perihepatička tamponada često se primenjuje, mada kod ekstenzivnih povreda jetre tipa Moore V i VI nije dovoljna<sup>8,10</sup>. Medijalna sternotomija uz atriokavalni, retrohepatički intrakavalni, aksilofemoralni šant procedura je koja se preporučuje<sup>11,12</sup>. Khaneja i sar.<sup>13</sup> i Demetriades<sup>14</sup> izveštavaju o znatno većem mortalitetu bolesnika tretiranih atriokavalnim šantom u odnosu na totalnu vaskularnu izolaciju jetre i VCI. Razlozi su sledeći: produženo krvarenje za vreme sternotomije i insercije kanile, tehnički problemi prilikom insercije, kardiorespiratorne komplikacije. Radević<sup>9</sup> preporučuje totalnu vaskularnu ekskluziju uz portokavalnoaksijalni bajpas (kraće vreme reparacije i insercije, održava hemodinamiku, nema splanhične staze, bez sternotomije ili torakotomije). Totalna vaskularna ekskluzija jetre ograničena je negativnim efektom tople ishemije jetre, splanhičkom stazom i teškoćama u održavanju adekvatnog krvnog pritiska<sup>9,10,13</sup>. Preporučuje se supracelijska klema aorte radi regulacija hemodinamike, minimiziranja visceralne staze i preveniranja srčanog zastoja<sup>7,9,13,14</sup>.

Metode izbora u rekonstrukciji povredene VCI su primarna venorafija, pač angioplastika (autovenskim i sintetskim materijalom), rekonstrukcija PTFE graftom i ligiranje infrarenalnog segmenta VCI<sup>6,13,14</sup>. Erzurum i sar.<sup>15</sup> referišu reparaciju intraoperativno povredene VCI stent endograftom. Venorafija je ranije bila kritikovana zbog potencijalne stenoze, tromboze i embolizma<sup>12,16</sup>. Carr i sar.<sup>16</sup> i Kimoto i sar.<sup>17</sup> navode da je direktna venorafija praćena niskim procentom stenoze, tromboze VCI i embolije. Primarna venorafija izvodljiva je kod 83–100%, graft rekonstrukcija do 3,8%, ligatura VCI 6–10%<sup>2,6,16,17</sup>. Fatalni pulmonarni embolizam je specifičan problem bolesnika starijih od 50 godina<sup>17</sup>.

Kod povrede jetrenog parenhima atipične resekcije imaju prednost nad anatomskim resekcijama<sup>8-10</sup>. Nakon ligatione desne hepatične vene drenaža zadnjeg i delom prednjeg desnog sektora jetre omogućena je postojanjem razvijene donje desne hepatične vene i intrahepatičkih venskih anastomoza. Jaka donja desna hepatična vena prečnika većeg od 5 mm postoji kod 23% slučajeva<sup>18</sup>. Anastomoze između hepatičkih vena postoje kod 78% bolesnika i tri puta su češće kada postoji morfološka varijacija gornje desne hepatične vene<sup>8, 10, 18</sup>.

### Zaključak

Udružene povrede VCI i jetre spadaju u najkompleksnije vaskularne traume i predstavljaju izazov za kompletan medicinski tim koji učestvuje u njihovom zbrinjavanju. U prezentovanom slučaju bolesnik je bio brzo transportovan do bolnice, hitno operisan uz primenu savremene anesteziološke, transfuziološke i vaskularne hirurške doktrine što je rezultovalo povoljnim ishodom lečenja bez udaljenih komplikacija.

### L I T E R A T U R A

1. *Asensio JA, Chabwan S, Hanpeter D, Demetriades D, Forno W, Gambaro E, et al.* Operative management and outcome of 302 abdominal vascular injuries. *Am J Surg* 2000; 180(6): 528–33.
2. *Baeshko AA, Klimovich VV, Voevoda MT, Orlovskii InN, Gornostai PV, Iushkevich VA.* Injury of inferior vena cava. *Khirurgiia (Mosk)* 2006; (4): 12–9. (Russian)
3. *Kuehne J, Frankbouse J, Modrall G, Golshani S, Aziz I, Demetriades D, et al.* Determinants of survival after inferior vena cava trauma. *Am Surg* 1999; 65(10): 976–81.
4. *Huerta S, Bui TD, Nguyen TH, Banimabd FN, Porral D, Dolich MO.* Predictors of mortality and management of patients with traumatic inferior vena cava injuries. *Am Surg* 2006; 72(4): 290–6.
5. *Ombrellaro MP, Freeman MB, Stevens SL, Diamond DL, Goldman MH.* Predictors of survival after inferior vena cava injuries. *Am Surg* 1997; 63(2): 178–83.
6. *Rosengart MR, Smith DR, Melton SM, May AK, Rue LW 3rd.* Prognostic factors in patients with inferior vena cava injuries. *Am Surg* 1999; 65(9): 849–55.
7. *Buckman RF, Pathak AS, Badellino MM, Bradley KM.* Injuries of the inferior vena cava. *Surg Clin North Am* 2001; 81(6): 1431–47.
8. *Kasai T, Kobayashi K.* Searching for the best operative modality for severe hepatic injuries. *Surg Gynecol Obstet* 1993; 177(6): 551–5.
9. *Radenić B.* Liver trauma. In: *Dragović M, Todorčić M, editors.* Urgent and war surgery. Belgrade: Velarta; 1998. p. 561–70. (Serbian)
10. *Ochsner MG, Jaffin JH, Golocovsky M, Jones RC.* Major hepatic trauma. *Surg Clin North Am* 1993; 73(2): 337–52.
11. *Buckman RF Jr, Miraliakbari R, Badellino MM.* Juxtahepatic venous injuries: a critical review of reported management strategies. *J Trauma* 2000; 48(5): 978–84.
12. *Bijl WL, Moore EE, Franciose RJ.* Venovenous bypass and hepatic vascular isolation as adjuncts in the repair of destructive wounds to the retrohepatic inferior vena cava. *J Trauma* 1998; 45(2): 400–3.
13. *Khaneja SC, Pizzi WF, Barie PS, Ahmed N.* Management of penetrating juxtahepatic inferior vena cava injuries under total vascular occlusion. *J Am Coll Surg* 1997; 184(5): 469–74.
14. *Demetriades D.* Abdominal vascular injuries. In: *Rutherford R, editor.* Vascular surgery. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p. 1028–44.
15. *Erzurum VZ, Shoup M, Borge M, Kalman PG, Rodriguez H, Silver GM.* Inferior vena cava endograft to control surgically inaccessible hemorrhage. *J Vasc Surg* 2003; 38(6): 1437–9.
16. *Carr JA, Kralovich KA, Patton JH, Horst HM.* Primary venorrhaphy for traumatic inferior vena cava injuries. *Am Surg* 2001; 67(3): 207–13.
17. *Kimoto T, Kobno H, Uchida M, Yamanoi A, Yamamoto A, Nagasue N, et al.* Inferior vena caval thrombosis after traumatic liver injury. *HPB Surg* 1998; 11(2): 111–6.
18. *Gadžević EM, Rannik D, Stanislavljenić D, Trotovšek B.* Venous drainage of the dorsal sector of the liver: differences between segments I and IX. A study on corrosion casts of the human liver. *Surg Radiol Anat* 1997; 19(2): 79–83.

Rad je primljen 13. XII 2007.



## ***Acrokeratosis paraneoplastica* Bazex syndrome associated with esophageal squamocellular carcinoma**

### ***Acrokeratosis paraneoplastica* Bazex sindrom udružen sa skvamocelularnim karcinomom jednjaka**

Ljiljana Medenica\*, Mirjana Gajić-Veljić\*, Dušan Škiljević\*, Predrag Peško†

Clinical Center of Serbia, \*Institute of Dermatology and Venerology,  
†Institute for Digestive Disorders, Center for Esophageal Surgery, Belgrade

#### Abstract

**Background.** *Acrokeratosis paraneoplastica* Bazex (APB) is a very rare disease in the group of obligate paraneoplastic dermatoses, associated mostly with squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract and metastatic cervical lymphadenopathy. The disease is characterized by violaceous erythemosquamous changes on the acral regions. This entity was first reported by Bazex in 1965. About 160 cases have been presented so far. **Case report.** We presented a patient with a three-month history of violaceous erythema, edema, erosions and scaling on the acral regions, elbows and knees and severe nail dystrophy. When the diagnosis was established, he did not have any symptom of internal malignancy. Esophagogastrosocopy revealed ulcerovegetant lesion of the esophagus, while histology showed squamocellular invasive carcinoma. Surgical tumor removal resulted in significant improvement of skin changes in 15 days. Unfortunately, four months later, extensive skin lesions pointed to metastasis of squamous cell carcinoma. **Conclusion.** Skin changes can precede a few years the first manifestations of neoplasia. The course of the disease in our patient proved that APB is a specific marker of underlying malignancy.

#### Key words:

paraneoplastic syndromes; carcinoma, squamous cell, skin diseases; diagnosis, differential.

#### Apstrakt

**Uvod.** *Acrokeratosis paraneoplastica* Bazex (APB) retko je oboljenje iz grupe obligatnih paraneoplazijskih dermatoz. Najčešće, udružen je sa skvamocelularnim karcinomom gornjeg aerodigestivnog trakta ili metastatskom supradijaf- ragmnom adenopatijom. Karakteriše se pojavom lividnih eritemoskvamoznih lezija na akralnim regijama. Ovaj entitet prvi je opisao Bazex 1965. godine, a do sada je prikazano oko 160 slučajeva. **Prikaz bolesnika.** Prikazali smo bolesnika sa tromesečnom pojavom lividnog eritema, edema, erozija i skvame na akralnim regijama, laktovima i kolenima i teške distrofije nokatnih ploča. U trenutku postavljanja dijagnoze bolesnik nije imao simptome maligniteta. Ezofagogastroskopijom uočena je ulcerovegetantna lezija jednjaka. Histološki je potvrđen skvamocelularni invazivni karcinom. Hirurško uklanjanje tumora dovelo je do značajnog poboljšanja kutanih promena za 15 dana. Nažalost, četiri meseca kasnije ekstenzivne kutane promene ukazale su na metastaze skvamocelularnog karcinoma. **Zaključak.** Promene na koži mogu i nekoliko godina prethoditi manifestacijama maligniteta. Slučaj našeg bolesnika potvrđuje da APB predstavlja specifičan marker postojećeg maligniteta.

#### Ključne reči:

paraneoplastički sindromi; karcinom, skvamocelularni; koža, bolesti; dijagnoza, diferencijalna.

#### Introduction

*Acrokeratosis paraneoplastica* Bazex (APB) is a very rare disease in the group of obligate paraneoplastic dermatoses, associated mostly with squamous cell carcinoma of the upper respiratory and upper digestive tract and metastatic cervical lymphadenopathy<sup>1,2</sup>. The disease is characterized by symmetrical psoriasiform lesions on the acral regions, especially on the nose, ears, hands and feet<sup>1,3,4</sup>. The disease is

characterized by the presence of symmetric violaceous erythematous and scaly acral lesions and it has three stages of evolution. In the first stage cutaneous lesions are not precisely defined and usually are located on helices of ear lobes, nose, fingers and nails; associated tumor is usually asymptomatic. In the second stage lesions involve hands and feet, and local symptoms of existing malignancy are showing. In the third stage, if the tumor is not treated, areas of erythema and scale affect elbows, knees and trunk. Skin changes may precede

several months to a few years the first manifestations of underlying malignancy. After the removal of cancer, skin lesions disappear very quickly<sup>2</sup>. Since the malignancy is revealed in a late stage in the majority of cases, the prognosis is mostly poor.

### Case report

A 50-year-old white man was admitted to our Institute with a 3-month history of erythema, edema and scale on the nose, chin, auricles, hands and feet. The changes were followed by intensive itch and pain. When APB was established his general condition was satisfying, he did not have any symptom of internal malignancy.

Physical examination revealed an intensive violaceous erythema, edema, erosions and yellowish crusts on the nose, chin and auricles (Figures 1 and 2). Erythematous plaques covered by nonadherent psoriasiform scale and dark crusts were found in the elbows and knees. Erythematous papules and plaques measuring up to 7 × 6 cm were present in the shoulders, presternal region, and upper arms. Palmar and plantar regions were affected with diffuse dense yellowish hyperkeratosis and fissures and dorsa of the hands had erythema with scale. Perionychium was erythematous, edematous and thickened (Figure 3). The fingernails were yellowish, dystrophic, with subungual hyperkeratosis. Supraclavicular lymph nodes were enlarged.



Fig. 1 – Erythema, edema, erosions and crusts on the chin



Fig. 2 – Edema and erosions on the auricle



Fig. 3 – Erythema with scale on dorsa of the hands, edema of perionychium and nail dystrophy

The patient suffered from psoriasis vulgaris for 30 years and has been treated with topical corticosteroids, keratolytics and psoralen-ultraviolet A (PUVA) therapy. The diagnosis of psoriasis was made on clinical and histological basis.

Except for increased erythrocyte sedimentation rate, cholesterol, triglycerides, lactate dehydrogenase and decreased values of glycemia, other routine laboratory analyses were within normal limits. C-reactive protein, antinuclear antibodies and cryoglobulins were negative. The cytological analysis of sputum performed by direct microscopy did not reveal any acidoresistant bacilli. Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) test was negative. Mycological examinations performed on finger nail plaques as well as perionychium of both hands were negative. Histopathological examinations of the involved skin of the elbow, knee, ear lobe and chin were non-specific. Histology of the skin lesions showed hyperkeratosis, parakeratosis and spongiosis in the epidermis and mixed inflammatory infiltrate in the dermis. There were not elements for psoriasis vulgaris. The chest X-ray was normal. The abdominal sonography was normal, except for a 28 mm cyst in the left kidney. Otorhinolaryngologic, neurologic, urologic, hematologic and endocrinologic investigations showed no abnormalities. Bronchoscopy was normal.

Esophagoscopy revealed ulcerovegetant lesion of the esophageal mucous membrane, at least 2 cm in diameter, localized 30 cm from the teeth. Mild esophageal stricture was noticed. The gastroduodenoscopy disclosed normal gastric and duodenal mucosa. Histology of the ulcerovegetant lesion showed squamocellular invasive carcinoma, histologically defined as nonkeratinizing, moderately differentiated carcinoma with ulcerated surface and evident invasion. The grade of histologic malignancy was G-3, NG-2.

The total tumor removal was recommended as the main therapy. This was done by esophageal resection, subtotal esophagectomy and transmediastinal esophagogastric procedure. According to the tumor node metastases (TNM) classification tumor was in the second stadium. Among 18 lymph nodes, none was affected and there were no evidence of metastasis, lymphoid and venous dissemination (T2 No (0/18) Mx Lo Vo).

Dermatologic therapy consisted of systemic antibiotics and corticosteroids (prednisone 0.5 mg/kg which was slow tapered over a month and discontinued), topical corticosteroids, antibiotics and emollients.

Two weeks after the surgery complete resolution of cutaneous lesions, except for elbow and nail lesions, was noted. Unfortunately, four months after the tumor removal, violaceous erythema, edema, erosions and yellowish crusts appeared on ear lobes, as well as erythema and scale on dorsa of hands. Body weight was reduced by 12 kg comparing to the period before the surgery. The presence of metastasis of esophageal carcinoma was identified. The patient was followed in relevant surgery unit.

## Discussion

*Acrokeratosis paraneoplastica* was first described by Gougerot and Rupp in 1924, but the disease was named after the Bazex who published several cases of APB in French dermatologic journal in 1965<sup>5</sup>.

The disease is rare, belongs to a group of obligate paraneoplastic dermatoses and most frequently is associated with squamous cell carcinoma of upper aerodigestive tract or metastatic cervical lymphadenopathy. Several cases of the association between APB and adenocarcinoma have been published, only two of them were adenocarcinoma of the colon<sup>6-8</sup>. The association of APB with multiple genitourinary tumors, namely adenocarcinoma of the prostate and undifferentiated bladder cancer has been reported<sup>9</sup>. Bazex syndrome has also been described in patients with Hodgkin disease and neuroendocrine tumor<sup>10,11</sup>. It can be associated with other paraneoplastic diseases, as in the case of simultaneous appearance of APB and acquired ichthyosis in a patient with lymphoma<sup>10</sup>. The concurrent presence of AP, vitiligo and alopecia areata in a patient with cutaneous SCC pointed to possible pathogenesis of AP; serial detection of SCC antigens showed the correlation of serum concentration of SCC-Ag with the severity of clinical picture of APB. Authors directed to a possible role of immune mediated mechanisms in development of APB<sup>12</sup>.

Bazex syndrome affects mainly Caucasian males after the age of 40<sup>1</sup>. A small number of affected females have

been reported, APB associated with breast cancer is especially rare among them<sup>1,13</sup>.

Skin lesions of APB are similar to psoriasis vulgaris, but histological picture is nonspecific. It correlates with clinical picture and most frequently shows hyperkeratosis, parakeratosis, acanthosis, focal spongiosis and mixed dermal cell infiltrate<sup>4</sup>. Histological features of psoriasis vulgaris such as acanthosis with elongation of the rete ridges, focal collection of neutrophils in the stratum corneum and papillomatosis were not present. Diagnosis of APB in our patient was based on the appearance and acral location of skin lesions and nonspecific histology.

According to the literature and Medline search, about 160 cases of APB have been published thus far. Only one larger study which included 113 patients (105 males, 8 females) has been published<sup>2</sup>. In that study, in 67% of the patients psoriasiform lesions preceded the diagnosis of malignancy, in 15% of the patients cutaneous lesions appeared after the establishing the diagnosis of neoplasm, and in the rest of the patients cutaneous lesions emerged simultaneously with symptoms of malignancy. In 93% of the patients cutaneous lesions significantly regressed after the tumor removal/treatment, or they remained unchanged if the underlying disease persisted<sup>2</sup>.

## Conclusion

Skin lesions characteristic for APB in our patient that lasted for three months brought suspicion to the presence of malignancy, and detailed investigations and examinations conducted led to the revelation of invasive squamous cell carcinoma of esophagus and its removal. Four months after the surgery the relapse of extensive cutaneous lesions suggested the presence of metastases of primary esophageal carcinoma which was confirmed by further investigations. The course of the disease in our patient proved that APB is a specific marker of underlying malignancy.

## R E F E R E N C E S

1. Taber M, Grewal P, Gunn B, Tonkin K, Lauzon G. Acrokeratosis paraneoplastica (Bazex syndrome) presenting in a patient with metastatic breast carcinoma: possible etiologic role of zinc. *J Cutan Med Surg* 2007; 11(2): 78-83.
2. Bologna JL. Bazex syndrome: acrokeratosis paraneoplastica. *Semin Dermatol* 1995; 14(2): 84-9.
3. Richard M, Giroux JM. Acrokeratosis paraneoplastica (Bazex' syndrome). *J Am Acad Dermatol* 1987; 16(1 Pt 2): 178-83.
4. Pecora AL, Landsman L, Imgrund SP, Lambert WC. Acrokeratosis paraneoplastica (Bazex' syndrome). Report of a case and review of the literature. *Arch Dermatol* 1983; 119(10): 820-6.
5. Strobel ES, Bouveret C, Kohl PK. Acrokeratosis paraneoplastica of Bazex as an indicator for underlying squamous cell carcinoma of the lung. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006; 132(6): 376-8.
6. Ali M, Keir M, Dodd H, Cerio R. Flexural Bazex syndrome associated with tonsillar adenocarcinoma. *J Drugs Dermatol* 2004; 3(5): 557-9.
7. Hsu YS, Lien GS, Lai HH, Cheng YS, Hu CH, Hsieh MC, et al. Acrokeratosis paraneoplastica (Bazex syndrome) with adenocarcinoma of the colon: report of a case and review of the literature. *J Gastroenterol* 2000; 35(6): 460-4.
8. Rao R, Shenoi SD. Acrokeratosis paraneoplastica (Bazex syndrome): an atypical presentation. *Dermatol Online J* 2004; 10(1): 21.
9. Atilla MK, Yllmaz Y, Bekercioğlu M, Akpolat N, Küsem M, Aydın S. Bazex syndrome: acrokeratosis paraneoplastica in association with simultaneous multiple genitourinary tumors. *Urology* 2000; 56(1): 153.
10. Luckner GP, Steijlen PM. Acrokeratosis paraneoplastica (Bazex syndrome) occurring with acquired ichthyosis in Hodgkin's disease. *Br J Dermatol* 1995; 133(2): 322-5.
11. Halpern SM, O'Donnell LJ, Makunura CN. Acrokeratosis paraneoplastica of Bazex in association with a metastatic neuroendocrine tumour. *J R Soc Med* 1995; 88(6): 353P-354P.
12. Hara M, Hunayama M, Aiba S, Suetake T, Watanabe M, Tanaka M, et al. Acrokeratosis paraneoplastica (Bazex syndrome) associated with primary cutaneous squamous cell carcinoma of the lower leg, vitiligo and alopecia areata. *Br J Dermatol* 1995; 133(1): 121-4.
13. Akhyani M, Mansoori P, Taberi A, Asadi Kani Z. Acrokeratosis paraneoplastica (Bazex syndrome) associated with breast cancer. *Clin Exp Dermatol* 2004; 29(4): 429-30.

The paper was received on February 5, 2008.





## Granularno-ćelijski tumor: retka varijanta tumora dojke

### Granular-cell tumor: a rare variant of mammary tumor

Ivan Ilić\*, Pavle Randelović†, Ratko Ilić\*, Lidija Đorđević‡,  
Danijela Radojković§

Medicinski fakultet, \*Institut za patologiju, †Institut za fiziologiju, Niš;  
Klinički centar, ‡Hirurška klinika, §Klinika za endokrinologiju, Niš

#### Apstrakt

**Uvod.** Granularno-ćelijski tumor (GCT) je redak tumor dojke čija sporna dijagnoza može biti prevaziđena korišćenjem mnogobrojnih i veoma složenih enzimohistohemijskih i imunohistohemijskih metoda. **Prikaz bolesnika.** Prikazane su tri bolesnice stare 16, 21 i 65 godina, operisane zbog tumora dojke u Hirurškoj klinici Medicinskog fakulteta u Nišu, u vremenu od 1977. do 2007. godine. U tom periodu dijagnostikovano je 14 022 tumora dojke, među kojima su bila i tri navedena GCT. Tumori su imali benigne karakteristike i nisu bili udruženi sa tumorima drugih lokalizacija. Tipičnu histološku morfologiju GCT činila je granularna citoplazma u velikim ovoidnim ćelijama, koje su bile gnezdstog ili trabekulnog rasporeda. Tumori su analizirani setom metoda histohemije, enzimohistohemije i imunohistohemije, uključujući i ultrastrukturno ispitivanje. Protein, S-100 neuron-specifična enolaza i vimentin pokazali su difuznu i intenzivnu imunohistohemijsku ekspresiju, dok je ekspresija estrogenskih i progesteronskih receptora, kao i HER-2 onkoproteina bila negativna. **Zaključak.** Navedene kombinovane enzimo- i imunohistohemijske metode omogućuju preciznu dijagnozu i potvrđuju neuralno, godinama osporavano poreklo GCT.

#### Ključne reči:

dojka, neoplazme; tumor, granularno ćelijski; dijagnoza; histološke tehnike; imunohistohemija.

#### Abstract

**Background.** Granular cell tumor (GCT) is a rare variant of mammary tumor beset with diagnostic dilemmas that may be resolved by using numerous, very complex, enzymohistochemical and immunohistochemical methods. **Case reports.** We reported three female patients 16, 21 and 65 years old, operated on for mammary tumor at the Surgical Clinic of the School of Medicine in Niš, over the period of thirty years, 1977 to 2007. During this period 14,022 mammary tumors were diagnosed, including these three cases. These tumors had benign characteristics, without associated tumors in other localizations. A typical histological feature of GCT was a granular cytoplasm in large ovoid cells, organized like nests or like a trabecular arrangement. The tumors were analyzed by sets of histochemical, enzymohistochemical, immunohistochemical methods as well as ultrastructural examination. Protein, S-100 neuron-specific enolase and vimentin expressed a diffuse and intensive immunohistochemical activity, while expression of estrogen and progesterone receptors, as well as HER-2 oncoprotein was negative. The ultrastructural analysis confirmed that the tumor cells were enriched by lysosomes and consequential disorganization of cytoplasm. **Conclusion.** The reported enzymo- and immunohistochemical combined methods provide a precise diagnosis and confirm the GCT's neural origin, which has been disputed for years.

#### Key words:

breast neoplasms; granular cell tumor; diagnosis; histological techniques; immunohistochemistry.

#### Uvod

Granularno-ćelijski tumor (GCT), poznat pod imenom *myoblastoma*, je izuzetno redak mezenhimni tumor dojke. On može da imitira karcinom dojke klinički, radiološki i makroskopski. Do sada je u svetu saopšteno nekoliko stotina GCT, najčešće benignih. Među svim opisanim lokalizacijama, kod samo 5% bolesnika GCT je nađen u dojci<sup>1</sup>. Prvi put GCT spomenuo je Weber<sup>2</sup> 1854. godine, a potom i

Abrikossov<sup>3</sup> 1926. godine. Danas postoje brojni podaci o njegovoj morfologiji i histogenezi<sup>4-9</sup>. Po savremenim epidemiološkim podacima GCT se češće javlja kod žena crne rase, mada je moguća njegova pojava i kod muškaraca starijih od 15-74 godina<sup>5</sup>. U tridesetogodišnjem vremenskom intervalu (1977-2007), od pregledanih 14 022 tumora dojke u Institutu za patologiju u Nišu, otkrivena su samo tri GCT, koja su dokazana savremenim imuno- i enzimohistohemijskim metodama.

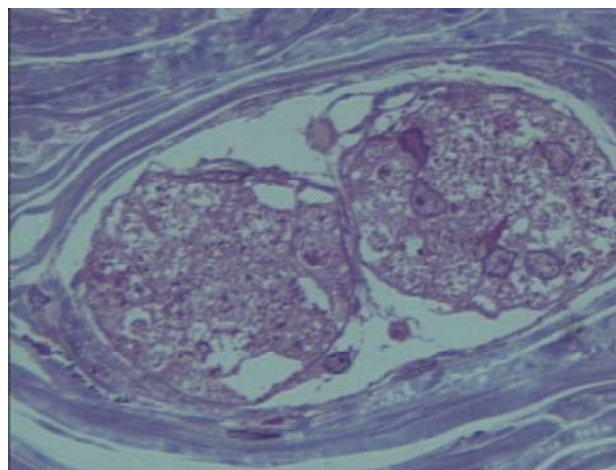
### Prikaz bolesnika

Bolesnice, u dobi od 69, 21 i 15 godina, imale su bezbolne, izuzetno čvrste i pokretne tumefakte, lokalizovane u centralnim i paraareolnim delovima dojki (na dubini 0,4–2,5 cm). Kod jedne od tih bolesnica tumor je bio fiksiran za kožu. U predelu tumora, bradavica i okolna koža bile su retrahovane. Mamogrami su kod svih bolesnica pokazali supkutano postavljene tkivne mase različite gustine i nazubljenu (neravnu) periferiju. Dopler-ultrazvučnim nalazom isključeno je postojanje neovaskularizacije. Uputna klinička dijagnoza do momenta biopsijske analize bila je tumorska masa suspektna na karcinom. *Ex tempore* dijagnoza na zamrznutim nefiksiranim rezovima bila je odložena za stalni preparat zbog diferencijalne dijagnoze sa histiocitoidnom varijantom mezenhimnog tumora dojke. Kod sve tri bolesnice načinjena je široka tumorektomija sa histološki potvrđenim „čistim“ ivicama. Tumori nisu bili veći od 3 cm i bili su beličasto-žućkasti, prožeti traćicama masnog tkiva. Periferija tumorskog čvora (kod sve tri bolesnice) nije bila jasno ograničena, rezna površina bila je neravna, bez hemoragičnih i nekrotičnih polja.

Biopsijski uzorci fiksirani su u 10% pufisanom formalinu, potom rutinski obrađeni u autotehniku. Parafinski preseći, debljine 4  $\mu$ m, bojeni su klasičnom histološkom hematoksilin-eozin (HE) metodom i sledećim histohemijskim tehnikama: *fast blue-B* (bojenje mijelina), *periodic-acid schiff* (PAS) sa i bez tretmana dijastazom, Van Gieson (VG) (za verifikaciju kolagenih i retikulinskih vlakana). Zamrznuti (kriostatski) preseći korišćeni su za otkrivanje aktivnosti sledećih enzima: alkalne fosfataze (AF) pH 9,0, kisele fosfataze (KF) pH 5,0,  $\beta$ -glukuronidaze, 5'-nukleotidaze, laktat dehidrogenaze (LDH) i glukozo-6-fosfat-dehidrogenaze. U imu-

nohistohemijskoj analizi korišćena je standardna metoda sa avidin-biotin kompleksom (ABC). Monoklonskim antitelima tipa citokeratin AE1/AE2, S-100, dezmin, vimentin, neuron-specifična enolaza (NSE),  $\alpha$ -aktin, estrogen receptor, progesteron receptor i HER-2 onkoprotein (DAKO, Glostrup Denmark), u razblaženju od 1 : 40 do 1 : 400, analizirana je aktivnost steroidnih receptora, HER-2 onkoproteina, specifičnih membranskih i citoplazmatskih filamentnih proteina, kao i neuroendokrinih i mioepitelnih ćelija. Navedene imunohistohemijske analize radene su uz korišćenje pozitivnih i negativnih kontrola.

Glavna histološka karakteristika bila je prisustvo granula u citoplazmi (slika 1) fino osmiofilnih, eozinofilnih, *fast blue-B* i PAS pozitivnih (tabela 1). Jedra su bila ekscentrično



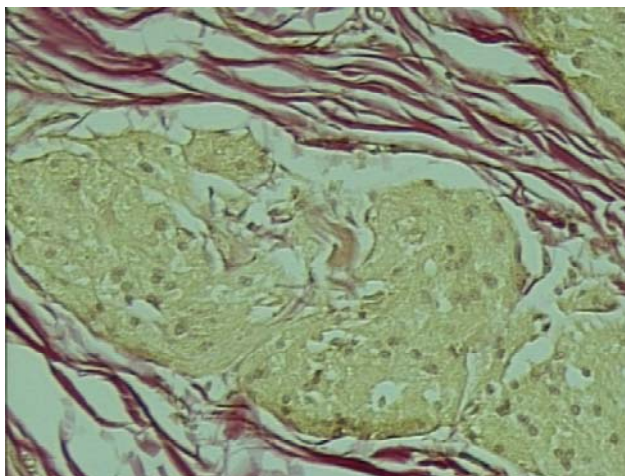
Sl. 1 – Tipičan izgled granularnosti citoplazme granularno-ćelijskog tumora (Giemsa, *semi-fine* isečak  $\times$  400)

Tabela 1  
Histohemijski, enzimohistohemijski i imunohistohemijski profil granularno-ćelijskih tumora bolesnica

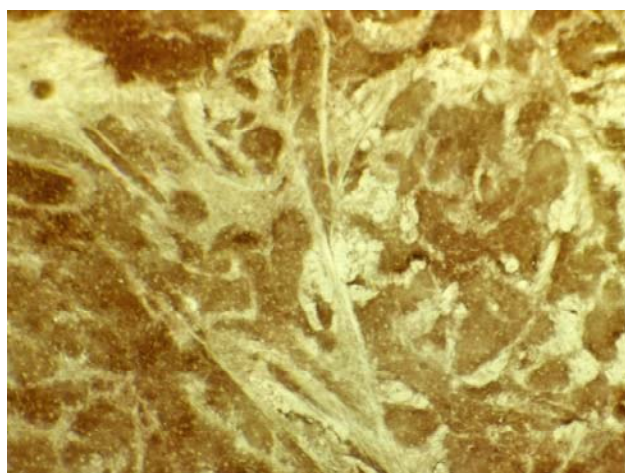
Metode	Bolesnice		
	I	II	III
Retikulin	–	+	+
Van Gieson	+++	+	+++
<i>Periodic-acid schiff</i>	++	+++	+++
<i>Fast blue-B</i>	+	+	+
Alkalna fosfataza	–	–	–
Kisela fosfataza	+++	+	++
$\beta$ -glukuronidaza	+++	+++	+++
5'-N-5'-nukleotidoza	+	+	+
Laktat dehidrogenaza	+++	+++	+++
Glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza	+++	+++	+++
S-100 protein	+++	+++	+++
Dezmin	–	–	–
Vimentin	+++	+++	+++
Neuron-specifična enolaza	++	+++	+++
Aktin	*	**	**
Estrogen / progesteron receptor	–/–	–/–	–/–
HER-2 onkoprotein	–	–	–
Citokeratin	–	–	–

– negativno; + slabo pozitivno; ++srednje pozitivno, +++ jako pozitivno; \* reaktivni samo krvni sudovi; \*\* reaktivni samo periferni delovi tumorskih plaža

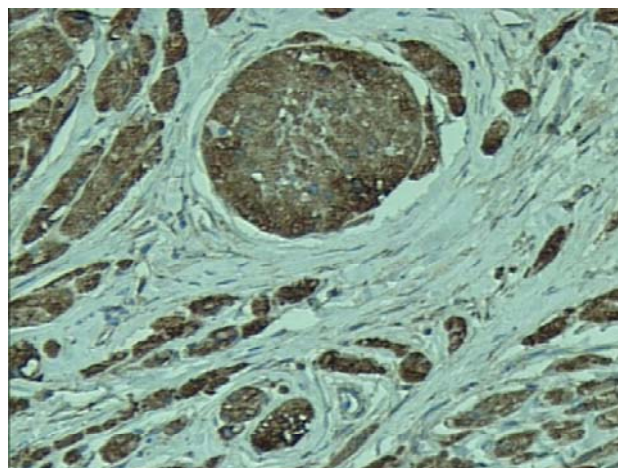
postavljena, uniformna, ovalna ili okrugla, retko sa vidljivim nukleolusima. Čelije su bile raspoređene u vidu gnezda ili fascikula. Bile su okružene gustim kolagenim vlaknima, koja su tu i tamo dosezala bazalnu membranu epiderma i utapala se u vezivno-tkivne strukture lobulusa dojke (slika 2). Angioin vazija i perineuralna invazija u samom tumoru nisu bile prisutne. Enzimohistohemijski dominantni nalaz je značajna aktivacija lizozomnih enzima, a imunohistohemijski intenzivna ekspresija S-100 proteina, vimentina i NSE (slike 3 i 4, tabela 1). Saopštene GCT pripadali su dermatofibrom-sličnim GCT. Prikazane bolesnice bile su žive, a klinički i ultrazvučni nalaz dojki, u periodu praćenja do dve godine nakon operacije, bio je negativan.



Sl. 2 – Prisustvo veće količine kolagenih vlakana u okolini gnezda granularno-čelijskog tumora (Van Giesion,  $\times 100$ )



Sl. 3 – Izražena enzimohistohemijska aktivnost kisele fosfataze u citoplazmi tumorskih ćelija (Azo-dye metoda, pH 5,0,  $\times 100$ )



Sl. 4 – Visoka imunohistohemijska aktivnost neuron-specifične enolaze u citoplazmi tumorskih ćelija (metoda avidin-bistin kompleksa,  $\times 100$ )

### Diskusija

Najčešća lokalizacija GCT je u jeziku, a retko u dojci (5%), što predstavlja dijagnostički izazov u onkopatologiji dojke. U cilju dijagnostike i histogeneze GCT koristi se set histohemijskih, enzimohistohemijskih i imunohistohemijskih metoda<sup>8</sup>. Bogatstvo u lizozomima, ultrastrukturno potvrđeno, kao i aktivnost telolizozomnih enzima (kiselih hidrolitičnih enzima: KF,  $\beta$ -glukuronidaza; glikolitičnih enzima: LDH), odgovorno je za granularni izgled citoplazme<sup>10,11</sup>. Imunohistohemijski rezultati visoke aktivnosti S-100 proteina, NSE i vimentina identični su nalazima brojnih savremenih autora<sup>12-14</sup> i, zajedno sa negativnom imunohistohemijskom aktivnošću steroidnih receptora, HER-2 onkoproteina i citokeratina, idu u prilog novijoj teoriji da tumor ima neuralno poreklo<sup>8</sup>. O neuralnom poreklu govore i radovi o prisutnoj ekspresiji kalretinina i  $\alpha$ -subjedinice inhibina kod 93% bolesnika GCT<sup>15</sup>. Istovremeno, negativna ekspresija steroidnih receptora, HER-2 onkoproteina i citokeratina, isključuje njegovo epitelno poreklo. Mada je opisano i sinhrono udruživanje GCT sa duktusnim karcinomom dojke GCT dojke najčešće je prisutan kao solitarni tumor<sup>16</sup>. U okolini GCT nisu nađene preneoplastične epitelne lezije, karakteristične za histogenezu karcinoma dojke, saopštene od nekih autora<sup>17</sup>. Ovaj nalaz, takođe, isključuje epitelno poreklo tumora. Diferencijalna dijagnoza je otežana zbog prisustva brojnih varijanti GCT: dermatofibromu-sličan GCT, GCT sa epidermalnom komponentom, pleksiformni, polipoidni i primitivni GCT, kao i GCT u junkcionalnom delu koji imitira tumor melanocitne diferencijacije<sup>18-21</sup>. Klinički tok i evolucija ovog retkog tumora zavise i od kompletnosti hirurške ekscizije, s obzirom da je ovaj tumor uglavnom visokorezistentan na radio- i hemoterapiju<sup>22</sup>.

### Zaključak

Granularno-čelijski tumor dojke spada u izuzetno retke tumore i klinički, radiološki i makroskopski imitira maligni

proces dojke. Klinički infiltrativni rast GCT i morfološka sličnost sa brojnim adneksnim i pigmentnim tumorima kože razlog su retkog otkrivanja i pogrešnog tumačenja tog tumora. Histološke karakteristike su od presudnog dijagnostičkog značaja. Visoka imunohistochemijska ekspresija S-100 pro-

teina i NSE u citoplazmatskim granulama potvrđuje patohistološku dijagnozu. Istovremeno je imunohistochemijski ukazano na, do skora sporno, neuralno poreklo GCT. Odsustvo recidiva i metastaza GCT dojke kod naših bolesnica potvrđuje njegov benigni karakter.

## L I T E R A T U R A

1. *Umansky C, Bullock WK.* Granular cell myoblastoma of the breast. *Ann Surg* 1968; 168(5): 8107.
2. *Weber CO.* Anatomische untersuchung einer hypertrophischen zunge nebst bemerkungen über die Neubildung quergestreifter muskelfasern. *Virchows Arch* 1854; 7: 115–25. (German)
3. *Abrikossov AI.* Über myome ausgehend von der quergestreifter wirklicher Muskulatur. *Vichows Arch/A/* 1926; 260: 215–33. (German)
4. *Enzinger TM, Weiss SW.* Soft tissue tumors. St. Louis: CV Mosby; 1983.
5. *Sloane JP.* Bipsy Pathology of the breast. New York: John Willey & Sons; 1985.
6. *Basset LW, Cove HC.* Myoblastoma of the Breast. *AJR Am J Roentgenol* 1979; 132: 122.
7. *Powell DE, Stelling CB.* The Diagnosis and Detection of Breast Disease. St. Louis: Mosby; 1994.
8. *Le BH, Boyer PJ, Lewis JE, Kapadia SB.* Granular cell tumor: immunohistochemical assessment of inhibin-alpha, protein gene product 9.5, S100 protein, CD68, and Ki-67 proliferative index with clinical correlation. *Arch Pathol Lab Med* 2004; 128(7): 771–5.
9. *Rosen PP.* Breast Pathology. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997.
10. *Bodansky O.* Biochemistry of Human Cancer. New York: Academic Press; 1975.
11. *Riede UN, Werner M, Schaefer HE.* Allgemeine und spezielle Pathologie 5. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2004. (German)
12. *Taylor CR, Cote RJ.* Immunomicroscopy. A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. 3rd ed. Philadelphia: Saunders; 2006.
13. *Dabbs D.* Diagnostic Immunohistochemistry. 2nd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2006.
14. *Mazur MT, Shultz JJ, Myers JL.* Granular cell tumor. Immunohistochemical analysis of 21 benign tumors and one malignant tumor. *Arch Pathol Lab Med* 1990; 114(7): 6926.
15. *Fine SW, Li M.* Expression of calretinin and the alpha-subunit of inhibin in granular cell tumors. *Am J Clin Pathol* 2003; 119(2): 25964.
16. *Al-Ahmadie H, Hasselgren PO, Yassin R, Mutema G.* Colocalized granular cell tumor and infiltrating ductal carcinoma of the breast. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126(6): 7313.
17. *Barkan GA, Paulino AF.* Are epidermal growth factor and transforming growth factor responsible for pseudoepitheliomatous hyperplasia associated with granular cell tumors? *Ann Diagn Pathol* 2003; 7(2): 737.
18. *Lazar AJ, Fletcher CD.* Primitive nonneural granular cell tumors of skin: clinicopathologic analysis of 13 cases. *Am J Surg Pathol* 2005; 29(7): 92734.
19. *LeBoit PE, Barr RJ, Burall S, Metcalf JS, Yen TS, Wick MR.* Primitive polypoid granular-cell tumor and other cutaneous granular-cell neoplasms of apparent nonneural origin. *Am J Surg Pathol* 1991; 15(1): 4858.
20. *Ray S, Jukic DM.* Cutaneous granular cell tumor with epidermal involvement: a potential mimic of melanocytic neoplasia. *J Cutan Pathol* 2007; 34(2): 18894.
21. *Kovi J.* Frozen section in Surgical Pathology. Boca Raton: CRC Press; 1983.
22. *Qureshi NA, Tabir M, Carmichael AR.* Granular cell tumour of the soft tissues: a case report and literature review. *Int Semin Surg Oncol* 2006; 3: 21.

Rad je primljen 21. II 2008.



## Neurolitička blokada opturatornog živca u lečenju idiopatske opturatorne neuralgije

### Neurolytic blockade of the obturator nerve in the treatment of idiopathic obturator neuralgia

Slobodan Čulafić\*, Milan Spaić†, Uroš Zoranović‡, Sidor Mišović‡

Vojnomedicinska akademija, \*Institut za radiologiju, †Klinika za neurohirurgiju,

‡Klinika za vaskularnu hirurgiju, Beograd

#### Apstrakt

**Uvod.** Idiopatska opturatorna neuralgija redak je klinički fenomen karakterisan bolom u ingvinalnom regionu i unutrašnjoj strani butine. Simptomatska neuralgija opturatornog nerva najčešće se javlja kao posledica opturatorne hernije, kada je neuralgični bol u natkolenici vodeći simptom kod više od 85% slučajeva. **Prikaz bolesnika.** Bolesnica, stara 61 godinu, patila je od hroničnog bola u unutrašnjoj strani natkolenice u periodu lečenja opstruktivne arterijske bolesti. Pošto je bolni sindrom trajao i posle natkolene amputacije ekstremiteta koja je učinjena zbog okluzije grafta, postavilo se pitanje etiologije bolnog sindroma. Kompjuterizovanom tomografijom i magnetnom rezonancijom isključene su opturatorna hernija i lumbalna radikulopatija kao uzroci bola. Dijagnostičkom blokadom opturatornog živca postavljena je dijagnoza opturatorne neuralgije, a izlečenje bola postignuto je fluoroskopski kontrolisanom alkoholnom neurolitičkom blokadom opturatornog živca. **Zaključak.** Dijagnostička blokada živca korisna je metoda u diferencijalnoj dijagnostici etiologije bolnih stanja. Idiopatska opturatorna neuralgija maskirana kliničkim stanjem okluzivne arterijske bolesti donjih ekstremiteta kod prikazane bolesnice uspešno je izlečena neurolitičkom blokadom opturatornog nerva.

#### Cljučne reči:

opturatorni nerv; neuralgija; blokada nerva; lečenje, ishod.

#### Abstract

**Introduction.** Idiopathic obturator neuralgia is a rare chronic pain condition. It consists of pain radiating from the obturator nerve territory to the inner thigh. However, the symptomatic obturator neuralgia is commonly caused by the obturator canal bowel hernia that causes painful compressive neuropathy in more than 85% of the cases. **Case report.** A 61-year-old female who underwent right femoral amputation due to the occlusion of the aorto-femoral vascular graft, complained of the pain characterized by its localization in the inguinal region and antero-internal side of the right inner thigh. Computer tomography and MRI findings excluded obturator canal herniation or lumbar plexopathy. A diagnosis of the obturator neuralgia was confirmed by an analgesic block of the obturator nerve. Thereafter, the neurolytic blockade of the right obturator nerve was done. The complete pain relief was achieved. Pain relief was complete in three-month follow-up period. **Conclusion.** Neurolytic blockade is an efficacious method in treating chronic pain caused by the idiopathic obturator neuralgia.

#### Key words:

obturator nerve; neuralgia; nerve block; treatment outcome.

#### Uvod

Opturatorni nerv formiraju zadnji ogranci nervnih spinalnih korenova L2–L4.

Zajedno sa opturatornom arterijom nerv prolazi kroz opturatorni kanal, fibromuskularni kanal lokalizovan ispod gornjeg kraka pubične kosti. Po izlasku iz kanala živac se deli na prednju i zadnju granu. Prednji ogranak živca inervira

senzorno zglob kuka, medijalnu stranu butine, a daje i motorne ogranke za mišiće aduktore natkolenice. Duboka grana daje senzorne ogranke za zglob kolena<sup>1</sup>.

Idiopatska opturatorna neuralgija redak je klinički fenomen karakterisan bolom u ingvinalnoj regiji i unutrašnjoj strani butane. Pri dužem stajanju bol se pojačava šireći se prema kolenu, što se objašnjava statičkim pojačanjem kompresije na živac u opturatornom kanalu<sup>2</sup>.

Simptomatska neuralgija opturatornog nerva najčešće se javlja kao posledica opturatorne hernije, kada je neuralgični bol u natkolenici vodeći simptom kod više od 85% slučajeva<sup>3</sup>.

Blokada opturatornog živca najčešće se preduzima u svrhu lečenja bola u zglobu kuka, kao i spazma aduktora natkolenice koje inerviše opturatorni nerv. Spazam aduktorne muskulature onemogućava fleksiju natkolenice, pa tako otežava hod. Ablacijom živca postiže se smanjenje ili potpuno izlečenje spazma, što omogućava bolju pokretljivost bolesnika<sup>4</sup>. U cilju lečenja idiopatske opturatorne neuralgije primenjuje se i laparoskopna dekompresija opturatornog živca presecanjem opturatorne membrane i unutrašnjeg opturatornog mišića<sup>2</sup>.

### Prikaz bolesnika

Kod bolesnice, stare 61 godinu, učinjen je aortobifemoralni bajpas 2003. godine zbog postojanja aneurizme abdominalne aorte. U maju 2007. godine učinjena je natkolena amputacija desne noge zbog okluzije implantiranog vaskularnog grafta, a u junu iste godine učinjena je revizija patrljka zbog postoperativne infekcije i postojanja apscesne kolekcije.

Brisom uzetim iz rane kultivisana je *Escherihia colli*, pa je lečenje nastavljeno antibioticima prema antibiogramu.

Analizom kliničkog statusa bolesnice konstatovano je da je vodeći klinički fenomen bio intenzivan bolni sindrom koji se javio više od mesec dana pre učinjene natkolene amputacije desne noge. Ovaj bolni sindrom shvaćen je kao posledica okluzivne bolesti ekstremiteta pa je bolesnica lečena parenteralnim analgeticima (tramadol, metamizol), a primenjena je i intratekalna aplikacija morfijuma upotrebom spinalnog katetera u periodu od tri nedelje<sup>5</sup>.

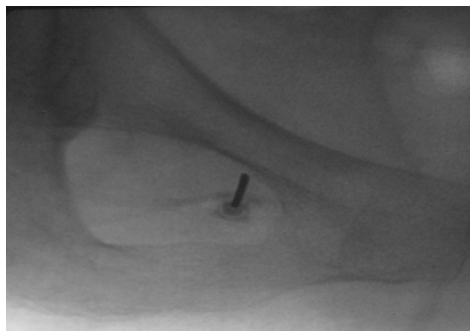
U toku poslednje hospitalizacije, četiri meseca posle učinjene amputacije, bolesnica se žalila na nepodnošljiv bol u amputacionom patrljku koji je opisivala kao bol koji ima karakter „kidanja, sevanja, probadanja“, promenljivog je intenziteta sa periodičnim nastupima intenzivnih bolnih kriza. Indeks bola na Vizuelno analognoj skali od maksimalnih 10 poena bio je 9.

Postojanje opturatorne hernije isključeno je primenom magnetne rezonancije i kompjuterizovane tomografije (KT) male karlice. Takođe, trajanje bolnog sindroma bez drugih pratećih probavnih simptoma isključili su opturatornu herniju kao mogući uzrok bola.

Lokalnom inspekcijom patrljka bolesnice nije potvrđeno postojanje osetljive *trigger zone*, tako da bolni sindrom nije upućivao na amputacioni neurom kao uzrok ovog bolnog stanja.

U cilju bližeg određenja uzroka bola učinjena je dijagnostička blokada opturatornog živca lokalnim anestetikom (bupivakain) primenom spinalne igle promera 22 G. Primljena je standardna tehnika blokade dovođenjem igle za spinalnu anesteziju u zonu opturatornog kanala ubodom na 2,5 cm bočno i dole od kvržice pubične kosti<sup>6</sup>. Blokada živca u celosti je dovela do gubitka bola.

Imajući u vidu povoljan ishod blokade živca odlučeno je da se preduzme neurolička blokada opturatornog nerva. Aplikacijom 3 ml niskoosmolarnog kontrasta (Omnipak 240) pod fluoroskopskom kontrolom potvrđen je položaj igle u obturatornom kanalu. Ablacija je učinjena infiltracijom 2 ml 96% alkohola (slike 1 i 2).



Sl. 1 – Vrh igle plasiran pod flurosopskom kontrolom u opturatorni kanal



Sl. 2 – Prikaz opturatornog kanala posle datog kontrasta (horizontalna linija). Nakon postkontrastnog prikaza kanala moguće je sa sigurnošću infiltrirati neuroličko sredstvo (alkohol ili fenol)

Neurolička blokada dovela je do potpunog izlečenja bolnog sindroma. U periodu praćenja tokom tri meseca, stanje bez bola se održavalo.

### Diskusija

Bolni sindrom prouzrokovan amputacijom ekstremiteta može biti ispoljen u formi fantomskog bola ili u formi takozvanog „bolnog patrljka“<sup>7</sup>.

U slučaju fantomskog bola, bolesnik oseća bol u regiji amputiranog ekstremiteta<sup>8</sup>.

Bol u samom patrljku po pravilu je uslovljen postojanjem amputacionog neuroma na presečenim živcima. U tom slučaju, osećaj bola može se izazvati potezanjem, pritiskanjem ili pomeranjem tkiva u regiji preseka živca<sup>9</sup>.

Postojanje takve *trigger zone* jeste dragocena potvrda etiologije bola, tako da se može pristupiti lokalnoj reviziji patrljka i resekciji neuroma uz premeštanje nerva dalje od mesta pritiska i natezanja<sup>10</sup>.

Kod naše bolesnice, pregledom amputacionog patrljka nije ustanovljeno postojanje *trigger zone*, a na patrljku bili su vidljivi tragovi prethodne infekcije sa ožiljkom zaostalim nakon ožiljavanja fistulnog kanala.

Analizom senzorne prirode bolnog sindroma ustanovljeno je da nisu postojali elementi fantomskog bola.

Sagledavajući prirodu ispoljenog bolnog sindroma, a posebno imajući u vidu topografiju bola, koja je odgovarala zoni inervacije opturatornog nerva, odlučeno je da se izvrši dijagnostička blokada opturatornog živca.

Dijagnostička blokada dovela je do prekida bolnih senzacija.

Time je potvrđena etiologija ovog bolnog sindroma, odnosno, ustanovljeno je da je bolni sindrom uslovljen opturatornom neuralgijom. Imajući u vidu ovakav rezultat dijagnostičke blokade, učinjena je i alkoholna ablacija živca.

Kontrolnim pregledom bolesnice, tri meseca nakon učinjene ablacije, konstatovano je da se stanje bez bola održava.

Dijagnostička blokada živca može se vršiti i pod kontrolom KT položaja igle u opturatornom kanalu, a za ablaciju živca može se koristiti radiofrekventna koagulacija kao standardna metoda kontrolisane destrukcije nervnog tkiva<sup>11</sup>.

Dijagnostička nedoumica kod ove bolesnice bila je uslovljena istovremenim postojanjem okluzivne arterijske bolesti ekstremiteta, pa se bolni sindrom objašnjavao ishemijskim mehanizmom.

Činjenica da se bol prostirao u zoni inervacije opturatornog živca, mogla je da ukaže na moguće neuralgično poreklo ovog bolnog sindroma što je u prethodnoj fazi lečenja bilo zanemareno.

Sve preduzete mere lečenja uključujući i intratekalnu aplikaciju morfina samo su prolazno ublažavale intenzitet bola.

Tek sa identifikovanjem porekla bola, a što je ostvareno dijagnostičkom blokadom opturatornog živca, stvoreni su uslovi za duže izlečenje koje je postignuto alkoholnom ablacijom živca.

Neželjeni efekat destrukcije opturatornog nerva može biti paraliza muskulature koju inervišu opturatorni nerv. U konkretnom slučaju, zbog prethodne amputacije, ona nije imala klinički značaj.

### Zaključak

Dijagnostička blokada živca korisna je metoda u diferencijalnoj dijagnostici etiologije bolnih stanja. Idiopatska opturatorna neuralgija maskirana kliničkim stanjem okluzivne arterijske bolesti donjih ekstremiteta uspešno je izlečena neurolitičkom blokadom opturatornog nerva.

### L I T E R A T U R A

1. *Nemanić-Krmpotić J.* Nerves of the vrain. In: *Nemanić-Krmpotić J.*, editor. Human anatomy. Zagreb: Jugoslavenska medicinska naklada; 1976. p. 19–35. (Serbo-croatian)
2. *Rigaud J, Labat JJ, Riant T, Boucbot O, Robert R.* Obturator nerve entrapment: diagnosis and laparoscopic treatment: technical case report. *Neurosurgery* 2007; 61(1): E175.
3. *Somell A, Ljungdahl I, Spangen L.* Thigh neuralgia as a symptom of obturator hernia. *Acta Chir Scand* 1976; 142(6): 457–9.
4. *Viel EJ, Perennou D, Ripart J, Pélissier J, Eledjam JJ.* Neurolytic blockade of the obturator nerve for intractable spasticity of adductor thigh muscles. *Eur J Pain* 2002; 6(2): 97–104.
5. *Hassenbusch SJ, Dickens M.* Neuraxial drug infusion. In: *Batjer HH, Loftus MC*, editors. Textbook of neurological surgery (Volume 4). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003. p. 3034–43.
6. *Waldman SD.* Obturator nerve block. In: *Waldman SD*, editor. Atals of interventional pain management. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1998. p. 410–6.
7. *Ross MA.* Evaluation and treatment of patients with peripheral neuropathy. In: *Batjer HH, Loftus MC*, editors. Textbook of neurological surgery (Volume 4). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003. p. 613–28.
8. *Burchiel KJ, Slavin KV.* Peripheral neuropathic pain syndromes. In: *Batjer HH, Loftus MC*, editors. Textbook of neurological surgery (Volume 4). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003. p. 3031–22.
9. *Bascarević V, Samardžić M, Ivanović S, Mićović M, Cvrkota I.* Therapeutic approach to pain syndromes after peripheral nerve injuries. *Acta Chir Jugosl* 2004; 51(4): 65–8. (Serbian)
10. *Rasulić L, Ivanović S, Bascarević V, Simić V.* Phantom pain and posttraumatic pain conditions. *Acta Chir Jugosl* 2004; 51(4): 71–80. (Serbian)
11. *Mukubo Y, Sato K, Kawamata M.* Effective radiofrequency lesioning for obturator nerve neuropathy. *Masui* 2003; 52(9): 990–2. (Japanese)

Rad je primljen 21. II 2008.



## San Diego: Eksperimentalna biologija 2008

### San Diego: Experimental biology 2008

Rajko Igić

Department of Anesthesiology and Pain Management, J. Stroger Hospital of Cook County,  
Chicago, IL 60612, USA

U organizaciji američkih naučnih društava iz bazičnih biomedicinskih disciplina (anatomija, fiziologija, patologija, biohemija, nutricija, imunologija i molekularna biologija), kao i nekoliko gostujućih naučnih društava, svake godine održava se veliki skup (kongres) naučnika, na kojem učestvuju brojni istraživači iz Amerike, ali i iz mnogih drugih zemalja. Od 5. do 9. aprila ove godine, takav kongres je održan u San Diegu, Kalifornija. Na skupu je prezentovano preko 35 000 saopštenja u 1 239 sekcija.

Da bi se tako brojna saopštenja mogla prikazati za samo pet dana, kongresni centar treba da ima ogroman kapacitet, tj. neophodne su brojne sale za usmena predavanja i hale za poster sekcije. Sledeće godine kongres „Experimental Biology 2009“ održaće se u New Orleansu, od 18. do 22. aprila.

Od mnogobrojnih informacija, učesnik, naravno, bira samo one koje ga interesuju. Predavanja i simpozijumi obično daju pregled nekog područja, a poster su prilika da se dva istraživača sretnu (jedan na jedan) i da razmene misli.

Anatomi danas istražuju područja koja su bliska fiziologiji, patologiji i drugim disciplinama. To najbolje pokazuju naslovi plenarnih predavanja koja su održana na ovom skupu: „Neurobiology of CNS diseases“, „Stem cells in tissue engineering“, „Arteriogenesis“, „Vascular development“ itd.

Na skupu je bio čitav niz simpozijuma, seminara, predavanja i *workshop* demonstracija iz raznih oblasti biohemije. Ovde navodim samo dve teme od mnoštva simpozijuma: „Immunotherapy of cancer, vaccine development, and immune-based therapies“ i „Genetic and epigenetic regulation of the immune system“.

Među brojnim učesnicima skupa nisam mogao naći mnogo istraživača iz krajeva bivše Jugoslavije. Video sam nekoliko naših imena, ali su svi oni došli ispred stranih, mahom američkih institucija. Jedino sam sreo Dr Mariju Kržan-Čarman, penzionisanog profesora iz Ljubljane. Razgovarao sam i družio se sa profesorom Kafaitom U. Malikom\*, kole-

gom s posle diplomskih sudija u Sarajevu koji odavno živi i radi u Memphisu, Tennessee, i s njegovim đakom, sada već poznatim profesorom, Stevenom Lanierom. Sa njima sam se fotografisao ispred postera dr M. Kržan-Čarman. Pored toga, imao sam susret s nekim starim poznanicima; na primer, proveo sam izvesno vreme s kolegom Nasletićem T., farmakologom iz New Yorka, koji je poreklom iz Argentine.

Područje istraživanja renin-angiotenzin sistema (RAS), u kojem sam (od 1970. godine do danas) publikovao brojne radove – nakon veoma kratke pauze posle otkrića ACE inhibitora i blokatora receptora angiotenzina – ponovo postaje hit tema. Naime, nedavno je u firmi Novartis (uz saradnju s firmom Speedel) otkriven oralno aktivan inhibitor renina (aliskiren). Taj lek je od prošle godine u širokoj upotrebi kao novi antihipertenziv (fabrički naziv mu je Tekturna® u Americi). Zato su na ovom skupu blokatorima RAS posvećena čak dva simpozijuma; jedan je bio u organizaciji Američkog društva za fiziologiju (APS), a drugi Američkog društva za farmakologiju (ASPET). Radeći u laboratoriji profesora Ervina G. Erdosa, od 1970. do 1972. godine, uspeo sam prečistiti enzim konvertor angiotenzina (ACE) i dokazati da je taj enzim identičan s kininazom II. Drugim rečima, jedan te isti enzim konvertuje neaktivni decapeptid angiotenzin I u izuzetno snažan vazokonstriktor, oktapeptid angiotenzin II i inaktivnije snažan vazodilatatorni nonapeptid bradikinin. Taj rad je veoma često citiran u raznim časopisima i udžbenicima<sup>1</sup>. Kasnije sam iz te oblasti objavio niz radova o distribuciji ACE i drugih enzima (posebno u oku, krvnim sudovima, bubregu, horioideji, plućima i drugim tkivima). Zahvaljujući tim publikacijama i našem revijskom članku o RAS-u<sup>2</sup>, Američko društvo fiziologa (čiji sam član od 1994. godine) dalo mi je priliku da na ovom skupu prikažem istorijat istraživanja RAS.

Veze između eksperimentalne biologije i farmakologije su mnogobrojne i često se istraživanja u ovim oblastima međusobno nadopunjuju i prepliću. Stoga, koristim priliku da u ovom izveštaju pomenem i stogodišnjicu osnivanja Američkog društva farmakologa (*American Society of Pharmacology and*

\* Profesor Malik je pre dve godine bio veoma zapažen gost Kongresa fiziologa Srbije u Beogradu, a tom prilikom je posetio i Sarajevo.



*Experimental Therapeutics*) koja se obeležava ove godine. Tim povodom, Američko društvo farmakologa organizovalo je seriju centenijalnih simpozijuma posvećenih najznačajnijim savremenim istraživanjima u farmakologiji. Na primer: „Antidepressants for the new millennium“, „Pharmacotherapeutics for drug abuse“, „New experimental approaches to the treatment of schizophrenia“, „Obesity epidemic: pharmacological challenges“.

Kada je reč o doprinosu farmakologa medicini, a time i čovečanstvu, vredno je pomenuti barem nekoliko nobelovaca čija su otkrića, direktno ili indirektno, omogućila da se zarazne i druge bolesti leče ili suzbijaju i da se neke funkcije organizma shvate kako bi se, opet, lakše čuvalo zdravlje i smanjile patnje. Tako, medicina je išla napred, a čovek dobio šansu da živi duže i lepše. Nažalost, neki su naučnici i stručnjaci raznih disciplina ponekad radili ili i danas rade u obrnutom smeru – da se ljudi u ratu što efikasnije ubijaju i muče.

Ovde pominjem samo nekolicinu farmakologa čija su otkrića dovela do enormnog progressa farmakologije i medi-

cine, pa su ti istraživači krunisani Nobelovom nagradom: Gerhard Domagk (pronalzač sulfonamida), Sir Alexander Fleming, Ernst Chain, Sir Howard Florey (pronalazači penicilina), Selman Waksman (pronalazač streptomicina; nažalost, njegov saradnik Albert Schatz nije dobio tu nagradu mada je značajno doprineo tom otkriću), Sir Frederick Banting i John Macleod (za otkriće insulina; opet jedna nepravda: Charles Best nije dobitnik te nagrade, jer je u doba otkrića bio student!), Sir Henry Dale i Otto Loewi (za otkriće neurotransmisije), Ulf von Euler, Julius Axelrod, Sir Bernard Katz (za dokaz o odvijanju humoralne transmisije na nervnim okrajcima simpatikusa), Daniel Bovet (za otkrića sintetskih jedinjenja koja deluju na vaskularni sistem i skeletne mišiće). Preporučio bih zainteresovanim da pročitaju izvanredan članak o istorijatu velikih otkrića u farmakologiji koji je Ronald P. Rubin napisao povodom stogodišnjice ASPET „A brief history of great discoveries in pharmacology: In celebration of the centennial anniversary of the founding of the American Society of Pharmacology and Experimental Therapeutics“<sup>3</sup>.

#### L I T E R A T U R A

1. Igić R, Erdős EA, Jeb HS, Sorrells K, Nakajima T. Angiotensin I converting enzyme of the lung. *Circ Res* 1972; 31(9): Suppl 2: 51–61.
2. Igić R, Bebnia R. Pharmacological, immunological, and gene targeting of the renin-angiotensin system for treatment of cardiovascular disease. *Curr Pharm Des* 2007; 13(12): 1199–214.
3. Rubin RP. A brief history of great discoveries in pharmacology: in celebration of the centennial anniversary of the founding of the American Society of Pharmacology and Experimental Therapeutics. *Pharmacol Rev* 2007; 59(4): 289–359.

## 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 preplati na časopis za sve autore (i koautore). Za objavljene radove VSP zadržava autorsko pravo.

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

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

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

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

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

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

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

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

### Priprema rada

Delovi rada su: **naslovna strana, apstrakt sa ključnim rečima, 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: Lippincott, Williams and Wilkins; 2001. p. 413–428.

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

*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](mailto:vmaini1@eunet.yu)  
[vmaini2@eunet.yu](mailto:vmaini2@eunet.yu)

Časopis „Vojnosanitetski pregled“ izlazi godišnje u 12 brojeva. Godišnja pretplata za 2008. godinu iznosi: 3 000 dinara za građane Srbije, 6 000 dinara za ustanove iz Srbije i 9 000 dinara (100 €) za strane državljane i ustanove. Sredstva se uplaćuju na tekući račun Vojnomedicinske akademije Beograd kod Uprave za javna plaćanja u Beogradu broj: **840-941621-02 VMA (za Vojnosanitetski pregled ili za VSP), PIB 102116082 ili na devizni račun kod Narodne banke broj: 54104-oznaka valute-549**. Uplatnicu (dokaz o uplati) dostaviti lično ili poštom (pismom, faksom, *e-mail*-om). Za zaposlene u MO i Vojsci Srbije moguća je i pretplata u 12 mesečnih rata putem trajnog naloga, tj. „odbijanjem od plate“. Popunjen obrazac poslati na adresu VSP-a.

### PRIJAVA ZA PRETPLATU NA ČASOPIS „VOJNOSANITETSKI PREGLED“

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



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

Časopis „Vojnosanitetski pregled“ izlazi godišnje u 12 brojeva. Godišnja pretplata za 2008. godinu iznosi: 3 000 dinara za građane Srbije, 6 000 dinara za ustanove iz Srbije i 9 000 dinara (100 €) za strane državljane i ustanove. Sredstva se uplaćuju na tekući račun Vojnomedicinske akademije Beograd kod Uprave za javna plaćanja u Beogradu broj: **840-941621-02 VMA (za Vojnosanitetski pregled ili za VSP), PIB 102116082 ili na devizni račun kod Narodne banke broj: 54104-oznaka valute-549**. Uplatnicu (dokaz o uplati) dostaviti lično ili poštom (pismom, faksom, *e-mail*-om). Za zaposlene u MO i Vojsci Srbije moguća je i pretplata u 12 mesečnih rata putem trajnog naloga, tj. „odbijanjem od plate“. Popunjen obrazac poslati na adresu VSP-a.

### PRIJAVA ZA PRETPLATU NA ČASOPIS „VOJNOSANITETSKI PREGLED“

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

