

YU ISSN 0042-8450

# ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

*Часопис лекара и фармацеутика Војске Србије*

*Military Medical and Pharmaceutical Journal of Serbia*

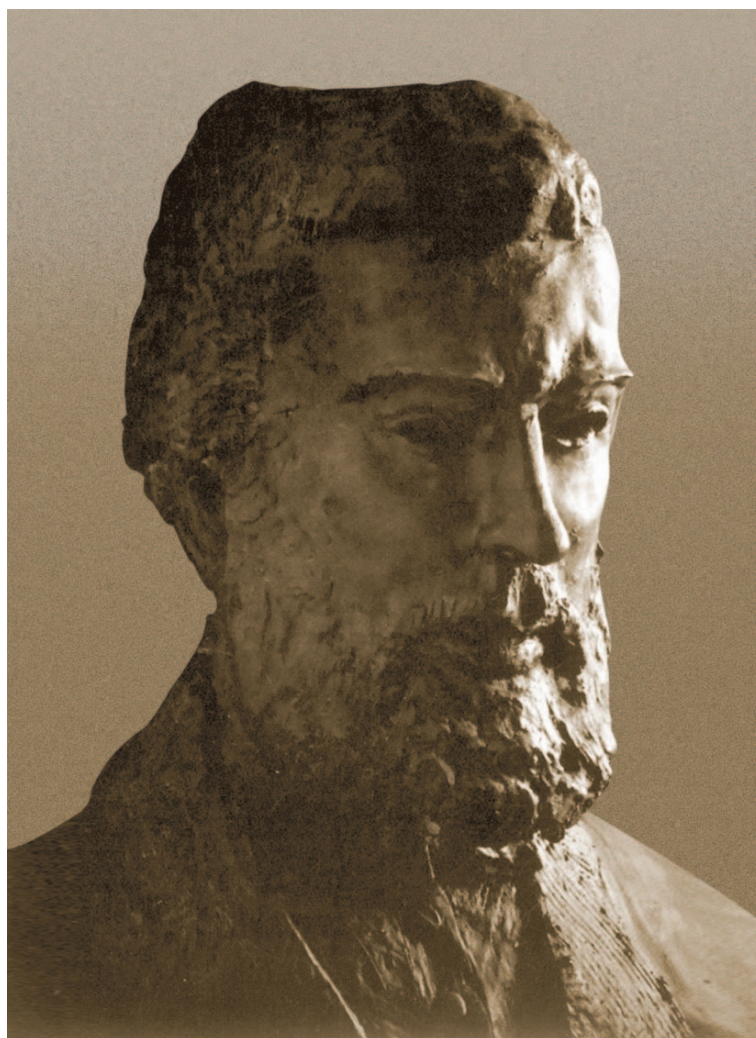


## *Vojnosanitetski pregled*

Vojnosanit Pregl 2009; August vol. 66 (No. 8): pp. 605-682.

---

---



# ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

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

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

## ИЗДАВАЧ

Управа за здравство Сектора за материјалне ресурсе МО Србије

### ИЗДАВАЧКИ САВЕТ

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

### УРЕЂИВАЧКИ САВЕТ

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

### МЕЂУНАРОДНИ УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР

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

### УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР

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

### Уредници:

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

Технички секретар уређивачког одбора  
др Маја Марковић

### РЕДАКЦИЈА

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

Технички уредник: Милан Перовановић

Редактор за српски и енглески језик:

Драгана Мучибабић, проф.

Коректор: Љиљана Николић

Компјутерско-графичка обрада:

Светлана Стајић, Весна Тотић, Јелена Васил



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

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

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

# VOJNOSANITETSKI PREGLED

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

## PUBLISHER

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

### PUBLISHER'S ADVISORY BOARD

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

### EDITOR'S ADVISORY BOARD

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

### INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

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

### EDITORIAL BOARD

#### Editor-in-chief

Prof. **Silva Dobrić**, BPharm, PhD

#### Co-editors:

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

#### Editorial staff

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

#### Technical editor

Milan Perovanović

#### Proofreading

Ljiljana Nikolić

#### Technical editing

Svetlana Stajić, Vesna Totić, Jelena Vasilj



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

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

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



## SADRŽAJ / CONTENTS

### UVODNIK / EDITORIAL

*Veljko Todorović*

#### **Jubilej za poštovanje: 170 godina sanitetske službe Vojske Srbije**

A Jubilee deserving of respect: 170 years of existence of the Serbian Armed Forces Medical Services ..... 609

### ORIGINALNI ČLANCI / ORIGINAL ARTICLES

*Mila Bojanović, Emilija Živković-Marinkov, Dragan Veselinović, Aleksandar Bojanović, Ivica Vučković*

#### **Maligni tumori aurikule i periaurikularnog regiona**

Malignant tumors of auricula and periauricular area..... 611

*Mirjana Kovač, Ljiljana Rakićević, Aleksandar Maslač, Dragica Radojković*

#### **Uticaj polimorfizma c.-1639G>A VKORC1 gena na terapijski odgovor u toku primene oralnih antikoagulanasa**

The c.-1639G>A polymorphism of the VKORC1 gene and his influence on the therapeutic response during oral anticoagulants use ..... 617

*Biljana Radovanović-Dinić, Vuka Katić, Aleksandar Nagorni, Ivanka Stamenković*

#### **Uloga mucinohistohemijske analize u verifikaciji malignog potencijala kolorektalnih adenoma**

Role of mucinohistochemical analysis in verification of malignant potential of colorectal adenoma..... 623

*Olga Dulović, Goran Stevanović, Branko Milošević, Eleonora Gvozdenović, Ljubiša Dokić, Nataša Popović, Svetlana Nikolić, Milorad Pavlović*

#### **Systemic manifestations in the course of meningococcal disease**

Sistemske manifestacije tokom meningokokne bolesti ..... 629

*Neđo Čutura, Vesna Soldo, Aleksandar Ćurković*

#### **Učestalost rupture materice u porođaju i rizici koje nosi po majku i novorođenče**

Frequency of uterine rupture at delivery and accompanying risks for the mother and the newborn ..... 635

*Saša Perović, Slobodan Janković*

#### **Renal transplantation vs hemodialysis: cost-effectiveness analysis**

Transplantacija bubrega naspram hemodijalize: analiza odnosa troškova i efikasnosti..... 639

*Darija Kisić Tepavčević, Tatjana Pekmezović, Jelena Drulović*

#### **Ispitivanje kvaliteta života bolesnika sa multiplom sklerozom**

Quality of life assessment in patients with multiple sclerosis ..... 645

*Radomir Živadinović, Vekoslav Lilić, Biljana Đorđević, Zorica Stanojević, Aleksandra Petrić, Goran Lilić*

#### **Uloga kolposkopije i tipizacije humanog papiloma virusa u daljem dijagnostičkom pristupu bolesnicama sa ASCUS citološkim nalazom grlića materice**

The role of colposcopy and typization of human papillomavirus in further diagnostic proceedings in patients with ASC-US cytological finding of the uterine cervix..... 651



*Predrag Kovačević, Milan Višnjić, Marina Vljaković, Tatjana Kovačević, Aleksandar Višnjić*

**Sentinel node biopsy for skin melanoma**

Biopsija čvora stražara kod melanoma kože ..... 657

AKTUELNE TEME / CURRENT TOPIC

*Siniša Ristić, Ružica Kozomara, Snježana Medenica, Zvezdana Rajkovača*

**Mogućnost primene savremenih vizualizacionih tehnika u istraživanjima moždanih funkcija**

Modern visualisation techniques in brain functions estimation ..... 663

KAZUISTIKA / CASE REPORTS

*Ružica Jurčević, Lazar Angelkov, Dejan Vukajlović, Velibor Ristić, Milosav Tomović, Dejan Kojić, Boško Đukanović*

**Sindrom Brugada – naše prvo iskustvo**

Brugada syndrome – a brand new case ..... 667

*Zorana Đaković, Sonja Vesić, Maja Tomović, Jelena Vuković*

**Oropharyngeal dysphagia as dominant and life-threatening symptom in dermatomyositis**

Orofaringealna disfagija kao dominantan i životnougrožavajući simptom kod dermatomiozitisa ..... 671

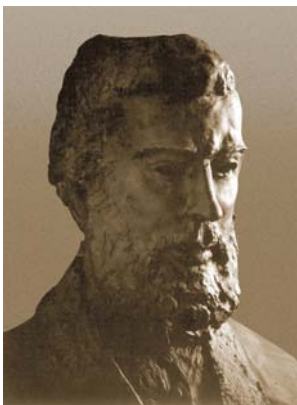
ISTORIJA MEDICINE / HISTORY OF MEDICINE

*Miodrag Stojanović, Dijana Mušović, Zoran Milošević, Dragana Nikić, Miodrag Vučić, Aleksandar Višnjić, Miroslav Vidanović*

**Razvoj preventivne delatnosti u Nišu i na jugu Srbije sa posebnom ulogom Kraljevskog vojnog Pasterovog zavoda, prvog na Balkanu**

Developing of preventive medicine in the town of Niš and the south Serbia with the specific role of Royal Military Pasteur Institute, the first in Balkan..... 675

UPUTSTVO AUTORIMA / INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS ..... 679



Dr. Emerih Lindenmajer (1806–1883), lekar, postavljen 30. jula 1839. godine za prvog načelnika sanitetske službe u srpskoj vojsci. Taj datum slavi se kao Dan sanitetske službe Vojske Srbije (vidi Uvodnik).

Dr. Emerich Lindenmeyer (1806–1883) was appointed as the first Surgeon General of the Serbian Army Medical Services on July 30, 1839. That day is today celebrated as the Day of the Serbian Army Medical Services (see Editorial).



## Jubilej za poštovanje: 170 godina sanitetske službe Vojske Srbije

### A Jubilee deserving of respect: 170 years of existence of the Serbian Armed Forces Medical Services

Veljko Todorović

Ministarstvo odbrane Republike Srbije, Sektor za materijalne resurse,  
Uprava za zdravstvo, Beograd, Srbija

Istorija saniteta i vojne medicine na prostorima Srbije duga je 170 godina i neraskidivo je povezana sa sudbinom države i naroda: u vreme čestih ratova to je bila profesionalna i patriotska obaveza lekara i drugih medicinara, a u vreme mira to je bila dužnost, pitanje prestiža i lične časti. Pošto su u istoriji Srbije periodi kada se ratovalo ili kada su vršene pripreme za borbu za oslobođenje trajali duže nego periodi nestabilnog mira, to se kao prirodna potreba nametalo mudrim vladarima da formiraju moćnu stajaću vojsku, a nakon toga i sanitetsku službu koja će davati zdravstvenu podršku i obezbeđenje trupama.

Mi danas slavimo 30. juli kao Dan sanitetske službe Vojske Srbije (VS) jer je tog datuma 1839. godine, na osnovu Ustava kneževine Srbije i Uredbe o ustrojenju garnizone vojske, naredbom ministra unutrašnjih dela, postavljen za štabnog doktora u Glavnom vojenom štabu dr Emerih Lindenmajer.\* On je prvi lekar koji je ukazom, na zakonit način, postavljen za načelnika saniteta srpske vojske. Od tog vremena u srpskoj vojsci postoji u kontinuitetu organizovan sanitet, kao važan funkcionalni deo, kao aktivna podrška i zdravstveno obezbeđenje u najtežim situacijama, u osam velikih ratova koje je od tada vodila srpska vojska. U svim tim ratovima, koji su često bili golgote i borba za opstanak, lekari, medicinski tehničari i bolničari bili su u prvim borbenim redovima, uvek spremni da istinski i do kraja pomognu povređenima, bolesnima i nesrećnima, često rizikujući i svoj život. Lečeći vojsku i narod kroz dug i težak period stvaranja srpske vojske i države, izgradili su za profesiju i sebe lično visok ugled i respektabilno mesto. Njihova dela su nam i danas svetao primer i putokaz. Sa dubokim pijetetom i poštovanjem sećamo se svih pripadnika sanitetske službe, od rodonačelnika do današnjih dana, od brojnih

neznanih junaka do velikana koji su proneli slavu srpske vojne i celokupne medicine, ne samo u lokalnim, nego i planetarnim razmerama.

Od 1839. godine kada su postavljeni temelji sanitetske službe, preko 1844. godine kada je osnovana vojna bolnica čiju delatnost i tradiciju danas nastavlja Vojnomedicinska akademija, preko 1878. godine kada je osnovana Vojna bolnica u Nišu i 1887. godine kada je u okviru tadašnje Austro-Ugarske osnovana Vojna bolnica u Novom Sadu, oslobodilačkih ratova 1912. i 1913. godine, Prvog i Drugog svetskog rata i agresije u toku 1999. godine, kao i u mirnodopskim periodima između navedenih ratnih događanja, izgrađena je savremena, dobro organizovana, funkcionalna vojna zdravstvena služba (slika 1). Ta služba obezbeđuje preventivno-medicinsku zaštitu i lečenje na primarnom (sanitetska odeljenja u jedinicama VS i samostalne ambulante), sekundarnom (Vojna bolnica u Nišu, Centar vojnomedicinskih ustanova u Beogradu i Vojnomedicinski centar u Novom Sadu) i tercijarnom nivou (Vojnomedicinska akademija). Svaki taj deo sanitetske službe je izuzetno važan, a svi skupa predstavljaju skladnu celinu čija je funkcija da obezbedi zdravstvenu podršku Vojsci Srbije u sve tri njene misije, dajući prioritet očuvanju i unapređenju zdravlja svih vojnih osiguranika. Pečat i podsticaj ostalim ustanovama u sistemu daje Vojnomedicinska akademija svojim dostignućima u službi lečenja, edukacije i naučno-istraživačkog rada, svojim kadrovskim i materijalnim resursima, sposobnostima da prati svetske trendove i novine u medicini, kao i zbog toga što je u mnogim oblastima medicine lider u Republici Srbiji. Kvalitativan napredak je postignut uključivanjem Vojnomedicinske akademije, Vojne bolnice u Nišu i Vojnomedicinskog centra u Novom Sadu u zdravstveni sistem Republike Srbije, što je podsticaj potpunoj funkcionalnoj integraciji zdravstva u Srbiji i doprinos podizanju standarda u lečenju svih građana. Istorijski napredak je postignut u ovoj godini osnivanjem Visoke škole integrisanih

\* Dr Lindenmajer zaslužan je za uređenje vojne i prve građanske zdravstvene službe u tadašnjoj Srbiji: organizovao je Vojnu bolnicu u Beogradu, vojne ambulante u Kragujevcu i Čupriji, energično se borio protiv epidemija zaraznih bolesti u vojsci, doneo veliki broj stručnih propisa i poslao prve državne pitomce (stipendiste) na studije medicine u inostranstvo. Energično je zabranjivao nadrulekarstvo.



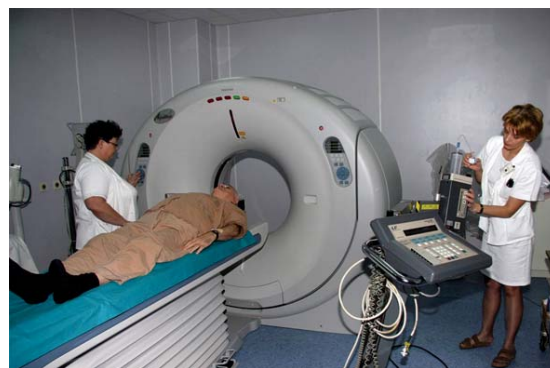
Zavojište na bojištu (Kaonik) u Prvom srpsko-bugarskom ratu  
1884–1885. godine



Operacija u Bolnici 21. srpske divizije u II svetskom ratu  
(Ub, 05.09.1944).



Savremena hirurška sala u Vojnomedicinskoj akademiji,  
Beograd



Multislajnski skener najnovije generacije, instaliran 2008. godine u  
Vojnomedicinskoj akademiji, Beograd

### Sl. 1 – Sanitet Vojske Srbije nekad i sad

akademskih studija medicine u Vojnomedicinskoj akademiji, čime će biti obezbeđena redovna i kvalitetna kadrovska popuna u celom sanitetu, a u ustanovi i vojnom zdravstvenom sistemu u celini, unaprediće se nastava, edukativni i naučno-istraživački rad.

Težišni zadaci sanitetske službe u narednom periodu su: unapređenje službe lečenja, reforma i reorganizacija, uključujući i funkcionalnu integraciju u zdravstveni sistem Republike Srbije, učešće u mirovnim i humanitarnim misijama i međunarodna vojnomedicinska saradnja. U okviru međunarodne saradnje pred nama su dva važna zadatka: multilate-

ralna vojnomedicinska vežba „MEDCEUR 2009“ koja će se održati u septembru 2009. godine u Nišu uz učešće 19 zemalja članica „Partnerstvo za mir“ i NATO-a, i učešće srpskog medicinskog tima u mirovnoj misiji u Republici Čad koja je otpočela u junu ove godine.

Na osnovu objektivnih procena može se zaključiti da sanitetska služba predstavlja respektivni resurs Ministarstva odbrane i Vojske Srbije i na unutrašnjem i na međunarodnom planu, te da može, u svakom trenutku i u potpunosti, da odgovori obavezama, zadacima i izazovima savremenog doba.



## Malignti tumori aurikule i periaurikularnog regiona

### Malignant tumors of auricula and periauricular area

Mila Bojanović\*, Emilija Živković-Marinkov\*, Dragan Veselinović†, Aleksandar Bojanović‡, Ivica Vučković§

Klinički centar Niš, \*Klinika za bolesti uva, nosa i grla, †Klinika za očne bolesti, ‡Institut za radiologiju, Niš, Srbija; Stomatološka klinika Niš, §Odeljenje za maksilofacijalnu hirurgiju, Niš, Srbija

#### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Maligni tumori spoljašnjeg uva čine sedam procenata svih tumora kože. Javljaju se najčešće u šestoj i sedmoj deceniji života. Po histološkom tipu to su bazocelularni i planocelularni karcinomi. Najčešća etiologija je ekspozicija suncu. Cilj studije bila je analiza kliničkih patohistoloških karakteristika i terapije malignih tumora aurikule i periaurikularnog regiona. **Metode.** Ukupno 155 bolesnika lečeno je u Klinici za bolesti uva, nosa i grla, Kliničkog centra u Nišu u periodu 1990–2006. Primenjena terapija bila je hirurška kod 92 (59,35%), zračna kod 3 (1,94%) i kombinacija prethodnih kod 60 (38,71%) bolesnika, prema odluci onkološkog konzilijuma. **Rezultati.** Kako je većina tumora bila u T1 stadijumu i na heliksi aurikule, tako je kod najvećeg broja bolesnika načinjena ekscizija sa primarnom rekonstrukcijom (136), dok su amputacija aurikule (9) ili semiampucija (10) urađene kod manjeg broja bolesnika. Kod većih lezija (T4 – kada je lezija veća od 4 cm) i kod prisutnih metastaza na vratu ili kod infiltrisane hrskavice ili kosti, načinjene su parotidektomija (15), radikalna disekcija vrata (25) i resekcija temporalne kosti (9). **Zaključak.** Karcinome aurikule i periaurikularnog regiona treba potvrditi biopsijom i patohistološkom analizom. Kod svih bolesnika treba načiniti adekvatnu eksciziju, eksploraciju ivica i opservaciju regiona sa odgovarajućom limfnom drenažom.

#### Ključne reči:

karcinom; uvo, neoplazme; lečenje; lečenje, ishod.

#### Abstract

**Background/Aim.** Malignant tumors of auricula and periauricular area represent seven percent of all cutaneous tumors. They appear mostly in the sixth and seventh decade. According to histological type they are basocellular and planocellular carcinomas. The most frequent etiology is the sun exposition. The aim of this study was to analyze clinical and histological characteristics and therapy of malignant tumors of auricular and periauricular area. **Methods.** Totally 155 patients were treated in ORL Clinic, Clinical Center Niš during the period 1990–2006. The patients were treated surgically (59.35%), by radiotherapy (1.94%) and by combination of the two methods (38.71%). **Results.** Since the majority of tumors were small and presented on the helix, wedge excision and primary reconstruction were performed (136), while total (9) or partial (10) auriculectomy were done in a small number of the patients. For larger lesions (T4 – when lesion is greater than 4.0 cm) and neck metastasis invading cartilage or bone, parotidectomy (15), radical neck dissection (25) and temporal bone resection (9) were performed. **Conclusion.** Carcinoma of auricular and periauricular area should be confirmed by biopsy and histopathologic evaluation. In all cases an adequate excision, margin examination and observation of appropriate lymph node draining regions should be provided.

#### Key words:

carcinoma; ear neoplasms; therapy; treatment outcome.

#### Uvod

Maligni tumori spoljašnjeg uva čine sedam procenata svih tumora kože. To je bolest šeste i sedme dekade života, ali se može javiti i kod adolescenata<sup>1-3</sup>. Većina ovih karcinoma su po histološkom tipu su bazocelularni i planocelularni<sup>1,4-6</sup>. Javljaju se najčešće kod osoba koje žive u sunčanom podneblju i smatra se da je najčešća etiologija oboljenja ekspozicija suncu.

Dok je kožnu neoplazmu spoljašnjeg uva relativno lako lečiti prostom ekscizijom i suturom u početku bolesti, teškoće se javljaju kod rekurentnih i agresivnih lezija zbog njihovog širenja prema bazi lobanje, facijalnom nervu, parotidnoj žlezdi, temporomandibularnom zglobu i kod regionalnih metastaza u limfne čvorove glave i vrata.

Kožna neoplazma koja se javlja u aurikularnom ili periaurikularnom regionu obično počinje kao mala krustozna, eritematozna ili ulcerativna promena. Dermatopatolozi su



podelili kožne karcinome u više makroskopskih tipova. Najčešći oblik karcinoma je nodularni ili solidni tip. Male teleangiektazije mogu se javiti na ivicama. Sklerozantni bazocelularni karcinom je agresivni tumor koji ima tendenciju da infiltrira dublje partije, zahvati perihondrijum i periost okolnih struktura i da se širi i na veću razdaljinu od mesta nastanka. Adenoidni bazocelularni karcinom može da se javi kao čvornovata masa koja može da metastazira i širi se preauri-

Postoperativna zračna terapija primenjena je kod većeg broja bolesnika po odluci onkološkog konzilijuma.

Analizirane su distribucija bolesnika od malignih tumora spoljašnjeg uva prema starosti i polu, kliničke karakteristike, patohistološka učestalost pojedinih tipova, vrsta primenjenog hirurškog lečenja kao i primena zračne terapije. Dat je i prikaz originalnih rešenja za rekonstrukciju defekta režnjevima ovog regiona (slika 1).



Sl. 1 – Prikaz operativnog lečenja karcinoma uške kod jednog bolesnika

kularno i u parotidne limfne čvorove. Planocelularni karcinom je agresivna lezija koja metastazira i širi se slično sklerozantnom bazocelularnom karcinomu<sup>4</sup>.

Terapija malignih tumora ovog regiona može biti hirurška (najčešće ekscizija do zdravog tkiva i primarna rekonstrukcija) zračna ili kombinacija napred navedenih procedura<sup>2,6</sup>.

Cilj rada bila je retrospektivna klinička analiza kliničkih, patohistoloških karakteristika i terapije bolesnika sa malignim tumorima spoljašnjeg uva i periaurikularnog regiona lečenih u Klinici za bolesti uva, nosa i grla Kliničkog centra u Nišu.

#### Metode

U periodu od 1990. do 2006. u Klinici za bolesti uva, nosa i grla Kliničkog centra Niš lečeno je 155 bolesnika sa malignim tumorom kože spoljašnjeg uva i periaurikularnog regiona.

Bolesnici su bili podeljeni u grupu sa neoplazmom ušne školjke, supra-, retro-, infra- i preaurikularnog regiona i spoljašnjeg ušnog hodnika.

Hirurške metode lečenja primenjene su u zavisnosti od lokalizacije primarnog tumora i njegovog širenja na okolne regione: amputacija aurikule (totalna aurikulektomija), semi-amputacija aurikule, ekscizija sa primarnom rekonstrukcijom, a disekcija vrata, parotidektomija i resekcija temporalne kosti radene su kod manjeg broja bolesnika gde su postojale indikacije verifikovane kliničkim pregledom i radiološkim ispitivanjem (ehosonografija vrata, kompjuterizovana tomografija, magnetna rezonanca), kao i patohistološkim pregledom ivica reza.

#### Rezultati

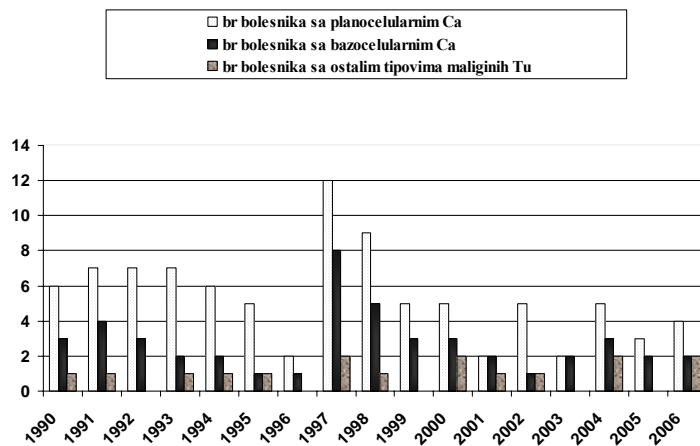
Struktura bolesnika obuhvatala je 134 muškarca (86,45%) i 21 ženu (13,55%), a starost se kretala od 29 do 89 godina. Najviše bolesnika bilo je u grupi od 61–70 godina. (40) i u grupi preko 70 godina (53) (tabela 1). Najveći broj novootkrivenih bolesnika (18) koji su lečeni u našoj ustanovi javio se 1997. od ukupno 22 lečena te godine (slika 2).

Tabela 1

#### Starosna distribucija bolesnika sa malignim tumorom spoljašnjeg uva

Uzrast (godine)	n (%)
Ispod 40	3 (1,93)
41–50	4 (2,58)
51–60	24 (15,48)
61–70	40 (25,82)
71–80	53 (34,19)
> 80	31 (20,00)
<b>Ukupno</b>	<b>155 (100,00)</b>

Najčešća lokalizacija neoplazme bila je aurikula (73 bolesnika), a od toga njen gornji pol i heliks kod 57, tragus kod devet, a lobulus kod sedam bolesnika (tabela 2). Širenje u retroaurikularnu regiju nađeno je kod 41, a u preaurikularnu kod 14 bolesnika. Spoljašnji ušni hodnik bio je zahvaćen kod desetoro obolelih, bubna duplja kod osam, mastoidni nastavak kod devetoro. Zahvaćenost parotidne žlezde (15), paraliza *n. facialis* (9) i uvećani limfni čvorovi na vratu (24) zahtevali su opsežniji hirurški zahvat od uobičajenog, ekscizije sa primarnom rekonstrukcijom. Kod jednog bolesnika nađen je istovre-



Sl. 2 – Godišnja distribucija bolesnika sa malignim tumorom spoljašnjeg uva od 1990. do 2006. godine

Tabela 2

Distribucija bolesnika sa malignim tumorom spoljašnjeg uva prema lokalizaciji primarnog tumora i zahvaćenosti susjednih regiona

Lokalizacija tumora	n (%)
Aurikula	73 (47,10)
helix i gornji pol	57 (36,77)
tragus	9 (5,81)
lobulus	7 (4,52)
Supraaurikularna regija	7 (4,52)
Infraaurikularna regija	9 (5,81)
Retroaurikularna regija	41 (26,45)
Preaurikularna regija	14 (9,03)
Spoljašnji ušni kanal	10 (6,45)
Zahvaćenost susjednih regija	
cavum tympani	8 (5,16)
mastodni nastavak	9 (5,81)
parotidna žlezda	15 (9,67)
meta promena na vratu	24 (15,48)
na mestu ranijeg ožiljka	3 (1,93)

meno maligni tumor na obe aurikule (desno: *Ca planocellulare keratodes*, levo: *Ca planocellulare verucosum*).

Bol, svrab, ulceracija, krusta i nekroza, bili su glavni simptomi i znaci kod bolesnika (tabela 3). Nije nađena statistički značajna razlika između učestalosti simptoma i znakova kod svih ispitivanih grupa, osim kod ulceracije koja je češće vidana kod bazocelularnog karcinoma.

Po TNM klasifikaciji najveći broj bolesnika sa karcinomom svrstan je u T1 (n = 31) i T4 stadijum (n = 91) (tabela 4).

Patohistološka analiza (tabela 5) pokazuje predominaciju *Ca planocellulare* (92) prema *Ca basocellulare* (47) u odnosu skoro 2:1<sup>7</sup>. Kod jednog bolesnika nalaz je bio *metastasis carcinomatososa* (u toku lečenja nije nađen primarni tumor).

Tabela 3

Klinička slika malignih tumora kože spoljašnjeg uva i periaurikularnog regiona

Simptomi i znaci	Bolesnici sa planocelularnim karcinomom	Bolesnici sa bazocelularnim karcinomom	Bolesnici sa ostalim tipovima malignih tumora	Ukupno bolesnika n (%)
	n (%)	n (%)	n (%)	
Ulceracija	22 (23,91)	16 (34,04)	1 (6,25)*	39 (25,16)
Krusta	19 (20,65)	8 (17,02)	4 (25,00)	31 (20,00)
Svrab	23 (25,00)	12 (25,53)	4 (25,00)	39 (25,16)
Bol	12 (13,04)	6 (12,76)	3 (18,75)	21 (13,55)
Krvarenje	15 (16,30)	7 (14,89)	6 (37,50)	28 (18,06)
Nekroza	16 (17,39)	8 (17,02)	5 (31,25)	29 (18,71)
Hiperemija okoline	21 (22,83)	12 (25,53)	4 (25,00)	37 (23,87)
Paraliza <i>n. facialis</i>	4 (4,35)	3 (6,38)	2 (12,50)	9 (5,81)
Vegetantni tumefakt	18 (19,56)	1 (2,13)	2 (12,50)	21 (13,55)
Opturacija spoljašnjeg ušnog hodnika	7 (7,61)	–	–	7 (4,52)

\*  $p = 0,048$  prema grupi sa bazocelularnim karcinomom

**Tabela 4**  
**Distribucija bolesnika prema TNM stadijumima karcinoma spoljašnjeg uva**

TNM stadijum	n (%)
T <sub>1</sub> (do 2 cm)	91 (58,71)
T <sub>2</sub> (od 2 do 4 cm)	18 (11,61)
T <sub>3</sub> (preko 4 cm)	15 (9,68)
T <sub>4</sub> (infiltracija okoline)	31 (20,00)
Ukupno	155 (100,00)

TNM – tumor, nodus, metastaza

**Tabela 5**  
**Distribucija bolesnika prema patohistološkom nalazu**

Patohistološki tip tumora	n (%)
<i>Carcinoma basocellulare</i>	47 (30,32)
<i>Carcinoma planocellulare</i>	92 (59,35)
<i>Carcinoma basocellulare i planocellulare</i>	4 (2,58)
<i>Carcinoma basosquamocellulare</i>	11 (7,10)
<i>Metastasis carcinomatosa</i>	1 (0,65)

Primenjena terapija bila je hirurška kod 92 (59,35%), zračna kod 3 (1,94%) i kombinacija prethodnih kod 60 (38,71%) bolesnika po odluci onkološkog konzilijuma (tabela 6). Bolesnici sa bazocelularnim karcinomom tretirani su u svim slučajevima samo operativnom terapijom. Ovakav način lečenja kod bolesnika sa planocelularnim karcinomom zastupljen je kod 48,91% slučajeva, dok kod ostalih vrsta nije primenjivan. Razlike između učestalosti primene isključivo operativne terapije bile su između svih grupa visoko statistički značajne, što važi i za razlike između učestalosti primene operativne i postoperativne radioterapije između svih grupa.

Hirurško lečenje kod većine bolesnika (136 bolesnika) sastojalo se od ekscizije i primarne rekonstrukcije, dok su amputacija (9) i semiampucija (10) učinjene kod manjeg broja lečenih. U zavisnosti od proširenosti procesa, patohistološkog

tipa tumora i radiološkog nalaza učinjena je kod 25 bolesnika disekcija vrata, kod 15 parotidektomija i kod devetoro bolesnika parcijalna resekcija temporalne kosti (tabela 7).

Posle resekcije neoplazme, aurikula je rekonstruisana na više načina koji su bili limitirani samo kreativnošću hirurga, primarnom suturom, rekonstrukcijom kompozitnim graftom sa drugog uva i lokalnim režnjevima (slika 1).

Stopa preživljavanja bila je 151/155 posle 2 godine, a stopa rekurencije bila je 24/155 posle 3 godine.

#### Diskusija

Dijagnoza tumora aurikule i periaurikularnog regiona bazira se na anamnezi, kliničkoj slici, a definitivna dijagnoza na patohistološkom nalazu uklonjenog tkiva. U zavisnosti od proširenosti procesa i zahvatanja okolnih struktura i vrata, potreb-

**Tabela 6**  
**Distribucija bolesnika sa malignim tumorom spoljašnjeg uva prema vrsti primenjene terapije**

Vrsta primenjene terapije	Bolesnici sa planocelularnim karcinomom n (%)	Bolesnici sa bazocelularnim karcinomom n (%)	Bolesnici sa ostalim tipovima malignih tumora n (%)	Ukupno bolesnika n (%)
Operativna	45 (48,91)*	47 (100,00)†	0 (0,00)	92 (59,35)
Radioterapija	3 (3,26)	0 (0,00)	0 (0,00)	3 (1,94)
Operativna + radioterapija	44 (47,83)*, †	0 (0,00)†	16 (100,00)	60 (38,71)
Ukupno	92 (59,35)	47 (30,32)	16 (10,32)	155 (100,00)

\*  $p < 0,001$  prema grupi sa bazocelularnim karcinomom; †  $p < 0,001$  prema grupi sa ostalim tipovima malignih tumora

**Tabela 7**  
**Distribucija bolesnika sa malignim tumorom spoljašnjeg uva prema primenjenom hirurškom tretmanu**

Operacija	n
Amputacija aurikule	9
Semiampucija aurikule	10
Ekscizija i primarna rekonstrukcija	136
Disekcija vrata	25
Parotidektomija	15
Resekcija temporalne kosti	9

no je uraditi dodatne dijagnostičke metode kao što su ehoto-mografija, kompjuterska tomografija ili magnetna rezonaca.

Pored lokalne invazije tumora, kao prognostičkog znaka, ništa manje važni znaci su regionalno širenje tumora i pojava metastaza.

Pošto se različiti tipovi karcinoma ponašaju različito, za kliničara je važno da poznaje njihove načine širenja (lokalno, regionalno, udaljeno). Ovo omogućava adekvatnu eksciziju, eksploraciju ivica i opservaciju regiona sa odgovarajućom limfnom drenažom.

Većina kožnih karcinoma vidi se na heliksu<sup>7,8</sup>, što je u skladu i sa našim nalazima. Mnoge studije navode da se skoro 50% neoplazmi javlja na heliksu. Ovo se objašnjava projekcijom heliksa od linije glave, pa je, samim tim, ta oblast izloženija sunčevom zračenju. Iz istih razloga se većina ovakvih lezija javlja kod muškaraca, jer duža kosa kod žena štiti aurikulu, posebno heliks. Tumori koji se jave na heliksu imaju tendenciju širenja duž heliksa anteriorno i posteriorno.

S obzirom na to da je većina tumora mala i često na heliksu, ekscizija može biti izvedena primarnom suturom<sup>9</sup>. Mali Burrow trouglovi omogućuju približavanje ivica rane, smanjenje tenzije i bolje spajanje koje neće deformisati uvo. Za veće ekscizije do 1 cm na periferiji uva, može se upotrebiti kompozitni transplantat sa suprotne aurikule, polovine debljine originalnog defekta. Ovim se ostvaruje podela defekta između dve aurikule i obezbeđuje bilateralna simetrija.

Bliže centru postavljene lezije mogu se ekscidirati, a defekt pokriti transplantatom parcijalne ili pune debljine. Kompozitni transplantati mogu se koristiti, kad je izvodljivo, sa postaurikularnog regiona suprotnog uva<sup>1,4</sup>.

Kod većih lezija, hirurrg se mora pripremiti za eventualnu amputaciju uške, parcijalnu ili kompletnu resekciju temporalne kosti, parotidektomiju, parcijalnu mandibulektomiju ili radikalnu diskciju vrata<sup>10</sup>.

O profilaktičkoj parotidektomiji treba razmišljati kada lezija veća od 4 cm ili kada je tumor zahvata hrskavicu ili kost<sup>10</sup>. Radikalna parotidektomija je indikovana kod malignih tumora koji infiltrišu stablo facijalnog živca<sup>4</sup>. Disekcija vrata sa parotidektomijom je indikovana kada se ehosonografijom ustanove suspektni limfni čvorovi, kada je tumor veći od 4 cm, kada je prisutna infiltracija hrskavice i kada je vertikalna debljina tumora veća od 5 mm<sup>11</sup>.

Pojedinačne primarne lezije imaju veću incidenciju metastaziranja nego multipli karcinomi kože glave i vrata<sup>4</sup>. Većina karcinoma kože glave i vrata metastazira u limfne čvorove parotidnog i suprahoidnog regiona. Retke su metastaze u subokcipitalnim nodusima, što je u skladu sa našim nalazima. Dubina invazije, veličina tumora, stepen ćelijske diferencijacije i nekompletna primarna ekscizija margina

mogu pomoći u identifikaciji lezija sa rizikom od metastaziranja. Clark i Soutar<sup>12</sup> navode stopu metastaziranja za maligne tumore ovog regiona od 11,2%.

Ako se nađe širenje tumora u temporomandibularni zglob, parotidu, mandibulu ili temporalnu kost, rekurenca je česta. Takođe, kod ovih bolesnika teško je uraditi blok resekciju i potrebno je sporeviti postoperativnu radioterapiju<sup>12</sup>. U našoj studiji postoji veliki broj bolesnika (n = 60) sa sprovedenom postoperativnom zračnom terapijom, što korelira sa velikim brojem preoperativno klinički klasifikovanih tumora T4 stadijuma (n = 31).

Drugi primarni način lečenja koji se u novije vreme češće koristi je Mohs histografska hirurgija jer omogućuje sekvencijsko uklanjanje tumora kroz meko tkivo do mesta najdaljeg širenja<sup>13</sup>.

Zračna terapija nastavlja da bude kontroverzna kao primarni način lečenja za kožne maligne tumore<sup>2</sup>. Neki autori tvrde da ne dovodi do deformiteta uške niti izaziva perihondritis. Drugi, izbegavaju radioterapiju, izuzev posle hirurškog lečenja. Radioterapija je najvažnija kada je tumor inoperabilan ili kada bolesnici ne mogu da se operišu zbog teškog opšteg stanja. Radioterapiju treba izbegavati kod mlađih ljudi, jer ona sama može biti karcinogena. Radijacijski ožiljci imaju tendenciju da se pogoršavaju sa godinama i kod bolesnika se može pojaviti atrofija kože, hrskavice i teleangiektazije, a u kasnijem toku i karcinom. Ona se svakako može razmatrati kod starijih bolesnika i opsežnih tumora kao palijativna metoda.

Kriohirurgiju, elektrodisekciju i kiretažu koristili su mnogi dermatolozi za lečenje kožnih karcinoma<sup>11</sup>. Ove modalitete treba izbegavati kod agresivnih i rekurentnih karcinoma kože. Iako u literaturi ima mnogo radova o malignim tumorima ovog regiona, teško je uporediti podatke zbog zajedničkog komentarisanja tumora spoljašnjeg i srednjeg uva, nerazdvajanja različitih patohistoloških tipova tumora u analizi rezultata, kao i metastaziranja<sup>7,8,12-15</sup>. Naša studija predstavlja jednu od najvećih koja daje podatke o malignim tumorima u ovom regionu od strane jednog medicinskog centra.

## Zaključak

Rana dijagnoza i radikalna ekscizija tumora aurikule i periaurikularnog regiona je *conditio sine qua non* uspešnog lečenja. Pri hirurškom radu treba voditi računa o pažljivom manipulisanju tkivom u cilju smanjenja operativne traume. Mali defekti mogu biti sanirani primarnom suturom ili kompozitnim transplantatom, a veći defekti mogu biti zatvoreni lokalnim reznjevima. Bolji rezultati postižu se ukoliko se primeni što jednostavnije rešenje za nadoknadu tkiva. Sve margine reza trebalo bi da budu histološki ispitane.

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

1. Alberti PW, Ruben RJ. Tumors of the external ear. In: Alberti PW, Ruben RJ, editors. Otolgic medicine and surgery. London: Churchill Livingstone; 1988. p. 1398-1406.
2. Antoniv VF, Stiof LD, Kuznetsov OG. Methodological aspects of radiotherapy in the treatment of ear neoplasms. Vestn Otorinolaringol 1991; (2): 15-8.
3. Byers R, Kesler K, Redmon B, Medina J, Schwarz B. Squamous carcinoma of the external ear. Am J Surg 1983; 146(4): 447-50.
4. Hughes GB. Benign tumors of the temporal bone. In: Hughes GB, Pensak ML, editors. Clinical otology New York: Thieme Medical Publishers; 1985. pp. 313-34.



5. *Levine H.* Cutaneous carcinoma of the head and neck: management of massive and previously uncontrolled lesions. *Laryngoscope* 1983; 93(1): 87–105.
6. *Devaney KO, Boschman CR, Willard SC, Ferlito A, Rinaldo A.* Tumours of the external ear and temporal bone. *Lancet Oncol* 2005; 6(6): 411–20.
7. *Leferink VJ, Nicolai JP.* Malignant tumors of the external ear. *Ann Plast Surg* 1988; 21(6): 550–4.
8. *Federspil PA, Pauli UC, Federspil P.* Squamous epithelial carcinomas of the external ear. *HNO* 2001; 49(4): 283–8. (German)
9. *Osborne RF, Shaw T, Zandifar H, Kraus D.* Elective parotidectomy in the management of advanced auricular malignancies. *Laryngoscope* 2008; 118(12): 2139–45.
10. *Staudenmaier R, Grevers G, Kastenbauer E.* Local reconstruction of partial auricular defects. *Laryngorhinootologie* 2001; 80(11): 655–61. (German)
11. *Essers BA, Dirksen CD, Nieman FH, Smeets NW, Krekels GA, Prins MH, et al.* Cost-effectiveness of Mohs Micrographic Surgery vs Surgical Excision for Basal Cell Carcinoma of the Face. *Arch Dermatol* 2006; 142(2): 187–94.
12. *Clark RR, Soutar DS.* Lymph node metastases from auricular squamous cell carcinoma. A systematic review and meta-analysis. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008; 61(10): 1140–7.
13. *Nordin P, Stenquist B.* Five-year results of curettage-cryosurgery for 100 consecutive auricular non-melanoma skin cancers. *J Laryngol Otol* 2002; 116(11): 893–8.
14. *Cordova A, Pirrello R, D'Arpa S, Moschella F.* Superior pedicle retroauricular island flap for ear and temporal region reconstruction: anatomic investigation and 52 cases series. *Ann Plast Surg* 2008; 60(6): 652–7.
15. *Brantsch KD, Meisner C, Schönfisch B, Trilling B, Wehner-Caroli J, Röcken M, et al.* Analysis of risk factors determining prognosis of cutaneous squamous-cell carcinoma: a prospective study. *Lancet Oncol* 2008; 9(8): 713–20.

Rad je primljen 28. XI 2008.



## Uticaj polimorfizma c.-1639G>A VKORC1 gena na terapijski odgovor u toku primene oralnih antikoagulanasa

The c.-1639G>A polymorphism of the VKORC1 gene and his influence on the therapeutic response during oral anticoagulants use

Mirjana Kovač\*, Ljiljana Rakićević†, Aleksandar Maslač\*, Dragica Radojković†

\*Institut za transfuziju krvi Srbije, Beograd, Srbija;

†Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Beograd, Srbija

### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Pojedinačni nukleotidni polimorfizam c.-1639G>A u promotorskom regionu gena za vitamin K epoksid-reduktazu (VKORC1), odgovoran je za varijabilnost odgovora u toku primene oralnih antikoagulanasa (OA). Cilj našeg istraživanja bio je da utvrdimo učestalost polimorfizma c.-1639G>A i njegov uticaj na dozu antikoagulanasa acenokumarola, te da procenimo povezanost varijabilnosti u odgovoru na terapiju sa prisutnim polimorfizmom. **Metode.** U ispitivanju je bilo uključeno 200 bolesnika koji su primali OA (43 malu dozu, 127 srednju i 30 veliku dozu). **Rezultati.** Kod 40 (93%) bolesnika lečenih malom dozom OA, dokazano je prisustvo A-alela. U grupi koja je primala veliku dozu OA, 13 (43,3%) bolesnika bili su nosioci A-alela, heterozigoti (GA genotip), i nijedan od njih nije bio nosilac homozigotne varijante AA genotipa. Posmatrano u celini, u grupi sa AA genotipom doza održavanja OA bila je 10 mg nedeljno, sa GA 19 mg i sa GG genotipom 26 mg. Kod nosilaca GG genotipa bile su potrebne 2,6 puta veće doze antikoagulanasa za postizanje terapijskog raspona INR u odnosu na nosioce AA genotipa ( $p < 0,0001$ ). Retrospektivnom analizom utvrđeno je da je 33 (16,5%) bolesnika u toku uvođenja terapije bilo predozirano, a kod 11 (5,5%) bolesnika predoziranost je bila udružena sa pojavom krvarenja. Od 33 predozirana bolesnika, 27 su bili nosioci AA genotipa, a šest nosioci GA genotipa ( $p < 0,000001$ ). **Zaključak.** Na individualnu osetljivost na antikoagulanse VKORC1 ima značajan uticaj. Nosiocima AA genotipa potrebne su 2,6 puta manje doze antikoagulanasa za održavanje terapijskog raspona INR u odnosu na nenosiocima. Farmakogenetski testovi mogli su da ukažu na visok rizik od predoziranja kod 28,5% naših bolesnika, nosioca AA genotipa, pre uvođenja terapije OA.

### Ključne reči:

polimorfizam, genetički; antikoagulansi; lekovi, odnos doza-reakcija; lekovi, korišćenje.

### Abstract

**Background/Aim.** A single nucleotide polymorphism c.-1639G>A in the promoter region of vitamin K-epoxide reductase (VKORC1) gene has been found to account for most of the variability in response to oral anticoagulants (OA). The aim of the study was to determine the incidence and the effect of c.-1639G>A polymorphism on the acenocoumarol dosage requirements in the group of patients under stable anticoagulation, and to estimate the variability in response to OA. **Methods.** Our study included 200 consecutive patients requiring low ( $n = 43$ ), medium ( $n = 127$ ) and high ( $n = 30$ ) acenocoumarol dose. **Results.** Out of 43 low dose patients, 40 (93 %) carried the A allele. The A allele was less frequent in the group of 30 patients requiring high dose: among these patients 13 (43.3%) carried the A allele in the heterozygous form and none of them carried AA genotype. The patients with GG genotype required 2.6 times higher dose than the patients carriers of AA genotype ( $p < 0.0001$ ). In 33 patients (16.5%) the overdose occurred during the initiation of anticoagulant therapy and in 11 patients (5.5%) it was associated with bleeding. Out of the group of 33 overdosed patients, 27 and 6 patients carried AA and GA genotype, respectively ( $p < 0.000001$ ). **Conclusion.** VKORC1 significantly influenced OA dose and predicted individuals predisposed to unstable anticoagulation. The carriers of AA genotype required 2.6 time lower doses of OA than the carriers of GG genotype. Pharmacogenetic testing could predict a high risk of overdose among 28.5 % of our patients - carriers of AA genotype, before anticoagulation therapy initiation.

### Key words:

polymorphism, genetic; anticoagulants; dose response relationship; drug utilisation

## Uvod

Oralni antikoagulansi (OA), uključujući varfarin i acenokumarol, jesu lekovi koji imaju najširu upotrebu u prevenciji i lečenju bolesnika sa arterijskim i venskim tromboembolizmom<sup>1</sup>. Efektivnost i sigurnost primene antikoagulanasa zavisi od održavanja raspona protrombinskog vremena, izraženog kao internacionalni normalizovani odnos (*International normalized ratio* - INR), u okviru terapijskog raspona<sup>2</sup>. Krvarenje je najčešća i najozbiljnija komplikacija koja se javlja u toku primene antikoagulantne terapije. Rizik od pojave krvarenja najveći je u toku uvođenja terapije i prvih nekoliko meseci od uključenja terapije. Kod starijih i osoba koje su nosioci mutacije CYP2C9 rizik je posebno izražen<sup>3,4</sup>. Neophodna doza oralnog antikoagulanasa, potrebna za održavanje protrombinskog vremena promenjiva je i zavisi od više faktora: starosti, režima ishrane, interakcija sa ostalim lekovima i postojećih bolesti, kao stečenih faktora<sup>2,4</sup>. Pored stečenih faktora, na odgovor u toku primene OA utiče genetski faktor. Postoje dva ključna genetski determinisana enzimska sistema koja su važna za metabolizam i aktivnost antikoagulanasa. Prvi je citohrom P450 2C9 (CYP2C9) odgovoran za metabolizam OA na nivou jetre, odnosno farmakokinetiku antikoagulanasa, a drugi je enzim vitamin K epoksid-reduktaza (VKORC1) odgovoran za farmakodinamiku antikoagulanasa. Dejstvo oralnih antikoagulanasa ostvaruje se preko direktne inhibicije vitamin K reduktaze, ključnog enzima u metabolizmu vitamina K, bez čijeg prisustva ne može da se odvija gama karboksilacija vitamin K zavisnih faktora koagulacije II, VII, IX i X, što dovodi do sinteze funkcijski neaktivnih faktora<sup>5</sup>. Genetske varijabilnosti na nivou VKORC1 gena su odgovorne za različitu osetljivost na OA<sup>5,6</sup>. Opisano je 28 polimorfizama ovog gena, a tri glavna haplotipa pokrivaju uglavnom svu genetsku varijabilnost VKORC1 gena. Njihova distribucija u beloj populaciji za VKORC1\*2 je 42%, za VKORC1\*3 38% i za VKORC1\*4 20%<sup>6</sup>. Haplotip VKORC1\*2 uključuje polimorfizam jednog nukleotida (*single nucleotide polymorphism* SNP) u promotorskom regionu c.-1639G>A i navodi se kao razlog za većinu varijabilnosti u odgovoru na antikoagulantnu terapiju<sup>6,7</sup>. Do sada objavljena istraživanja jasno ukazuju na uticaj prisutnog polimorfizma VKORC1 gena u toku uvođenja terapije, pri čemu je kod nosioca AA genotipa potrebno manje vremena za postizanje terapijskog raspona INR, ali i za postizanje INR > 4 u odnosu na nenosioce<sup>8-10</sup>. Od 2007. godine prema preporuci *Food and Drug Association* (FDA) svi lekari koji su uključeni u lečenje ovih bolesnika, a i sami bolesnici, upoznati su sa farmakogenetskim testiranjem pre uvođenja terapije OA<sup>11</sup>.

Cilj našeg istraživanja, prvog takve vrste kod nas, bio je da utvrdimo učestalost polimorfizma c.-1639G>A kod naših bolesnika i njegov uticaj na potrebnu dozu oralnog antikoagulanasa, te da procenimo povezanost varijabilnosti u odgovoru na terapiju sa prisutnim polimorfizmom.

## Metode

U istraživanje je bilo uključeno ukupno 200 bolesnika koji se redovno kontrolišu u Centru za ispitivanje po-

remećaja hemostaze, Instituta za transfuziju krvi Srbije, a kod kojih se primenjuje oralna antikoagulantna terapija. Kao antikoagulans korišćen je acenokumarol. U grupu ispitanika bilo je uključeno 116 muškaraca i 84 žene starosti od 20 do 82 godine, medijana 61 godina. U odnosu na dozu leka kod 43 bolesnika primenjivana je mala doza (7 mg ili manje nedeljno), kod 127 srednja doza (7–28 mg nedeljno) i kod 30 velika doza OA (28 mg ili više nedeljno). Kriterijum za uključivanje bio je da su bolesnici na stabilnoj antikoagulantnoj terapiji, odnosno u terapijskom rasponu INR poslednja 3 meseca. Bolesnici sa poremećajem funkcije jetre i bubrega, malignim bolestima i oni kod kojih se primenjuje amiodaron bili su isključeni iz istraživanja. Uzorci venske krvi za kontrolu INR i genetske analize polimorfizma c.-1639G<A uzimani su na natrijum-citratu.

Genetsko ispitivanje polimorfizma c.-1639G<A urađeno je u Institutu za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo. Analiza je vršena umnožavanjem željenog segmenta gena reakcijom lančanog umnožavanja polimerazom (*Polymerase Chain-Reaction* - PCR) direktno iz uzoraka pune krvi, bez prethodne izolacije DNK. Reakcija lančanog umnožavanja DNK odvijala se u smeši zapremine 25  $\mu$ L koja je sadržala: 50 mM Tris-HCl pH 9; 0,1% Triton X-100; 5 mM MgCl<sub>2</sub>; 200  $\mu$ M dATP; 200  $\mu$ M dTTP; 200  $\mu$ M dGTP; 200  $\mu$ M dGTP; po 10 pmol graničnika za umnožavanje segmenta gena za VKORC1; 2U Taq polimeraze i 1  $\mu$ L venske krvi. U reakciji su korišćeni graničnici: 5'-GCCAGCAGGAGAGGGAAATA -3' i 5'-AGTTTGGACTACAGGTGCCT -3' a uslovi umnožavanja su bili sledeći: 98°C 3 min, 55°C 3 min (5X); 98°C 5 min; 72°C 7 min ← Taq plimeraza; 94°C 5 min; 94°C 1 min, 57°C 1 min, 72°C 1 min (30X); 72°C 10 min.

Nakon toga vršena je digestija restrikcionim enzimom MspI (New England BioLabs), prema uputstvu proizvođača i elektroforetsko razdvajanje dobijenih fragmenata DNK na gelu agaroze. Vizuelizacija traka na gelu vršena je bojenjem etidium bromidom<sup>12</sup>.

Posle obavljenih genetskih analiza obavljeno je retrospektivno istraživanje svih podataka za bolesnike koji su bili uključeni u studiju u cilju ispitivanja uticaja prisutnog polimorfizma na varijabilnost i terapijski odgovor u toku primene OA. Podaci o dozama acenokumarola, postignutim vrednostima INR, promenama INR koje su dovodile do izlaska iz željenog terapijskog raspona, pojavi krvarenja, te prisutnim drugim bolestima i uzimanju lekova koji mogu imati efekat na OA, uzeti su iz medicinske dokumentacije koja postoji za svakog bolesnika.

Istraživanje je obavljeno u skladu sa Helsinškom deklaracijom iz 1975, revidiranom 1983 godine, uz odobrenje Etičkog komiteta Instituta za transfuziju krvi Srbije i pismenu saglasnost svih bolesnika koji su bili uključeni u istraživanje.

Za ispitivanje značajnosti razlike korišćena su tri testa primenom SPSS softvera. Za neparametarske podatke korišćeni su  $\chi^2$  kvadrat i Fišerov test, a za parametarske Studentov *t*-test. Verovatnoće < 0,05 smatrane su statistički značajnim.

**Rezultati**

Karakteristike studijske populacije i distribucija učestalosti polimorfizma c.-1639G>A prikazane su u tabeli 1.

U tabeli 3 i na slici 1 prikazan je raspon i srednja doza acenokumarola kod bolesnika sa različitim genotipovima. U grupi sa AA genotipom (homozigoti) prosečna nedeljna doza acenokumarola za održavanje terapijskog raspona INR izno-

**Tabela 1****Karakteristike studijske populacije (n = 200)**

Karakteristike	Vrednosti
Godine života, medijana (raspon)	61 (20–82)
Pol [n (%)]	
muškarci	116 (58)
žene	84 (42)
Primarni razlog za primenu antikoagulansa [n (%)]	
AF/zamena valvula	157 (78)
DVT/PE	43 (22)
Nedeljna doza acenokumarola [n (%)]	
mala ( $\leq 7$ mg)	43 (21,5)
srednja (7–28 mg)	127 (63,5)
velika ( $\geq 28$ mg)	30 (15)
VKORC1 c. – 1639 G>A [n (%)]	
homozigoti (AA)	57 (28,5)
heterozigoti (GA)	90 (45)
normalan genotip (GG)	53 (26,5)

AF – atrijumska fibrilacija, DVT – duboka venska tromboza, PE – plućna embolija, VKORC1 – vitamin K – epoksid reduktaza

Kod 57 (28,5%) bolesnika bio je prisutan AA genotip, kod 90 (45%) GA, a kod 53 (26,5%) GG genotip. Učestalost genotipova c.-1639G>A polimorfizma u odnosu na dozu leka prikazana je u tabeli 2. U grupi od 43 bolesnika sa malom dozom leka, 40 (93%) bili su nosioci A alela. A alel bio je mnogo manje zastupljen u grupi od 30 bolesnika koji su primali veliku dozu leka. Među tim bolesnicima 13 (43%) bili su nosioci A alela u heterozigotnoj formi, a nijedan od njih nije bio nosilac homozigotne varijante AA genotipa. U grupama koje su primale malu i veliku dozu antikoagulansa nađena je statistički visokoznačajna razlika između nosilaca različitih genotipova, dok u grupi lečenoj srednjom dozom nije registrovana statistički značajna razlika između nosilaca različitih genotipova (tabela 2).

sila je 10 mg (raspon 2–21). U grupi sa GA genotipom (heterozigoti) prosečna doza bila je 19 mg (raspon 6–49 mg), a u grupi sa GG genotipom 26 mg (raspon 8–70 mg). Podaci pokazuju da su bolesnicima sa GG genotipom bile potrebne 2,6 puta veće doze leka u odnosu na bolesnike sa AA genotipom i ta razlika bila je statistički visoko značajna ( $p < 0,0001$ ).

Retrospektivnom analizom utvrđeno je da su samo bolesnici sa A-alelom imali problem u toku uvođenja terapije (tabela 4). Podaci pokazuju da je 33 (16,5%) bolesnika bilo predozirano u toku uvođenja terapije, a kod 11 (5,5%) bolesnika došlo je do pojave krvarenja različite lokalizacije (4 melena, 2 hematurnija, 4 hematomi i 1 epistaksa). U grupi predoziranih bolesnika, 27/57 (47%) bili su nosioci AA genotipa (homozigoti), a 6/90 (7%) nosioci GA genotipa (heterozigoti) ( $p < 0,000001$ ). U

**Tabela 2****Distribucija učestalosti genotipa za c. – 1639G>A polimorfizam VKORC1 gena u grupama bolesnika sa različitim dozom acenokumarola**

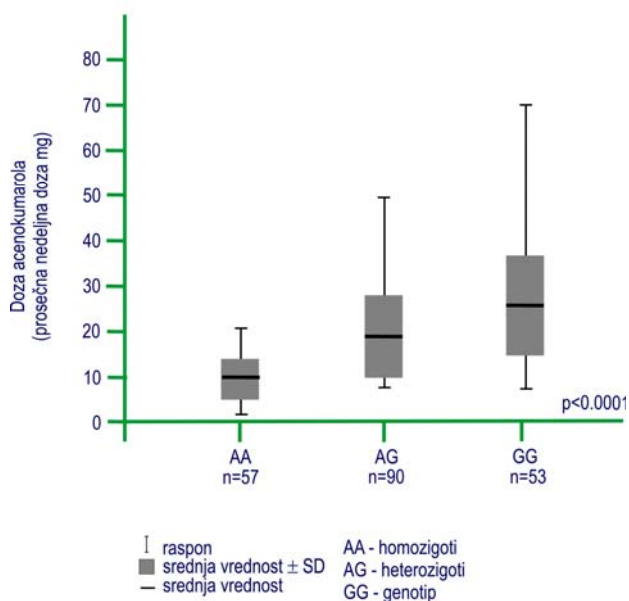
Bolesnici	Nedeljna doza acenokumarola [n (%)]		
	Mala [43 (100)]	Srednja [127(100)]	Velika [30 (100)]
AA (homozigoti)	25 (58,1)	32 (25,2)	0 (0)
GA (heterozigoti)	15 (34,9)	62 (48,8)	13 (43,3)
GG (normalan genotip)	3 (7)	33 (26)	17 (56,7)
AA : GA	0,000524	0,158158	0,001759
AA : GG	<i>p</i> 0,000003	0,563724	0,000001
GA : GG	0,068845	0,465505	0,01855

**Tabela 3****Distribucija prosečnih nedeljnih doza acenokumarola potrebnih za postizanje terapijskog raspona u odnosu na prisutan polimorfizam**

Genotip	Nedeljna doza acenokumarola (mg)	<i>p</i>
	$\bar{x} \pm SD$ (raspon)	
AA	10 $\pm$ 4,5 (2–21)	< 0,0001 (GG:AA)
GA	19 $\pm$ 9 (6–49)	
GG	26 $\pm$ 12 (8–70)	

AA – homozigoti, GA – heterozigoti, GG – normalan genotip





Sl. 1 – Raspon doze acenokumarola u odnosu na genotip za c. – 1639 G>A polimorfizam VKORC1 gena

grupi bolesnika koji su nosioci AA genotipa srednja vrednost INR kod predoziranih bila je 6,2 (4,2–12), dok je u grupi nosilaca GA genotipa srednja vrednost INR bila 4,9 (4,15–6,1). U odnosu na postignuti nivo INR između dve grupe bolesnika utvrđena je statistički značajna razlika ( $p = 0,01687$ ). Kod bolesnika koji su imali krvarenje iz grupe sa AA genotipom određena je prosečna srednja vrednost INR 7,5 (4,9–12), a u grupi sa GA genotipom 4,5 (4,15–5); razlika između dve grupe nije bila statistički značajna ( $p = 0,1133$ ) (tabela 4).

studije koja je, prva takve vrste u našoj zemlji, bio je da procenimo efekat c.-1639G>A polimorfizma na dozu antikoagulansa, potrebnu za održavanje terapijskog raspona INR kod stabilnih bolesnika i povezanost varijabilnosti u odgovoru na terapiju sa prisutnim polimorfizmom.

Naše istraživanje potvrđuje važnost i ulogu koju ima genotip c.-1639G>A u osetljivosti na antikoagulantnu terapiju. U grupi od 43 bolesnika kod kojih je primenjivana mala doza OA za održavanje terapijskog raspona INR, 40 (93%) su nosioci A-alela, dok je ta varijanta prisutna kod 13 bolesnika (43,3%), kod kojih je primenjivana visoka doza OA i to u heterozigotnoj, a nijedan u homozigotnoj formi. A-alel je prisutan kod 94 (74%) bolesnika koji su primali srednju dozu antikoagulansa. Statistički visokoznačajna razlika uočena je između bolesnika sa različitim genotipom, u okviru grupa lečenih malom i velikom dozom antikoagulansa, dok između bolesnika različitih genotipova u okviru grupe koja je primala srednju dozu leka nije nađena statistički značajna razlika.

Slične rezultate nalazimo u studiji Montesa i saradnika, u kojoj više od 90% bolesnika, kod kojih se primenjuje mala doza acenokumarola, su nosioci A-alela. U studiji Geisena i sar. <sup>7</sup> u koju je bilo uključeno 50 bolesnika i 200 zdravih osoba, pokazano je da je kod 93% bolesnika sa preosetljivošću na OA prisutna homozigotna varijanta za A-alel.

U odnosu na prosečnu nedeljnu dozu održavanja stabilnog INR, u grupi sa AA genotipom potrebna doza održavanja bila je 10 mg (2–21), u grupi sa GA genotipom 19 mg (6–49), a u grupi sa GG genotipom 26 mg (8–70). Podaci pokazuju da su kod nosioca GG genotipa potrebne 2,6 puta veće doze leka u odnosu na nosioce AA genotipa. U studijama Osmana i sar. i Sonce i sar. <sup>14,15</sup>, takođe, ukazano je na

Tabela 4

Distribucija predoziranih bolesnika u toku uvođenja terapije u odnosu na prisutan polimorfizam c. – 1639G>A VKORC1 gena

Bolesnici	Utvrđeni polimorfizam c.-1639 G>A [n (%)]			p
	AA [57(100)]	GA [90(100)]	GG [53(100)]	
Predozirani [n (%)]	27 (47)	6 (7)	0	< 0,000001
Predozirani sa krvarenjem [n (%)]	8 (14)	3 (3)	0	0,023325
INR medijana (raspon)				
predozirani	6,2 (4,2–12)	4,9 (4,15– 6,1)	0	0,01687
predozirani sa krvarenjem	7,5 (4,9–12)	4,5 (4,15– 5)	0	0,1133

AA – homozigoti, GA – heterozigoti, GG – normalan genotip, INR – internacionalni normalizovani odnos

Prosečna starost kod predoziranih bolesnika sa krvarenjem bila je 69 godina (raspon 50–81), a u grupi predoziranih bez krvarenja 59 godina, (raspon 26–71); razlika je bila statistički značajna ( $p = 0,0312$ ).

## Diskusija

Nedavno otkrivena genetska varijabilnost u sklopu gena koji je odgovoran za vitamin K reduktaza kompleks, nazvan VKORC1 gen, povezana je sa osetljivošću na oralnu antikoagulantnu terapiju. Polimorfizam c.-1639G>A označen je kao deo haplotipa VKORC1\*2 i njegova udruženost sa povećanom osetljivošću na acenokumarol najpre je dokazana u grupi zdravih osoba, a potom i u grupama bolesnika kod kojih se primenjuje varfarin ili acenokumarol <sup>6,7,12–16</sup>. Cilj naše

činjenicu da je doza acenokumarola potrebna za održavanje terapijskog raspona najveća u grupi sa GG genotipom u odnosu na nosioce GA i AA genotipa.

Primena oralne antikoagulantne terapije udružena je sa rizikom od krvarenja kod predoziranih bolesnika, naročito u toku uvođenja terapije. Imajući u vidu tu činjenicu, u našem ispitivanju procenjivali smo povezanost utvrđenog polimorfizma sa incidencijom predoziranosti u toku prva tri meseca od uvođenja terapije. Naši rezultati pokazuju da su samo bolesnici, nosioci A-alela, imali rizik od predoziranja u toku uvođenja terapije. U grupi od 33 predozirana bolesnika, kod 27 utvrđeno je da su nosioci genotipa AA (homozigoti), a šest bolesnika bili su nosioci GA genotipa (heterozigoti), dok nijedan sa GG genotipom nije imao problem u toku uvođenja terapije. U grupi predoziranih bolesnika, kod 11 (5,5%) do-

šlo je do krvarenja, a kod pet je primenjivana sveže smrznuta plazma da bi se zaustavilo krvarenje i nivo INR vratilo u željeni terapijski raspon.

U našem prethodno objavljenom istraživanju, godišnja incidencija krvarenja iznosila je 5,03%, a od toga 4,76% bolesnika imalo je krvarenje zbog predoziranosti, a 0,27% zbog bolesti koje su potencirale krvarenje. U toj grupi bolesnika 45% bilo je predozirano upravo zbog prevelike početne doze leka<sup>17</sup>.

U sadašnjoj studiji kod predoziranih bolesnika sa AA genotipom srednja vrednost INR bila je 6,2 (4,2–12), a u grupi sa GA genotipom 4,9 (4,15–6,1). Utvrđena je statistički značajna razlika između dve grupe u odnosu na nivo INR ( $p = 0,01687$ ). Kod bolesnika koji su imali krvarenje nije bilo statistički značajne razlike u odnosu na INR. Kod nosioca AA genotipa srednja vrednost INR bila je 7,5 (4,9–12), dok je kod grupe sa GA genotipom nivo INR bio 4,5 (4,15–5) ( $p = 0,1133$ ). U studiji Osmana i sar<sup>14</sup>, takođe, navodi se da je kod nosioca haplotipa VKORC1\*2 više izražena varijabilnost INR u toku uvođenja terapije u odnosu na nosioce drugih haplotipova, VKORC1\*3 ili VKORC1\*4.

Prosečna starost predoziranih bolesnika sa krvarenjem u našoj studiji bila je 69 godina (raspon 50–81), a u grupi predoziranih bez krvarenja 59, (raspon 26–61). Razlika je statistički značajana, ( $p = 0,0312$ ), i potvrđuje ranija istraživanja da stariji bolesnici imaju značajno viši rizik od krvarenja u toku primene OA<sup>18</sup>. Schwartz i sar.<sup>8</sup> objavili su slične po-

datke u studiji u koju je bilo uključeno 297 bolesnika u toku uvođenja varfarina, a procenjan je odgovor na terapiju u odnosu na VKORC haplotipove. Zabeleženo je krvarenje kod 13 (4,3%) bolesnika. Ovi bolesnici bili su stariji (medijana 71 godina), u odnosu na celu ispitivanu populaciju (medijana 61 godina).

### Zaključak

Ovo istraživanje koje predstavlja prvu studiju c.-1639G>A polimorfizma VKORC1 gena u našoj populaciji, pokazuje da je nosiocima AA genotipa potrebna 2,6 puta manja doza antikoagulansa za održavanje terapijskog raspona u odnosu na nosioce GG genotipa. Farmakogenetsko testiranje na prisustvo c.-1639G>A polimorfizma pre uvođenja oralne antikoagulantne terapije može da bude dobar pokazatelj visokog rizika od predoziranja, što je pokazano za 28,5% naših bolesnika, nosioca AA genotipa. Naši rezultati potvrđuju opravdanost i potrebu da u budućim studijama bude nastavljeno ispitivanje uloge genetskog faktora koji utiče na individualnu predispoziciju u osetljivosti na oralne antikoagulanse.

### Zahvalnost

Ovaj rad je finansiralo Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije, preko projekta 143051.

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

- Hirsh J. Oral anticoagulant drugs. *N Engl J Med* 1991; 324(26): 1865–75.
- British Society for Haematology. Guidelines on oral anticoagulation. 2nd ed. British Committee for Standards in Haematology. Haemostasis and Thrombosis Task Force. *J Clin Pathol* 1990; 43(3): 177–83.
- Dentali F, Ageno W, Crowther M. Treatment of coumarin-associated coagulopathy: a systematic review and proposed treatment algorithms. *J Thromb Haemost* 2006; 4(9): 1853–63.
- Wittkowsky AK. Drug interactions with oral anticoagulants. In: Colman RW, Marder VJ, Clowes AW, Goldhaber SZ, George JN, editors. *Haemostasis and thrombosis*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. p. 975–986.
- Oldenburg J, Watzka M, Rost S, Müller CR. VKORC1: molecular target of coumarins. *J Thromb Haemost* 2007; 5 Suppl 1: 1–6.
- Geisen C, Watzka M, Sittlinger K, Steffens M, Dangela L, Seifried E, et al. VKORC1 haplotypes and their impact on the inter-individual and inter-ethnic variability of oral anticoagulation. *Thromb Haemost* 2005; 94(4): 773–9.
- Bodin L, Verstuyft C, Tregonet DA, Robert A, Dubert L, Funck-Brentano C, et al. Cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) and vitamin K epoxide reductase (VKORC1) genotypes as determinants of acenocoumarol sensitivity. *Blood* 2005; 106(1): 135–40.
- Schwarz UI, Ritchie MD, Bradford Y, Li C, Dudek SM, Frye-Anderson A, et al. Genetic determinants of response to warfarin during initial anticoagulation. *N Engl J Med* 2008; 358(10): 999–1008.
- Wadelius M, Chen LY, Lindb JD, Eriksson N, Gbori MJ, Bumpstead S, et al. The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting. *Blood* 2009; 113(4): 784–92.
- Meekley LM, Wittkowsky AK, Rieder MJ, Rettie AE, Veenstra DL. An analysis of the relative effects of VKORC1 and CYP2C9 variants on anticoagulation related outcomes in warfarin-treated patients. *Thromb Haemost* 2008; 100(2): 229–39.
- Gage BF, Lesko LJ. Pharmacogenetics of warfarin: regulatory, scientific, and clinical issues. *J Thromb Thrombolysis* 2008; 25(1): 45–51.
- Montes R, Ruiz de Gaona E, Martínez-González MA, Alberca I, Hermida J. The c.-1639G > A polymorphism of the VKORC1 gene is a major determinant of the response to acenocoumarol in anticoagulated patients. *Br J Haematol* 2006; 133(2): 183–7.
- D'Andrea G, D'Ambrosio RL, Di Perna P, Cbetta M, Santacroce R, Brancaccio V, et al. A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. *Blood* 2005; 105(2): 645–9.
- Osman A, Enström C, Arbring K, Söderqvist P, Lindahl TL. Main haplotypes and mutational analysis of vitamin K epoxide reductase (VKORC1) in a Swedish population: a retrospective analysis of case records. *J Thromb Haemost* 2006; 4(8): 1723–9.
- Sconce EA, Khan TI, Wynne HA, Avery P, Monkhouse L, King BP, et al. The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphisms and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen. *Blood* 2005; 106(7): 2329–33.
- Quteineh L, Verstuyft C, Descot C, Dubert L, Robert A, Jaillon P, et al. Vitamin K epoxide reductase (VKORC1) genetic polymorphism is associated to oral anticoagulant overdose. *Thromb Haemost* 2005; 94(3): 690–1.
- Kovač M, Miković D, Rakić LJ, Vavić N, Baklaja R, Stajić M, Elezović I. Haemorrhagic syndrome in the course of oral anticoagulant therapy. *Bilten za hematologiju* 2000; 28 (1,2/3): 25–9.
- Levine MN, Raskob G, Beyth RJ, Kearon C, Schulman S. Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004; 126(3 Suppl): 287S–310S.

Rad primljen 28. X 2008.

# Sidata

sertralin

50 mg

28 film tableta  
JKL 1 07 2 724

100 mg

28 film tableta  
JKL 1 07 2 723

ATC: N06AB06



**Sidata** indikovano u terapiji

- depresije, uključujući depresiju praćenu simptomima anksioznosti
- opsesivno kompulzivnog poremećaja
- paničnog poremećaja sa ili bez agorafobije
- socijalne fobije
- posttraumatskog stresnog sindroma
- opsesivno kompulzivnog poremećaja kod dece starije od 6 godina

Postoje klinički značajne razlike među antidepresivima koji se najčešće propisuju u pogledu kako njihove efikasnosti, tako i podnošljivosti. Sertralin se nalazi u grupi onih koji pokazuju najbolje rezultate. Rezultati upućuju na sertralin kao lek izbora kada se počinje lečenje umerene ili teške depresivne epizode kod odraslih zbog dobrog odnosa između efikasnosti, podnošljivosti i cene leka.

**Hemofarm neuroLogica** je grupa preparata objedinjena tako da lekaru olakšava izbor adekvatne terapije neuroloških i psihijatrijskih bolesti. To je veština da zajedno sa lekarima proširimo saznanja pacijenta o ovim bolestima, mogućnostima za njihovo izlecenje i načinu života sa ovim bolestima.

## **Hemofarm neuroLogica** ZdravaLogica

**ZdravaLogica** je prepoznavanje logike sa kojom reagujemo na određene životne situacije i okolnosti, prevazilaženje istih, ispravno suočavanje sa problemom i iznalaženje rešenja.

**ZdravaLogica** je razumevanje međusobnih veza spoljašnjeg i unutrašnjeg sveta od kojih zavisi emocionalno, fizičko, duhovno i socijalno zdravlje.





## Uloga mucinohistohemijske analize u verifikaciji malignog potencijala kolorektalnih adenoma

### Role of mucinohistochemical analysis in verification of malignant potential of colorectal adenoma

Biljana Radovanović-Dinić\*, Vuka Katić†, Aleksandar Nagorni\*,  
Ivanka Stamenković\*

Medicinski fakultet, Klinički centar, \*Klinika za gastroenterologiju i hepatologiju,

†Institut za patologiju, Niš, Srbija

#### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Smatra se da najveći broj kolorektalnih karcinoma (CRC) nastaje malignom alteracijom adenoma (*adenoma carcinoma sequence*). Maligni potencijal adenoma je u funkciji njegove veličine, histološke strukture i stepena displazije. Adekvatna analiza kolorektalnih adenoma omogućava njihovo bolje definisanje i pravovremeno uklanjanje čime se značajno smanjuje incidencija karcinoma. Analizom mucina mogu se dobiti nalazi koji idu u prilog teoriji *adenoma carcinoma sequence*. Cilj studije bio je da se prikažu histohemijske karakteristike adenoma i da se ukaže na značaj ovih analiza za njihovo precizno definisanje. **Metode.** U prospektivnoj studiji analizirano je 117 kolorektalnih adenoma koji su transkolonoskopski biopsirani ili polipektomirani kod 82 bolesnika. Biopsijski uzorci i odstranjeni polipi podvrgnuti su, nakon pripreme, hematoksilin-eozin bojenju i histohemijskim bojenju PAS i HID-AB (pH=2,5) za dokazivanje mucina. **Rezultati.** Sulfomucini se češće nalaze u adenomima levog nego desnog kolona ( $p < 0,001$ ). Sijalomucini su reaktivniji u adenomima desnog kolona ( $p < 0,001$ ). Sulfomucini su reaktivniji u adenomima dijametra  $< 10$  mm ( $p < 0,05$ ). Reaktivnost svih mucina je u negativnoj korelaciji sa stepenom displazije ( $p < 0,001$ ). Postoji značajna razlika u reaktivnosti sijalomucina u adenomima istog histološkog tipa, ali različitog stepena displazije ( $\chi^2 = 25,743$ ,  $df = 6$ ,  $p < 0,001$ ). **Zaključak.** Razlika u prisustvu mucina između adenoma levog i desnog kolona ide u prilog teoriji *adenoma carcinoma sequence* s obzirom na to da su adenomi desnog kolona zaštićeniji sijalomucinima, pa, shodno tome, manje maligno alterišu, što se uklapa u topografiju CRC. Histohemijska analiza kolorektuma je od značaja za sigurnije stepenovanje displazije i potvrdu maligne alteracije. Negativna korelacija između stepena displazije i produkcije mucina ukazuje na značajnu ulogu stepena displazije u malignom potencijalu adenoma kolorektuma.

#### Ključne reči:

kolorektalne neoplazme; mucini; histocitohemija.

#### Abstract

**Background/Aim.** It is a general opinion that the biggest number of colorectal carcinoma (CRC) develops with the malignant alteration of colorectal adenomas (*adenoma carcinoma sequence*). Malignant potential of adenoma is in the function of its size, histological structure and the grade of dysplasia. An adequate analysis of colorectal adenomas helps their definition and timely removal, which significantly decreases carcinoma incidence. Mucin analysis can provide results which support the adenoma carcinoma sequence theory. The aim of the study was to present histochemical characteristics of adenomas and emphasize the significance of these analyses for the precise adenoma definition. **Methods.** This prospective study included analysis of 117 colorectal adenomas obtained by transcolonoscopy or polypectomy in 82 patients. The biopsy samples and the removed polyps were coloured by hematoxylin-eosin (HE) staining and histochemical stainings by Periodic Acid Schiff (AB-PAS) and High Iron Diamine/Alcian blue (HID-AB; pH=2.5) to prove mucins. **Results.** Sulphomucins are more often found in adenomas of the left colon than of the right one ( $p < 0.001$ ). Sialomucins are more reactive in adenomas of the right colon ( $p < 0.001$ ). Sulphomucins are more reactive in adenomas of  $< 10$  mm diameter ( $p < 0.05$ ). The reactivity of all mucins is in negative correlation with the degree of dysplasia ( $p < 0.001$ ). There is a significant difference in the reactivity of sialomucins in adenomas of the same histological type but different degree of dysplasia ( $\chi^2 = 25,743$ ,  $df = 6$ ,  $p < 0.001$ ). **Conclusion.** The difference in the presence of mucins between adenomas of the left and right colons supports the theory of adenoma carcinoma sequence, since adenomas of the right colon are more protected by sialomucins and therefore less malignantly altered, which is consistent with CRC topography. Histochemical analysis of colorectum is significant for more accurate gradation of dysplasia and confirmation of malignant alteration. The negative correlation between the degree of dysplasia and the production of mucin indicates the significance of the degree of dysplasia in malignant potential of colorectal adenomas.

#### Key words:

colorectal neoplasms; mucins; histocytochemistry.



## Uvod

Pretpostavlja se da više od 95% kolorektalnih karcinoma (CRC) nastaje malignom alteracijom adenoma, dugogodišnjim, multistepenim procesom karcinogeneze (*adenomacarcinoma sequence*). Maligna alteracija adenoma značajno je veća kod adenoma sa uznapredovalim karakteristikama (dijametar > 10 mm, vilozna struktura i teškostepena displazija)<sup>1-7</sup>. Kompletna analiza adenoma pomaže u njegovom definisanju, pravovremenom prepoznavanju i uklanjanju, što značajno smanjuje incidenciju CRC.

U literaturi prisutan je mali broj studija koje su se bavile ispitivanjem mucina kolorektalnih adenoma. Biološka funkcija epitelnih mucina kolorektuma (sulfomucina, sijalo- i fuko-) je višestruka. Mukus oblaže epitelne ćelije kolorektuma i, na taj način, štiti ih od abrazivnog delovanja crevnog sadržaja. Takođe, predstavlja fizičku barijeru za različite iritane i potencijalne karcinogene. Mucini kolorektuma imaju značajnu lumbifikantnu ulogu. Slabo kiseli mucini (sijalomucini) su viskozni i deluju prvenstveno protektivno, dok su oni jako kiseli sulfomucini manje viskozni i imaju dominantno lumbifikantnu ulogu<sup>7-12</sup>. U kolorektumu se normalno nalaze sulfomucini u svim isečcima normalne i hiperplastične sluzokože<sup>13</sup>.

U okolini teške displazije i kolorektalnih karcinoma može se naći tranzicijska (prelazna) mukoza u kojoj je izražena sekrecija sijalomucina. Prisustvo ovih mucina je dokaz nezrelosti peharastih ćelija i može biti signal rane maligne transformacije ili je samo reaktivni fenomen<sup>14</sup>. Histohemijske analize su od velike koristi za bolje upoznavanje pojedinih vrsta polipa<sup>15</sup>.

U kolorektalnim adenomima postoji kvalitativna i kvantitativna izmena sekrecije mucina koja je u funkciji njihove lokalizacije, veličine i patohistološke strukture<sup>7-9, 16</sup>.

Cilj rada bio je da se prikažu histohemijske karakteristike adenoma i ukaže na ulogu analize mucina u verifikaciji malignog potencijala kolorektalnih adenoma.

## Metode

Prospektivnim četvorogodišnjim istraživanjem bila su obuhvaćena 82 bolesnika sa 117 kolorektalnih adenoma. Iz studije bili su isključeni svi bolesnici kojima nije urađena kompletna kolonoskopija, kao i bolesnici sa nalazom famili-

jarnje adenomatozne polipoze (FAP), Lynch sindroma ili ulceroznog kolitisa.

Svim bolesnicima urađena je kompletna kolonoskopija u Endoskopskom kabinetu kolonoskopima Olympus, tip CF 20HI i CF 30HI. Lezije debelog creva, sumnjive na maligni tumor, multiplo su biopsirane (4–6 puta) standardnim biopsijskim forcepsom Olympus tipa FB 23K, FB24K ili FB25K. Sve polipoidne promene uklonjene su u celini standardnom metodom ili metodom parče po parče (*piece meal*). Polipi široke baze prečnika do 4mm uklonjeni su metodom vruće biopsije (*hot biopsy*), forcepsom FD 1L, a veći polipi elektroresekcijom. Polipektomije su izvršene elektrohiruškom jedinicom Olympus PSD 2E i standardnim dijametrijkim omčama Olympus SD-6 i SD-9/11.

Ciljane biopsije i uklonjeni polipi, nakon rutinske fiksacije u 10% rastvoru formaldehida, dostavljeni su Institutu za patologiju Kliničkog centra u Nišu, gde su uzorci rutinski obrađivani, kalupljeni u parafin i sečeni na mikrotomu debljine do 5 µm.

Nakon deparafinizacije odabrani iseći bojeni su hematoksilin-eozin (HE) metodom za rutinsku mikromorfološku analizu. U cilju histoemijske analize kolorektalnih adenoma iseći su bojeni histoemijskim metodama (za prikazivanje tipa i količine epitelnih mucina sluzokože kolorektuma): PAS (*Periodic Acid Schiff*) – za dokazivanje neutralnih (fuko) mucina i HID-AB (*High Iron Diamine / Alcian blue; pH=2.5*) za dokazivanje kiselih mucina (sulfomucina i sijalomucina).

Rezultati mucinohistoemijskih analiza procenjavani su kvalitativno i semikvantitativno na sledeći način: hipersekrecija (++) , normalna sekrecija (+) , sekrecija u tragu (±) , asekrecija (–) .

Za statističku obradu podataka upotrebljeni su Studentov *t* test i  $\chi^2$  test.

## Rezultati

Analizom reaktivnosti sulfomucina u adenomima različite lokalizacije, ustanovili smo da je reaktivnost u adenomima rektuma i levog kolona (sigma i descensus) statistički značajno veća nego u adenomima desnog kolona ( $\chi^2 = 10,72$ ,  $df = 3$ ,  $p < 0,05$ ). Grupisanjem reaktivnosti (++) i (+) s jedne, i (±) i (–) s druge strane dobijena je još veća statistička značajnost ( $p < 0,01$ ) (tabela 1).

**Tabela 1**  
**Reaktivnost sulfomucina i sijalomucina u adenomima različite lokalizacije**

Lokalizacija adenoma	Stepen reaktivnosti*	Sulfomucin n (%)	Sijalomucin n (%)
Rektum i levi kolon	++	17 (24,3)	1 (1,4)
	+	22 (31,4)	7 (10,0)
	±	17 (24,3)	19 (40,4)
	–	14 (20,0)	16 (34,1)
Ukupno		70 (100,0)	47 (100,0)
Desni kolon	++	1 (3,4)	26 (55,4)
	+	7 (10,0)	12 (25,5)
	±	21 (30,0)	7 (14,9)
	–	41 (58,6)	2 (4,2)
Ukupno		70 (100,0)	47 (100,0)

\*(++ – hipersekrecija; (+) – normalna sekrecija; (±) – sekrecija u tragu; (–) – asekrecija

Adenomi u levom kolorektumu najčešće su bili sa asekreacijom, a u desnom kolorektumu sa hipersekrecijom sijalomucina ( $p < 0,001$ ) (tabela 1).

Poređenjem sekrecije sulfomucina i sijalomucina u odnosu na lokalizaciju adenoma, zaključeno je da se sulfomucini, u odnosu na sijalomucine, statistički značajno više sekretuju u adenomima levog ( $p < 0,001$ ), a manje u adenomima desnog kolorektuma ( $p < 0,001$ ).

Analizom reaktivnosti sulfomucina, u odnosu na veličinu adenoma, ustanovili smo da je reaktivnost značajno veća kod adenoma dijametra  $< 10$  mm ( $p < 0,05$ ) (tabela 2).

Reaktivnost sulfomucina najmanja je bila u viloznim, nešto veća u tubuloviloznim, a najveća u tubularnim adenomima ( $p > 0,05$ ). Sulfomucini, u sva tri histološka tipa adenoma najčešće su bili prisutni u tragu (tabela 2).

Reaktivnost sulfomucina bila je u negativnoj korelaciji sa stepenom displazije i statistički se značajno razlikovala u adenomima različitog stepena displazije ( $\chi^2 = 41,231$ ,  $df = 6$ ,  $p < 0,001$ ) (tabela 3).

Analizirajući razliku u reaktivnosti sulfomucina, u adenomima određenog histološkog tipa, ali različitog stepena displazije, ustanovili smo da kod viloznih adenoma nije utvrđena statistički značajna razlika ( $p > 0,05$ ), dok je kod tubuloviloznih, odnosno tubularnih ova razlika bila od statističkog značaja ( $\chi^2 = 12,919$ ,  $df = 6$ ,  $p < 0,05$  odnosno,  $\chi^2 = 14,109$ ,  $df = 6$ ,  $p < 0,05$ ) (tabela 4).

Reaktivnost sijalomucina bila je u negativnoj korelaciji sa stepenom displazije i statistički se značajno razlikovala kod adenoma različitog stepena displazije ( $\chi^2 = 25,743$ ,  $df = 6$ ,  $p < 0,001$ ). Najveća razlika u reaktivnosti zapažena je

Tabela 2

## Reaktivnost sulfomucina u odnosu na dijametar i histološki tip adenoma

Stepen reaktivnosti*	Dijametar adenoma (mm)		Histološki tip adenoma		
	< 10 n (%)	> 10 n (%)	vilozni n (%)	tubulovilozni n (%)	tubularni n (%)
++	2 (3,1)	0 (0,0)	2 (8,7)	0 (0,0)	1 (2,0)
+	21 (32,3)	9 (17,3)	5 (21,7)	14 (31,8)	12 (24,0)
±	36 (55,4)	29 (55,7)	10 (43,5)	24 (54,5)	34 (68,0)
-	6 (9,2)	14 (27,0)	6 (26,1)	6 (13,7)	3 (6,0)
Ukupno	65 (100,0)	53 (100,0)	23 (100,0)	44 (100,0)	50 (100,0)

\*(++)- hipersekrecija; (+)- normalna sekrecija; (±)- sekrecija u tragu; (-)- asekreacija

Tabela 3

## Reaktivnost sulfomucina, sijalomucina i fukomucina u adenomima u odnosu na stepen displazije

Stepen displazije	Stepen reaktivnosti*	Sulfomucin n (%)	Sijalomucin n (%)	Fukomucin n (%)
Lakostepena	++	16 (48,8)	17 (51,5)	11 (33,3)
	+	11 (33,3)	7 (21,2)	9 (27,3)
	±	5 (15,2)	4 (12,1)	0 (0,0)
	-	1 (3,0)	5 (15,2)	13 (39,4)
Ukupno		33 (100,0)	33 (100,0)	33 (100,0)
Srednjestepena	++	5 (8,9)	7 (12,5)	2 (3,6)
	+	13 (23,2)	7 (12,5)	9 (16,1)
	±	22 (39,3)	16 (38,6)	13 (23,2)
	-	16 (28,6)	26 (46,4)	32 (57,1)
Ukupno		56 (100,0)	56 (100,0)	56 (100,0)
Teškostepena	++	0 (0,0)	3 (10,7)	0 (0,0)
	+	6 (21,4)	5 (17,8)	4 (14,3)
	±	9 (32,2)	8 (28,6)	8 (28,6)
	-	13 (46,6)	12 (42,9)	16 (57,1)
Ukupno		28 (100,0)	28 (100,0)	28 (100,0)

\*(++)- hipersekrecija; (+)- normalna sekrecija; (±)- sekrecija u tragu; (-)- asekreacija

Tabela 4

## Reaktivnost sulfomucina u tubuloviloznim i tubularnim adenomima u odnosu na stepen displazije

Stepen displazije	Stepen reaktivnosti*	Tubulovilozni adenom n (%)	Tubularni adenom n (%)
Lakostepena	++	5 (50,0)	6 (54,5)
	+	3 (30,0)	4 (36,4)
	±	2 (20,0)	1 (9,1)
	-	0 (0,0)	0 (0,0)
Ukupno		10 (100,0)	11 (100,0)
Srednjestepena	++	1 (7,1)	1 (6,2)
	+	3 (21,4)	4 (25,0)
	±	5 (35,7)	5 (31,2)
	-	5 (35,7)	6 (37,6)
Ukupno		5 (100,0)	16 (100,0)
Teškostepena	++	0 (0,0)	0 (0,0)
	+	2 (22,2)	1 (25,0)
	±	3 (33,3)	1 (25,0)
	-	4 (44,5)	2 (50)
Ukupno		9 (100,0)	4 (100,0)

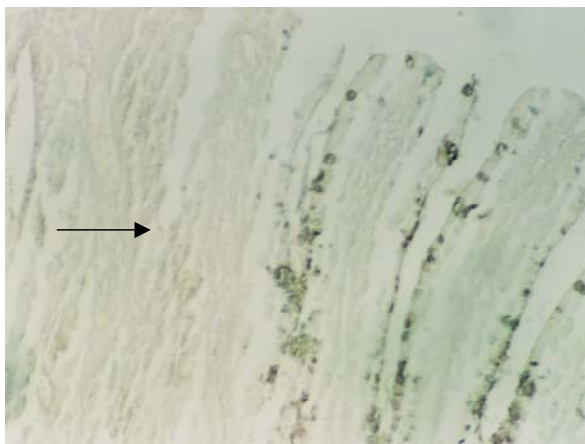
\*(++)- hipersekrecija; (+)- normalna sekrecija; (±)- sekrecija u tragu; (-)- asekreacija

između lakostepene displazije i srednjestepene, odnosno teškostepene displazije ( $p < 0,001$ ) (tabela 3).

Analizom fukomucina ustanovljeno je da je reaktivnost ovih mucina u negativnoj korelaciji sa stepenom displazije i da se statistički značajno razlikuje kod adenoma različitog stepena displazije ( $\chi^2 = 32,408$ ,  $df = 6$ ,  $p < 0,001$ ). Kao i kod sijalomucina, između srednjestepene i teškostepene displazije nema značajne razlike, ali je reaktivnost u lakostepenoj displaziji statistički bila znatno veća nego kod srednjestepene i teškostepene displazije (tabela 3).

Kod adenoma sa fokusima srednjestepene displazije, na mestima displazije može se zapaziti značajna redukcija do hiposekrecije (kod 50% slučajeva) sulfomucina.

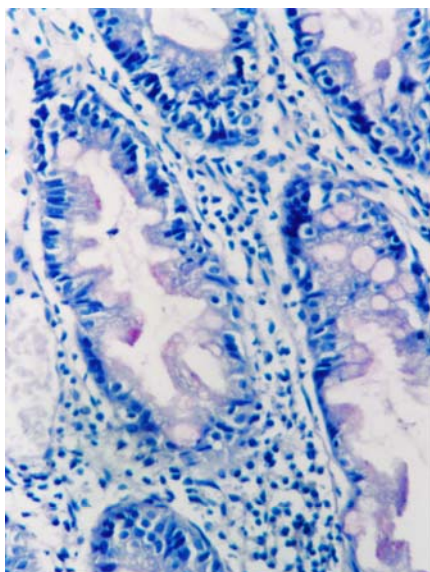
Na slici 1 prikazan je vilozni adenom sa srednjestepenom do teškostepenom displazijom. Na levoj polovini slike evidentna je asekrekcija svih mucina (strelica).



Sl. 1 – Vilozni adenom sa fokusima srednjestepene i teškostepene displazije (HID-AB  $\times 100$ )

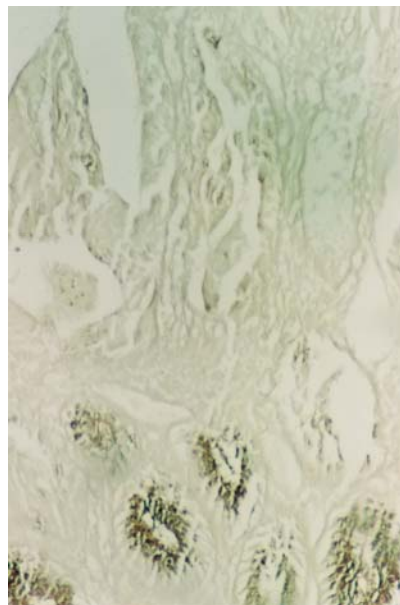
Na slici 2, na mestima prisutne srednjestepene displazije, evidentna je asekrekcija fukomucina.

Kod adenoma sa teškostepenom displazijom, na mestu displazije, evidentna je hiposekrecija do asekrekcije sulfomucina.



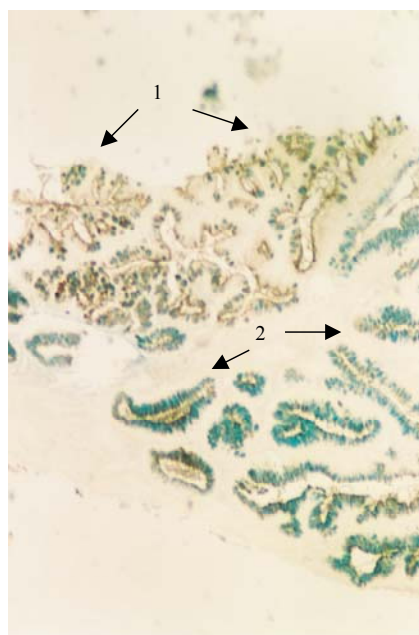
Sl. 2 – *Serrated* adenom sa tubularnom komponentom (srednjestepena displazija) (AB-PAS  $\times 200$ )

Na slici 3, u tubularnom delu (donja polovina slike), prisutna je sekrecija sulfomucina u tragu. U viloznom delu (gornja polovina slike) prisutna je asekrekcija sulfo- i sijalomucina.



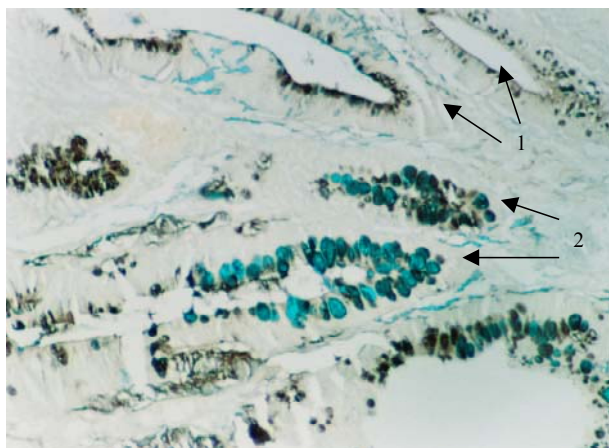
Sl. 3 – Mešoviti polip sa tubuloviloznom adenomatoznom komponentom i teškostepenom displazijom (HID-AB  $\times 100$ )

Na slici 4, u gornjem delu, uočava se hiposekrecija sulfomucina i asekrekcija sijalomucina (1). U okolini displazije prisutna je TM sa fokalnom hipersekrecijom sijalomucina (2).



Sl. 4 – *Serrated* adenom sa viloznom komponentom i teškostepenom displazijom (HID-AB  $\times 40$ )

Na slici 5 prikazan je vilozni adenom. Na mestu displazije (srednjestepene do teškostepene) prisutna je sekrecija u tragu do asekrekcije kiselih mucina (1). U okolini displazije nalazi se tranzicijska mukoza gde je prisutna hipersekrecija sijalomucina (2).



Sl. 5 – Vilozni adenom sa srednjestepenom do teškostepenom displazijom (HID-AB  $\times$  100)

### Diskusija

Histohemijskom studijom epitelnih mucina kolorektuma normalno se verifikuje prisustvo jako kiselih (sulfatiranih) mucina u svim isečcima normalne i hiperplastične sluzokože kolorektuma. Ovi mucini se metodom HID-AB (pH 2,5) boje tamnobraon do crno.

Različiti fiziološki i nespecifični stimuli mogu da izazovu promene u sastavu i sekreciji sluzi identično kao u patološkim stanjima<sup>17</sup>.

Na osnovu dobijenih rezultata zaključili smo da mucini u peharastim ćelijama kolorektuma pokazuju varijacije u topografiji, između levog i desnog kolona, kao i unutar samih kripti u odnosu na diferencijaciju. U levom kolonu, u donje dve trećine kripti, prisutni su sulfomucini dok su u gornjoj trećini prisutni sulfomucini sa sijalomucinima. U desnom kolonu, u bazi kripti, prisutni su sijalomucini, dok se u gornje dve trećine kripti nalaze sulfomucini. Neutralni mucini se sekretuju samo u gornjim delovima kripti kolorektuma i u površinskom epitelu, i to pretežno u desnom kolonu. Ovi nalazi u skladu su sa nalazima drugih studija<sup>6, 8, 18-21</sup>.

Prisustvo sijalomucina, pretežno u adenomima desnog kolona, takođe je u skladu sa nalazima drugih studija<sup>11, 16</sup>. U ranom fetalnom životu kolonski mukus sadrži sijalinsku kiselinu. Regionalne razlike između dve velike grupe kiselih mucina verovatno su uslovljene razlikama u embriologiji, a pre svega u njihovoj funkciji<sup>12, 16</sup>. Značajno manji intenzitet bojenja za sulfomucine je verifikovan u cekoascendentnom kolonu u poređenju sa rektumom, što se objašnjava većom blizinom tih delova kolona tankom crevu, gde je normalno veća sekrecija sijalomucina<sup>13</sup>. S obzirom na to da sijalomucini imaju prvenstveno protektivnu ulogu njihova dominacija u desnom kolonu štiti ovaj deo kolona od karcinogena odnosno smanjuje prevalenciju adenoma i karcinoma u desnom kolonu<sup>18, 19, 22-26</sup>.

Na osnovu dobijenih rezultata zaključili smo da je reaktivnost sulfomucina u negativnoj korelaciji sa veličinom kolorektalnih adenoma. Ovo objašnjavamo činjenicom da je veličina adenoma u negativnoj korelaciji sa stepenom displazije, pa se u adenomima veličine  $< 10$  mm češće nalazi dis-

plazija slabog stepena, gde je i potvrđeno veće prisustvo sulfomucina.

Analizom reaktivnosti sulfomucina u adenomima različite histološke strukture nismo ustanovili statistički značajnu razliku. Kod viloznih adenoma prisustvo sulfomucina je najmanje, kod tubuloviloznih malo veće, a kod tubularnih adenoma najveće, što se može objasniti činjenicom da se u viloznim adenomima dominantno nalazi teškostepena displazija. Međutim, ponekad epitel viloznih adenoma sadrži visokomukusne ćelije, te obilna mukusna sekrecija može da izazove dehidrataciju i elektrolitni disbalans.

Histohemijska slika epitelnih mucina u mešovitim polipima kolorektuma pokazala je dominantno prisustvo sulfatiranih mucina u hiperplastičnoj komponenti (identično hiperplastičnim polipima) i redukciju sulfomucina u adenomatoznoj komponenti (kao u adenomima sa srednjestepenom displazijom). Ovi nalazi su u skladu sa nalazima drugih autora<sup>26, 27</sup>.

Na osnovu dobijenih rezultata ustanovljeno je da u kolorektalnim adenomima postoji negativna korelacija između reaktivnosti mucina i stepena displazije. Sa porastom stepena displazije dolazi do progresivnog gubitka diferencijacije peharastih ćelija i redukcije sekrecije mucina. U poljima sa malignom alteracijom verifikuje se asekcija<sup>7, 17, 25</sup>. U slučaju slabostepene displazije, evidentna je hipersekrecija mucina koja može izazvati dehidrataciju i elektrolitne poremećaje (kao i kod mucinoznih karcinoma). Semikvantitativna analiza mucina adenoma kolorektuma u značajnoj meri može doprineti lakšem i sigurnijem stepenovanju displazije<sup>25</sup>. S obzirom na to da kod teškostepene displazije postoji hiposekcija svih mucina, smatramo, kao i drugi autori, da je kod takvih adenoma protektivna uloga mucina smanjena, pa samim tim i kontakt sa karcinogenima veći. To može poslužiti kao jedno od objašnjenja za povećan maligni potencijal adenoma sa teškostepenom displazijom.

U literaturi ima podataka koji ukazuju da ne postoji statistički značajna razlika u sekreciji sulfomucina između grupe dobrodiferentovanih adenokarcinoma i adenoma sa teškostepenom displazijom<sup>28</sup>.

Da povećanje stepena epitelne displazije u adenomima kolorektuma ima odlučujuću ulogu u nastanku maligniteta, potvrđuje i prisustvo pozitivne korelacije između stepena redukcije mucina i stepena displastičnih promena.

Mucinohistohemijske studije kolorektalnih adenoma ukazale su na značaj kvalitativne analize mucina. Ove analize odnose se na verifikaciju zamene O-acetil grupe N-acetil grupom u sijalinskoj kiselini. Ova izmena nije u vezi sa veličinom i histološkim tipom adenoma. Međutim, sa porastom stepena displazije ova izmena je izraženija i često prethodi razvoju invazivnog karcinoma, što se može upotrebiti u razlikovanju epitelijalne pseudoinvazije od maligne invazije<sup>10, 18, 25-28</sup>. Rane promene u sijalinskoj kiselini smatraju se senzitivnim indikatorom maligne transformacije. Prisustvo nepromenjene intraćelijske i intralumenske O-acetil sijalinske kiseline isključuje malignitet u nejasnim slučajevima, dok je obilna sekrecija izmenjene sijalinske kiseline, udružena sa epitelnim slojem koji ne sekretuje mukus, specifična za karcinom<sup>20, 21</sup>. Histohemijske analize su od koristi za bolje



upoznavanje pojedinih vrsta polipa. Za „serrated“ adenome karakteristično je da postoji deplecija svih mucina uz jedarnu pseudostratifikaciju i povremeni gubitak polariteta sekrecije žlezda<sup>7, 11, 18, 29 32</sup>.

### Zaključak

Razlika u prisustvu mucina između levog i desnog kolona ide u prilog teoriji *adenoma carcinoma sequence* s obzi-

rom da su adenomi desnog kolona zaštićeniji sijalomucinima, pa shodno tome, manje maligno alterišu, što se uklapa u topografiju CRC. Negativna korelacija između stepena displazije i produkcije mucina ukazuje na značajnu ulogu stepena displazije u malignom potencijalu adenoma kolorektuma. Adenomi sa većim stepenom displazije su manje zaštićeni mucinima, odnosno više su izloženi delovanju karcinogena. Histoheмиjska analiza kolorektuma je od značaja za sigurnije stepenovanje displazije i potvrđivanje maligne alteracije.

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

1. Popović N. Prophylaxis and early detection of colorectal cancer. Acta Fac Med Naiss 2000; 17: 266–73. (Serbian)
2. Martínez ME, Sampliner R, Marshall JR, Bhattacharyya AK, Reid ME, Alberts DS. Adenoma characteristics as risk factors for recurrence of advanced adenomas. Gastroenterology 2001; 120(5): 1077–83.
3. Lieberman DA, Smith FW. Screening for colon malignancy with colonoscopy. Am J Gastroenterol 1991; 86(8): 946–51.
4. Nagorni A, Katic V, Živković V, Stanojević G. Advanced colorectal adenoma. Arch Oncol 2004; 12 (suppl 1): 59–60.
5. Morson BC. Evolution of cancer of the colon and rectum. Proc Inst Med Chic 1974; 30(4): 145–8.
6. Itzkowitz SH, Kim, YS. Colonic polyps and polyposis syndromes. In: Feldman M, Scharschmidt BF, Sleisenger MH, editors. Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology/Diagnosis/Management. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1999. p. 515.
7. Freeman HJ. Heterogeneity of colorectal adenomas, the serrated adenoma, and implications for screening and surveillance. World J Gastroenterol 2008; 14(22): 3461–3.
8. Thornton DJ, Corfield AP, Paraskova C, Thornton DJ, Sheehan JK. Alterations of MUC2 Mucin in Colorectal Adenocarcinoma. Turk J Med Sci 2000; 30: 359–65.
9. Hanski C, Born M, Foss HD, Marowski B, Mansmann U, Arastéh K, et al. Defective post-transcriptional processing of MUC2 mucin in ulcerative colitis and in Crohn's disease increases detectability of the MUC2 protein core. J Pathol 1999; 188(3): 304–11.
10. Radovanović B. Comparativno kliničko-micromorfološko studij ulcerativnog kolitisa [thesis]. Niš: Univerzitet Niš; 1999. (Serbian)
11. Byrd JC, Bresalier RS. Mucins and mucin binding proteins in colorectal cancer. Cancer Metastasis Rev 2004; 23(1–2): 77–99.
12. Laboisse C. Mucosecretion per les cellules intestinales culture. Gastroenterol Clin Biol 1990; 14: 36–8.
13. Ishizu H, Kumagai J, Eisbi Y, Takizawa T, Koike M. Mucin core protein expression by colorectal mucinous carcinomas with or without mucus hyperplasia. J Gastroenterol 2004; 39(2): 125–32.
14. Longman RJ, Douthwaite J, Sylvester PA, O'Leary D, Warren BF, Corfield AP, et al. Lack of mucin MUC5AC field change expression associated with tubulovillous and villous colorectal adenomas. J Clin Pathol 2000; 53(2): 100–4.
15. Jars JR. Serrated adenoma of the colorectum. Current Diagnostic Pathology 2002; 8(5): 42–9.
16. Chiu HM, Chang CY, Chen CC, Lee YC, Wu MS, Lin JT, et al. A prospective comparative study of narrow-band imaging, chromoendoscopy, and conventional colonoscopy in the diagnosis of colorectal neoplasia. Gut 2007; 56(3): 373–9.
17. Femia AP, Giannini A, Fazzi M, Tarquini E, Salvadori M, Roncucci L, et al. Identification of mucin depleted foci in the human colon. Cancer Prev Res (Phila Pa) 2008; 1(7): 562–7.
18. Perçinel S, Savaş B, Ensari A, Kuzu I, Kuzu MA, Bektaş M, et al. Mucins in the colorectal neoplastic spectrum with reference to conventional and serrated adenomas. Turk J Gastroenterol 2007; 18(4): 230–8.
19. Dawson PA, Patel J, Filipe MI. Variations in sialomucins in the mucosa of the large intestine in malignancy: a quantitative and statistical analysis. Histochem J 1978; 10(5): 559–72.
20. Wang F, Goto M, Kim YS, Higashi M, Imai K, Sato E, et al. Altered GalNAc-alpha-2,6-sialylation compartments for mucin-associated sialyl-Tn antigen in colorectal adenoma and adenocarcinoma. J Histochem Cytochem 2001; 49(12): 1581–92.
21. Sugihara K, Jass JR. Colorectal goblet cell sialomucin heterogeneity: its relation to malignant disease. J Clin Pathol 1986; 39(10): 1088–95.
22. Bulajić M, Štimec B. Risk features for neoplastic process of the colon epidemiology and histology. Acta Med Naiss 2000; 17: 187–94.
23. Gabrielson N, Granquist S, Nilsson B. Guaiac tests for detection of occult faecal blood loss in patients with endoscopically verified colonic polyps. Scand J Gastroenterol 1985; 20(8): 978–82.
24. Culling CF, Reid PE. The histochemistry of colonic mucins. J Histochem Cytochem 1979; 27(8): 1177–9.
25. Longman RJ, Douthwaite J, Sylvester PA, O'Leary D, Warren BF, Corfield AP, et al. Lack of mucin MUC5AC field change expression associated with tubulovillous and villous colorectal adenomas. J Clin Pathol 2000; 53(2): 100–4.
26. Eide TJ, Nielsen K, Solberg S. Dysplasia in colorectal adenomas related to the presence of O-acetylated sialic mucin and to morphometric measurements. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand A 1987; 95(6): 365–9.
27. Rhodes JM, Campbell BJ, Yu LG. Lectin-epithelial interactions in the human colon. Biochem Soc Trans 2008; 36(Pt 6): 1482–6.
28. Živković V. Oncogene markers of colonic preneoplastic lesions. [dissertation]. Niš: University of Niš; 1994. (Serbian)
29. Ajioka Y, Xing PX, Hinoda Y, Jass JR. Correlative histochemical study providing evidence for the dual nature of human colorectal cancer mucin. Histochem J 1997; 29(2): 143–52.
30. O'Brien MJ, Yang S, Clebanoff JL, Mulcahy E, Farraye FA, Amoroso M, et al. Hyperplastic (serrated) polyps of the colorectum: relationship of CpG island methylator phenotype and K-ras mutation to location and histologic subtype. Am J Surg Pathol 2004; 28(4): 423–34.
31. Song SY, Kim YH, Yu MK, Kim JH, Lee JM, Son HJ, et al. Comparison of malignant potential between serrated adenomas and traditional adenomas. J Gastroenterol Hepatol 2007; 22(11): 1786–90.
32. Lauwers GY, Chung DC. The serrated polyp comes of age. Gastroenterology 2006; 131(5): 1631–4.

Rad je primljen 3. XI 2008.



## Systemic manifestations in the course of meningococcal disease

### Sistemske manifestacije tokom meningokokne bolesti

Olga Dulović, Goran Stevanović, Branko Milošević, Eleonora Gvozdrenović,  
Ljubiša Dokić, Nataša Popović, Svetlana Nikolić, Milorad Pavlović

Clinical Center of Serbia, Institute for Infectious and Tropical Diseases, Belgrade, Serbia

#### Abstract

**Background/Aim.** Meningococcal disease most often manifests itself as meningitis or sepsis. During the course of these diseases, other clinical events sometimes develop such as pneumonia, pericarditis, arthritis, and they are referred to as extrameningeal or systemic manifestations of the meningococcal disease. The aim of this study was to investigate the type and the incidence of particular extrameningeal/systemic manifestations among patients with meningococcal meningitis and sepsis, including time of their onset and the influence on the disease outcome. **Methods.** The retrospective study of the medical records of 246 patients treated for meningococcal disease over the 25-year period in the Institute for Infectious and Tropical Diseases, Belgrade was conducted. The patients, aged 3 months to 82 years both sexes, were divided into two groups. **Results.** Out of 246 patients extrameningeal/systemic manifestations were found in 42 (17.1%) patients: 35 (14.2%) occurred during meningitis, and seven (2.8%) during sepsis. Pulmonary manifestations (mostly pneumonia) were the most prevalent, found in 12 (4.9%) patients, followed by heart involvement in nine (3.6%) patients (mostly pericarditis, in seven or 2.8% patients). Various ophthalmic manifestations occurred in seven (2.8%), arthritis in 4 (1.6%) and sinusitis in six (2.4%) patients. Otitis, multiple renal embolisms with hematuria, osteomyelitis and thrombophlebitis were evidenced in one patient, each. Most of the systemic manifestations (30 patients or 71.4%), developed within the initial three days of the disease ( $p < 0.01$ ), suggesting direct pathogenic mechanism induced by meningococci *per se*, while only three (7.1%) developed after seven days, when immune-mediated disease was more likely. Even though these manifestations complicate and prolong treatment of the meningococcal disease, they had no major influence on the disease outcome. Lethal outcome occurred in 2 (4.76%) patients, both with the meningococcal type of the disease. **Conclusion.** Extrameningeal or systemic manifestations are uncommon complications during the course of both meningococcal meningitis and sepsis. The onset of pneumonia, pericarditis, eye involvement, and arthritis, within the initial seven days of the disease, were most prevalent in the course of meningitis. They had no major influence on the disease outcome.

**Key words:** meningitis; meningococcal; sepsis; pneumonia; pericarditis; prevalence; treatment outcome.

#### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Meningokokna bolest najčešće se manifestuje kao meningitis ili sepsa. U toku ovih bolesti ponekad se razviju i neke druge kliničke manifestacije, takođe izazvane meningokokom, kao što su pneumonija, perikarditis, artritis i one se nazivaju ekstrameningealne ili sistemske manifestacije. Cilj rada bio je ispitivanje tipa i incidencije ekstrameningealnih ili sistemskih manifestacija među bolesnicima sa meningokoknim meningitisom i sepsom, i utvrđivanje vremena njihovog nastanka i njihovog uticaja na ishod bolesti. **Metode.** Urađena je retrospektivna studija medicinske dokumentacije 246 bolesnika lečenih od meningokokne bolesti u toku 25 godina u Institutu za infektivne i tropske bolesti u Beogradu. **Rezultati.** Od 246 bolesnika čija dokumentacija je obrađena, ekstrameningealne ili sistemske manifestacije registrovane su kod 42 (17,1%) bolesnika. Od toga, 35 (14,2%) nastalo je tokom meningitisa, a sedam (2,8%) za vreme sepsa. Plućne manifestacije, najčešće pneumonija, nađene su kod 12 (4,9%) bolesnika, a zatim kardiološke kod devet (3,6%) i to najčešće perikarditis (kod sedam ili 2,8%) bolesnika. Različite oftalmološke manifestacije nađene su kod sedam bolesnika (2,8%), artritis kod četiri (1,6%) i sinusitisi kod šest (2,4%) bolesnika. Otitis, multiple bubrežne embolije sa hematurijom, osteomijelitis i tromboflebitis nađeni su kod po jednog bolesnika. Najveći broj sistemskih manifestacija, 30 ili 71,4% nastao je u prva tri dana bolesti ( $p < 0,01$ ), što govori u prilog direktnom dejstvu meningokoka, dok su samo tri (7,1%), nastale posle sedam dana, kada se mogu pretpostaviti imunološki posredovani mehanizmi bolesti. Mada su ove manifestacije komplikovale i produžile lečenje od meningokokne bolesti, one nisu značajnije uticale na ishod bolesti. Letalni ishod nastupio je kod 2 bolesnika sa meningitisom (4,7%). **Zaključak.** Ekstrameningealne ili sistemske manifestacije su retke komplikacije u toku meningokoknog meningitisa i sepsa. Nastanak pneumonije, perikarditisa, očnih manifestacija i artritisa najčešće se registruje u toku prvih sedam dana bolesti, češće u toku meningitisa i ne utiče na ishod bolesti.

**Ključne reči:** meningitis; meningokokni; sepsa; pneumonija; perikarditis; prevalenca; lečenje, ishod

## Introduction

The term meningococcal disease includes different clinical manifestations caused by *Neisseria meningitidis*. All manifestations of the infection are based on penetration and bloodborne dissemination of meningococcus, as well as on a wide range of pathophysiological events triggered by the bacterial endotoxin. The intensity of the inflammatory response induced by the endotoxin generally determines severity of the clinical presentation.

Meningococcal disease may present itself either as sepsis or meningitis. Transient meningococemia, pharyngitis, pneumonia, pericarditis, arthritis and conjunctivitis are only infrequently diagnosed. These less frequent clinical conditions may be the only manifestations of the meningococcal disease, and in such cases the etiology may remain unconfirmed due to rapid recovery after favorable response to empiric antibiotic therapy. When these manifestations develop in the course of meningitis, they are referred to as extrameningeal, and systemic if in the course of sepsis.

Extrameningeal or systemic manifestations of the meningococcal disease most frequently occur in the early phase of the disease, which indicates that they develop as a direct consequence of meningococcal dissemination. Less commonly, they develop in the later phase, frequently at the very end of the antibiotic treatment, which is indicative of the immune-mediated nature of the event.

Extrameningeal or systemic manifestations most commonly involve the lungs, heart, joints and eyes. They prolong and complicate the treatment and may sometimes influence the outcome of the disease.

The aim of this retrospective study was to investigate the prevalence of extrameningeal and/or systemic manifestations among the patients with meningococcal meningitis and sepsis, as well as the time of their onset and influence on the course and outcome of the disease.

## Methods

Medical records of patients treated for meningococcal disease at the Institute of Infectious and Tropical Diseases in Belgrade over the period 1979–2004 were analyzed.

The analysis included 246 patients of various ages (3 months to 82 years) and both sexes.

The patients were divided into two groups:

Group 1 – Meningitic type of the disease characterized by typical symptoms and signs, along with signs of inflammation in the cerebrospinal fluid (CSF), including pleocytosis of 100–2 000 polymorphonuclear leukocytes per cubic millimeter, low glycorrachia and increased proteinorrachia.

Group 2 – Septic type of the disease characterized by the presence of septic manifestations accompanied by excessive skin changes, without meningeal irritation and scarce CSF pathology (< 100 polymorphonuclear leukocytes per cubic millimeter, along with normal both glycorrachia and proteinorrachia).

At the beginning of the study period both pediatric and adult patients were included (patients age ranged from less

than a year to over 80). Over the last 10 years, due to the reorganization of the pediatric service, we treated adult patients mostly.

The diagnosis of meningococcal disease was established by isolation of meningococci from the blood and/or CSF. Newer diagnostic techniques, such as polymerase chain reaction (PCR) were not available. Serotyping was not performed in all the cases, but serotype B prevailed, followed by serotypes C and A.

Diagnosis of extrameningeal and systemic manifestations was based on standard clinical diagnostic methods (chest X-ray, ECG, echosonography, pericardiocentesis if required, ophthalmological examination, etc).

All statistical analyses were performed using the electronic database organized in the SPSS (version 11.5) statistical package. The Chi-square test was used to assess the prevalence of certain extrameningeal and/or systemic manifestations of meningococcal disease in the meningitis versus septic group.

## Results

The study series involved the total of 246 patients. Out of these, 211 (85.8%) had meningitis, while 35 (14.2%) were diagnosed with the sepsis.

Systemic manifestations were evidenced in 42 (17.1%) patients, out of which 35 (14.2%) and seven (2.8%) had meningitis and sepsis respectively. These manifestations were more frequent among patients with meningitis, but the difference did not reach the level of statistical significance ( $p > 0.05$ ).

Among extrameningeal manifestations the most common were pulmonary, recorded in 12 (4.9%) patients, followed by cardiac in nine (3.6%), ophthalmic in seven (2.8%), articular in four (1.6%), maxillary sinusitis in six (2.4%), while otitis media, multiple renal embolisms with hematuria, osteomyelitis and thrombophlebitis were found in one (0.4%) patient each (Table 1).

The distribution of particular extrameningeal/systemic events did not differ among meningitis versus septic patients.

Pneumonia was the most prevalent pulmonary manifestation (ten patients) and most frequently found in the meningitis group (9/10 patients,  $p < 0.05$ ) (Table 1).

Pericarditis was the most common cardiac manifestation (7/9 patients) and it was more frequent in the patients with meningitis (Table 1).

Ocular and auricular manifestations were recorded in seven and in four patients, respectively (Table 1).

Most of the systemic manifestations, 30 (71.4%), developed within the first three days of the disease, nine (21.4%) within 3–7 days, while only three (7.1%) developed after seven days. Difference between early onset (1–3 days) and late (> 7 days) reached the level of statistical significance ( $p < 0.01$ ) (Table 2).

The average duration of treatment was eight days for the meningitis in comparison to 10 days for sepsis ( $p > 0.01$ ). The treatment was significantly longer (15 days) in the group with extrameningeal manifestations ( $p < 0.05$ ).

Table 1

Type of complications	Extrameningeal/systemic complications [n(%)]		
	Patients with meningitis	Patients with sepsis	Total
	(n = 211)	(n = 35)	(n = 246)
Pulmonary	11 (5.2)	1 (2.8)	12 (4.9)
pneumonia	9 (4.3)*	1 (2.8)	10 (4.1)
bronchitis	1 (0.5)		1 (0.4)
atelectasis	1 (0.5)		1 (0.4)
Cardiac	7 (3.3)	2 (5.7)	9 (3.6)
pericarditis	5 (2.3)	2 (5.7)	7 (2.8)
transitory nodal rhythm	1 (0.5)		1 (0.4)
wandering pacemaker	1 (0.5)		1 (0.4)
Ophthalmic	6 (2.8)	1 (2.8)	7 (2.8)
optic nerve papillitis	1 (0.5)	1 (2.8)	2 (0.8)
epipapillary hemorrhage	1 (0.5)		1 (0.4)
papillary edema	2 (0.9)		2 (0.8)
conjunctivitis	2 (0.9)		2 (0.8)
Articular	3 (1.4)	1 (2.8)	4 (1.6)
arthritis of the knee	3 (1.4)		3 (1.2)
arthritis of the ankle		1 (2.8)	1 (0.4)
Maxillary sinusitis	6 (2.8)		6 (2.4)
Otitis media	1 (0.5)		1 (0.4)
Renal		1 (2.8)	1 (0.4)
Osteomyelitis		1 (2.8)	1 (0.4)
Thrombophlebitis	1 (0.5)		1 (0.4)
Total	35 (16.6)	7 (20)	42 (17.1)

\*  $p < 0.05$  vs patients with sepsis

Table 2

Extrameningeal / Systemic manifestation	Number of patients (%)		
	Day 1–3	Day 3–7	Day >7
Pneumonia	5 (11.9)	5 (11.9)	
Atelectasis		1 (2.4)	
Bronchitis	1 (2.4)		
Pericarditis	6 (14.2)	1 (2.4)	
Transitory nodal rhythm	1 (2.4)		
Wandering pacemaker	1 (2.4)		
Papillitis of the optic nerve	1 (2.4)		1 (2.4)
Epipapillary hemorrhage	1 (2.4)		
Papillary edema	2 (4.7)		
Conjunctivitis	2 (4.7)		
Arthritis	2 (4.7)	1 (2.4)	1 (2.4)
Thrombophlebitis		1 (2.4)	
Renal embolism with hematuria	1 (2.4)		
Osteomyelitis			1 (2.4)
Otitis media	1 (2.4)		
Sinusitis	1 (2.2)		
Total	30 / 71.4	9 (21.4)	3 (7.1)

The total number of lethal outcomes among the patients affected with meningococcal disease was 13 (5%), being higher among the patients with the septic type of the disease. Among patients with extrameningeal manifestations (n = 42) the outcome of the disease was favorable in 40 patients (95.2%), while 2 (4.76%) patients died (pneumonia and thrombophlebitis), both from the meningitis group.

## Discussion

In the course of the meningococcal sepsis and meningitis, in addition to clinical manifestations typical for the disease, other extra-meningeal/systemic clinical conditions may

develop, as well. In our series of patients, they developed in 17%. Etiology of the manifestations may be verified by isolation of meningococci and/or detection of the meningococcal DNA, however these tests are often negative since antibiotic therapy has already been initiated.

Regarding pulmonary manifestations, pneumonia was most frequently described, primarily in the elderly<sup>1,2</sup>. It was also most common in our patients (4.1%), almost exclusively in those with meningitis (9 of 10). Pneumonia occurring in the course of the meningococcal disease may be induced by the meningococci *per se* or by some other organisms (due to aspiration during the course of meningitis). If the nasopharyngeal carriage of meningococci is present, identification of

the disease etiology may be unreliable if based on the sputum culture only, due to possible contamination of sputum samples. In our series, meningococci were isolated from the blood cultures, and pneumonia resolved within seven days in 9/10 patients, suggesting meningococcal etiology.

One patient with pneumonia which developed on the 6th day of meningitis died.

Primary meningococcal pneumonia is rather uncommon manifestation of the meningococcal disease. It develops most commonly in the immunocompromised or elderly patients<sup>3</sup>. In a study carried out in Finland, out of 182 patients with of community-acquired pneumonia, meningococcus was proved to be the causative organism in six cases only<sup>3</sup>. It may be preceded by viral respiratory infections. Among the majority of the elderly patients with meningococcal infections, Young et al.<sup>4</sup> reported serologic evidence of influenza.

Involvement of the paranasal sinuses and middle ear is most probably a consequence of the meningococcal infection *per se*, although the role of other bacteria cannot be ruled out. Sinusitis was evidenced in six patients, while otitis and lung atelectasis were found in one patient each (both with impaired state of consciousness during meningitis).

Cardiac manifestations most frequently described are pericarditis and myocarditis, while in our patient series, conduction disorders (transitory nodal rhythm and wandering pacemaker) were observed, as well.

Among patients with purulent pericarditis, meningococcal etiology was confirmed in 6–16%<sup>5</sup>. The prevalence of pericarditis of 2.8% in our series of patients is in concordance with the data reported by Morse et al.<sup>6</sup> and Pierce et al.<sup>7</sup> who recorded pericarditis prevalence of 3–19% among patients with the meningococcal disease.

Finkelstein et al.<sup>5</sup> proposed a classification of meningococcal pericarditis into three groups: pericarditis as local manifestation of the disseminated meningococcal disease; isolated meningococcal pericarditis; and reactive (immune-mediated) pericarditis.

Meningococcal pericarditis may be manifested as purulent or as serous. The difference is related to the time of its onset. Purulent pericarditis develops during the early, bacteremic phase, while serous pericarditis develops later in the course, even the convalescence phase (group three according to Finkelstein<sup>5</sup>). It is believed that bacterial antigens due to molecular mimicry lead to cross-reaction with the pericardial antigens.

Various meningococcal serotypes were confirmed among patients with pericarditis. It was observed that pericarditis developed more frequently in patients induced by serotype C (61%); serotype B was found in two pediatric patients, while serotype W135 was recorded in four adult patients<sup>8,9</sup>. However, other authors reported the highest number of pericarditis, arthritis and pneumonia cases in the course of infections induced by serotype W135<sup>6,7</sup>. In our series of patients there was no difference in the distribution of meningococci serotypes regarding pericarditis. Clinical manifestations of the disease may be obvious (chest pain, dyspnea, pericardial friction rub). However, persistent fever was occasionally the only clinical sign. ECG abnormalities

were found in all the patients, while the diagnosis was confirmed by echocardiography when available. Pericardial effusion evacuation is infrequently performed (due to small amount), and thus isolation of the meningococci is exceptionally rare. If the amount of effusion is large enough it may lead to cardiac tamponade, a life threatening condition<sup>7</sup>. Fortunately, there were no cardiac tamponade cases in our series.

In our series of patients, pericarditis was not associated with any organ-specific symptoms, and the diagnosis was established according to persistent fever and minimal pericardial effusion on echosonography, both of which completely resolved after the conservative treatment with the nonsteroidal anti-inflammatory drugs, while only one of them received glucocorticoides.

Recurrent pericarditis is exceptionally rare after the meningococcal infection. Several cases were described among children, while the reasons of its recurrence most commonly remain unknown<sup>10–12</sup>. The association with chronic inflammatory diseases, cardiac surgeries, influenza A infections or vaccinations was evidenced in some cases<sup>13</sup>. In these cases, the course of the disease may be chronic and unpredictable, regardless of the applied therapy or cause of the relapse. It is known that corticosteroids lead to rapid withdrawal of symptoms, however their administration may also induce dependance<sup>14</sup>.

Based on the literature data, myocarditis of different degree of severity is found in even 50% of patients who had died from the meningococcal disease<sup>15</sup>. In a series of children with meningococemia, higher incidence of lethal outcomes was observed in the group with echocardiographic signs of the myocardial dysfunctions and well as signs of myocardial ischemia with elevated values of creatine phosphokinase and troponin I<sup>16,17</sup>. In our series of patients with pericarditis two had ECG findings of myopericarditis, which resolved after a day, but none of them had only myocarditis.

Congestive heart failure with pulmonary edema and high central venous pressure accompanied by the signs of poor peripheral perfusion were also described<sup>18</sup>.

Arthritis developing in the course of meningococcal disease is uncommon occurring in 5–11% of patients<sup>19,20</sup>. Arthritis may develop early, during dissemination of meningococci, or later, when immunological mechanisms are supposed to be involved (synovial precipitation of immune complexes). Jarret et al.<sup>20</sup> reported arthritis in 10–20% of patients, within 4–7 days from the onset of the disease. A large joint (most frequently the knee) is most commonly affected, while involvement of two or more large joints is less common. Weisfelt et al.<sup>22</sup> conducted a large national study to investigate the prevalence of arthritis among patients suffering from bacterial meningitis and they found it to develop most frequently in the course of meningococcal meningitis (48/697, 12%). The knee was affected in 50%, without any influence on favorable outcome of the disease or joint function.

Arthritis developed in four (1.6%) patients from our series and it affected one joint in each of them. In two patients, arthritis developed within three days from the onset of the



disease, while in one of the patients it developed after seven days (suggesting the immune-mediated mechanism). Etiology of the disease may be confirmed by isolation of meningococci and/or detection of its DNA in the synovial fluid. In our patients, diagnosis was based on the clinical criteria only. Some authors reported arthritis to be significantly more frequent in infection caused by the serotype W135<sup>6,7</sup>.

Ophthalmic changes developing in the course of meningococcal disease may be diverse. In addition to conjunctivitis, which frequently accompanies numerous infectious diseases, deeper structures of the eye may also be affected. The most serious complication is endophthalmitis that may lead to loss of vision<sup>23</sup>. In the pre-antibiotic era, meningococcus was the most common cause of endophthalmitis and it developed in 5% of patients<sup>24</sup>. In our series ocular changes were found in seven (2.8%) and they developed most frequently within the first three days after the onset of the disease, being more frequent among the patients with meningitis. Conjunctivitis and epipapillary hemorrhage developed two days after the onset of the disease as a result of meningococcal dissemination. Papillary edema and the optic nerve papillitis developed in the course of meningitis due to the increased intracranial pressure. In one of the patients, papillitis of the optic nerve developed seven days after the onset of the disease, and thus, in addition to the infectious component the immune one may be also considered in this case<sup>25</sup>.

Celulitis, adnexitis, sialoadenitis, upper respiratory tract infections, genital and anal infections were also reported as rare complications<sup>26</sup>.

In our series of patients, we have also found complications that had never been previously reported before. Multiple renal embolisms with macroscopic hematuria associated with sepsis is most probably induced by activation of the vasoactive material due to edotoxemia. Osteomyelitis devel-

oped after extensive skin and soft tissue necrosis in a patient suffering from meningococcal sepsis.

Most of the extrameningeal/systemic manifestations developed within the first three days of the disease (71.4%) which undoubtedly suggests a direct influence of meningococci. The proposed immune-mediated events associated with meningococcal meningitis<sup>9</sup> are observed in only 3 (7.1%) patients (seven days after the onset of meningitis), such as papillitis of the optic nerve and arthritis cases.

Extrameningeal manifestations prolong and complicate treatment of meningococcal disease. However they have no significant influence on the outcome of the disease. Out of 42 patients, lethal outcome ensued in two (4.8%) – both from the meningitis group. One of them had pneumonia, while the other thrombophlebitis.

### Conclusion

Extrameningeal or systemic manifestations are uncommon complications during the course of both meningococcal meningitis and sepsis. The onset of pneumonia, pericarditis, eye involvement, and arthritis, as well as same rare complications, such as multiple renal embolism with hematuria were observed within the initial seven days of the disease, which indicates that they develop as a direct consequence of meningococcal dissemination. They were more prevalent in the course of meningitis, and they did not influence the disease outcome.

### Acknowledgments

This paper is dedicated to our teacher, Professor Miodir Kecmanović, who was a prominent infectologist in Serbia, and who greatly contributed in the control of the last small pox outbreak in Europe (Serbia, 1972).

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

1. Wang JL, Liu DP, Yen JJ, Yu CJ, Liu HC, Lin CY, et al. Clinical features and outcome of sporadic serogroup W135 disease Taiwan. *BMC Infect Dis* 2006; 6: 7.
2. Vienne P, Ducos-Galand M, Guilyoule A, Pires R, Giorgini D, Taba MK, et al. The role of particular strains of *Neisseria meningitidis* in meningococcal arthritis, pericarditis, and pneumonia. *Clin Infect Dis* 2003; 37(12): 1639–42.
3. Kerttula Y, Leinonen M, Koskela M, Mäkelä PH. The aetiology of pneumonia. Application of bacterial serology and basic laboratory methods. *J Infect* 1987; 14(1): 21–30.
4. Young LS, LaForce FM, Head JJ, Feeley JC, Bennett JV. A simultaneous outbreak of meningococcal and influenza infections. *N Engl J Med* 1972; 287(1): 5–9.
5. Finkelstein Y, Adler Y, Nussinovitch M, Varsano I, Amir J. A new classification for pericarditis associated with meningococcal infection. *Eur J Pediatr* 1997; 156(8): 585–8.
6. Morse JR, Oretsky MI, Hudson JA. Pericarditis as a complication of meningococcal meningitis. *Ann Intern Med* 1971; 74(2): 212–7.
7. Pierce HI, Cooper EB. Meningococcal pericarditis. Clinical features and therapy in five patients. *Arch Intern Med* 1972; 129(6): 918–22.
8. Manchanda V, Gupta S, Bhalla P. Meningococcal disease: history, epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, antimicrobial susceptibility and prevention. *Indian J Med Microbiol* 2006; 24(1): 7–19.
9. El Bashir H, Klaber R, El Baki A, Booy R. W135 meningococcal pericarditis: report of two cases and review of the literature. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23(10): 969–70.
10. Chiappini E, Galli L, de Martino M, De Simone L. Recurrent pericarditis after meningococcal infection. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23(7): 692–3.
11. Stange K, Damaschke HJ, Bervig K. Secondary immunologically-caused myocarditis, pericarditis and exudative pleuritis due to meningococcal meningitis. *Z Kardiol* 2001; 90(3): 197–202. (German)
12. Dupont M, du Haut Cilly FB, Arvieux C, Tattenin P, Almange C, Michelet C. Recurrent pericarditis during meningococcal meningitis. 2 case reports. *Presse Med* 2004; 33(8): 533–4. (French)
13. Streifler JJ, Dux S, Garty M, Rosenfeld JB. Recurrent pericarditis: a rare complication of influenza vaccination. *Br Med J* 1981; 283(6290): 526–7.
14. Raatikka M, Pelkonen PM, Karjalainen J, Jokinen EV. Recurrent pericarditis in children and adolescents: report of 15 cases. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42(4): 759–64.

15. *Hardman JM, Earle KM.* Myocarditis in 200 fatal meningococcal infections. *Arch Pathol* 1969; 87(3): 318–25.
16. *Gradans F, Klein RM, von Giesen HJ, Arendt G, Heintzen MP, Leschke M, et al.* Clinical course and complications of meningococcal septicemia. *Med Klin (Munich)* 1999; 94(11): 633–7.
17. *Briassoulis G, Narlioglou M, Zavras N, Hatzis T.* Myocardial injury in meningococcus-induced purpura fulminans in children. *Intensive Care Med* 2001; 27(6): 1073–82.
18. *Levin S, Painter MB.* The treatment of acute meningococcal infection in adults. A reappraisal. *Ann Intern Med* 1966; 64(5): 1049–56.
19. *Schaad UB.* Arthritis in disease due to *Neisseria meningitidis*. *Rev Infect Dis* 1980; 2(6): 880–8.
20. *Jarrett MP, Moses S, Barland P, Miller MH.* Articular complications of meningococcal meningitis. An immune complex disorder. *Arch Intern Med* 1980; 140(12): 1665–6.
21. *Greenwood BM, Mohammed I, Whittle HC.* Immune complexes and the pathogenesis of meningococcal arthritis. *Clin Exp Immunol* 1985; 59(3): 513–9.
22. *Weisfelt M, van de Beek D, Spanjaard L, de Gans J.* Arthritis in adults with community-acquired bacterial meningitis: a prospective cohort study. *BMC Infect Dis* 2006; 6: 64.
23. *Sleep T, Graham M.* A case of meningococcal endophthalmitis in a well patient. *Br J Ophthalmol* 1997; 81(11): 1016–7.
24. *Lewis PW.* Ocular complications of meningococcal meningitis: observations in 350 cases. *Am J Ophthalmol* 1940; 23: 617–32.
25. *Stephani U, Bleckmann H.* Rare complications in a case of generalized meningococcal disease: immunologic reaction versus bacterial metastasis. *Infection* 1982; 10(1): 23–7.
26. *van Deuren M, Brandtzaeg P, van der Meer JW.* Update on meningococcal disease with emphasis on pathogenesis and clinical management. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13(1): 144–66.

The paper received on November 5, 2008.



## Učestalost rupture materice u porođaju i rizici koje nosi po majku i novorođenče

### Frequency of uterine rupture at delivery and accompanying risks for the mother and the newborn

Nedo Čutura, Vesna Soldo, Aleksandar Ćurković

Ginekološko-akušerska klinika „Narodni Front“, Beograd, Srbija

#### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Ruptura materice je veoma teška komplikacija u porođaju i predstavlja veliki rizik za život majke i novorođenčeta. Cilj rada bio je da se utvrdi učestalost rupture materice na ukupan broj porođaja, sagledaju okolnosti i uzroci koji dovode do rupture, utvrdi perinatalni i maternalni mortalitet i prikažu naši terapijski postupci. **Metode.** U grupi od 37 ruptura koje su nastale u periodu 1991–2000. godine na 59 660 porođaja analizirali smo godine starosti porođilja, stepen obrazovanja, gestacionu starost, paritet, prethodni carski rez i druge operacije na uterusu, vreme postavljanja dijagnoze rupture, stepen i mesto rupture, upotrebu sintocinona (Sy) i prostaglandina (Pg) u porođaju, perinatalni i maternalni mortalitet, kao i terapijski postupak kod nastale rupture. **Rezultat.** Analizom dobijenih rezultata utvrđeno je da godine starosti, obrazovanje, paritet, gestaciona starost i stimulacija u porođaju nisu imali bitnog uticaja na nastanak rupture materice u porođaju. Najveći uticaj na rupturu uterusu u našoj grupi imali su prethodni carski rez i miomektomija u odnosu 33 : 4. Inkompletne rupture uterusu bile su češće i zabeležene su kod 26 (70,27%) bolesnica, dok su kompletne bile prisutne kod 11 (29,75%) bolesnica. Najčešće mesto rupture uterusu bio je prednji zid kod 34 (91,89%) bolesnice, dve rupture bile su na fundusu i jedna na zadnjem zidu. Najčešće primenjen terapijski postupak bio je sutura rupture kod 31 (83,78%) bolesnice, a kod šest (16,22%) urađena je histerektomija. Perinatalni mortalitet bio je tri puta veći od prosečnog (17,78‰) u tom periodu i iznosio je 51,28‰. **Zaključak.** Učestalost ruptura na ukupan broj porođaja je jedna ruptura na 1 612 porođaja, dok je učestalost ruptura na intaktnom uterusu 1 : 17 269, a učestalost ruptura na uterusu posle carskog reza je jedna ruptura na 245 porođaja. Prethodni carski rez najčešći je razlog za nastajanje rupture uterusu, te stoga, carski rez treba izbegavati kad god je to moguće ne samo zbog potencijalne ruptуре, nego i zbog učestalije histerektomije koja prekida reproduktivnu sposobnost žene.

**Ključne reči:** porođaj; materica; ruptura; novorođenče; faktori rizika.

#### Abstract

**Background/Aim.** Uterine rupture at delivery is a severe lifethreatening complication for both mother and the newborn. The aim of the study was to determine the frequency of total number uterine rupture within the deliveries, to perceive circumstances and causes that lead to rupture, to establish perinatal and maternal mortality and to present our therapeutic procedure. **Methods.** In the group of 37 ruptures at 59 660 deliveries from the period 1991–2000 included in this retrospective study we analyzed age, level of education, gestational age, parity, previous caesarian section and other operations on uterus, time of diagnosing rupture, grade and place of rupture, use of Syntocinon and Prostaglandin at delivery, perinatal and maternal mortality, as well as therapeutic procedures at rupture that occurred. **Results.** The highest influence on uterine rupture in our group had been exerted by previous caesarian section and myomectomy in relation 33 : 4. Incomplete uterine ruptures were more frequent, 26 (70.27%), in relation to complete ones, 11 (29.75%). The most frequent place of uterine rupture was the front wall, 34 (91.89%), two ruptures occurred on the fundus and one on the back wall. The most frequently applied therapeutic procedures were rupture suture in 31 (83.78%) cases, and in six (16.22%) cases hysterectomy. Perinatal mortality was three times higher than average (17.78‰) in that period and was 51.28‰. **Conclusion.** We emphasize that rupture frequency in the total number of deliveries was one rupture at 1 612 deliveries, whereas rupture frequency on the intact uterus was 1 : 17 269, and frequency of uterine rupture after caesarian section was one rupture at 245 deliveries. Our research as well as researches of other authors, showed that a previous caesarian section is the most frequent cause for the occurrence of uterine rupture. Therefore, caesarian section should be avoided whenever possible, not just because of a potential rupture, but also because of more frequent hysterectomy that interrupts woman's reproductive ability.

**Key words:** delivery, obstetric; uterus; uterine rupture; infant, newborn; risk factors.

## Uvod

Ruptura materice predstavlja jednu od najtežih komplikacija u trudnoći i porođaju, koja je u velikom procentu fatalna za plod<sup>1-3</sup>.

Nekada joj prethode upozoravajući, manje ili više prepoznatljiviji, simptomi, ali neretko oni izostanu, te se ruptura pojavi kao iznenađenje.

Primena epiduralne anestezije može da maskira kliničku sliku rupture materice.

Primenom farmakoloških preparata za inicijaciju i stimulaciju porođaja: sintocinona (Sy), prostaglandina (Pg) i drugih, povećava se rizik od rupture materice, pogotovu ako je na materici prisutan ožiljak od carskog reza ili miomektomije<sup>4-7</sup>.

Ožiljak na materici od prethodnih operacija je predilekciono mesto za nastanak rupture tokom porođaja<sup>8,9</sup>.

Na osnovu različitih kliničkih zbivanja koja prethode rupturi materice razlikuju se klasične ili tipične ruptur materice sa dramatičnim zbivanjem tokom porođaja i druga grupa takozvanih nemih ruptura materice koje se otkrivaju na elektivnom carskom rezu.

Postoji verovatnoća da manji broj ruptura prođe klinički neopaženo, bez ikakvih posledica.

Cilj rada bio je da se na većem broju porođaja utvrdi učestalost ruptura materice, sagledaju okolnosti i uzroci koji dovode ili pogoduju nastanku ruptura materice, utvrdi perinatalna smrtnost i maternalni mortalitet i prikaže naš terapijski postupak kod potvrđenih ruptura.

## Metode

Analitičkoj proceni podvrgli smo grupu od 37 ruptura nastalih u periodu 1991–2000. godina na Ginekološko-akušerskoj klinici „Narodni front“ u Beogradu. U tom periodu na klinici je obavljeno 59 660 porođaja. Od tog broja vaginalno je završeno 51 809 (86,84%), a carskim rezom 7 851 (13,16%) porođaja. Broj novorođenčadi u tom periodu iznosio je 60 573, a ukupni perinatalni mortalitet na ovaj broj novorođenčadi iznosio je 17,78%.

U posmatranoj grupi podvrgli smo analizi sledeće parametre: godine starosti porođilja, gestacionu starost, paritet, obrazovanje, prethodne operacije na uterusu, vreme postavljanja dijagnoze ruptur uterusa, stepen ruptur i mesto ruptur, upotreba Sy i Pg u stimulaciji porođaja, stanje novorođenčeta na rođenju, perinatalni i maternalni mortalitet i terapijski postupak kod nastale ruptur materice.

Analiza je urađena Pearsonovim  $\chi^2$  testom uz nivo značajnosti od  $p < 0,05$ .

## Rezultati

Analizom dobijenih rezultata utvrdili smo da godine porođilja ne utiču značajno na rupturu materice u trudnoći i porođaju, iako je posle 30. godine bilo 17 (45,94%) nastalih ruptura, što bi se moglo objasniti time da su ruptur daleko češće kod višerotki, posle carskog reza, koje rađaju u kasnijem starosnom dobu.

Najveći broj ruptur materice 27 (72,97%), desio se kod donesenih trudnoća, pri čemu treba naglasiti činjenicu da prevremeni porođaji u ovoj komplikaciji učestvuju sa 27,03%, iako prevremeni porođaji u ukupnom broju porođaja učestvuju sa oko 11%. Ruptur materice javljale su se značajno češće kod višerotki, 34 (91,89%) (tabela 1).

**Tabela 1**  
Nedelja gestacije i pariteta u posmatranoj grupi porođilja

Parametri	n	%	$p$ ( $\chi^2$ test)
Nedelja gestacije			
≤ 37	10	27	< 0,05
> 37	27,03	72,97	
Ukupno	37	100,00	
Paritet			
prvorotke	3	8,11	< 0,05
višerotke	34	91,89	

Stepen obrazovanja nije imao uticaja na ovu komplikaciju. Dobijena razlika nije bila statistički značajna ( $\chi^2 = 1,905$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0,05$ ), jer je broj ispitanica po kategorijama obrazovanja bio približno jednak.

Prema našem istraživanju najveći rizik od nastanka ruptur materice ima prethodni carski rez koji je bio prisutan kod 32 ruptur materice. U jednom slučaju ruptura je nastala na mestu ožiljka od miomektomije, što zajedno čini 33 (89,18%) ruptur u odnosu na četiri ruptur bez prethodnog carskog reza ili miomektomije (tabela 2). Razlika je statistički značajna, ( $\chi^2 = 7,675$ ;  $df = 3$ ;  $p < 0,05$ ).

**Tabela 2**  
Prethodne operacije na uterusu u posmatranoj grupi porođilja

Prethodne operacije na uterusu	n	%
Miomektomija	1	2,71
1 carski rez	21	56,75
≥ 2 carska reza	11	29,73
Nije bilo operacija	4	10,81
Ukupno	37	100,00

Mnogo je češća nekompletna ruptura materice koja je zabeležena kod 26 (70,27%) bolesnica, dok se kompletna ruptura zabeležena kod 11 (29,75%) bolesnica. Prednji zid uterusa najčešće je mesto ruptur u ispitivanoj grupi i bio je zahvaćen kod 34 (91,89%) bolesnice, dok je jedna ruptura bila na zadnjem zidu, a dva na fundusu. Dobijena razlika je statistički visoko-značajna ( $\chi^2 = 21,205$ ;  $df = 3$ ;  $p < 0,01$ ).

U ispitivanoj grupi kod dve bolesnice ishod je bio smrt ploda (*fetus mortus*), dok smrti majki nije bilo. Perinatalni mortalitet bio je 51,28%, što je tri puta više nego ukupni perinatalni mortalitet.

Kod 31 (83,78%) majke ruptura je rešena suturom, a kod 6 (16,22%) urađena je histerekomija sa konzervacijom adneksa (tabela 3).

Tabela 3

Terapijski tretman rupture materice			
Terapijski tretman	n	%	$p$ ( $\chi^2$ test)
Sutura	31	83,78	< 0,01
Histerektomija	6	16,22	
Ukupno	37	100,00	

Dobijena razlika je statistički visoko značajna ( $\chi^2 = 19,485$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0,01$ ).

### Diskusija

Dobijeni rezultati pokazuju da je učestalost rupture materice na ukupan broj porođaja u posmatranoj grupi jedna ruptura na 1 612 porođaja, što se slaže sa rezultatom Al Salema i sar.<sup>10</sup> koji navode odnos od 1 : 1 851.

Učestalost rupture materice kod vaginalnih porođaja sa intaktnim uterusom je jedna ruptura na 17 269 porođaja. Slične podatke saopštavaju i drugi autori<sup>11-13</sup> kod kojih je taj odnos 1 : 14 866.

U grupi bolesnica sa prethodnim carskim rezom ruptura materice bila je prisutna u odnosu jedna ruptura na 245 porođaja završenih carskim rezom. Prisutnost rupture materice od 91,89% na prednjem zidu materice logična je zbog veće kontraktilnosti prednjeg zida, kao i zbog ožiljka od prethodnog carskog reza koji je bio prisutan kod 89,18% trudnica, takođe na prednjem zidu materice. Naši rezultati slični su podacima koje iznose američki i drugi autori u svetu<sup>14-18</sup>.

Manji broj ruptura materice posle dva i više carskih rezova u ispitivanoj grupi ne znači manju učestalost ruptura materice. Naprotiv, one su češće, ali je sam broj manji zbog manjeg broja trudnica koje se porođaju tri ili više puta (oko 10%) pa je samim tim i broj carskih rezova manji, ali je njihova učestalost veća u toj grupi s posledičnim povećanjem učestalosti rupture materice (tabela 2).

Korišćenje sredstava stimulacije u porođaju kod naše grupe nije bilo od značaja, jer je samo kod jedne porodilje (u vaginalnom porođaju) nakon primene stimulacije došlo do

rupture uterusa, iako je stimulacija poslednjih godina na našoj klinici prisutna kod oko 70% porođaja.

Kod bolesnica sa ožiljkom na uterusu (nakon carskog reza, miomektomije) uglavnom se ide na elektivni carski rez čime se izbegava stimulacija, te je prethodni ožiljak glavni razlog za nastanak rupture materice (što smo i dokazali u našoj studiji).

Posebnost naših rezultata je u tome što u posmatranom periodu nismo imali nijednu smrtnost majke uzrokovane rupturom materice, i što je broj ruptura materice, posle vaginalnih porođaja, izuzetno mali (1 : 17 269).

U ispitivanoj grupi, kod dva slučaja došlo je do intrauterine smrti ploda, a smrtnost majke nije zabeležena ni u jednom slučaju.

Perinatalni mortalitet bio je 51,28 %, što je tri puta više nego ukupni perinatalni mortalitet. Rezultati su slični rezultatima drugih autora<sup>1-3, 19</sup>.

U posmatranom periodu učestalost carskih rezova iznosila je 13,6% , dok posle 2000. godine rapidno raste (u 2005. iznosila je 21%), te se može očekivati i povećanje broja ruptura uterusa posle carskih rezova, a time i povećanje učestalosti ruptura uterusa na ukupan broj porođaja.

### Zaključak

Ruptura materice posle carskog reza 70 puta je češća nego posle vaginalnog porođaja sa intaktnim uterusom. Prethodni carski rez može se smatrati glavnim razlogom za rupturu materice. Ožiljak na uterusu nakon miomektomije povećava rizik od nastanka rupture uterusa u toku porođaja. Najveći broj ruptura materice dešava se kod donesenih trudnoća i to češće kod višerotki posle carskog reza koje rađaju u kasnijem starosnom dobu. Mnogo je češća nekompletna ruptura materice nego kompletna, pri čemu je prednji zid uterusa najčešće mesto ruptore. Najveći broj ruptura dijagnostikuje se na carskom rezu. Kod većine majki ruptura se rešava suturom, a kod ostalih se radi histerektomija sa konzervacijom adneksa. Perinatalni mortalitet je tri puta veći u grupi sa rupturom materice nego što iznosi ukupni preinatalni mortalitet u porođajima bez ruptore materice.

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

1. Kulkarni S, Patil S, Budihal D, Seetaram S. Rupture uterus: a 10 years review. J Obstet Gynaecol 1997; 47: 344-52.
2. Bujold E, Gauthier RJ. Neonatal morbidity associated with uterine rupture: what are the risk factors? Am J Obstet Gynecol 2002; 186(2): 311-4.
3. Durnwald C, Mercer B. Uterine rupture, perioperative and perinatal morbidity after single-layer and double-layer closure at cesarean delivery. Am J Obstet Gynecol 2003; 189(4): 925-9.
4. Kayani SI, Alfjirevic Z. Uterine rupture after induction of labour in women with previous caesarean section. BJOG 2005; 112(4): 451-5.
5. Delaney T, Young DC. Spontaneous versus induced labor after a previous cesarean delivery. Obstet Gynecol 2003; 102(1): 39-44.
6. Grobman WA, Gilbert S, Landon MB, Spong CY, Leveno KJ, Rouse DJ, et al. Outcomes of induction of labor after one prior cesarean. Obstet Gynecol 2007; 109(2 Pt 1): 262-9.
7. Ravasia DJ, Wood SL, Pollard JK. Uterine rupture during induced trial of labor among women with previous cesarean delivery. Am J Obstet Gynecol 2000; 183(5): 1176-9.
8. Cunningham FG, Gistrap LG, Clark H. Obstetrical haemorrhage. In: William's editor. Obstetrics. 20th ed. USA: Prentice-Hall International; 2001. pp. 771-9.
9. Nielsen TF, Ljungblad U, Hagberg H. Rupture and dehiscence of cesarean section scar during pregnancy and delivery. Am J Obstet Gynecol 1989; 160(3): 569-73.
10. Al Salem MH, Makhsed M, Ahmed MA, Gupta M. Rupture of the Gravid Uterus: Experience of the Maternity Hospital, Kuwait. Med Principles Pract 2000; 9: 97-105.
11. Gregory KD, Korst LM, Cane P, Platt LD, Kahn K. Vaginal birth after cesarean and uterine rupture rates in California. Obstet Gynecol 1999; 94(6): 985-9.
12. Zelop CM, Shipp TD, Repke JT, Cohen A, Lieberman E. Effect of previous vaginal delivery on the risk of uterine rupture during



- a subsequent trial of labor. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183(5): 1184–6.
13. *Shipp TD, Zelop CM, Repke JT, Cohen A, Lieberman E.* Interdelivery interval and risk of symptomatic uterine rupture. *Obstet Gynecol* 2001; 97(2): 175–7.
  14. *Adanu RM, Obed SA.* Ruptured uterus at the Korle-Bu Teaching Hospital, Accra, Ghana. *Int J Gynaecol Obstet* 2001; 73(3): 253–5.
  15. *Lydon-Rochelle M, Holt VL, Easterling TR, Martin DP.* Risk of uterine rupture during labor among women with a prior cesarean delivery. *N Engl J Med* 2001; 345(1): 3–8.
  16. *Caughy AB, Shipp TD, Repke JT, Zelop CM, Cohen A, Lieberman E.* Rate of uterine rupture during a trial of labor in women with one or two prior cesarean deliveries. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 81(4): 872–6.
  17. *Blanchette H, Blanchette M, McCabe J, Vincent S.* Is vaginal birth after cesarean safe? Experience at a community hospital. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184(7): 1478–84.
  18. *Kieser KE, Baskett TF.* A 10-year population-based study of uterine rupture. *Obstet Gynecol* 2002; 100(4): 749–53.
  19. *Landon MB, Hauth JC, Leveno KJ, Spong CY, Leindecker S, Varner MW, et al.* Maternal and perinatal outcomes associated with a trial of labor after prior cesarean delivery. *N Engl J Med* 2004; 351(25): 2581–9.
- Rad primljen 12. XI 2008.



## Renal transplantation vs hemodialysis: cost-effectiveness analysis

Transplantacija bubrega naspram hemodijalize: analiza odnosa troškova i efikasnosti

Saša Perović\*, Slobodan Janković†

\*Republic Health Insurance Institute, Belgrade, Serbia;

†School of Medicine, Kragujevac, Serbia

### Abstract

**Background/Aim.** Chronic renal insufficiency (CRI), diabetes, hypertension, autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) are the main reasons for starting dialysis treatment in patients having kidney function failure. At present, dialysis treatments are performed in about 4,100 patients at 46 institutions in Serbia, out of which 90% are hemodialyses. At end-stage renal disease (ESRD) the only correct selection is kidney transplantation. The basic aim of the planned research was to compare ratio of costs and effects (Cost Effectiveness Analysis – CEA) of hemodialysis and kidney transplantation in patients at ESRD. **Methods.** As the main issue of treatment in patients from both groups the life quality measured by the validated McGill Questionary, was used. The study included 150 patients totally, divided into two groups. The study group consisted of 50 patients with kidney transplantation performed at the Clinical Center of Serbia and the control group consisted of 100 patients on hemodialysis at Clinical Center of Serbia, Clinical Hospital Center Zemun, Clinical Hospital Center “Zvezdara”, Clinical Center Kragujevac and Health Center “Studenica”, Kraljevo, comparable with respect to sex, age and length of treatment with the study group. **Results.** Effect of kidney transplantation in relation to hemodialysis being selection of treatment is expressed in the form of incremental ratio of costs and effects (Incremental Cost-Effectiveness Ratio – ICER). It is clear from the enclosed tables that the strategy of kidney transplantation is far more profitable considering the fact that it represents saving of EUR 132,256.25 per one year of contribution Quality Adjusted Life Years (QALY) within the period of 10 years. According to all aspects of live quality (physical symptoms and problems, physical well-being, psychological symptoms, existential well-being and support), difference is statistically important in favour of transplant patients. **Conclusion.** The costs of patient therapy by hemodialysis at end-stage renal disease is far greater than by performing therapy of transplantation and maintenance, by almost three and a half times. Difference in total quality aspects of human life (physical, emotional, social, spiritual and financial) between dialysed and transplant patients is statistically significant and by 18.12% greater in transplant patients than in patients on hemodialysis.

### Key words:

dialysis; kidney failure, chronic; questionnaires; costs and cost analysis.

### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Hronična bubrežna slabost (HBS), dijabetes, hipertenzija, autozomno dominantna policistična bolest bubrega (ADPBB) glavni su razlozi za otpočinjanje dijaliznih tretmana kod bolesnika sa poremećajem rada bubrega. Trenutno, oko 4 100 bolesnika u Srbiji koristi dijalizne tretmane u 46 ustanova, od kojih 90% predstavljaju hemodijalize. U terminalnoj fazi bolesti, jedini pravi izbor je transplantacija bubrega. Osnovni cilj planiranog istraživanja bio je da se uporedi odnos troškova i efekata (CEA) hemodijalize i transplantacije bubrega kod bolesnika u terminalnoj fazi bubrežne bolesti (*End Stage Renal Disease* – ESRD). **Metode.** Kao glavni ishod lečenja kod bolesnika iz obe grupe primenjen je kvalitet života meren validiranim Mek Gil upitnikom (McGill Questionary). U istraživanje je bilo uključeno ukupno 150 bolesnika, podeljenih u dve grupe: studijsku grupu od 50 osoba u koju su bili svrstani bolesnici sa transplantiranim bubrežima u Kliničkom centru Srbije i kontrolnu grupu od 100 osoba u koju su bili svrstani bolesnici na hemodijalizi u Kliničkom centru Srbije, Kliničko-bolničkom centru Zemun, Kliničko-bolničkom centru „Zvezdara“, Kliničkom centru Kragujevac i Zdravstvenom centru „Studenica“ Kraljevo, uporedivi po polu, starosti i dužini lečenja sa studijskom grupom. **Rezultati.** Efekat transplantacije bubrega u odnosu na hemodijalizu kao izbor lečenja izražen je u vidu inkrementalnog odnosa troškova i efekata (*Incremental Cost Effectiveness Ratio* – ICER). Iz priloženih tabela jasno se vidi da je strategija transplantacije bubrega daleko isplativija s obzirom na to da predstavlja uštedu od 132 256,25 evra po jednoj godini doprinosa QALY u toku perioda od 10 godina. Po svim aspektima kvaliteta života (fizički simptomi i problemi, fizičko blagostanje, psihološki problemi, egzistencijalni status i podrška okoline), razlika je statistički značajna u korist transplantiranih bolesnika. **Zaključak.** Iz izvedene kalkulacije troškova jasno je da su troškovi terapije lečenja bolesnika hemodijalizom u terminalnoj fazi bubrežne bolesti daleko veći nego terapijom transplantacije bubrega i održavanja i to za skoro tri i po puta. Razlika u ukupnim aspektima kvaliteta ljudskog života (fizički, emotivni, društveni, duhovni i finansijski) između dijaliziranih i transplantiranih bolesnika statistički je značajna i za 18,12% veća kod transplantiranih bolesnika, nego kod bolesnika na hemodijalizi.

### Ključne reči:

dijaliza; bubrež; hronična insuficijencija; upitnici; cene i analiza cena

## Introduction

Chronic renal insufficiency (CRI), hypertension, autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) are the main reasons for starting dialysis treatment in patients with kidney function failure<sup>1-5</sup>. At present, dialysis treatments are performed in about 4.100 patients at 46 institutions in Serbia, out of which 90% are hemodialyses. The number of dialysis treatments per patient is 145 annually, whereas patients are often forced to travel by ambulance even up to 200 km in both directions due to insufficient dialyses capacities.

At end-stage renal disease (ESRD), kidney transplantation is the only correct selection. The first kidney transplantation in our country was performed in Belgrade in 1973<sup>6</sup>. The number of kidney transplantation is constantly growing, so that 100 transplantations were performed in 2007. There is no doubt any more that by introducing cyclosporin A in a threefold immunosuppressive protocol there has come both to short-term and long-term improvement in transplantation efficiency. Tacrolimus and mycophenolate mofetil bring to considerable decrease of risk from acute rejection reaction and slow down chronic rejection of allograft. Significant progress is expected from introducing sirolimus and humanized monoclonal antibodies to IL-2 receptors in standard immunosuppressive protocols<sup>7</sup>.

The aim of the study was to establish all costs associated with patients on hemodialysis – direct and indirect medical and non-medical expenses, as well as in patients with kidney transplantation. Besides, the aim was also to establish life quality of patients on dialysis and after kidney transplantation by applying verified McGill Questionnaire.

Results of our study confirmed findings of similar or identical studies undergone in several countries abroad on lower costs of kidney transplantation than those of hemodialysis for a certain period of patient life, and better life quality in transplant vs dialysed patients.

## Methods

The study was carried out within the period from 25th April to 10th September, 2008 at the Urology and Nephrology Institute of Clinical Center of Serbia, Center for Dialysis of Clinical Hospital Center Zemun, Center for Dialysis of Clinical Hospital Centre "Zvezdara", Center for Dialysis of Clinical Center Kragujevac and Center for Dialysis of Health Center "Studnica", Kraljevo.

A total of 150 patients divided into two groups were included in the study. The study group consisted of 50 patients with kidney transplantation performed at the Clinical Center of Serbia, and the control group consisted of 100 patients on hemodialysis at the Clinical Center of Serbia, Clinical Hospital Center Zemun, Clinical Hospital Center "Zvezdara", Clinical Center Kragujevac and Health Center "Studnica", Kraljevo, comparable with respect to sex, age and length of treatment with the study group.

As the main issue of treatment in patients from both groups we used life quality measured by the validated McGill Questionnaire consisting of a part A (total life qual-

ity: physical, emotional, social, spiritual and financial) and 16 questions divided in 5 different spheres (physical symptoms, physical well-being, psychological symptoms, existential well-being and support).

For all 150 interviewed patients additional data were gathered on eventual diseases (diabetes, heart failure, angina pectoris, alcoholism, nicotine addiction, psychiatric diseases, asthma, as well as length of renal insufficiency treatment) in order to investigate whether mentioned diseases have any influence on life quality.

With respect to costs, direct treatment costs of both hemodialysis and kidney transplantation, were taken into consideration. A perspective of the Republic Health Insurance Institute (RHII) was, also, used in the study.

Discount rate of 3% per year was used on the occasion of costs calculation.

The costs were expressed in RSD and EUR (1 EUR: 80 RSD)<sup>8-10</sup>.

Study time horizon covered a ten-year period after transplantation, and ten years of treatment by hemodialysis.

The pharmaco-economic method for analysis of costs and effects (results) ratio, so-called Cost Effectiveness Analysis (CEA) was used. The effect was expressed as the number of obtained years of life being corrected with respect to quality (Quality Adjusted Life Years – QALY).

An effect of kidney transplantation in relation to hemodialysis as treatment selection was expressed in the form of Incremental Cost-Effectiveness Ratio (ICER), according to the equation:  $ICER = CTR - CHD / ETR - EHD = \Delta C / \Delta E$   
CTR – costs of transplant patients for a 10-year period  
CHD – cost of patients on hemodialysis for a 10-year period  
ETR – QALY years of life for transplant patients  
EHD – QALY years of life for patients on hemodialysis

The statistical results processing was carried out with the SPSS commercial programme package (Version 10.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Data distribution normality was evaluated by Kolmogorov-Smirnov test.

The *t* test was used for parameters having normal data distribution, whereas Mann-Whitney test was used for comparison between groups with nonparametric data distribution.

The Wald's backward model of multiple regression was used.

The values of  $p < 0.05$  were considered as statistically significant.

## Results

There was no statistically significant age difference between the dialysed (in average 42.92 years) and transplant (in average 40.58 years) patients ( $p = 0.154$ , *t* test).

There were a statistically significant difference between dialysed and transplant patients in: total quality of life ( $p = 0.025$ , *t* test), physical well-being ( $p = 0.019$ , *t* test), nervousness feeling ( $p = 0.003$ , *t* test), sadness feeling ( $p = 0.004$ , *t* test), success in achieving life ( $p = 0.001$ , *t* test), life preciousness estimation ( $p = 0.001$ , *t* test), physical symptoms ( $p = 0.000$ , *t* test), physical well-being ( $p = 0.019$ ,

*t* test), psychological symptoms ( $p = 0.006$ , *t* test), existential well-being ( $p = 0.000$ , *t* test), and support ( $p = 0.030$ , *t* test) (Table 1).

Total costs per one hemodialysis treatment was calculated to be 9,185.25 RSD (Table 3). Considering that a patient on hemodialysis had, on average, 144 treatments yearly, total hemo-

**Table 1**  
**Estimation of life quality in transplant and dialysed patients at end-stage renal disease by using McGill Questionnaire Score**

Parameters of life quality	McGill Questionnaire Score ( $\bar{x} \pm SD$ )		<i>p</i> ( <i>t</i> test)
	transplant	dialysed	
Total quality	6.52 ± 2.57	5.52 ± 2.54	0.025
General physical well-being	7.14 ± 2.98	5.96 ± 2.81	0.019
Intensity of nervousness feeling	3.24 ± 3.17	4.99 ± 3.46	0.003
Intensity of sadness feeling	2.00 ± 2.45	3.40 ± 3.36	0.004
Success in achieving life aims	6.96 ± 2.66	5.21 ± 2.97	0.001
Life preciousness estimation	8.04 ± 2.55	6.41 ± 3.07	0.004
Intensity of total physical symptoms	1.65 ± 2.34	3.67 ± 3.49	0.000
Intensity of total psychological symptoms	7.14 ± 2.98	5.96 ± 2.81	0.019
Total existential well-being	6.93 ± 1.73	5.77 ± 1.91	0.000
Estimation of support	7.67 ± 2.77	6.68 ± 2.14	0.030

In the group of dialysed patients, 43% had good life quality, whereas that percent was even 68% in transplant patients (Table 2).

**Table 2**  
**Life quality in transplant vs dialysed patients at end-stage renal disease**

Life quality	Patients (%)	
	transplant	dialysed
Good	68	43
Bad	32	57
Total	100	100

dialysis price was 1,322.676 RSD ( $144 \times 9,185.25$ ). Accordingly, hemodialysis price per a patient for a 10-year period is 13,226.760 RSD ( $10 \times 1,322.676$ ), or EUR 165,334.50.

Costs per one transplant patient for a 10-year period were calculated to be 3,915,923.15 RSD or EUR 48,949.00 (Table 4).

According to the equation for calculating ICER, its value is -10,580,496.00 RSD or -132,256.25 EUR suggesting that costs of kidney transplantation and patient maintenance therapy are considerably lower than costs of hemodialysis within a

**Table 3**  
**Total costs per one hemodialysis treatment**

Costs type	Price in RSD
Consumables for hemodialysis	4,396.00
Drugs for therapy of persons on hemodialysis	3,220.00
Other hemodialysis costs	1,291.25
Operation costs	278.00
Total costs	9,185.25

**Table 4**  
**Total transplantation costs for a 10-year period**

Costs Type	Price in RSD
Kidney transplantation price	390.200
Drugs for maintenance therapy for transplant patients	3,506.190
Operation costs	19,533.15
Total costs	3,915,923.15

Multiple linear regression showed that only the treatment type, dialysis or transplantation had an impact on low or high life quality ( $\leq 5.5$ , or  $> 5.5$ , respectively). The ratio is 2.857 (1.209–6.754), which means that transplant patients have about three times greater chance of having good life than dialysed ones.

10-year period, as well as that the difference in patient life quality is in favour of patients with kidney transplantation.

Table 5 shows that kidney transplantation strategy is far more cost-effective since it saves EUR 132,256.25 per one year of QALY contribution within 10 years period.

**Table 5**  
**Cost effectiveness analysis (CEA) of three treatment strategies of chronic renal insufficiency in the Republic of Serbia**

Strategy	Costs (EUR)	Marginal costs (EUR)	QALY effect	Marginal QALY effect	CE ratio
Nothing to be done	0	–	0	–	–
Dialysis	165,334.50	165,334.50	4.83	4.83	34,230.75
Transplantation	48,949.00	-116,385.50	5.71	0.88	-132,256.25

## Discussion

Health of population of both sexes in the Republic of Serbia is also influenced by passing of a socio-economic system to the process of transition which causes growth of unemployment, poverty, underemployment or temporary employment, unregistered work, growth of private enterprises having insufficiently developed knowledge about health protection and improvement of employees representing driving force of every economy. This has resulted in an increase in occupational diseases, increase of sick leave rate and permanent disablement for work<sup>11</sup>.

According to the Republic Bureau of Statistics even 0.20% of population suffered from chronic renal insufficiency in 2002 year<sup>12</sup>.

In accordance with the data of the Republic Health Insurance Institute basic costs of consumables for dialysis ranged from 1,777,670,382.55 RSD in 2005, to 2,490,010,963.38 RSD in 2006, to the final 2,747,626,544.52 RSD in 2007.

In practice, there is a great problem of providing treatment for patients on dialysis due to evident lack of capacities, equipment, and appropriate medical staff.

In our country, about 4,100 patients are treated by some of active methods of treating ESRD, of whom 90% are treated by hemodialyses, 6.3% by peritoneal dialysis, whereas transplantation is performed in only 12.3%, which is considerably less than the percentage of transplants that could be found in the EDTA Register<sup>13</sup>. An increase in transplant patients number (from living donors and cadaveric transplantation) has been noticeable in recent years, but, this is still insufficient to cover needs of patients being at ESRD.

In the Czech Republic, the greatest numbers of patients wait for kidney one year, and in our country it is a greater number of years<sup>14</sup>.

In the Republic of Serbia, there is an organized system based on which selection of patients for kidney is made, there is no register of transplant patients, and a waiting list is not systematized. Considering that there are about 400 new patients on dialysis in Serbia every year, it should be expected that the same number of kidney transplantation should be performed per year.

Analysis carried out by the group of authors at the University Toronto, Canada has shown that from the cost effectiveness analysis point of view, cost effectiveness ratio (QALY) is very propitious in favour of transplantation, even for patients from 65 to 70 years of age<sup>15</sup>.

During 1998, by using data from eight transplantation centers located in New York, the study showed that kidney transplantation was far more profitable than hemodialysis. Initial higher costs of transplantation were completely exceeded by hemodialysis after two years and 10 months upon surgery. For persons having right to hemodialysis due to their ESRD exclusively, transplantation should generate an average monthly saving of USD 3,800 over dialysis for two years after the mentioned turning point. Even for of older age patients, the average saving should be USD 2,400 monthly<sup>16</sup>.

Among the first cost effectiveness analyses being carried out in the USA, incremental costs per obtained year of life have been USD 7,460.00 for transplant patients, USD 12,100.00 for patients on home dialysis, and USD 33,300.00 for dialysis performed in patients being at in-patient clinic<sup>17</sup>.

In a research carried out in Hungary, it has been found out that patients with cadaveric kidney transplantation have greater probability of survival after three years upon transplantation than those on hemodialysis. Within the period of three years after transplantation, costs for transplant patients were USD 70,297.00 and three-year treatment on hemodialysis cost USD 109,197.00<sup>18</sup>.

In Japan, in 1995 there were registered 152,373 patients on dialysis, with progressive growth of 10,000 patients every year. In the same year, only 604 transplantations were performed, of which 172 were cadaveric and 432 from live donors<sup>19</sup>.

Comprehensive cost-effectiveness analyses being carried out in Japan have shown that CEA ratio for patients on dialysis is 9,546,000.00 YEN/DALY (DALY – Disability Adjusted Life Years), for patients with cadaveric transplantation it is 2,322,000.00 YEN/DALY, and 1,809,000.00 YEN/DALY for patients with kidney transplantation from live donors. Besides evidence of considerably lower costs and greater effects (benefits) for patients, it has been concluded that the number of transplantation is very small and insufficient with respect to the number of patients on dialysis<sup>20</sup>.

The data obtained by a research carried out in Great Britain have shown that kidney transplantation is very cost-effective and that it represents selection of therapy for patients being at end-stage renal disease. Hemodialysis costs amount GBP 34,000 per patient annually. Out of health budget 3% is spent for hemodialysis. Costs of kidney transplantation amount GBP 20,000.00. Immunosuppressive therapy received by transplant patient amounts GBP 6,500.00 on an annual level. Profit from costs of transplant patient was GBP 191,000.00 within the period of nine years, or GBP 21,200.00 annually per patient with functional transplant kidney. Transplantation was performed in 1,775 patients in Great Britain within the period from 2000 to 2003, bringing to health treasury annual saving of GBP 37,600.00. In this country, increase of transplantation number being the result of speeding up campaign for organ donation is noticeable every year<sup>21</sup>.

On the basis of calculation of all direct costs in our study, hemodialysis price per one patient for 10 years period is 13,226,760.00 RSD or EUR 165,334.50, while corresponding price per one transplant patient is 3,915,923.15 RSD or EUR 48,949.00.

Out of the above stated calculation it is evident that costs of ESRD patient treatment by hemodialysis are far greater than that by kidney transplantation and maintenance therapy and they amount almost three and a half times more (3.38).

Difference in total aspects of human life quality (physical, emotional, social, spiritual and financial) between dialysed patients and transplant ones is statistically significant, and for 18.12% greater in transplant patients than in patients on hemodialysis.



With regard to ratio of generally good or bad life quality, it has been established that in dialysed patients 43% of them have good life quality, whereas that percent is even 68% in transplant patients, which represents significant difference in favour of selection of kidney transplantation as therapy of choice.

In all pharmacoeconomical studies being elaborated in many countries there has been proved an outstanding advantage of selection of patient treatment therapy at ESRD in favour of transplantation. Besides the mentioned, the number of transplanted kidneys is still insufficient regardless the development of transplantation programme.

Why more patients are not transplanted in our country? By simple calculation, provided that this insufficient transplantation rate in the Republic of Serbia is maintained, all patients being on dialysis should be transplanted within the period of 40 years.

In recent years kidney transplantation from living relatives has been dominantly performed in our country, whereas cadaveric transplantations have been practically rare. It is necessary to point out here that of all diseased persons being on waiting list for kidney transplantation 6–8% of them, at the most, have convenient living donor.

However, we create a new patient from live donor and therefore transplantation from the person with brain death diagnosis is very important. Another problem of transplantation performed from relatives is that health status often does not allow organ transplantation. Namely, kidney could be donated by completely healthy person and relatives of patients having renal disease are often of older age, and they mainly suffer from some chronic disease.

A few years ago, the Military Medical Academy, Belgrade launched an action of organ legacy. About 20,000 persons have got donor cards at this institution, but this is not sufficient for a more serious transplantation programme. According to some evaluations, it is necessary that at least two million of citizens legate their organs, so that organ transplantation should become a reality in Serbia<sup>14</sup>.

All this indicates the necessity of developing an organ donation programme which was comprehended in the world

30 years ago and where cadaveric transplantations were dominant.

Serbia is lagging behind developed countries by the number of transplantations, as well as with respect to countries in transition where Czechoslovakia and Hungary represent an excellent example of having well organized transplantation programmes.

In accordance with the mentioned, it shall be necessary to carry out well prepared and coordinated donor actions and prerequisites for the stated are as follows: registration of potential organ donor; education and appropriate population informing about benefits and necessity of intensive promotion and performing actions for organ donation; education of medical staff, physicians and nurses for maintenance of potential cadaveric donor; training of teams for organ explantation at great clinical hospital centers and mobile teams of the existing centers shall be well organised in order to be capable to work independently; providing corresponding necessary medical equipment for brain death determination; forming donator basis by issuing donor cards; establishing patients priority list for organ transplantation; improving of conditions of work and making diagnosis at existing centres; creation of national foundation for organ transplantation; adjustment of legal regulations in connection with organ donation.

A medium-term aim is to perform at least 400 transplantations in all transplantation centers in Serbia annually, so that an important profit could result from all of that both for patients and society in its entirety.

### Conclusion

Our results demonstrated that the costs of patient therapy by hemodialysis at end-stage renal disease is far greater than by performing therapy of kidney transplantation and maintenance, by almost three and a half times. Difference in total quality aspects of human life (physical, emotional, social, spiritual and financial) between dialysed and transplant patients is statistically significant and by 18.12% greater in transplant patients than in patients on hemodialysis.

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

- Oštrić VZ, Đukanović Lj, Jovanović D, Dimković N. Innovations in nephrology. 2001; 6: 45–80.
- Plješa, S. Kidney and urinary tract diseases. In: *Manojlović D*. Editor. Internal medicine. Belgrade: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 1998. p. 1501–5.
- Plješa, S. Renal cystic diseases in grown up persons. Srpski arhiv za celokupno lekarstvo; 1996. 124 Suppl: 235–41.
- Plješa, S. Inherent kidney diseases. In: Đukanović Lj, Oštrić V, editors. Kidney diseases. Belgrade: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, 1999; p. 404–9.
- Colleen B, Zak RN. Polycystic kidney disease: An overview and commentary. *Dialysis&Transplantation* 1999; 28(8): 468–74 S.
- Paunović G, Paunović K, Kostić S, Veličković R, Avramović M. Kidney transplantation in Serbia-prospects at the turn of 21st century. *Acta Medica Medianae* 2004; 43(3): 55–8.
- Ponticelli C, Civati G, Tarantino A, Quarto di Palo F, Corbetta G, Minetti L, et al. Randomized study with cyclosporine in kidney transplantation: 10-year follow-up. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7(5): 792–7.
- Regulation of coefficients for calculation and payment of salaries of employed in public services ("Official Gazette of RS", nos. 44/2001, 15/2002 – second regulation\*, 30/2002, 32/2002-correction, 69/2002, 78/2002, 61/2003, 121/2003, 130/2003, 67/2004, 120/2004, 5/2005, 26/2005, 81/2005, 105/2005, 109/2005, 27/2006, 32/2006, 58/2006, 82/2006, 106/2006, 10/2007, 40/2007 and 60/2007)
- Regulation of Drug List prescribed and charged to the compulsory Health Insurance Funds ("Official Gazette of RS", nos. 127/07, 09/08 - correction, 51/08, 78/08 и 82/08 - correction).
- Regulation of material costs validation for dialysis charged to the compulsory Health Insurance Funds ("Official Gazette of RS", nos. 50/06) World Health Organization. Ministry of Health of

- Republic Serbia. Better Health for All in the Third Millennium. 2003.
11. Annual report on management of renal failure in Europe. EDTA/ERA XXX; 1999.
  12. Republic Bureau of Statistics. Population statistics. Report No. 295,2002.
  13. *Jassal SV, Krahn MD, Naglie G, Zaltzman JS, Roscoe JM, Cole EH*, et al. Kidney transplantation in the elderly: a decision analysis. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14(1): 187–96.
  14. *Loubeau PR, Loubeau JM, Jantzen R*. The economics of kidney transplantation versus hemodialysis. *Prog Transplant* 2001; 11(4): 291–7.
  15. *Klarman HE, Francis JO, Rosenthal GD*. Cost-effectiveness analysis applied to the treatment of chronic renal disease. *Med Care* 1968; 6: 48–54.
  16. *Kaló Z, Járay J, Nagy J*. Economic evaluation of kidney transplantation versus hemodialysis in patients with end-stage renal disease in Hungary. *Prog Transplant* 2001; 11(3): 188–93.
  17. Japanese Society for Dialysis Therapy. Overview of regular dialysis treatment in Japan. The Institut of Tokyo; 2005.
  18. *Kaminota M*. Cost-effectiveness analysis of dialysis and kidney transplants in Japan. *Keio J Med* 2001; 50(2): 100–8.
  19. UK Transplant Press Release 287/03 - 7 December 2003. (Charity Number 1106735).

The paper received on November 19, 2008.



## Ispitivanje kvaliteta života bolesnika sa multiplom sklerozom

### Quality of life assessment in patients with multiple sclerosis

Darija Kisić Tepavčević\*, Tatjana Pekmezović\*, Jelena Drulović†

Medicinski fakultet, \*Institut za epidemiologiju, Beograd, Srbija;

Klinički centar Srbije, †Institut za neurologiju, Beograd, Srbija

#### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Multipla skleroza (MS) je hronično inflamatorno oboljenje centralnog nervnog sistema čiju osnovnu patofiziološku karakteristiku čini demijelinizacija. Ovo oboljenje rangirano je među tri najčešća uzroka teške onesposobljenosti kod mladih osoba. Kod bolesnika sa MS u sagledavanju kompletnog psihofizičkog stanja, osim objektivnog neurološkog nalaza, mora se uzeti u obzir i subjektivna percepcija simptoma i znakova, izražena kao kvalitet života. Cilj ove studije bio je procena kvaliteta života obolelih od multiple skleroze (MS) i ispitivanje korelacija skorova kvaliteta života sa odabranim demografskim i kliničkim parametrima. **Metode.** Istraživanje je dizajnirano kao studija preseka. Kriterijumi za uključivanje u studiju bili su dijagnoza MS (McDonaldovi kriterijumi), uzrast 18–60 godina, EDSS (*The Expanded Disability Status Scale*) < 8 i pismena saglasnost ispitanika. Kriterijumi za isključivanje iz studije bili su egzacerbacija bolesti u poslednjih mesec dana, prisustvo hroničnih bolesti, ranije verifikovani kognitivni poremećaji i psihijatrijska oboljenja i korišćenje antidepresiva i/ili kortikosteroida u poslednjih mesec dana. Za merenje kvaliteta života korišćen je specifični upitnik MSQoL-54 (*The Multiple Sclerosis Quality of Life* – 54). Za ispitivanje pojedinih funkcija obolelih od MS, korišćene su skale EDSS, MMS (*Mini Mental State*), Hamiltonova skala za depresiju i skala zamora Krupove. Statistička analiza prikupljenih podataka uključila je metode deskriptivne statistike i korelaciju analizu. **Rezultati.** Veća vrednost kompozitnog skora MSQoL-54 dobijena je za mentalno ( $56,3 \pm 19,5$ ), u odnosu na fizičko zdravlje ( $51,3 \pm 17,9$ ), što znači da je značajniji uticaj na smanjenje kvaliteta života imao fizički hendikep u poređenju sa poremećajima mentalnog zdravlja. Najveće vrednosti pojedinačnih skorova kvaliteta života dobijene su za domene bola ( $75,7 \pm 25,5$ ) i kognitivnih funkcija ( $77,4 \pm 22,5$ ), a najniže za domene onesposobljenosti zbog fizičkog zdravlja i mentalnog zdravlja. Kvalitet života procenjen upitnikom MSQoL-54 statistički značajno je korelirao sa kliničkim tokom MS, dužinom trajanja bolesti, zaposlenošću i bračnim statusom ispitanika. Skorovi kvaliteta života većine domena MSQoL-54 bili su statistički značajno povezani sa stepenom fizičke onesposobljenosti ( $32,5 \pm 42,0$ ), prisustvom depresivnosti i zamora ( $44,6 \pm 47,8$ ) bolesnika sa MS. **Zaključak.** Ova studija pokazala je da različiti demografski i klinički parametri značajno narušavaju kvalitet života bolesnika sa MS.

**Ključne reči:** multipla skleroza; kvalitet života; upitnici.

#### Abstract

**Background/Aim.** Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory disease of central nervous system. The main physiopathological feature of MS is demyelination. Multiple sclerosis is one of three most common causes of severe disability in youngest people. In patients with MS, apart from complete psychophysical status and objective neurologic status, a subjective perception of symptoms and signs, known as quality of life, must be considered, too. The aim of this study was to estimate a health related quality of life (HRQoL) in patients with multiple sclerosis (MS) and to investigate the correlations between scores of HRQoL and selected demographic and clinical parameters. **Methods.** A cross-sectional study was performed in patients meeting following inclusion criteria: MS diagnosis (McDonald's criteria), age 18–60 years, the Expanded Disability Status Scale (EDSS) < 8, and written informed consent. Exclusion criteria were exacerbation of MS in the last month, any preexisting major chronic illness and/or psychiatric disorders and antidepressive and/or corticosteroid therapy in the last month. The quality of life was measured by a disease specific instrument, MSQoL-54 (*The Multiple Sclerosis Quality of Life*). The neurological impairment was assessed using the Expanded Disability Status Scale (EDSS) and Mini Mental Scale (MMS). The presence and severity of depression was estimated by the Hamilton Depression Rating Scale (HDRS). The presence and severity of fatigue was assessed by the Fatigue Severity Scale (FSS). Statistical analysis included descriptive statistics and correlation analysis. **Results.** The higher HRQoL score was registered for mental health ( $56.3 \pm 19.5$ ) than for physical one ( $51.3 \pm 17.9$ ), which means that physical disability had more important influence on quality of life deterioration comparing to mental health. The highest values of HRQoL were observed in domains of Cognitive Functioning ( $77.4 \pm 22.5$ ) and Pain ( $75.7 \pm 25.5$ ). The lowest scores of HRQoL were registered in domains of Role Limitations due to Physical Problems ( $32.5 \pm 42.0$ ) and Role Limitations due to Emotional Problems ( $44.6 \pm 47.8$ ). HRQoL scores statistically significantly correlated with natural history of MS, duration of diseases, employment and marriage status of participants. Deterioration in quality of life scores in the most of MSQoL-54 scales and subscales statistically significantly correlated with the presence and severity of physical disability, depression status and fatigue in patients with MS. **Conclusion.** This study showed that different demographic and clinical parameters had a major influence on HRQoL impairment in the sample of patients with MS.

**Key words:** multiple sclerosis; quality of life; questionnaires.

## Uvod

Multipla skleroza (MS) je hronično inflamatorno oboljenje centralnog nervnog sistema (CNS) čiju osnovnu patofiziološku karakteristiku čini destrukcija mijelina – demijelinizacija. Iako nema tako visoku učestalost u poređenju sa nekim drugim neurološkim oboljenjima (npr. glavobolje, cerebrovaskularna oboljenja), njen značaj proizlazi iz činjenice da je početak bolesti uglavnom vezan za mladu populaciju (obično kraj 3. decenije života) i ima višegodišnji, često progresivan tok koji vodi u trajnu invalidnost i, obično indirektno, u smrt. U razvijenim zemljama sveta ovo oboljenje rangirano je među tri najčešća uzroka teške onesposobljenosti u kategoriji mladih odraslih osoba, pre svega, zbog gubitka produktivnosti i visokih troškova lečenja i rehabilitacije<sup>1,2</sup>.

S obzirom da je MS oboljenje čija je priroda u velikoj meri još uvek nepoznata, kao i da njena učestalost, a samim tim i značaj, raste u gotovo svim delovima sveta, danas se različiti aspekti ove bolesti veoma intenzivno izučavaju, s ciljem da se detaljnije upozna njena prirodna evolucija, poboljšaju terapijski rezultati i unapredi kvalitet života oboljelih<sup>2-4</sup>.

Merenje kvaliteta života oboljelih od MS u poslednje dve decenije postalo je nezaobilazna stepenica u mnogim istraživanjima<sup>5-7</sup>. Rezultati ovih studija pokazali su da procena zdravstvenog stanja bolesnika sa MS, koja je zasnovana samo na fizikalnom nalazu, gotovo uvek potcenjuje teškoće koje ovi bolesnici imaju u obavljanju svakodnevnih životnih aktivnosti. Stoga, većina autora slaže se u činjenici da se u sagledavanju kompletnog psihofizičkog stanja bolesnika sa MS, osim objektivnog neurološkog nalaza, mora uzeti u obzir i subjektivna percepcija simptoma i znakova oboljelih, izražena kao kvalitet života<sup>7-9</sup>.

Cilj ove studije bio je procena kvaliteta života oboljelih od MS i ispitivanje korelacija skorova kvaliteta života sa odabranim demografskim i kliničkim parametrima.

## Metode

Istraživanje je dizajnirano kao studija preseka. Kriterijumi za uključivanje u studiju bili su dijagnoza MS postavljena prema McDonaldovim<sup>22</sup> kriterijumima, uzrast 18–60 godina, EDSS (*The Expanded Disability Status Scale*) < 8 i pismene saglasnost ispitanika. Kriterijumi za isključivanje iz studije bili su: egzacerbacija bolesti u poslednjih mesec dana, prisutne hronične bolesti (vaskularne, ginekološke, endokrinološke, urološke), ranije verifikovani kognitivni premećaji i psihijatrijska oboljenja, kao i korišćenje antidepresiva i/ili kortikosteroida u poslednjih mesec dana.

Od ukupno 215 bolesnika sa MS koji su se javili na redovni kontrolni pregled u ambulante Instituta za neurologiju Kliničkog centra Srbije, u periodu od 1.3. do 1.6.2003. godine, 109 je ispunilo sve kriterijume za učešće u ovom istraživanju.

Kao instrument merenja kvaliteta života u ovom istraživanju korišćen je specifični upitnik za merenje kvaliteta života oboljelih od MS, MSQoL-54<sup>10</sup> (*The Multiple Sclerosis Quality of Life – 54*), za koji je predhodno izvršena validacija i kulturološka adaptacija za srpsko govorno područje<sup>11</sup>.

Upitnik MSQoL-54 sastoji se od domena opšteg generičkog upitnika za merenje kvaliteta života (SF-36) i dodatnih 18 pitanja koja su specifična isključivo za bolesnike sa MS. Ovaj upitnik sadrži 54 pitanja podeljena na 14 domena: fizičko zdravlje, onesposobljenost zbog fizičkog zdravlja, onesposobljenost zbog emocionalnih problema, bol, emotivno funkcionisanje, osećaj snage i energije, subjektivna percepcija zdravlja, socijalno funkcionisanje, kognitivne funkcije, uznemirenost zbog zdravstvenog stanja, seksualne funkcije, promene u zdravstvenom stanju, zadovoljstvo seksualnim životom i kvalitet života.

Ispitanici su samostalno popunjavali upitnik MSQoL-54 u prisustvu lekara koji im je bio na raspolaganju u slučaju poteškoća u razumevanju pojedinih pitanja. Skorovanje rezultata upitnika MSQoL-54 izvršeno je po metodi Likerta<sup>12</sup>. Nakon izračunavanja ukupnih zbirova svakog pojedinačnog domena, izračunavaju se kompozitni skor fizičkog zdravlja (PHC – *Physical Health Composite Score*) i kompozitni skor mentalnog zdravlja (MHC – *Mental Health Composite Score*), koji su u vezi sa kvalitetom života. Svi pojedinačni skorovi i oba kompozitna skora mogu imati vrednosti u intervalu od 0 do 100, gde 0 predstavlja najgori mogući, a 100 najbolji mogući kvalitet života koji je u vezi sa fizičkim, odnosno, mentalnim zdravljem.

Opšti upitnik sastojao se iz dva dela. Prvi deo sadržao je pitanja kojima su obuhvaćene osnovne demografske karakteristike oboljelih kao što su pol, uzrast, mesto stanovanja, stepen obrazovanja, zanimanje, zaposlenost i bračni status. Drugi deo opšteg upitnika odnosio se na kliničke karakteristike bolesnika: uzrast na početku bolesti, dužina bolesti, tok MS.

U cilju ispitivanja stanja pojedinih funkcija oboljelih od MS, u ovom istraživanju, korišćene su i sledeće skale: EDSS<sup>13</sup>, MMS (*Mini Mental Scor*)<sup>14</sup>, Hamiltonova skale za procenu depresivnosti (HDRS – *Hamilton Depression Rating Scale*)<sup>15</sup>, FSS (*Fatigue Severity Scale* – Skala zamora Krupove)<sup>16</sup>.

Statistička analiza prikupljenih podataka uključila je metode deskriptivne statistike i korelacionu analizu. Za obradu podataka korišćen je SPSS program.

## Rezultati

U studiju je bilo uključeno 109 bolesnika sa MS koji su se u periodu od 1.3. do 1.6.2003. godine javili na redovni kontrolni pregled u ambulante Instituta za neurologiju Kliničkog centra Srbije. Pregled osnovnih demografskih karakteristika ispitanika prikazan je u tabeli 1.

Ispitivanjem stepena obrazovanja utvrđeno je da je većina (68,9%) bolesnika sa MS uključenih u naše istraživanje imala srednju školsku spremu. Analiziranjem ispitanika u odnosu na zanimanje, uočeno je da su se najčešće (60,6%) bavili službeničkim zanimanjima. Takođe, ispitivanjem zaposlenosti učesnika u studiji, utvrđeno je da 72 (66,1%) ispitanika nisu bila u radnom odnosu, pri čemu je 19 (17,4%) bilo nezaposleno, dok su 53 (48,6%) penzionisani zbog svog zdravstvenog stanja.

**Tabela 1**  
**Demografske karakteristike bolesnika sa multiplom sklerozom**

Karakteristike	Vrednosti
Uzrast (godine), ( $\bar{x} \pm SD$ )	41,7 $\pm$ 8,7
Pol [n(%)]	
muškarci	31 (28,4)
žene	78 (71,6)
Mesto stanovanja [n(%)]	
selo	18 (16,5)
grad	91 (83,5)
Bračno stanje [n(%)]	
neoženjen/neudata	26 (23,9)
oženjen/udata	74 (67,9)
razveden/razvedena	7 (6,4)
udovac/udovica	2 (1,8)

Pregled osnovnih kliničkih karakteristika ispitanika obolelih od MS prikazan je u tabeli 2. Prosečan uzrast na početku bolesti iznosio je 32 godine, pri čemu je najmlađi bolesnik imao 17 godina na početku bolesti, a najstariji 50 godina. Takođe, prosečna dužina trajanja bolesti bila je devet godina, minimalno jedna, a maksimalno 28 godina. Raspodela

prema prirodnom toku bolesti ukazuje na najveću zastupljenost remitentne forme MS (67,0%) u odnosu na sekundarno progresivnu (26,6%) i primarno progresivnu (6,4%) MS. Prosečna vrednost EDSS skora, kao i njegova medijana, iznosile su 4,5, što znači da je polovina bolesnika mogla da pređe deonicu puta od 300 metara bez pomoći ili odmora, kao i da ispunjava dnevne obaveze prosečne težine. Srednja vrednost MMS skora bila je 29, što znači da većina obolelih nije imala nikakvih značajnih poremećaja kognitivnog statusa. Čak 63 ispitanika (57,8%) imalo je maksimalnu vrednost 30, dok je samo jedan ispitanik imao vrednost ovog skora ispod 24. Prosečna vrednost FSS bila je 4,8  $\pm$  1,5, pri čemu je minimalna vrednost iznosila 1,5, a maksimalna 9,0. S obzirom da je srednja vrednost ovog skora, u zdravoj populaciji, 2,3  $\pm$  0,7, a da se sve vrednosti iznad 4,8 navode kao patološke, većina bolesnika u ovoj studiji doživljavala je zamor u značajnom stepenu. Prosečna vrednost Hamiltonove skale za procenu depresivnosti bila je 12,5  $\pm$  5,6, pri čemu je minimalna vrednost iznosila 3, a maksimalna 33.

U tabeli 3 prikazani su skorovi kvaliteta života dobijeni analizom svih domena specifičnog upitnika MSQoL-54. Najveće vrednosti skorova dobijene su za domene kognitivnih funkcija i bola, što znači da su ove karakteristike najma-

**Tabela 2**  
**Kliničke karakteristike ispitanika sa multiplom sklerozom**

Karakteristike	Vrednosti
Uzrast na početku bolesti (godine), ( $\bar{x} \pm SD$ )	32,4 $\pm$ 8,4
Dužina bolesti (godine), ( $\bar{x} \pm SD$ )	9,1 $\pm$ 6,5
Tok MS [n(%)]	
relapsno-remitentni (RR)	73 (67,0)
primarno-progresivni (PP)	7 (6,4)
sekundarno-progresivni (SP)	29 (26,6)
Skale ( $\bar{x} \pm SD$ )	
EDSS	4,5 $\pm$ 1,7
MMS	28,8 $\pm$ 1,2
FSS	4,8 $\pm$ 1,5
HDRS	12,5 $\pm$ 5,6

EDSS – proširena skala onesposobljenosti; MMS – mini mental skor; FSS – skala zamora Krupove; HDRS – Hamiltonova skala depresivnosti

**Tabela 3**  
**Skorovi kvaliteta života prema MSQoL-54 kod ispitanika sa multiplom sklerozom**

Domeni MSQoL-54	Skor (0–100)
	$\bar{x} \pm SD$
Fizičko zdravlje	44,8 $\pm$ 28,9
Onesposobljenost zbog fizičkog zdravlja	32,5 $\pm$ 42,0
Onesposobljenost zbog emocionalnih problema	44,6 $\pm$ 47,8
Bol	75,7 $\pm$ 25,5
Emotivno funkcionisanje	52,2 $\pm$ 15,4
Osećaj snage i energije	46,4 $\pm$ 18,5
Subjektivna percepcija zdravlja	40,3 $\pm$ 17,8
Socijalno funkcionisanje	58,9 $\pm$ 20,1
Kognitivne funkcije	77,4 $\pm$ 22,5
Uznemirenost zbog zdravstvenost stanja	67,7 $\pm$ 22,1
Seksualne funkcije	56,6 $\pm$ 32,8
Promena u zdravstvenom stanju	44,0 $\pm$ 27,2
Zadovoljstvo seksualnom funkcijom	46,6 $\pm$ 32,5
Kvalitet života	54,6 $\pm$ 42,9

MSQoL-54 – *The Multiple Sclerosis Quality of Life-54*



nje uticale na smanjenje kvaliteta života obolelih od MS. Naprot tome, najniže vrednosti registrovane su u domenima onesposobljenosti zbog fizičkog zdravlja i subjektivne percepcije zdravlja, odnosno ovi modaliteti imali su najveći doprinos u smanjenju kvaliteta života u našem uzorku bolesnika sa MS.

Kada su u pitanju ukupni skorovi upitnika MSQoL-54, veća vrednost kompozitnog skora dobijena je za mentalno ( $56,3 \pm 19,5$ ), u odnosu na fizičko zdravlje ( $51,3 \pm 17,9$ ), što znači da je značajniji uticaj na smanjenje kvaliteta života imao fizički hendikep od poremećaja mentalnog zdravlja.

Radi procene povezanosti kvaliteta života i određenih demografskih i kliničkih parametara kod obolelih od MS računat je koeficijent korelacije kao mera povezanosti odgovarajućih varijabli.

Kvalitet života procenjen upitnikom MSQoL-54 statistički značajno je korelirao sa kliničkim tokom MS ( $r = -0,475$ ,  $p = 0,001$  za PHC;  $r = -0,281$ ,  $p = 0,003$  za MHC), što znači da su ispitanici sa RR tokom MS imali bolji kvalitet života uslovljen fizičkim i mentalnim zdravljem, u odnosu na one sa PP i SP formom bolesti. Statistički značajna negativna korelacija dobijena je između dužine bolesti i PHC ( $r = -0,194$ ,  $p = 0,043$ ), odnosno duže trajanje bolesti bilo je značajno povezano sa lošijim kvalitetom života zbog fizičke onesposobljenosti.

U našem istraživanju dobijena je i statistički značajna negativna korelacija između zaposlenosti i PHC ( $r = -0,217$ ,  $p = 0,001$ ), odnosno ispitanici koji su bili u radnom odnosu imali su bolji kvalitet života uslovljen fizičkim zdravljem, u odnosu na one koji su bili penzionisani ili nezaposleni. Statistički značajna pozitivna povezanost registrovana je između bračnog statusa i ukupnih skorova kvaliteta života MSQoL-54 ( $r = 0,195$ ,  $p = 0,042$  za PHC;  $r = 0,266$ ,  $p = 0,005$  za MHS), odnosno ispitanici koji su bili u bračnoj zajednici imali su statistički značajno bolji kvalitet života.

U tabeli 4 prikazani su koeficijenti korelacije skorova kvaliteta života svih domena MSQoL-54 i stepena fizičke onesposobljenosti bolesnika sa MS (izraženog preko EDSS skora). Statistički visoko značajna negativna korelacija dobijena je između EDSS skora i vrednosti većine domena MSQoL-54, odnosno veći stepen fizičke onesposobljenosti bio je značajno povezan sa lošijim skorovima kvaliteta života.

Statistički visoko značajna negativna korelacija uočena je između vrednosti FSS i skorova većine domena MSQoL-54, odnosno što je veći stepen zamora koji osećaju bolesnici sa MS, lošiji je i njihov kvalitet života. Najjača negativna korelacija, sa vrednošću FSS, dobijena je u domenu osećaja snage i energije ( $r = -0,67$ ), tj. stepen zamora najviše se odražavao na kvalitet života koji je u vezi sa ovom karakteristikom (tabela 5).

Tabela 4

## Korelacija skorova domena MSQoL-54 sa EDSS

Domeni kvaliteta života	$r^*$	$p$
Fizičko zdravlje	0,82	0,001
Onesposobljenost zbog fizičkog zdravlja	0,51	0,001
Onesposobljenost zbog emocionalnih problema	0,32	0,001
Bol	0,03	0,727
Emotivno funkcionisanje	0,41	0,001
Osećaj snage i energije	0,40	0,001
Subjektivna percepcija zdravlja	0,46	0,001
Socijalno funkcionisanje	0,58	0,001
Kognitivne funkcije	0,10	0,298
Uznemirenost zbog zdravstvenost stanja	0,50	0,001
Seksualne funkcije	0,48	0,001
Promena u zdravstvenom stanju	0,36	0,001
Zadovoljstvo seksualnom funkcijom	0,49	0,001
Kvalitet života	0,15	0,115

\*Pearsonov koeficijent korelacije; MSQoL-54 – *The Multiple Sclerosis Quality of Life-54*; EDSS – proširena skala onesposobljenosti.

Tabela 5

## Korelacija skorova domena MSQoL-54 sa FSS

Domeni kvaliteta života	$r^*$	$p$
Fizičko zdravlje	0,52	0,001
Onesposobljenost zbog fizičkog zdravlja	0,23	0,016
Onesposobljenost zbog emocionalnih problema	0,18	0,064
Bol	0,20	0,057
Emotivno funkcionisanje	0,56	0,001
Osećaj snage i energije	0,67	0,001
Subjektivna percepcija zdravlja	0,51	0,001
Socijalno funkcionisanje	0,49	0,001
Kognitivne funkcije	0,25	0,009
Uznemirenost zbog zdravstvenost stanja	0,57	0,001
Seksualne funkcije	0,55	0,001
Promena u zdravstvenom stanju	0,34	0,001
Zadovoljstvo seksualnom funkcijom	0,48	0,001
Kvalitet života	0,24	0,014

\*Pearsonov koeficijent korelacije; MSQoL-54 – *The Multiple Sclerosis Quality of Life-54*; FSS – skala zamora Krupove

Statistički visoko značajna negativna povezanost registrovana je i između vrednosti ukupnog skora HDRS i skoro-va svih domena MSQoL-54, osim za supskalu kvaliteta života gde ova povezanost nije bila statistički značajna. Ovakva korelacija ukazuje da što je veća vrednost HDRS, manja je vrednost skorova skala i supskala MSQoL-54, tj. lošiji je kvalitet života obolelih od MS. Najjača povezanost, u ovom setu podataka, dobijena je za domene emotivnog funkcionisanja ( $r = -0,55$ ) i osećaja snage i energije ( $r = -0,55$ ), odnosno prisustvo depresivnosti kod bolesnika sa MS najviše se odražavao na smanjenje kvaliteta života koje je u vezi sa ovim domenima MSQoL-54 (tabela 6).

nje zdravstvene službe, kao i ekonomsku situaciju u našoj zemlji, psihosocijalna podrška bolesnicima sa MS često nije uključena u standardni protokol lečenja i praćenja obolelih što se verovatno odražava na kvalitet života ovih bolesnika.

S obzirom na to da su neki autori istakli da demografske karakteristike mogu imati uticaj na skorove kvaliteta života obolelih od MS i u našoj studiji ispitivane su ove korelacije<sup>21-23</sup>. Statistički visoko značajna negativna korelacija dobijena je između zaposlenosti i PHC, odnosno ispitanici koji su bili u radnom odnosu imali su bolji kvalitet života uslovljen fizičkim zdravljem, u odnosu na one koji su bili penzionisani ili nezaposleni što je, takođe, zapaženo i u mnogim drugim istraživa-

Tabela 6

## Korelacija skorova domena MSQoL-54 sa HDRS

Domeni kvaliteta života	$r^*$	$p$
Fizičko zdravlje	-0,34	0,001
Onesposobljenost zbog fizičkog zdravlja	-0,41	0,001
Onesposobljenost zbog emocionalnih problema	-0,35	0,001
Bol	-0,42	0,001
Emotivno funkcionisanje	-0,55	0,001
Osećaj snage i energije	-0,55	0,001
Subjektivna percepcija zdravlja	-0,30	0,001
Socijalno funkcionisanje	-0,50	0,001
Kognitivne funkcije	-0,49	0,001
Uznemirenost zbog zdravstvenost stanja	-0,52	0,001
Seksualne funkcije	-0,54	0,001
Promena u zdravstvenom stanju	-0,30	0,001
Zadovoljstvo seksualnom funkcijom	-0,38	0,001
Kvalitet života	-0,16	0,104

\*Pirsonov koeficijent korelacije; MSQoL-54 – *The Multiple Sclerosis Quality of Life-54*; HDRS – Hamiltonova skala depresivnosti

## Diskusija

Prva ispitivanja kvaliteta života obolelih od MS u našoj zemlji počela su pre više od pet godina. Tom prilikom sprovedeno je istraživanje tipa panel-studije u kojoj je kao instrument merenja korišćen opšti generički upitnik za procenu kvaliteta života SF-36<sup>17,18</sup>. U ovoj studiji, prvi put u našoj zemlji, korišćen je specifični upitnik za merenje kvaliteta života obolelih od MS. Opređenjenje za MSQoL-54 proizašlo je iz rezultata dobijenih u dosadašnjim ispitivanjima koja su pokazala da ovaj instrument ima najviši nivo validnosti i pouzdanosti u merenju kvaliteta života bolesnika sa MS<sup>5</sup>.

Skorovi većine domena kvaliteta života, u našem istraživanju u skladu su sa rezultatima dobijenim u drugim studijama<sup>8,19,20</sup>. Veća odstupanja zabeležena su jedino za supskale onesposobljenosti zbog fizičkog zdravlja, socijalnog funkcionisanja, seksualnih funkcija i zadovoljstva seksualnim funkcijama, u odnosu na skorove zabeležene u studijama Millera i sar.<sup>19</sup>, Pittocka i sar.<sup>20</sup> i Amata i sar.<sup>8</sup>. Naime, uočeno je da su skorovi navedenih domena MSQoL-54 u našem istraživanju niži u odnosu na prikazane studije, odnosno da emocionalni problemi, socijalno funkcionisanje i seksualne funkcije više doprinose smanjenju kvaliteta života u našoj grupi bolesnika sa MS. S obzirom na to da su upoređivane MS kohorte bile slične u pogledu demografskih i kliničkih karakteristika, zapažene razlike u skorovima kvaliteta života najverovatnije su posledica socijalnih i kulturoloških prilika u ispitivanim populacijama. Osim toga, imajući u vidu organizaciju i funkcionisa-

njima<sup>22-24</sup>. Statistički značajna pozitivna povezanost registrovana je i između bračnog statusa i ukupnih skorova kvaliteta života MSQoL-54, odnosno ispitanici koji su bili u bračnoj zajednici imali su statistički značajno bolji kvalitet života. Ovakav rezultat dobijen je i u studiji Murphy i sar.<sup>25</sup>, dok je suprotan smer korelacije između ovih varijabli uočen u istraživanju Solari i sar.<sup>21</sup>, odnosno kod obolelih sa MS koji su bili u braku registrovan je lošiji kvalitet života.

Procena povezanosti kvaliteta života i određenih demografskih i kliničkih parametara, kod obolelih od MS, vršena je pomoću koeficijenta korelacije kao mere povezanosti odgovarajućih varijabli. Klinička validnost skala i supskala MSQoL-54 procenjivana je na osnovu koeficijenta korelacije svih domena ovog upitnika i EDSS. Statistički visoko značajna negativna korelacija dobijena je između EDSS i skorova većine domena MSQoL-54, odnosno veće vrednosti EDSS bile su značajno povezane sa lošijim kvalitetom života. Ovakva vrsta povezanosti nije uočena jedino za domene bola, kognitivnog funkcionisanja i subjektivne procene kvaliteta života. U istraživanju koje su vršili Miller i sar.<sup>19</sup> uočena je statistički značajna korelacija EDSS sa svim domenima MSQoL-54, dok u studiji Pittocka i sar.<sup>20</sup> ova povezanost nije registrovana jedino za domene kognitivnog funkcionisanja i onesposobljenosti zbog fizičkog zdravlja. Ovakvi rezultati ukazuju na visoku kliničku validnost MSQoL-54, što pruža veliku mogućnost njegove primene u kliničkoj praksi. Naime, sve veći broj autora ističe da procena zdravstvenog stanja bolesnika, zasnovana samo na objektivnom fizikalnom

nalazu (kao što je određivanje EDSS), gotovo uvek potcenjuje teškoće koje ovi bolesnici imaju u obavljanju svakodnevnih životnih aktivnosti<sup>7,8</sup>. Skorovanje prema EDSS zasnovano je, uglavnom, na proceni motornih sposobnosti, dok mnogi drugi jako važni elementi kvaliteta života (npr. zamor, bol) ne ulaze u skor. Iz tog razloga, ukazala se potreba za njegovim upotpunjavanjem nekim subjektivnim testom koji će da pokrije i ostale aspekte MS, pri proceni kompletnog stanja bolesnika. Većina autora istakla je da primarnu ulogu u tom smislu treba dati merenjima kvaliteta života<sup>7,8,20</sup>.

Rezultati nekoliko istraživanja sprovedenih poslednjih godina pokazali su da prisustvo depresivnosti u velikoj meri može uticati na svakodnevno životno funkcionisanje obolelih od MS<sup>8,26,27</sup>. Slična analiza sprovedena je i u našoj studiji. Dobijena je statistički visoko značajna negativna korelacija između vrednosti ukupnog skora HDRS i skorova kvaliteta života svih domena MSQoL-54, osim za supskalu subjektivne procene kvaliteta života, gde ova povezanost nije bila statistički značajna. U istraživanju Amata i sar.<sup>8</sup> ispitivana je

korelacija između kompozitnih skorova MSQoL-54 i HDRS, gde je, takođe, registrovana jaka asocijacija između ovih varijabli. Janssens i sar.<sup>26</sup> u svojoj studiji pokazali su da postoji značajna korelacija većine domena SF-36 (koji su deo MSQoL-54) i skala za depresiju i anksioznost – *Hospital Anxiety and Depression Scale*.

### Zaključak

Naša studija pokazala je da različiti demografski i klinički parametri MS narušavaju kvalitet života bolesnika. Ovakve vrste istraživanja imaju ulogu u usmeravanju pažnje na simptome i znakove bolesti koji imaju najveći značaj za pojedinačnog bolesnika sa MS. Zbog toga, istraživanja kvaliteta života imaju veliku praktičnu vrednost jer ukazuju na pravce delovanja u tretmanu bolesnika sa MS. U tom cilju, praćenje ove kohorte obolelih od MS biće nastavljeno da bi se identifikovali faktori kvaliteta života koji bi bili prediktori dugoročne prognoze MS.

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

- Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2000; 343(13): 938–52.
- Kremenichutzky M, Rice GPA, Baskerville J, Wingerchuk DM, Ebers GC. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study 9: observations on the progressive phase of the disease. *Brain* 2006; 129(3): 584–94.
- Confavreux C. Defining the natural history of MS: the need for complete data and rigorous definitions. *Mult Scler* 2008; 14(3): 289–91.
- Vukusic S, Confavreux C. Natural history of multiple sclerosis: risk factors and prognostic indicators. *Curr Opin Neurol* 2007; 20(3): 269–74.
- Vickrey BG, Hays RD, Harooni R, Myers LW, Ellison GW. A health-related quality of life measure for multiple sclerosis. *Qual Life Res* 1995; 4(3): 187–206.
- Nicholl L, Hobart JC, Cramp AF, Lowe-Strong AS. Measuring quality of life in multiple sclerosis: not as simple as it sounds. *Mult Scler* 2005; 11(6): 708–12.
- Solari A. Role of health-related quality of life measures in the routine care of people with multiple sclerosis. *Health Qual Life Outcomes* 2005; 3: 16.
- Amato MP, Ponziani G, Rossi F, Liedl CL, Stefanile C, Rossi L. Quality of life in multiple sclerosis: the impact of depression, fatigue and disability. *Mult Scler* 2001; 7(5): 340–4.
- Rudick RA, Miller DM. Health-related quality of life in multiple sclerosis: current evidence, measurement and effects of disease severity and treatment. *CNS Drugs* 2008; 22(10): 827–39.
- Vickrey BG, Hays RD, Genovese BJ, Myers LW, Ellison GW. Comparison of a generic to disease-targeted health-related quality-of-life measures for multiple sclerosis. *J Clin Epidemiol* 1997; 50(5): 557–69.
- Pekmezovic T, Kisić Tepavčević D, Kostić J, Drulović J. Validation and cross-cultural adaptation of the disease-specific questionnaire MSQOL-54 in Serbian multiple sclerosis patients sample. *Qual Life Res* 2007; 16(8): 1383–7.
- Likert RA. A technique for the development of attitude scales. *Educational Psychol Measurement* 1952; 12: 313.
- Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983; 33(11): 1444–52.
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; 12(3): 189–98.
- Hamilton M. Development of a rating scale for primary depressive illness. *Br J Soc Clin Psychol* 1967; 6(4): 278–96.
- Krupp LB, LaRocca NG, Muir-Nash J, Steinberg AD. The fatigue severity scale. Application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Arch Neurol* 1989; 46(10): 1121–3.
- Drulović J, Pekmezović T, Matejić B, Mesaros S, Manigoda M, Dujmović I, et al. Quality of life in patients with multiple sclerosis in Serbia. *Acta Neurol Scand* 2007; 115(3): 147–52.
- Drulović J, Riise T, Nortvedt M, Pekmezović T, Manigoda M. Self-rated physical health predicts change in disability in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2008; 14(7): 999–1002.
- Miller A, Dishon S. Health-related quality of life in multiple sclerosis: psychometric analysis of inventories. *Mult Scler* 2005; 11(4): 450–8.
- Pittock SJ, Mayr WT, McClelland RL, Jorgensen NW, Weigand SD, Noseworthy JH, et al. Quality of life is favorable for most patients with multiple sclerosis: a population-based cohort study. *Arch Neurol* 2004; 61(5): 679–86.
- Solari A, Filippini G, Mendozzi L, Ghezzi A, Cifani S, Barbieri E, et al. Validation of Italian multiple sclerosis quality of life 54 questionnaire. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 67(2): 158–62.
- Aronson KJ. Quality of life among persons with multiple sclerosis and their
- caregivers. *Neurology* 1997; 48(1): 74–80.
- Solari A, Radice D. Health status of people with multiple sclerosis: a community mail survey. *Neurol Sci* 2001; 22(4): 307–15.
- Gronning M, Hannisdal E, Mellgren SI. Multivariate analyses of factors associated with unemployment in people with multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990; 53(5): 388–90.
- Murphy N, Confavreux C, Haas J, König N, Roullet E, Sailer M, et al. Quality of life in multiple sclerosis in France, Germany, and the United Kingdom. Cost of Multiple Sclerosis Study Group. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 65(4): 460–6.
- Janssens AC, van Doorn PA, de Boer JB, Kalkers NF, van der Meche FG, Passchier J, et al. Anxiety and depression influence the relation between disability status and quality of life in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2003; 9(4): 397–403.
- Alshubaili AF, Awadalla AW, Obaeri JU, Mabrouk AA. Relationship of depression, disability, and family caregiver attitudes to the quality of life of Kuwaiti persons with multiple sclerosis: a controlled study. *BMC Neurol* 2007; 7: 31.

Rad je primljen 07. XI 2008.



## Uloga kolposkopije i tipizacije humanog papiloma virusa u daljem dijagnostičkom pristupu bolesnicama sa ASCUS citološkim nalazom grlića materice

The role of colposcopy and typization of human papillomavirus in further diagnostic proceedings in patients with ASC-US cytological finding of the uterine cervix

Radomir Živadinović\*, Vekoslav Lilić\*, Biljana Đorđević†, Zorica Stanojević‡,  
Aleksandra Petrić\*, Goran Lilić\*

Klinički centar Niš, \*Ginekološko akušerska klinika, †Institut za patologiju,  
‡Institut za onkologiju, Niš, Srbija

### Apstrakt

**Uvod / Cilj.** Bethesda sistem klasifikacije citoloških nalaza 2001. godine uvodi u kategoriji nalaza atipičnih skvamoznih ćelija (ASC) dve supkategorije: ASC neodređenog značaja (ASC-US) i ASC koje ne isključuju prisustvo intraepitelskih lezija visokog stepena (ASC-H). Cilj našeg ispitivanja bio je da se utvrdi povezanost ove dve supkategorije sa patološkim nalazom na biopsiji i da se pronađe najbolji dalji dijagnostički pristup u trijaži ovih nalaza. **Metode.** Na Ginekološko-akušerskoj klinici u Nišu analizirano je 130 bolesnica sa ASC nalazom. Sve bolesnice imale su urađen i kolposkopski nalaz, a bolesnice sa patološkim kolposkopskim nalazom imale su i nalaz biopsije. Kod 10 bolesnica sa patološkim histološkim nalazom i 15 sa benignim nalazom urađena je i tipizacija humanog papiloma virusa (HPV) korišćenjem metode *Hybrid Capture*. **Rezultati.** Bolesnice sa ASC-H nalazom u odnosu na bolesnice sa ASC-US nalazom imale su statistički značajno viši procenat patoloških nalaza na biopsiji (57,84 : 20,72). **Zaključak.** Kolposkopija u odnosu na HPV tipizaciju ima nešto višu senzitivnost (94,7 : 90), ali nižu specifičnost (79,27 : 86,6). Upotrebom tipizacije HPV u trijaži bolesnica sa ASC citološkim razmazom statistički značajno se snižava procenat nepotrebnih biopsija grlića materice.

### Ključne reči:

papillomavirus, humani; grlić materice, neoplazme; grlić materice, displazija; dijagnoza; vaginalni brisevi; citološke tehnike; kolposkopija.

### Abstract

**Background/Aim.** Bethesda system of classification of cytological findings was introduced in 2001 two subcategories in the category of atypical squamous cells (ASC) findings: ASC of undetermined significance (ASC-US) and ASC which cannot exclude high-grade intraepithelial lesions (ASC-H). The aim of our study was to assess a possible association of these two subcategories with pathologic biopsy finding and to find out the best further diagnostic proceedings. **Methods.** At the Clinic of Gynecology and Obstetrics, Niš 130 patients with ASC findings were analyzed. Colposcopy was performed in all study participants. Patients with pathological colposcopic findings underwent cervical biopsy. In 10 patients with pathologic histologic and 15 with benign findings human papilloma virus (HPV) typization was done using the Hybrid Capture method. **Results.** Patients with ASC-H finding had significantly more pathologic biopsies compared with patients with ASC-US finding (57.84: 20.72). **Conclusion.** Colposcopy was exhibited somewhat higher sensitivity compared to HPV typization (94.7 : 90), but lower sensitivity (79.27 : 86.6). The usage of HPV typization in the triage of patients with ASC cytologic smear induces statistically significant reduction of unnecessary percentage of cervical biopsies.

### Key words:

papillomavirus, human; uterine cervical neoplasms; uterine cervical dysplasia; diagnosis; vaginal smears; cytological techniques; colposcopy.

### Uvod

Eksfolijativna citologija je zasnovana na mehaničkoj i spontanoj deskvamaciji epitelnih ćelija. Njen cilj je da se na osnovu individualnih ćelijskih promena reflektuje utisak celog tkiva. Papanikolau klasifikacijom ne dobija se zadovo-

ljavajuće poređenje između citologije i histologije. Zbog toga citolozi često su prinuđeni da ovu numeričku klasifikaciju dopunjuju propratnim tekstom i deskriptivnom dijagnozom. Poseban problem predstavljaju blage citološke promene koje ne pripadaju kategoriji patoloških nalaza – svi znaci koji karakterišu jednu atipičnu ćeliju: diskarioza, hiperhromatoza i

patološke mitoze (PA: III), ali ni kategoriji normalnih nalaza koji podrazumevaju normalan citološki rezultat sa mogućim pristupom elemenata inflamacije (PA: II). Citopatogeni efekat infekcije humanim papiloma virusom (HPV) na ćeliji – koilocitoza, takođe predstavlja problem u Papanikolau klasifikaciji.

Zbog svih navedenih razloga bilo je neophodno uvesti novu jedinstvenu citološko – histološku klasifikaciju. Decembra 1988. godine uveden je, a sa manjim izmenama 1991. godine prihvaćen je Bethesda sistem klasifikacije u citologiji i histologiji na osnovu kategorizacije atipičnih skvamoznih ćelija (ASC). Već tada se u toj novoj klasifikaciji pominje kategorija atipičnih skvamoznih ćelija neodređenog značenja (ASC-US) razmaza sa dve supkategorije. Jedna je ASC-US koja favorizuje benigne, reparatorne i reaktivne promene koje mogu biti izazvane infekcijom, reparacijom, atrofijom kao i nekim spoljnim agensima (radijacija, intrauterini uložak) i ASC-US koji favorizuje prisustvo skvamozne intraepitelne lezije (SIL), ali su ćelijske promene kvantitativno i kvalitativno insuficijentne za definitivnu dijagnozu SIL<sup>1</sup>.

Godine 2001. ova klasifikacija je revidirana. Nalaz ASC-US koja favorizuje inflamatorne i reparatorno-reaktivne promene prebačena je u kategoriju nalaza negativnih za intraepitelne lezije i malignitet. Kategorija nalaza ASC reklasifikovana je u dve supkategorije: ASC-US i ASC gde se ne mogu isključiti intraepitelne lezije visokog stepena (HSIL) – ASC-H. Podgrupa ASC-US predstavlja grupu „minimalanih“ citoloških abnormalnosti koje su ozbiljnije od kategorije benignih ćelijskih promena, ali nedovoljno ozbiljne za kategoriju skvamoznih intraepitelne lezije niskog stepena (LSIL). Na taj način ASC-US predstavlja prelaznu supkategoriju između benignih reaktivnih promena i nalaza LSIL. Sa druge strane, ASC-H podrazumeva teže citološke promene koje su po svojim pojedinačnim citološkim karakteristikama sličnije kategoriji HSIL, ali su kvantitativno i kvalitativno nedovoljne za ovu kategoriju. Na taj način, ASC-H predstavlja teškoću u razlikovanju imaturne skvamozne metaplazije kao benigne kategorije i HSIL<sup>2</sup>.

Citološke karakteristike ASC-US ćelije su: citoplazma obilna, poligonalna, po veličini odgovara intermedijalnoj ćeliji; jedro 2 do 3 puta veće od jedra intermedijalne ćelije, normohromatično ili blago hiperhromatično sa granuliranim hromatinom i sa pravilnom ili blago iregularnom jedrovom membranom – ovalnog oblika; odsustvo citopatogenog dejstva HPV infekcije; binukleacija, nespecifični zapaljenski perinuklearni halo.

Citološke karakteristike ASC-H ćelije su: citoplazma okruglog ili ovalnog oblika, oskudnija u odnosu na ASC-US ćeliju, i po veličini odgovara citoplazmi metaplastične ćelije; jedro uvećano, pa je zbog manje citoplazme nukleoprotoplazmatski odnos više narušen, hiperhromatično granulirano, blaga iregularnost jedrove membrane; raniji naziv je atipična ćelija skvamoznog metaplastičnog tipa<sup>3</sup>.

Cilj rada bio je utvrđivanje povezanosti ASC-US i ASC-H razmaza sa patološkim nalazom SIL, kao i utvrđivanje mogućnosti daljeg dijagnostičkog pristupa i trijaže bolesnica sa nalazom ASC, korišćenjem kolposkopije i HPV tipizacije.

## Metode

Prospektivnom statističkom metodom analizirano je 2 820 citoloških nalaza dobijenih u Odseku za citologiju Ginekološko-akušerske klinike u Nišu, u periodu od 1.12.2006. do 1.09.2007. godine. Kod svih bolesnica kod kojih je dobio nalaz ASC (ASC-US i ASC-H), urađena je kolposkopija, a kod bolesnica sa patološkim kolposkopskim nalazom i biopsija grlića materice, a materijal je dalje analiziran u Institutu za patologiju Kliničkog centra u Nišu.

Kod deset bolesnica sa nalazom HSIL na biopsiji i 15 bolesnica sa benignim histopatološkim nalazom biopsije urađena je HPV tipizacija, korišćenjem tehnike *Hybrid capture* u specijalizovanoj laboratoriji *Pharmatia dyagnostika*.

## Rezultati

Rezultati prikazani u tabeli 1 pokazuju da je procentualno bio veći broj bolesnica sa ASC-US nalazom u odnosu na bolesnice sa ASC-H nalazom.

Tabela 1

### Distribucija atipičnih skvamoznih ćelija (ASC) kod ispitivanih grupa bolesnica

ASC razmaz	n	%
ASC-US*	111	85,38
ASC-H†	19	14,61

\*ASC nedoređenog značenja; †ASC gde se ne može isključiti skvamozna intraepitelna lezija visokog stepena

Iz tabele 2 vidi se da je procenat benignih histopatoloških nalaza na biopsiji bio veći kod bolesnica sa ASC-US, nego kod bolesnica sa ASC-H razmazom i ta razlika statistički je značajna.

Zbirni prikaz svih benignih i patoloških nalaza na biopsiji dat je u tabeli 3. On ukazuje na veću povezanost patoloških nalaza biopsije za kategoriju ASC-H.

Tabela 2

### Distribucija histopatoloških nalaza kod bolesnica sa atipičnim skvamoznim ćelijama (ASC) neodređenog značenja (ASC-US) i ASC gde nije isključena skvamozna intraepitelna lezija visokog stepena (ASC-H) u citološkom razmazu

Supkategorije ASC	Benigni HP*		CIN <sup>†</sup> I (blaga displazija)		CIN II (srednje teška displazija)		CIN III (teška displazija <i>carcinoma in situ</i> )		Ukupno
	n	%	n	%	n	%	n	%	
ASC-US	88	79,2	18	16,2	4	3,6	1	0,9	111
ASC-H	8	42,1	6	31,57	2	10,52	3	15,78	19
Ukupno	96	73,84	24	18,46	6	4,61	4	3,07	130

\*histopatološki nalaz; †cervikalna intraepitelna neoplazija

Tabela 3

Zbirni prikaz benignih i patoloških nalaza kod bolesnica sa atipičnim skvamoznim ćelijama (ASC) neodređenog značenja (ASC-US) i ASC gde nije isključena skvamozna intraepitelska lezija visokog stepena (ASC-H) u citološkom razmazu

Supkategorije ASC	Patološki HP nalaz		Benigni HP nalaz		Ukupno
	n	%	n	%	
ASC-US razmaz	23	20,72	88	79,27	111
ASC-H razmaz	11	57,89	8	42,10	19
Ukupno	34	26,15	96	73,84	130

HP – histopatološki

Podaci navedeni u tabeli 4 pokazuju da je HPV tipizacija bila statistički značajno u većem procentu pozitivna kod bolesnica sa ASC citološkim nalazom i patološkim nalazom na biopsiji, u odnosu na ASC i benignim nalazom na biopsiji.

teraturi slični i kreću se od 1,6 do 9%<sup>4</sup>. Ono što se smatra optimalnim jeste da procenat bolesnica sa ASC nalazom ne treba da bude dva do tri puta viši od procenta bolesnica sa SIL nalazom<sup>5</sup>.

Tabela 4

Distribucija tipizacije humanog papilomavirusa (HPV) kod bolesnica sa citološkim nalazom atipičnih skvamoznih ćelija neodređenog značenja (ASC-US) u zavisnosti od histopatološkog nalaza

Histopatološki nalaz	HPV negativan		HPV pozitivan		Ukupno	
	n	%	n	%	n	%
Benigni	13	86,67	2	13,13	15	100
Patološki (HSIL*)	1	10	9	90	10	100
Ukupno	14	56	11	44	25	100

\*skvamozne intraepitelske ćelije visokog stepena

Iz tabele 5 vidi se da kolposkopija ima višu senzitivnost i negativnu prediktivnu vrednost u odnosu na HPV tipizaciju dok, sa druge strane, HPV tipizacija pokazuje višu specifičnost i veću pozitivnu prediktivnu vrednost. Ova razlika nije statistički značajna i pokazuje da je kolposkopija u nešto većem procentu pozitivna kod ASC nalaza i patološkog nalaza na biopsiji, ali da za razliku od HPV tipizacije pokazuje viši procenat patoloških nalaza kod benignih nalaza na biopsiji.

Bez obzira na visoku senzitivnost, ukupna tačnost kolposkopije, prikazana u tabeli 6, pokazuje niže vrednosti od HPV tipizacije, jer je procenat lažno pozitivnih nalaza upotrebom kolposkopije viši nego korišćenjem HPV tipizacije.

U grupi ASC razmaza, kao što se vidi iz tabele 1, u većem procentu bila je zastupljena supkategorija ASC-US razmaza, 111 (85,38%) dok je ASCH razmaza bilo manje, 19 (14,61%). Procenat koji se navodi u literaturi je sličan (77,4% za ASC-US i 22,6% za ASC-H nalaze)<sup>6</sup>. Ovakav procentualni odnos očekivan je ako se uzmu u obzir kriterijumi za ove dve podgrupe ASC razmaza koji su navedeni u uvodu.

Cilj našeg istraživanja bio je da se ispita dalji najpovoljniji dijagnostički pristup kod ovakvih bolesnica. Da bi se ispitala uloga kolposkopije u trijaži, kod svih bolesnica sa ASC razmazom urađena je kolposkopija. Sve bolesnice sa

Tabela 5

Tabelarni prikaz validnosti kolposkopije tipizacije i humanog papilomavirusa (HPV) u trijaži bolesnica sa atipičnim skvamoznim ćelijama neodređenog značenja (ASC-US) u citološkom razmazu

	Senzitivnost	Specifičnost	Prediktivna vrednost		Tačnost
			Pozitivna prediktivna vrednost	Negativna prediktivna vrednost	
Kolposkopija	94,7	79,27	61,01	97,77	83,22
HPV tipizacija	90	86,6	81,8	92,8	88

Tabela 6

Zbirni prikaz ukupnih tačnih i pogrešnih (lažno pozitivnih i negativnih) nalaza kolposkopije tipizacije i humanog papilomavirusa (HPV)

Dijagnostička metoda	Tačni nalazi		Pogrešni nalazi		Ukupno	
	n	%	n	%	n	%
Kolposkopija	124	83,22	25	16,78	149	100
HPV tipizacija	22	88	3	12	25	100
Ukupno	146	83,90	28	16,10	174	100

## Diskusija

U odnosu na ukupan broj pregledanih citoloških preparata, procenat ASC razmaza bio je 4,6% (130 bolesnica). Ovaj procenat je prihvatljiv jer su podaci koje nalazimo u li-

ASC-H razmazom imale su patološki kolposkopski nalaz, pa je kod svih urađena i biopsija grlića materice. Od 111 bolesnica sa ASC-US nalazom kod 52 (46,85%) kolposkopski nalaz bio je uredan, pa su vraćene na dalje praćenje, dok je kod 59 (53,15%), zbog patološkog kolposkopskog nalaza,



urađena biopsija grlića materice. Procenat urađenih biopsija je viši u odnosu na podatke iz literature u kojoj se navodi 20,8–30% biopsija<sup>7</sup>. Razlog za ovako visok procenat biopsija verovarno treba tražiti u korišćenju kolposkopije u trijaži bolesnica sa ASC nalazom. Relativno nižu specifičnost kolposkopije kasnije smo i dokazali pri određivanju njene validnosti.

Analiza dobijenih histopatoloških (HP) nalaza biopsijom, koja je prikazana u tabeli 2, pokazala je da je kod bolesnica sa ASC-H razmazom broj benignih HP nalaza bio 8 (42,1%), kod 6 (31,57%) bolesnica dobijen je nalaz cervikalne intraepitelske neoplazije (CIN) koja odgovara blagoj displaziji (CIN I) (LSIL), dve bolesnice imale su srednje tešku displaziju (CIN II) (HSIL), dok je nalaz CIN III (HSIL) dobijen kod 3 (15,78%) bolesnice. Kod bolesnica kojima je rađena biopsija grlića materice i razmaz svrstan u ASC-US podgrupu, CIN III nađen je samo kod 1 (0,9%) bolesnice, kod 4 (3,6%) bolesnice dobijen je CIN II, dok je kod 18 (16,2%) nađen CIN I. Ukupan procenat benignih nalaza kod bolesnica podgrupe ASC-US (zajedno sa onim kojima nije rađena biopsija zbog benignog kolposkopskog nalaza) iznosi 79,2% (88 bolesnica). Kod 10 (7,69%) ispitanica sa ASC citološkim razmazom bio je prisutan HSIL. U radovima drugih autora taj procenat kreće se od 5 do 17%<sup>8</sup>. Najviši procenat HSIL nalaza dobijen je kod ASC-H razmaza i to kod 26,3%, dok je u podgrupi ASC-US taj procenat bio 4,5%. Podaci iz literature pokazuju da se procenat HSIL kod ASC-H razmaza kreće od 24–94%<sup>9</sup>.

U tabeli 3 dat je zbirni prikaz samo dve kategorije patoloških nalaza – benigni i patološki za obe podgrupe ASC razmaza. Iz table se vidi da je i ukupan procenat svih patoloških nalaza kod bolesnica podgrupe ASC-H viši nego kod bolesnica sa ASC-US nalazom i iznosi 57,84 : 20,72%. Statističkom analizom dobijenih podataka došli smo do zaključka da je ova razlika statistički značajna jer je i da bolesnice sa ASC-H citološkim razmazom zahtevaju ozbiljniji i aktivniji pristup u daljoj dijagnostici nego bolesnice sa ASC-US nalazom.

Iz table 5 izračunavanjem pomoću poznatih formula za ispitivanje validnosti dijagnostičkih testova, došlo se do podataka za senzitivnost i specifičnost kolposkopije u daljoj dijagnostici ASC-US citoloških razmaza. Ukupna senzitivnost kolposkopije je visoka i iznosi 94,7%, što ukazuje da je ona pouzdana dijagnostička metoda koja u visokom procentu detektuje bolesnice sa ASC-US razmazom koje će na biopsiji imati patološki nalaz. Visoku sposobnost u predikciji patoloških nalaza pokazuje i njena visoka negativna prediktivna vrednost koja iznosi 97,77%. Međutim, specifičnost kolposkopije pokazuje nešto niže vrednosti i iznosi 79,27%, što pokazuje da je kolposkopija u nižem procentu suverena detekciona metoda koja prepoznaje koji ASC-US nalazi su benigni i kod kojih ne treba raditi biopsiju. Ovu nisku sposobnost predikcije benignih nalaza pokazuje i nešto niža pozitivna prediktivna vrednost koja iznosi 61,01%. Iz tih razloga u našem istraživanju bilo je 44 (56,41%) benignih histopatoloških nalaza, odnosno nepotrebne biopsije. U radovima novijeg datuma iznose se slične vrednosti za senzitivnost kolposkopije i kreću se od 96 do 98%, dok su vrednosti za specifičnost niže nego one koje smo mi dobili i kreću se do 50 %<sup>10</sup>.

Da bismo proverili mogućnost HPV tipizacije u trijaži i daljem dijagnostičkom pristupu bolesnica sa nalazom ASC ćelija, uradili smo HPV tipizaciju kod 10 bolesnica sa ASC-US nalazom i dijagnozom HSIL na biopsiji i 15 bolesnica kontrolne grupe sa ASC-US nalazom i benignim nalazom na biopsiji. Iz table 4 vidimo da je HPV tipizacija bila pozitivna kod devet od 10 bolesnica sa HSIL (90%), dok je kod 15 bolesnica sa benignim nalazom tipizacija bila pozitivna kod 2 (13%) bolesnice. Ukupan procenat HPV pozitivnih ASC nalaza u našem ispitivanju bio je 44. U literaturi se navodi da je ovaj procenat od 31 do 60 i da zavisi od imunološkog statusa, kao i životnog doba bolesnice (procenat HPV pozitivnih ASC-US viši kod premenopausalnih i imunodeficientnih bolesnicama)<sup>11</sup>.

Iz table 4 vidi se da je ukupan procenat patoloških nalaza biopsije, koje su bile HPV pozitivne, 81,8%. Procenat HPV pozitivnih ASC-US, koji su na biopsiji pokazali CIN III u radovima se kreće do 15,9, dok je samo 1,4% HPV negativnih ASC-US na biopsiji pokazalo CIN III<sup>12</sup>. U našem ispitivanju bilo je 7,14% HPV pozitivnih nalaza sa patološkim CIN II i III nalazom. Ovoliko viši procenti dobijeni u našem radu mogu se objasniti zbirnim prikazom ASC-US i ASC-H kategorijom ASC razmaza, kao i činjenicom da nisu posebno prikazani CIN II i III histopatološki nalazi već su objedinjeni kategorijom HSIL.

Izračunavanje validnosti HPV tipizacije u trijaži ASC-US razmaza, prikazane u tabeli 5, pokazuje visoku senzitivnost (90%) i specifičnost (86,6%), pozitivna prediktivna vrednost je 81,8%, a negativna 92,8%. Ako ove podatke uporedimo sa vrednostima dobijenim za kolposkopiju, dolazimo do zaključka da je HPV tipizacija takode visokosenzitivna metoda u trijaži bolesnica sa ASC-US nalazom, koja ima višu specifičnost u odnosu na kolposkopiju, pa samim tim i višu negativnu prediktivnu vrednost. Tipizacija u odnosu na kolposkopiju ima niži procenat lažno pozitivnih rezultata i u višem procentu pokazuje benigni nalaz kod bolesnica sa ASCUS-om i benignim histopatološkim nalazom. Senzitivnost HPV tipizacije koja se pominje u literaturi je od 83 do 100%, dok je specifičnost slična vrednostima dobijenim u našem istraživanju i iznosi 84%<sup>8</sup>.

Ako uporedimo sa jedne strane zbirni prikaz tačnih i pogrešnih nalaza (lažno pozitivnih i negativnih) za kolposkopiju i HPV tipizaciju, dolazimo do zaključka da je procenat tačnih nalaza, nešto viši za HPV tipizaciju (88%) u odnosu na kolposkopiju, gde je taj procenat 83,22%. Statističkom obradom nismo uspeli da dokažemo statističku značajnost razlike tačnosti između ova dva testa.

Analiziranjem procenta bolesnica koje su na biopsiji imale benigni nalaz, a na kolposkopiji i HPV tipizaciji patološki, došli smo do procenta nepotrebno urađenih biopsija za obe metode. Od 78 kolposkopski utvrđenih patoloških nalaza 44 su bila benigna na biopsiji (56,41% nepotrebne biopsije). Tipizacija HPV, kao metoda trijaže bolesnica sa ASC-US razmazom kojima ne treba uraditi biopsiju u nižem procentu pokazuje procenat nepotrebni biopsija, jer od 11 patoloških nalaza bilo su samo 2 (18,18%) benigna nalaza. Statistička analiza pokazala je da je ova razlika značajna i da se upotrebom HPV tipizacije u trijaži bolesnica sa ASC-US razmazom

kojima treba uraditi biopsiju, snižava broj nepotrebnih biopsija za 23,08%.

### Zaključak

Visok procenat benignih nalaza na biopsiji kod bolesnica sa ASC-US (79,27%) ukazuje da je za ovu grupu bolesnica neophodan uobičajeni pristup. Bolesnice sa ASC-H razmazom imaju visok procenat patoloških (SIL) nalaza na biopsiji (57,84%) zbog čega smatramo da je kod bolesnica sa patološkim kolposkopskim nalazom neophodan aktivniji pristup u daljoj dijagnostici. Kolposkopija ima nešto višu senzitivnost

(94,7 : 90), ali nižu specifičnost od HPV tipizacije (79,27 : 86,6) u trijaži bolesnica sa citološkim ASC razmazom. Ukupna tačnost HPV tipizacije u odnosu na kolposkopiju je viša (88 : 83,22), ali ta razlika nije statistički značajna. Tipizacija HPV u odnosu na kolposkopiju zbog svoje više specifičnosti statistički značajno snižava procenat nepotrebnih biopsija bolesnica sa ASC citološkim nalazom (56,41 : 18,18). Citološki ASC nalaz zahteva individualni pristup u praćenju i daljem tretmanu koji zavisi kako od iskustva citologa i kolposkopičara, tako i od životnog doba bolesnice, njenog imunološkog i reproduktivnog statusa, anamnestičkih podataka, lokalnog nalaza, prisustva onkogenih HPV virusa i spremnosti bolesnice za saradnju.

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

1. Raab SS. Subcategorization of Papanicolaou tests diagnosed as atypical squamous cells of undetermined significance. *Am J Clin Pathol* 2001; 116(5): 631–4.
2. Lee CY, Ng WK. A follow-up study of atypical squamous cells in gynecologic cytology using conventional papanicolaou smears and liquid-based preparations: the impact of the Bethesda System 2001. *Am J Clin Pathol* 2007; 127(4): 548–55.
3. Thomas A. Gynecologic cytopathology. Philadelphia: Lippincott; 1997.
4. Davey DD, Naryshkin S, Nielsen ML, Kline TS. Atypical squamous cells of undetermined significance: interlaboratory comparison and quality assurance monitors. *Diagn Cytopathol* 1994; 11(4): 390–6.
5. Kurman RJ, Henson DE, Herbst AL, Noller KL, Schiffman MH. Interim guidelines for management of abnormal cervical cytology. The 1992 National Cancer Institute Workshop. *JAMA* 1994; 271(23): 1866–9.
6. Sodhani P, Gupta S, Sehgal A, Singh V, Khan IU, Mitra AB. Atypical squamous cells of undetermined significance: is it worthwhile to qualify them further? *Indian J Cancer* 2003; 40(1): 23–6.
7. Emerson RE, Puzanov A, Brunner C, Yungler C, Cramer H. Long-term follow-up of women with atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS). *Diagn Cytopathol* 2002; 27(3): 153–7.
8. Wright TC Jr, Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. ASCCP-Sponsored Consensus Conference. 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA* 2002; 287(16): 2120–9.
9. Solomon D, Schiffman M, Tarone R. ALTS Study group. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93(4): 293–9.
10. Mitchell MF, Schottenfeld D, Tortolero-Luna G, Cantor SB, Richards-Kortum R. Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 1998; 91(4): 621–31.
11. Shlay JC, Dunn T, Byers T, Barón AE, Douglas JM Jr. Prediction of cervical intraepithelial neoplasia grade 2–3 using risk assessment and human papillomavirus testing in women with atypia on papanicolaou smears. *Obstet Gynecol* 2000; 96(3): 410–6.
12. Safaiean M, Solomon D, Wacholder S, Schiffman M, Castle P. Risk of precancer and follow-up management strategies for women with human papillomavirus-negative atypical squamous cells of undetermined significance. *Obstet Gynecol* 2007; 109(6): 1325–31.

Rad primljen 12. XI 2008.



## 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 рекламирање у 2009. години

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

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

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

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

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



## Sentinel node biopsy for skin melanoma

### Biopsija čvora stražara kod melanoma kože

Predrag Kovačević\*, Milan Višnjic\*, Marina Vlajković†, Tatjana Kovačević\*,  
Aleksandar Višnjic‡

Clinic Centre Niš, \*Clinic for Plastic and Reconstructive Surgery, †Institute for nuclear  
medicine, Niš, Serbia; ‡Public Health Institute, Niš, Serbia

#### Abstract

**Background/Aim.** Skin melanoma is one of the most malignant diseases with increasing incidence rate. Sentinel node biopsy (SNB) is very important for early detection of metastatic spread. The aim of the study was to analyze the first 40 patients with skin melanoma of 1 to 4 mm Breslow thickness when SNB was indicated. **Methods.** The patient characteristics, localization of the primary melanoma as well as histology grade were analyzed. SNB with intraoperative radiocolloid and methylene blue dye detection was performed. **Results.** Complication rate after SNB was analyzed and seroma was found in 5% of the patients. The therapeutic node dissection was performed in 10 patients with positive sentinel biopsy. The follow-up lasted two years. In five patients the false negative SNB was defined after the mean time of 11 months and the therapeutic dissection was performed. **Conclusion.** SNB in melanoma patients is a useful diagnostic procedure. It is advised for melanoma of 1 to 4 mm Breslow thickness.

#### Key words:

melanoma; skin neoplasms; sentinel lymph node biopsy; organotechnetium compounds; methylene blue; dissection.

#### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Melanomi kože su jedan od najmalignijih neoplazmi sa sve većom stopom incidencije. Biopsija limfnog čvora stražara (sentinel biopsija) veoma je važna za rano otkrivanje metastaza. Cilj istraživanja bio je da se analizira prvih 40 bolesnika sa melanomom kože debljine 1–4 mm kod kojih je bila indikovana biopsija čvora stražara (BČS). **Metode.** Analizirane su demografske karakteristike bolesnika, lokalizacija primarnog melanoma kao i histološki gradus melanoma kože. Vršena je BČS uz primenu intraoperativne detekcije radiokoloidima i boje metilen plavo. **Rezultati.** Analizirane su komplikacije BČS i utvrđena je pojava seroma kod 5% bolesnika. Terapijska disekcija limfnih čvorova (LČ) urađena je kod 10 bolesnika kod kojih je bila pozitivna BČS. Bolesnici su praćeni dve godine. Kod pet bolesnika utvrđeno je da je BČS bila lažno negativna. Kod te grupe bolesnika urađena je terapijska disekcija LČ posle prosečno 11 meseci od biosije. **Zaključak.** Primena BČS kod bolesnika sa melanomom korisna je dijagnostička procedura. Može se preporučiti kao standardna procedura za bolesnike sa primarnim melanomom debljine 1–4 mm.

#### Ključne reči:

melanom; koža, neoplazme; limfni čvorovi, stražarski, biopsija; organotehnećijumska jedinjenja; metilensko plavilo; disekcija.

#### Introduction

Skin melanoma is one of the most malignant diseases with increasing incidence rate in the last few decades. Melanoma accounts for 1–4.6% of all skin malignancies, but it involves 70% of mortalities related to cutaneous malignant tumors. The incidence rate is 10.6–45 per 100 000<sup>1</sup>. These facts imply high importance of sentinel node biopsy (SNB) which enables an early detection of metastatic spread.

The biological growth pattern of melanoma is defined in two phases: radial growth and vertical growth. The distant spread of the disease can be defined as lymphatic or haematogenous. Lymphatic metastases can arise in the regional lymph nodes (LN). Melanoma metastases of the extremity spread to the adjacent axillary or inguinal nodes. The metastatic spread into the trunk or head and neck is not that simple. As for melanoma of the head, lymphatic metastases can be detected on both sides of the neck. The biggest problem is to define metastatic pathways in the trunk melanomas. The

lymphatic spread can go forward to both axillary, and inguinal nodes or through umbilical ligament straight into the liver or in the LN adjacent to the internal mammary artery. The current investigations are related to the induction of lymphangiogenesis caused by stroma of the melanoma<sup>2</sup>. These facts indicate that there is no strict metastatic patterns for trunk melanoma. The aim of an early detection of metastases is to determine the possible metastatic pathways and check if the first LN along the pathway involve micrometastases. Sentinel node biopsy meets these criteria.

The primary therapy of melanoma is surgery. If the first operative treatment fails, or if the primary treatment does not fulfill the guideline, the chances for cure are minimal or absolutely lost.

The excision biopsy is crucial and must include 3 to 5 mm healthy margin. After histological confirmation of melanoma, a complete clinical and radiological staging is mandatory including chest radiography and ultrasound of regional LN<sup>3</sup>.

If enlarged LN are found in clinical or ultrasound investigation, a radical therapeutic dissection must be done. Radical excision with safe margins of 2 cm must be used at the primary site of melanoma. An operative wound should be primarily closed by local flaps or skin grafting.

If clinical and ultrasound examinations do not present enlarged LN, there are two treatment options. The first option is, elective lymphonodectomy (in hospitals without technical possibilities for SNB) classified as T2, T3 or T4 and N0M0<sup>4,5</sup>. This protocol can be used only for melanoma of the extremities, but not for trunk, head and neck melanoma. Primary site is treated by excision of 2 cm safe margins. Hafner et al.<sup>1</sup> suggest radical excision surgery four weeks after melanoma biopsy. The suggested clear margins are 2 cm for melanoma thinner than 4 mm but thicker than 4.1 mm; for recurrent disease the suggested margins are 3 cm. The second option is SNB. The metastases in LN were referred as most important prognostic factor for melanoma. The benefits of SNB have been documented in some studies<sup>6</sup>. Removal of micrometastases in LN interrupts the lymphatic spread of the tumor and the survival rate is statistically significantly improved. The SNB for melanoma was suggested by the World Health Organization in 1999, but the American Joint Committee on Cancer introduced this method in diagnostic protocol in 2002<sup>7</sup>. Nowecki et al.<sup>7</sup> and other authors suggest the SNB for melanoma thicker than 1 mm and thinner than 4 mm (T2 and T3)<sup>8,9</sup>.

A positive finding of SNB can be defined as single tumor cells (this is not an indication for therapeutic dissection); micrometastases (less than 2 mm in diameter) – therapeutic dissection is indicated; metastases (diameter more than 2 mm) – therapeutic dissection is indicated<sup>1</sup>.

The literature data refer to complication rate after SNB. These complications are managed by conservative treatment and are not permanent or life-threatening. The described complications include allergic reaction on methylene blue, seroma or hemathoma formation and transient paresthesias<sup>8</sup>.

The aim of this study was to analyze the first 40 patients with skin melanoma of 1 to 4 mm Breslow when SNB was indicated.

## Methods

The retrospective consecutive case study model was used for analysis of 40 patients with skin melanoma and clinically negative LN. All the patients underwent excisional biopsy with margins of 0.5 cm. Male predominance was found (62.5%), with an average age of 52 years and the lower extremity mostly involved (32.5%). After histological confirmation of melanoma the SNB starts with lymphoscintigraphy. Radiocolloide Technetium-99 (<sup>99</sup>Tc) in the amount of 0.3 mL (65.5 MBq or 1.8 mCi) was injected adjacent to biopsy scar one day before the surgery. Dynamic and static scintigraphy were performed using a Siemens lymphoscintigram. Dynamic scintigraphy was performed during radiocolloide injection and 30 minutes after the injection detecting the lymphatic route. Static scintigraphies both early (after 60 minutes) and late (12–16 hours after the injection) are performed. The results were properly documented with lymphoscintigraphies. The projection of a detected node was marked on the skin. On the day of surgery, an hour before the procedure, methylene blue in the concentration of 1% and the amount of 1 mL was injected around the biopsy scar. During the surgery, a gamma probe detector was used for localization of SN. After SN removal, radioactivity of the lymph basin should be 10 times less than the radioactivity of the SN. If the radioactivity is still high after the removal of the first node, the detection should be continued and other SN removed until the rate of radioactivity of SN and lymph basin reaches 10 : 1.

The treatment of primary site of melanoma was performed under general anesthesia obtaining 2 cm clear margins and primary reconstruction.

The follow-up took two years. The primary site of melanoma, clinical and histology grade were analyzed as well as SN positivity and false negativity. Statistical analysis was performed. All the patients were treated during a 16-month period.

## Results

Melanoma staging and grouping are presented in Tables 1 and 2.

The structure according to sex, age and localization of primary melanoma is presented in Table 3. Analysis of melanoma clinical stage according to TNM staging system in the group of 40 patients is presented in Table 4.

Sentinel node biopsy was performed in 24 (60%) axillary, in 15 (37.5%) inguinally and in one (2.5%) node in the neck region. In three patients, bilateral axillary node biopsy was performed according to the lymphoscintigraphy. In 95% of the patients, LN was marked with radioisotope and dye, and in 5% only with radioisotope.

In 14 (35%) patients we found one SN, in 18 (45%) two nodes and in 8 cases we detected three SN. An average number of nodes was 1.85. In 10 cases we found micrometastases (25%), while in 30 patients (75%) they were negative, histologically. In a group of patients with positive histology in

**Table 1**

TNM classification of melanoma <sup>3</sup>		
Primary tumor (T)	Thickness (mm)	Ulceration
Tx	Primary tumor cannot be assessed	
T0	No evidence of primary tumor	
Tis	Melanoma <i>in situ</i>	
T1	≤ 1.0	a: no ulceration and Klarc level II or III b: ulcerated and Klarc level IV/V
T2	1.01–2.0	a: no ulceration b: ulcerated
T3	2.01–4.0	a: no ulceration b: ulcerated
T4	> 4.0	a: no ulceration b: ulcerated
Regional lymph nodes (N)	Number of nodes	Metastatic tumor mass
Nx	Regional lymph nodes cannot be assessed	
N0	No regional lymph node metastases	
N1	1 node	a: occult (microscopic)* b: clinically apparent (macroscopic) <sup>†</sup>
N2	2–3 nodes	a: occult (microscopic)* b: clinically apparent (macroscopic) <sup>†</sup> c: in-transit metastases or satellite without nodal metastases
N3	4 or more nodes, or matted nodes or intransit metastases or satellite with nodal metastases	
Distant metastases (M)	Site	Serum Lactic Dehydrogenase
Mx	Distant metastases cannot be assessed	
M0	No distant metastases	
M1	Distant metastases	
M1a	Skin, subcutaneous tissue, distant lymph nodes	Normal
M1b	Lung	Normal
M1c	All other visceral sites	Normal
	Any visceral site	Elevated

\*Occult metastases (micrometastases) are diagnosed by sentinel node biopsy (SNB) or elective lymphonodectomy;

<sup>†</sup>Clinically apparent metastases are diagnosed by clinical and radiological evaluation and proved by therapeutic lymphonodectomy

**Table 2**

Neoplasm staging	Clinical grouping			Pathological grouping		
	T	N	M	T	N	M
0	Tis	N0	M0	Tis	N0	M0
IA	T1a	N0	M0	T1a	N0	M0
IB	T1b	N0	M0	T1b	N0	M0
	T2a	N0	M0	T2a	N0	M0
IIA	T2b	N0	M0	T2b	N0	M0
	T3a	N0	M0	T3a	N0	M0
IIB	T3b	N0	M0	T3b	N0	M0
	T4a	N0	M0	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0	T4b	N0	M0
III	Any T	N1 N2 N3	M0			
IIIA				T1-4a	N1a	M0
				T1-4a	N2a	M0
				T1-4b	N1a	M0
				T1-4b	N2a	M0
IIIB				T1-4a	N1b	M0
				T1-4a	N2b	M0
				T1-4a/b	N2c	M0
				T1-4b	N1b	M0
IIIC				T1-4b	N2b	M0
				Any T	N3	M0
IV	any T	any N	any M	any T	any N	any M

Clinical staging includes microstaging of primary melanoma and clinical and radiological evaluation of melanoma.

Pathologic staging includes microstaging for primary melanoma and pathologic information about regional LN after SNB or complete lymphonodectomy. The exceptions are patients staged as 0 or IA where pathologic evaluation of LN is not necessary.

T – tumor; N – nodes; M – metastasis

LN, an average number of nodes was 1.9. That was not statistically significant difference regarding the whole series (1.85). After histology of LN, the patients were reevaluated and the grades are presented in Table 5.

The micrometastases were found in SN in one patient from the group IB, five patients in the group IIA and four patients in the group IIB and they were defined as group III. The pathology restaging is presented in Table 5.



**Table 3**  
The structure of patients by sex, age and localization of melanoma

Patients	n	%
Sex		
M	25	62.5
F	15	37.5
Age (years)		
< 40	6	15
41–50	12	30
51–60	12	30
> 61	10	25
Site		
Upper extremity	6	15
Lower extremity	13	32.5
Trunk anterior	11	27.5
Back	9	22.5
Head and neck	1	2.5
Total	40	100,0

**Table 4**  
Clinical grouping of melanoma patients

Clinical grade	Patients	
	n	%
0	0	0
IA	2	5
IB	10	25
IIA	19	47.5
IIB	9	22.5
IIC	0	0
III	0	0
IV	0	0
Total	40	100,0

**Table 5**  
Pathological grouping in the study group after sentinel node biopsy (SNB)

Pathological stage	Patients	
	n	%
0	0	0
IA	2	5
IB	9	22,5
IIA	14	35
IIB	5	12,5
IIC	0	0
IIIA	6	15
IIIB	4	10
IIIC	0	0
IV	0	0
Total	40	100,0

We found two cases with seroma formation in postoperative course after sentinel biopsy.

Analysis of nonsentinel LN in a subgroup of patients with positive SN who underwent therapeutic dissection revealed the positive nonsentinel LN in one patient. In nine patients, the SN were the only positive nodes. The details during the surgery are presented in Figures 1–3.

The follow-up lasted from six months to two years. The mean follow-up was 18.7 months. During the follow-up, five patients were operated on with therapeutic dissection of the

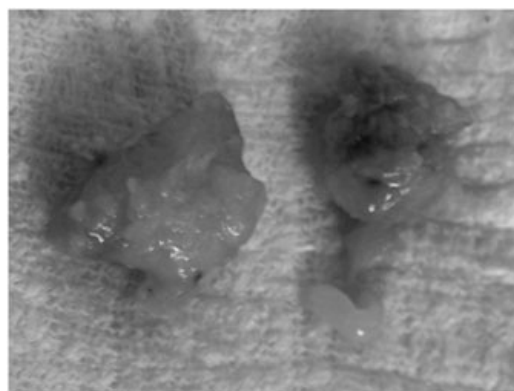
lymph basin previously sentinel biopsied. The disease-free period was 11 months (6 to 23 months) after the sentinel biopsy. Those were the patients with false negative sentinel biopsy.



**Fig. 1** – Intraoperative view after limphoscintigraphy and methylene blue injection around the biopsy scar in dorsal aspect of the hand



**Fig. 2** – View on screen of gama detector during the surgery



**Fig. 3** – Two sentinel nodes (SN) from the left axillary region removed

## Discussion

The SNB is a diagnostic method introduced in 1992<sup>6,7,10</sup>. This method is not only advised for melanoma but also for breast cancer, penile cancer, head and neck malignancies as well as non-melanoma skin cancers<sup>11</sup>. The importance of early diagnostics of melanoma metastases is enhanced by the

well-known high malignant potential of melanoma and the resistance of melanoma to additional therapy. The technetium lymphoscintigraphy and methylene blue were routinely advised. Some studies confirm the use of methylene blue with stressed advantage over the lymphazurin blue<sup>18</sup>. In 95% of the patients, SN was mapped both with radioisotope and dye, and in 5% only with radioisotope. Estorugie et al.<sup>14</sup> found that SN was double marked in 86%, in 13% with radioisotope and in 1% with dye<sup>12-18</sup>. Some authors refer that micrometastases are present in 90% of the patients and can be proved by SNB<sup>1</sup>. Some studies present that SNB are positive in 15.8%<sup>12</sup>, 17.6%<sup>4</sup>, 20%<sup>5</sup>, 20.7%<sup>13</sup> and 24%<sup>14</sup>. In our study, 25% of melanoma patients had positive SNB. In two patients, metastases were confirmed by imunohistochemistry. The similar findings have been referred elsewhere<sup>4, 15</sup>. According to the Tumor Nodes Metastasis (TNM) classification, the patients in our study were classified in the stage IB and IIA (10 and 19 patients, respectively). In the studies of other authors the corresponding data were published<sup>10, 16</sup>. In 48% of all cases with positive SN the inguinal nodes were involved<sup>4</sup>. In our series, the most predominant SN were in the axillary region (60%). The majority of patients had primary melanoma in the lower extremities (32.5%), followed by the sites in the back region (27.5%). The average number of SN described in the literature varies from 1.2, to 2.3<sup>4, 14, 16</sup>. In our study, the average number of SN was 1.85. The SNB was mostly performed in male patients; the mean age was 52 years. Similar demographic data have been presented by other authors, as well<sup>10, 16, 17</sup>. All patients were treated according to the two-day protocol introduced by Estorugie<sup>14</sup>, but in the literature the one-day protocol is also advised<sup>4</sup>. Additional analysis of nonsentinel nodes in specimens of therapeutic dissections after positive SNB showed that SN was the only involved node in 82% of cases<sup>13</sup>. In our study, SN was the only affected node in 90% of the patients. In one patient, we found metastases in nonsentinel nodes after therapeutic dissection. This patient had micrometastases in two of three SN detected. The literature data confirm the possibility of metastases in nonsentinel nodes in patients with micrometastases in two or three SN<sup>19</sup>. For critical approach to SNB we have to bear in mind the possibility of false positive findings, including the subcap-

sular benign melanocyte in LN<sup>1</sup>. Clinical follow-up lasted two years. In this group of patients, neither lymphatic nor hematogenous spread was detected. However, some literature data describe regional recurrences in 14.7% after 36 months of follow-up<sup>10</sup>. The 5-year survival rate is higher in melanoma cases after SNB and therapeutic dissection, because metastases are recognized in preclinical phase and dissection was performed in the earliest stage<sup>1</sup>. A 3-year disease-free interval was reported in 85% for SN negative and in 62% for SN positive patients. A 5-year disease-free interval was documented in 80% for SN and 53% for SN positive cases<sup>14</sup>. During a 2-year follow-up of patients with negative SNB, the lymphatic metastases in regional nodes were detected in five patients. The mean disease-free period was 11 months. Those patients were defined in protocols as false negative SNB<sup>13, 14</sup>. In three of five cases, the therapeutic dissection was performed during the first six months, and two patients during the further course of the follow-up. The false negative SNB results can be obtained due to inexperience of a surgeon, nuclear medicine specialist or pathologist. This occurs in studies including a large number of patients<sup>13, 14, 19, 20</sup>. The other reason for false negativity in SN can be the tumor embolisation of the lymph vessels with melanoma cells and no evidence of metastases in LN during the SNB. In our study, seroma formation is the only described complication documented in two cases. In the literature data, the complication rate is low and the complications are not life-threatening and can be managed conservatively. The referred complications are allergic reaction on metilen blue, seroma formation, hemathoma formation, transient paresthesias etc<sup>4, 14</sup>. The suggested number of biopsies for single center is 30<sup>8</sup>. In our series, a complication rate was 5%.

### Conclusion

The SNB in patients with melanoma provides an early diagnosis of micrometastases in the regional nodes before their clinically detectable presentation. This enables a therapeutic dissection in the earliest stage. The protocol of double-mapping of sentinel LN offers the relevant data for LN localization with shorter operative time. Complication rate after SNB is low and significantly lower than the elective dissection.

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

1. Hafner J, Schmid MH, Kempf W, Burg G, Künzi W, Meuli-Simmen C, et al. Baseline staging in cutaneous malignant melanoma. *Br J Dermatol* 2004; 150(4): 677-86.
2. Rinderknecht M, Detmar M. Tumor lymphangiogenesis and melanoma metastasis. *J Cell Physiol* 2008; 216: 347-54.
3. American Joint Committee on Cancer. 2002 Melanoma of the skin. In *AJCC Cancer Staging Manual*. 6th ed. New York: Springer-Verlag; 2002. pp. 209-20.
4. Topping A, Dewar D, Rose V, Cavale N, Allen R, Cook M, et al. Five years of sentinel node biopsy for melanoma: the St George's Melanoma Unit experience. *Br J Plast Surg* 2004; 57(2): 97-104.
5. Spillane A. Sentinel node biopsy in breast cancer and melanoma requires adequate self-audit. *ANZ J Surg* 2004; 74(5): 308-13.
6. Ariyan CE, Coit DG. Clinical aspects of sentinel lymph node biopsy in melanoma. *Semin Diagn Pathol* 2008; 25(2): 86-94.
7. Nowecki ZI, Rutkowski P, Michej W. The survival benefit to patients with positive sentinel node melanoma after completion lymph node dissection may be limited to the subgroup with a primary lesion Breslow thickness greater than 1.0 and less than or equal to 4 mm (pT2-pT3). *Ann Surg Oncol* 2008; 15(8): 2223-34.
8. Morton DL, Cochran AJ, Thompson JF, Elashoff R, Essner R, Glass EC, et al. Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial Group. Sentinel node biopsy for early-stage melanoma: accuracy and morbidity in MSLT-I, an international multicenter trial. *Ann Surg* 2005; 242(3): 302-11.
9. De Giorgi V, Leporatti G, Massi D, Lo Russo G, Sestini S, Dini M, et al. Outcome of patients with melanoma and histologically

- negative sentinel lymph nodes: one institution's experience. *Oncology* 2007; 73(5-6): 401-6.
10. *Civantos F Jr, Zitsch R, Bared A, Amin A.* Sentinel node biopsy for squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Surg Oncol* 2008; 97(8): 683-90.
  11. *Thompson JF, Uren RF.* Lymphatic mapping and sentinel node biopsy for melanoma. *Expert Rev Anticancer Ther* 2001; 1(3): 446-52.
  12. *Mozzillo N, Caracò C, Chiofalo MG, Celentano E, Lastoria S, Botti G,* et al. Sentinel lymph node biopsy in patients with cutaneous melanoma: outcome after 3-year follow-up. *Eur J Surg Oncol* 2004; 30(4): 440-3.
  13. *Estourgie SH, Nieweg OE, Kroon BB.* High incidence of in-transit metastases after sentinel node biopsy in patients with melanoma. *Br J Surg* 2004; 91(10): 1370-1.
  14. *Ranieri JM, Wagner JD, Azuaje R, Davidson D, Wenck S, Fyffe J,* et al. Prognostic importance of lymph node tumor burden in melanoma patients staged by sentinel node biopsy. *Ann Surg Oncol* 2002; 9(10): 975-81.
  15. *Guggenbeim M, Dummer R, Jung FJ, Mibic-Probst D, Steinert H, Rousson V,* et al. The influence of sentinel lymph node tumour burden on additional lymph node involvement and disease-free survival in cutaneous melanoma-a retrospective analysis of 392 cases. *Br J Cancer* 2008; 98(12): 1922-8.
  16. *Bilimoria KY, Balch CM, Bentrem DJ, Talamonti MS, Ko CY, Lange JR,* et al. Complete lymph node dissection for sentinel node-positive melanoma: assessment of practice patterns in the United States. *Ann Surg Oncol* 2008; 15(6): 1566-76.
  17. *Liu Y, Truini C, Ariyan S.* A randomized study comparing the effectiveness of methylene blue dye with lymphazurin blue dye in sentinel lymph node biopsy for the treatment of cutaneous melanoma. *Ann Surg Oncol* 2008; 15(9): 2412-7.
  18. *Glumac N, Hocevar M, Zadnik V, Snoj M.* Sentinel lymph node micrometastasis may predict non-sentinel involvement in cutaneous melanoma patients. *J Surg Oncol* 2008; 98(1): 46-8.
  19. *Karim RZ, Scolyer RA, Li W, Yee VS, McKinnon JG, Li LX,* et al. False negative sentinel lymph node biopsies in melanoma may result from deficiencies in nuclear medicine, surgery, or pathology. *Ann Surg* 2008; 247(6):1003-10.

The paper received on January 15, 2009.



## Mogućnost primene savremenih vizualizacionih tehnika u istraživanjima moždanih funkcija

### Modern visualisation techniques in brain functions estimation

Siniša Ristić\*, Ružica Kozomara†, Snježana Medenica‡, Zvezdana Rajkovača§

Univerzitet Istočno Sarajevo, Medicinski fakultet, \*Katedra za fiziologiju, †Katedra za psihijatriju, Foča, Bosna i Hercegovina; Vojnomedicinska Akademija, ‡Klinika za maksilofacijalnu hirurgiju, Beograd, Srbija; Medicinski fakultet, §Katedra za fiziologiju, Banja Luka, Bosna i Hercegovina

#### Ključne reči:

mozak; dijagnostičko snimanje; magnetna rezonanca, snimanje; tomografija, kompjuterizovana, emisiona; tomografija, kompjuterizovana, emisiona, jednofotonska.

#### Key words:

brain; diagnostic imaging; magnetic resonance imaging; positron-emission tomography; tomography, emission-computed, single-photon.

#### Uvod

Vekovima istraživanja moždanih funkcija u korelaciji sa građom mozga bila su rezervisana za *postmortem* klinička istraživanja ili neuropatološka istraživanja. Istraživanja na eksperimentalnim životinjama donela su, takođe, informacije o moždanim funkcijama, ali ograničenije kod animalnih modela ipak postoji kod istraživanja viših nervnih funkcija. Konvencionalna radiologija, kompjuterska tomografija (CT) i vizualizacija magnetnom rezonancom (MRI) pružaju prvenstveno morfološke informacije. Poslednje dve decenije razvijene su tehnike koje neinvazivnim putem omogućavaju specifičan prikaz moždanih struktura tokom različitih aktivnosti. Ove tehnike se nazivaju funkcionalna vizualizacija (*imaging*) mozga (tzv. slike mozga u akciji). Osnovu funkcionalne vizualizacije mozga čine tehnike koje mere regionalni protok krvi: jednofotonska emisiona kompjuterska tomografija (SPECT), pozitronska emisiona tomografija (PET) i funkcijska MRI mozga (fMRI) <sup>1</sup>.

Kako se povećava aktivnost određenog dela mozga, menja se njegova hemodinamika i stepen oksigenacije krvi, čime nastaju različiti signali koji omogućavaju vizualizaciju na osnovu različite aktivnosti pojedinih delova mozga. Ove tehnike se odlikuju visokom prostornom rezolucijom reda 1–3 milimetra, ali malom vremenskom rezolucijom od oko 1 sekunde, što onemogućava registrovanje brzih promena moždane aktivnosti <sup>1,2</sup>.

Značajno je da ne postoji apsolutna proporcionalnost između intenziteta moždane aktivnosti i njenih korelata prikazanih metodama vizualizacije moždanih funkcija (SPECT,

PET, fMRI). Mehanizmi koji povezuju moždanu aktivnost, metabolizam i cirkulaciju nisu dovoljno poznati <sup>2</sup>.

#### Magnetno-rezonantno snimanje

Tehnika MRI bazirana je na činjenici da određeni atomi izloženi dejstvu snažnog vanjskog magnetnog polja, a potom dejstvu pulsa radiotalasa, mogu emitovati određenu energiju u okolinu. Registracija i obrada emitovane energije baza je za formiranje MRI slike. Posebno je značajno da tu osobinu imaju atomi vodonika, zbog njihove široke distribucije u ljudskom telu. Jezgra atoma vodonika predstavljaju maleni magnet. Jačina registrovanog signala (energije) i nastanak kontrasta u MRI slici najviše zavisi od 3 faktora: gustine protona u telu (veća gustina – jači signal), T1 vremena relaksacije (longitudinalna magnetizacija) i T2 vremena relaksacije (transverzalna magnetizacija). Kontrastno sredstvo za MRI mora imati paramagnetna svojstva, kao što je gadolinijum-dietilentriamin pentaacetatna kiselina (Gd-DTPA), koji skraćuje vreme relaksacije atoma vodonika. Pomoću MRI može se dobiti mnogo značajnih informacija: npr. biohemijski status analizirane strukture (magnetno-rezonantna spektroskopija), stepen oksigenacije hemoglobina (*blood oxygen level-dependent* – BOLD funkcionalna magnetna rezonanca), cerebralna cirkulacija (magnetno-rezonantna angiografija – MRA), perfuzija (*perfusion-weighted imaging* – PWI), difuzija molekula vode (*diffusion-weighted imaging* – DWI), cerebralna mikrovaskulatura i putevi (*diffusion tensor imaging* – DTI), magnetizacijski transfer *imaging* i drugi <sup>3</sup>.

Tehnika MRI osetljiva je na pomeranje objekta snimanja pri čemu nastaju artefakti, pa je dužina pretrage limitirana (maksimalno 1 sat nakon čega se javlja diskomfor za ispitanika)<sup>3</sup>.

### Jednofotonska emisiona kompjuterska tomografija – (single-photon emission computed tomography)

Nuklearnomedicinske tehnike, SPECT i PET, prikazuju distribuciju radiofarmaka (radionuklida) u ispitivanom organu. U kliničkoj praksi, SPECT se zbog cene aparata i dostupnosti radiofarmaka češće koristi nego PET. Radiofarmak je farmakološki aktivna supstancija obeležena izotopom. Gama emisija iz radiofarmaka omogućava dobijanje slike na osnovu distribucije radiofarmaka u organu. Gama emisija se registruje pomoću gama kamere. Izbor organa, kao i procesa koji se ispituje određuje koji će se radiofarmak upotrebiti. Najčešće korišćeni radionuklidi su tehnecijum-99m (<sup>99m</sup>Tc) i jod-123 (<sup>123</sup>I) čije poluvreme života iznosi 6, odnosno 13 časova<sup>4</sup>.

Obeleživači koji se upotrebljavaju za SPECT tehniku imaju veća ograničenja u odnosu na PET obeleživače, kada su u pitanju vrste moždane aktivnosti koje mogu biti praćene, ali oni se duže zadržavaju u moždanom tkivu. Dugo poluvreme života, brz moždani *uptake* i klirens većine radioobeleženih agensa korišćenih za perfuziju mozga primenom SPECT tehnike, pružaju mogućnost injiciranja obeleživača u periodu u kojem je snimanje nemoguće (npr. u toku epileptičke krize) i snimanje „nakon događaja“ (*post event*) uz dobijanje podataka o zahvaćenosti regija mozga<sup>5</sup>.

Aparati imaju 1–3 detektora koji kruže oko bolesnika (360°) da bi prikupili podatke pod različitim uglovima. Zatim, kombinovanjem različitih projekcija, rekonstruišu se snimci izabrane regije ili organa. Najveći deo SPECT tehnologije je nekvantitativan – ne dozvoljava korekciju izmerene atenuacije, te ima slabiju prostornu rezoluciju od PET<sup>6</sup>. Najčešće korišćeni radioobeleženi agensi za perfuziju mozga SPECT tehnikom su: Tc-99m-heksametilpropilamin oksim (<sup>99m</sup>Tc-HMPAO), Tc-99m-bicisat-etilcisteinat dimer (<sup>99m</sup>Tc-ECD), <sup>123</sup>I-izopropiljodoamfetamin (<sup>123</sup>I-IMP) i ksenon-133. Lipidosolubilni makrociklični amin sa brzom fiksacijom u mozgu, <sup>99m</sup>Tc-HMPAO, dostiže svoj maksimum 10 minuta nakon injiciranja, a njegova distribucija ostaje konstantna mnogo sati nakon injiciranja. Nakon intravenoznog injiciranja, <sup>99m</sup>Tc-HMPAO prolazi krvnomoždanu barijeru u periodu od oko 10 minuta, a zatim ostaje zarobljen zbog hemijske razgradnje do jedinjenja koje se ne može kretati nazad kroz krvnomoždanu barijeru. Jedinjenje ostaje stabilno oko 2 sata i u toku ovog perioda izvodi se SPECT snimanje. Brzu fiksaciju i vrlo spori klirens iz moždanog tkiva pokazuje <sup>99m</sup>Tc-ECD. Njegov klirens iz krvi je veoma brz što obezbeđuje visoki odnos u aktivnosti između mozga i mekih tkiva i omogućava dobru vizualizaciju mozga. Inertni gas ksenon-133 omogućava kvantitativno određivanje regionalne moždane cirkulacije (rCBF) bez potrebe uzimanja arterijskih uzoraka krvi<sup>7</sup>.

Radioobeleživači se mogu koristiti i za utvrđivanje bi-hemijskih interakcija, kao što je vezivanje za receptor. Proiz-

vedeni su ligandi obeleženi pomoću <sup>123</sup>I, kao što je jodo-hidroksimetoksi-N-(etil-pirolidinil) metil-benzamid (IBZM), za snimanje sistema dopaminskog receptora. Dopaminski D<sub>2</sub> receptorski ligand <sup>123</sup>IBZM, pokazuje visoku fiksciju u strijatumu i može se ukloniti haloperidolom. Specifično se vezuje na D<sub>2</sub> receptore 40 minuta nakon intravenoznog injiciranja, a nakon toga ostaje stabilan u periodu do dva sata. Jod-123-kvinuklidinil-jodobenzilat (<sup>123</sup>I-QNB), koji je antagonist acetilholinskih muskarinskih receptora, koristi se za snimanje ovih receptora u mozgu. Drugi ligandi označeni pomoću <sup>123</sup>I koriste se za snimanje benzodiazepinskih i serotonininskih receptora<sup>8,9</sup>.

### Pozitronska emisiona tomografija

Kod PET se primjenjuje radiomarker obeležen pozitronskim emiterom kratkog života u nanomolarnim ili pikomolarnim koncentracijama (<sup>11</sup>C, <sup>18</sup>F, <sup>15</sup>O, <sup>13</sup>N). Kako se radi o kratkoživećim izotopima, uz PET mora biti i ciklotron u kojem se oni proizvode. Upotreba C, O, F, i N, koji se nalaze u velikom broju molekula u živom organizmu, pruža mogućnost njihovog vezivanja za ciljnu molekulu koja može biti ćelijski receptor, transporter, enzim od značaja za metabolizam neurotransmitera i sl., čime se omogućava praćenje bi-hemijskih procesa *in vivo*<sup>10,11</sup>.

Tehnika PET se zasniva na detekciji pozitronske anihilacije. Za PET se koriste pozitronski (β+) emiteri. Emiter β+ doživljava anihilaciju na razdaljini manjoj od 1 milimetar od mesta nastanka. Kada dolazi do anihilacije emituju se dva fotona, svaki od 511 keV pod uglom od 180° jedan od drugog. Signal se registruje samo kada se konstatuju dva 511 keV fotona na dva detektora PET kamere postavljene pod uglom od 180°<sup>12</sup>.

Radiofarmak se različito koncentrira u pojedinim delovima mozga zavisno od njihove aktivnosti, a samim tim različit je i intenzitet anihilacije detektovan PET kamerom u krugu od 360° oko vanjske konture glave. Rekonstruisana slika daje podatke o mestu i koncentraciji izotopa u mozgu. Nema razlike u rezoluciji i osetljivosti pri skeniranju bilo kojeg dela mozga. Može se otkriti promena aktivnosti sa tačnošću od 6 milimetara<sup>13</sup>. Tip informacije koji se može dobiti primenom PET zavisi od korištenog radiofarmaka. Najčešće korišćeni radiofarmaci koji ulaze u sastav različitih molekula (voda, glukoza, neki lijekovi itd) su <sup>15</sup>O, <sup>18</sup>F, <sup>11</sup>C i <sup>13</sup>N. Za vizualizaciju moždane cirkulacije koristi se H<sub>2</sub><sup>15</sup>O za vizualizaciju potrošnje kiseonika <sup>15</sup>O<sub>2</sub>, <sup>18</sup>F-2-deoksiglukoza (<sup>18</sup>FDG) za vizualizaciju potrošnje glukoze, dok se <sup>11</sup>C-metionin primenjuje za vizualizaciju preuzimanja aminokiselina, tj. metabolizam proteina. Najčešće se primenjuje PET vizualizacija regionalnog moždanog metabolizma glukoze (rCMRGlucose) i rCBF kao indirektnih markera aktivnosti neurona<sup>14</sup>.

### Metabolička aktivnost glukoze u mozgu

Akumulacija radioaktivno obeležene glukoze određuje cerebralni metabolizam, zbog toga što je glukoza primarni izvor energije za neurone. Za ispitivanje korištenja glukoze u moždanim regijama koristi se deoksiglukoza obeležena pozitronom <sup>18</sup>F (fluorodeoksiglukoza – FDG). Aktivne regije

mozga vezuju ovo jedinjenje kao da je u pitanju glukoza. Kada se jednom nađe unutar ćelije, FDG se fosforilira pomoću heksokinaze u FDG-6-fosfat, a ovo jedinjenje se ne prenosi glukoznim transportom i ne može se metabolizovati fosfoheksizoimerazom, koja predstavlja sledeći enzim u metaboličkom putu glukoze. Kao posledica ovoga, obeleženi FDG-6-fosfat biva metabolički zarobljen u intracelijskom prostoru. Količina radioaktivnog obeleživača koja eventualno zaostane u svakoj odvojenoj regiji mozga povezana je sa vezivanjem glukoze i metabolizmom u pojedinoj regiji. Sken FDG-PET sumira otprilike oko 30 minuta metabolizma glukoze u mozgu što omogućava procenu regionalnih varijacija<sup>15</sup>.

### Cerebralni protok krvi

Većina PET aktivacijskih pretraga zasniva se na davanju radioaktivno obeležene vode, naročito vodonika kombinovanog sa <sup>15</sup>O, koji je radioaktivni izotop kiseonika (H<sub>2</sub><sup>15</sup>O). Obeležena voda emituje veliki broj pozitrona u toku svog raspada. Za samo nešto više od 1 minuta nakon intravenoznog injiciranja, radioaktivna voda nakuplja se u mozgu, stvarajući sliku krvnog protoka. Radioaktivnost vode ne uzrokuje štetne efekte. Poluvreme života <sup>15</sup>O iznosi samo 2 minuta, a celokupni uzorak se razlaže gotovo u potpunosti za oko 10 minuta na oblike koji nisu radioaktivni. Brza razgradnja značajno smanjuje izlaganje osoba potencijalnim štetnim efektima zračenja. Osim toga, neophodne su samo minimalne doze radioaktivnog obeleživača. Brzo razlaganje i male količine omogućavaju veći broj merenja krvnog protoka tokom jednog izvođenja pretrage. Na ovaj način, H<sub>2</sub><sup>15</sup>O-PET može dati multiple snimke mozga pri radu u različitim eksperimentalnim uslovima. Svaka slika predstavlja prosečnu aktivnost neurona u periodu oko 45 sekundi. Ukupni broj snimaka koji se mogu napraviti po osobi (najčešće oko 12 snimaka) ograničen je izloženošću zračenju<sup>16</sup>. Stoga PET ostaje značajna pretraga za snimanje receptora (npr. određivanje neurotransmitera ili leka), molekularna snimanja (npr. određivanje ekspresije gena ili sinteze proteina), a predstavlja i najčešće korišćenu tehniku za procenjivanje nervne podloge kognitivnih procesa na makroskopskom nivou<sup>16</sup>.

### Funkcionalna magnetna rezonanca mozga

Najčešći modalitet fMRI je *blood oxygenation level dependent* (BOLD) snimanje. Linus Pauling otkrio je 1935. god. da količina kiseonika vezanog za hemoglobin utiče na magnetna svojstva hemoglobina, dok je 1991. godine pokazano da MRI može detektovati nivo oksihemoglobina u ljudskom mozgu, što je osnova nastanka BOLD signala. U regionima mozga sa manjom aktivnošću veća je količina HbO<sub>2</sub> u odnosu na dezoksi-Hb što menja karakter MRI signala i indirektno ukazuje na stepen aktivnosti područja mozga. Snimanja pomoću fMRI zahtevaju vanjski magnet sa poljem snage preko 1 tesle. Visoka prostorna rezolucija fMRI omogućila je identifikaciju područja mozga uključenih u kognitivne funkcije, odredila vremensku korelaciju između moždane aktivnosti i ponašanja, i istražila regionalne metaboličke promene

mozga tokom različitih aktivnosti. Tehnika fMRI odlikuje se visokom prostornom rezolucijom (manje od milimetra), ali slabom vremenskom rezolucijom (preko 1 sekunde)<sup>17</sup>. Kod primene fMRI ispitanik se stalno posmatra i beleže se njegove aktivnosti kao i reakcije na različite stimulse (svetlost, zvuk, itd) što se upoređuje sa dobivenim moždanim funkcionalnim mapama. Takođe, od ispitanika se može tražiti da vrši različite radnje – da čita, planira, razmišlja o određenom problemu, planira pokrete određenih delova tela, itd. što se naziva stimulus orjentisani (*event related*) fMRI. Savremena tehnologija omogućava njegovo izvođenje u realnom vremenu, pri čemu se slika dobiva u trenutku registrovanja, a ne naknadnom obradom (ne kao *post-processing*). Tehnika fMRI u realnom vremenu omogućava vizualizaciju lokalizacije moždane aktivnosti tokom kognitivnih fenomena veoma kratkog trajanja, npr. halucinacija<sup>18</sup>.

Tehnika fMRI sve više se koristi umesto PET sa vodom obeleženom <sup>15</sup>O u vizualizaciji regionalne moždane hemodinamike tokom izvođenja različitih funkcijskih ispitivanja mozga. Tehnika fMRI ima više prednosti u odnosu na PET: ne zahteva aplikaciju radiofarmaka već signal dolazi od promene nivoa oksigenacije hemoglobina u krvi, bolja je prostorna rezolucija (kod PET oko 6 milimetara), bolja je vremenska rezolucija (kod PET 45 sekundi), posebno razvojem novih modaliteta, kao što su fMRI u realnom vremenu ili eho-planarno snimanje<sup>19</sup>.

### Multimodalna integracija

Iz jednog u drugo područje mozga signal putuje oko 10 milisekundi ili manje. Nažalost, promene protoka krvi i sadržaja oksihemoglobina u njoj imaju mnogo veću inerciju (spori je su), otprilike 100 milisekundi do nekoliko sekundi nakon aktivacije određenog regiona mozga. Na ovaj način fMRI i PET ne mogu verno prikazati konverzacije između pojedinih regiona mozga. Jedine metode koje danas stoje na raspolaganju za registrovanje tako brzih promena moždane aktivnosti su elektroencefalografija (EEG) i magnetoencefalografija (MEG), ali ove metode imaju slabu prostornu rezoluciju koja je određena brojem elektroda koje se postavljaju na skalp<sup>20,21</sup>. Dakle, istovremeno postizanje dobre prostorne i vremenske rezolucije vizualizacije može se ostvariti isključivo integracijom različitih modaliteta istraživanja moždanih funkcija. Najčešće korišćeni hibridni sistemi u funkcionalnoj vizualizaciji mozga su SPECT-CT, SPECT-PET, PET/CT, transkranijalna magnetna stimulacija (TMS)-PET, TMS-EEG. U hibridnim multimodalnim sistemima PET i fMRI omogućavaju vizualizaciju neuronskih sistema uključenih u ponašanje koje se istražuje, dok EEG i MEG daju informacije o progresiji aktivnosti tih sistema u funkciji vremena<sup>21</sup>.

### Magnetno-rezonantna spektroskopija

Tehnika magnetno rezonantne spektroskopije (MRS) omogućava *in vivo* merenje regionalne koncentracije različitih endogenih materija koje sadrže atome <sup>31</sup>P, <sup>13</sup>C, <sup>19</sup>F, <sup>23</sup>Na, <sup>7</sup>Li i na taj način predstavlja vizualizaciju moždanih funkcija na metaboličkom i molekularnom nivou; Primena <sup>31</sup>P MRS



omogućava *in vivo* određivanje regionalnih koncentracija neorganskih i organskih fosforinih jedinjenja (npr. fosfoholina, fosfata, ATP, kreatinfosfata, itd) dok  $^1\text{H}$  MRS omogućava merenje *in vivo* regionalne koncentracije laktata i neuronskog markera kao što je N-acetil aspartat<sup>22, 23</sup>.

### Spektroskopija u infracrvenom spektru

Spektroskopija u skoro infracrvenom spektru – *near-infrared spectroscopy* (NIRS) i registrovanje optičkih signala – *event-related optical signals* (EROS) vezanih za događaje, metode su kojima se *in vivo* meri promena hemodinamike mozga i oksigenacije krvi. Promene optičkih karakteristika nervnog tkiva često stoje u određenoj vezi sa promenom njihove fiziološke aktivnosti. Na taj način moguće je da se iz-

vodi optički monitoring neuronske aktivnosti primenom određenih boja ili nekih drugih materija. Primenom NIRS može se neinvazivno registrovati neuronska aktivnost preko intaktne lobanje. Ovim metodama mogu se odrediti stepen oksigenacije hemoglobina (specifična apsorpcija fotona od strane oksid- i dezoksihemoglobina), redoks stanje citohrom c-oksidadaze i promene membranskog potencijala i ćelijskog volumena udružene sa aktivnošću neurona<sup>24–26</sup>.

### Zaključak

Prezentovana dostignuća u istraživanju moždanih funkcija potvrđuju ekspanziju uspešnih neuroradioloških tehnika, ali su istovremeno i izazov da se razvijaju savršenije tehnike kojima bi se moždana aktivnost još jasnije osvetlila.

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

1. Kumari V, Gray JA, Honey GD, Soni W, Bullmore ET, Williams SC, et al. Procedural learning in schizophrenia: a functional magnetic resonance imaging investigation. *Schizophr Res* 2002; 57(1): 97–107.
2. Barch DM, Csernansky JG, Conturo T, Snyder AZ. Working and long-term memory deficits in schizophrenia: is there a common prefrontal mechanism? *J Abnorm Psychol* 2002; 111(3): 478–94.
3. Perlstein WM, Carter CS, Noll DC, Cohen JD. Relation of prefrontal cortex dysfunction to working memory and symptoms in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2001; 158(7): 1105–13.
4. Perlstein WM, Dixit NK, Carter CS, Noll DC, Cohen JD. Prefrontal cortex dysfunction mediates deficits in working memory and prepotent responding in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2003; 53(1): 25–38.
5. Riehemann S, Volz HP, Stützer P, Smesny S, Gaser C, Sauer H. Hypofrontality in neuroleptic-naive schizophrenic patients during the Wisconsin Card Sorting Test-a fMRI study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2001; 251(2): 66–71.
6. Rubia K, Russell T, Bullmore ET, Soni W, Brammer MJ, Simmons A, et al. An fMRI study of reduced left prefrontal activation in schizophrenia during normal inhibitory function. *Schizophr Res* 2001; 52(1–2): 47–55.
7. Honey GD, Bullmore ET, Sharma T. De-coupling of cognitive performance and cerebral functional response during working memory in schizophrenia. *Schizophr Res* 2002; 53(1–2): 45–56.
8. Callicott JH, Bertolino A, Mattay VS, Langheim FJ, Duan J, Coppola R, et al. Physiological dysfunction of the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia revisited. *Cereb Cortex* 2000; 10(11): 1078–92.
9. Quintana J, Wong T, Ortiz-Portillo E, Kovalik E, Davidson T, Marder SR, et al. Prefrontal-posterior parietal networks in schizophrenia: primary dysfunctions and secondary compensations. *Biol Psychiatry* 2003; 53(1): 12–24.
10. Aguirre GK, Detre JA, Zarahn E, Alsop DC. Experimental design and the relative sensitivity of BOLD and perfusion fMRI. *Neuroimage* 2002; 15(3): 488–500.
11. Ames A 3rd. CNS energy metabolism as related to function. *Brain Res Brain Res Rev* 2000; 34(1–2): 42–68.
12. Clarke DD, Sokoloff L. Circulation and energy metabolism in the brain. In: Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, SK Fisher, Ubler MD, editors. *Basic Neurochemistry*. 6 ed. New York: Lippincott-Raven; 1999. pp. 637–69.
13. Logothetis N. Can current fMRI techniques reveal the micro-architecture of cortex? *Nat Neurosci* 2000; 3(5): 413–4.
14. Mazoyer B, Zago L, Mellet E, Bricogne S, Etard O, Houdé O, et al. Cortical networks for working memory and executive functions sustain the conscious resting state in man. *Brain Res Bull* 2001; 54(3): 287–98.
15. Pessoa L, Kastner S, Ungerleider LG. Neuroimaging studies of attention: from modulation of sensory processing to top-down control. *J Neurosci* 2003; 23(10): 3990–8.
16. Raichle ME. Functional brain imaging and human brain function. *J Neurosci* 2003; 23(10): 3959–62.
17. Shulman RG, Hyder F, Rothman DL. Cerebral energetics and the glycogen shunt: neurochemical basis of functional imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(11): 6417–22.
18. Shulman RG, Rothman DL, Behar KL, Hyder F. Energetic basis of brain activity: implications for neuroimaging. *Trends Neurosci* 2004; 27(8): 489–95.
19. Simpson JR, Ongür D, Akbudak E, Conturo TE, Ollinger JM, Snyder AZ, et al. The emotional modulation of cognitive processing: an fMRI study. *J Cogn Neurosci* 2000; 12 Suppl 2: 157–70.
20. Takano T, Tian GF, Peng W, Lou N, Libionka W, Han X, et al. Astrocyte-mediated control of cerebral blood flow. *Nat Neurosci* 2006; 9(2): 260–7.
21. Callicott JH. An expanded role for functional neuroimaging in schizophrenia. *Curr Opin Neurobiol* 2003; 13(2): 256–60.
22. Friston KJ. Analyzing brain images: Principles and overview. In: Frackowiak RSJ, Friston KJ, Frith C, Dolan R, Mazziotta JC, editors. *Human Brain Function*. San Diego: Academic Press USA; 1997. p. 25–41.
23. Groch MW, Erwin WD. Single-photon emission computed tomography in the year 2001: instrumentation and quality control. *J Nucl Med Technol* 2001; 29(1): 12–8.
24. Magistretti PJ, Pellerin L. Cellular mechanisms of brain energy metabolism and their relevance to functional brain imaging. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1999; 354(1387): 1155–63.
25. Phelps ME. Inaugural article: positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(16): 9226–33.
26. Posner MI, Raichle ME. Images of the brain. In: Posner MI, Raichle ME. Images of mind. New York: Scientific American Library; 1994. p. 53–81.

Rad primljen 20. I 2009.



## Sindrom Brugada – naše prvo iskustvo

## Brugada syndrome – a brand new case

Ružica Jurčević, Lazar Angelkov, Dejan Vukajlović, Velibor Ristić,  
Milosav Tomović, Dejan Kojić, Boško Đukanović

Institut za kardiovaskularne bolesti Dedinje, Odeljenje za elektrofiziologiju i  
elektrostimulaciju, Beograd, Srbija

### Apstrakt

**Uvod.** Sindrom Brugada (SB) je poremećaj koji može dovesti do sinkope i iznenadne smrti, a udružen je sa jednom od nekoliko elektrokardiografskih (EKG) manifestacija: nekompletni blok desne grane i elevacija ST segmenta u prednjim prekordijalnim odvodima. Kod bolesnika sa SB često se razvija ventrikularna tahiaritmija koja može dovesti do sinkope, srčanog aresta ili iznenadne srčane smrti. **Prikaz bolesnika.** Bolesnica stara 58 godina prvi je opisan slučaj sindroma Brugada u Srbiji, sa intermitentnim tipičnim promenama za ovo oboljenje: u bazičnom elektrokardiogramu (EKG)-u: elevacija ST segmenta u prekordijalnim odvodima V<sub>1</sub>-V<sub>3</sub> oblika platoa ili svoda – oblik major ili tip I. Poslednjih 27 godina imala je palpitacije u vidu preskoka i ubranog rada srca praćenim nesvesnicom, bez gubitka svesti. U porodičnoj anamnezi, rođena sestra umrla je naprasno u toku sna. Na 24-časovnom Holter monitoringu zabeležene su pojedinačne komorske ekstrasistole u toku noći sa fenomenom R/T, a na testu opterećenja retke pojedinačne komorske ekstrasistole u fazi oporavka, što je posledica predominacije tonusa parasimpatikusa. Kasni potencijali bili su pozitivni. Ultrazvuk srca pokazao je očuvanu globalnu sistolnu funkciju leve komore, ejeckiona frakcija leve komore procenjena je na 60%, ehokardiografski nalazi srca bili su, takođe, normalni. Urađena je koronarografija koja nije detektovala značajne promene na epikardnim koronarnim arterijama, čime je isključeno strukturno oboljenje miokarda. U nastavku procedure sprovedeno je elektrofiziološko ispitivanje: na početku ispitivanja EKG je bio normalan, a zatim je urađen propafenonski test koji je demaskirao sindrom Brugada (došlo je do pojave elevacije ST segmenta tipa I). Programiranim ventrikularnom stimulacijom izazvana je kratkotrajna ventrikularna tahikardija koja je spontano prošla. Bolesnici je indikovana ugradnja jedno-komorskog implantabilnog kardioverter-defibrilatora, koji je implantiran, a u terapiju su uvedni amiodaron i metoprolol. Nakon jednogodišnjeg praćenja nije bilo epizoda ventrikularne tahikardije i ventrikularne fibrilacije. **Zaključak.** Sindrom Brugada je bolest miokarda čija su prognoza i terapija određeni prisustvom ventrikularne fibrilacije ili ventrikularne tahikardije. Elektrofiziološkim ispitivanjem indukovani maligni ventrikularni poremećaji klase I srčanog ritma indikacija su za ugradnju kardioverter-defibrilatora, što je bio slučaj i kod naše bolesnice.

### Ključne reči:

brugada sindrom; elektrokardiografija;  
ehokardiografija; propafenon; defibrilatori.

### Abstract

**Background:** Brugada syndrome (BS) is a disorder characterized by syncope or sudden death associated with one of several electrocardiographic (ECG) patterns characterized by incomplete right bundle branch block and ST elevation in the anterior precordial leads. Patients with BS are prone to develop ventricular tachyarrhythmias that may lead to syncope, cardiac arrest, or sudden cardiac death. **Case report.** A 58-year-old woman is the first described case of Brugada syndrome in Serbia with intermittent typical changes in basic electrocardiography (ECG): ST segment elevation in the precordial chest leads like dome or coved - major form or type I. For the last 27 years the patient had suffered of palpitations and dizziness, without syncopal events. Her sister had died suddenly during the night in sleep. During 24-hour Holter monitoring the patient had ventricular premature beats during the night with R/T phenomenon and during the recovery phase of exercise testing had rare premature ventricular beats as the consequence of parasympathetic stimulation. Late potentials were positive. Echocardiography revealed left ventricular ejection fraction of 60%. We performed coronary angiography and epicardial coronary arteries were without significant stenosis and structural heart disease was excluded. In the beginning of the electrophysiological study ECG was normal, and after administration of Propafenon i.v. Brugada syndrome unmasked with appearance of type I ECG pattern. A programmed ventricular stimulation induced non sustained ventricular tachycardia. One-chamber implantable cardioverter defibrillator was implanted and the patient was treated with a combination of amiodarone and metoprolol per os. After one-year follow-up, there were no episodes of ventricular tachycardia and ventricular fibrillation. **Conclusion.** Brugada syndrome is a myocardial disorder which prognosis and therapy are related to presence of ventricular fibrillation or ventricular tachycardia. Electrophysiologically induced malignant ventricular disorders class I are indication for implantation of cardioverter defibrillator, as also occurred in presented patient.

### Key words:

brugada syndrome; electrocardiography;  
echocardiography; propafenone; defibrillators.

## Uvod

Sindrom Brugada je poremećaj električne provodljivosti miokarda koja je posledica do sada otkrivenih 18 genskih mutacija na jonskim kanalima. Terapija izbora za prevenciju naprasne srčane smrti je ugradnja kardioverter defibrilatora kod bolesnika koji su imali ventrikularnu tahikardiju ili ventrikularnu fibrilaciju i kod onih kojima se elektrofiziološkim ispitivanjem indukuju maligni ventrikularni poremećaji ritma. Vrsta genske mutacije nema prognostički značaj i uticaj na izbor terapije kod bolesnika<sup>1-3</sup>. Opisali smo prvi slučaj sindroma Brugada u Srbiji koji je imao tipičnu elevaciju ST-segmenta u prekordijalnim odvodima V<sub>1</sub>-V<sub>3</sub>, oblik major.

## Prikaz slučaja

Bolesnica, stara 58 godina, prvi je opisani slučaj sindroma Brugada u Srbiji. U bazičnom elektrokardiogramu (EKG) imala je intermitentne tipične elektrokardiografske znakove za ovo oboljenje kao što su elevacija ST segmenta u prekordijalnim odvodima V<sub>1</sub>-V<sub>3</sub>, oblika platoa ili svoda - major forma, odnosno tip I. T-talas bio je negativan u desnim prekordijalnim odvodima, pri čemu nisu postojale recipročne promene u suprotnim odvodima (slika 1). Bolesnica je pos-

lednjih 27 godina imala palpitacije u vidu preskoka i ubrzanog rada srca praćene nesvesicom, bez gubitka svesti. U porodičnoj anamnezi navela je da je rođena sestra, stara 53 godine, umrla naprasno u toku sna.

Bolesnici je urađen prvi 24-Holter monitoring marta 2007. godine (na terapiji nebivololom 1 × 5 mg): zabeleženi su sinusni ritam, retko AV blok I stepena i ukupno 286 pojedinačnih monomorfni komorskih ekstrasistola sa fenomenom R/T, većinom u toku sna. Na drugom 24-Holter monitoringu aprila 2007. godine (na terapiji metoprololom 2 × 50 mg) detektovane su ukupno 242 pojedinačne monomorfne komorske ekstrasistole sa fenomenom R/T, takođe najčešće u toku noći. U Institutu za kardiovaskularne bolesti Dedinje urađen je treći 24-Holter monitoring novembra 2007. godine, kada nije detektovana ektopična komorska aktivnost, ali su zabeležene česte epizode tipične elevacije ST segmenta u modifikovanim odvodima V<sub>1</sub> i V<sub>3</sub>. Određeni su kasni potencijali koji su bili pozitivni. Testovi fizičkim opterećenjem (decembar 2006. godine i novembar 2007. godine) u fazi oporavka zabeležili su pojedinačne komorske ekstrasistole, što je posledica predominacije tonusa parasimpatikusa (slika 2). Ultrazvuk srca pokazao je očuvanu globalnu sistolnu funkciju leve komore; ejeckiona frakcija leve komore procenjena je na 60%. Ostali ehokardiografski nalazi srca,



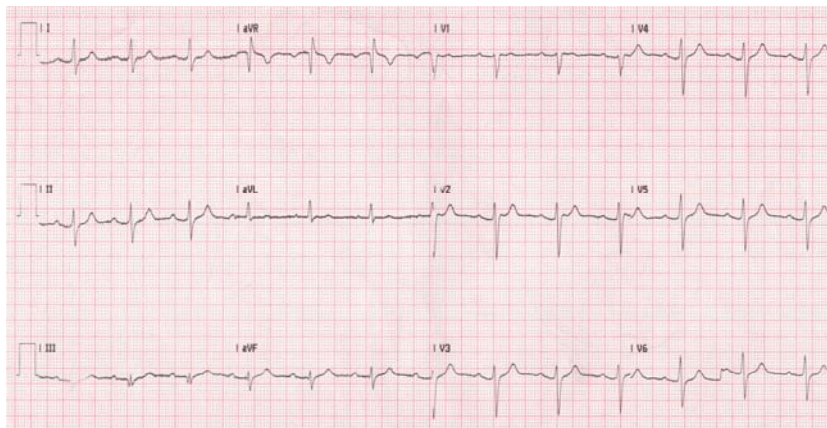
Sl. 1 – Elektrokardiogram bolesnice sa sindromom Brugada: tipična elevacija ST segmenta i negativan T talas u prekordijalnim odvodima od V<sub>1</sub> do V<sub>3</sub>.



Sl. 2 – U fazi oporavka na testu opterećenja detektovana tipična elevacija ST-segmenta i pojedinačne komorske ekstrasistole.

takođe, bili su normalni. Koronarografija nije detektovala značajne stenozе na epikardnim koronarnim arterijama. Urađeno je elektrofiziološko ispitivanje, u bazičnim uslovima zabeležen je normalan EKG nalaz (slika 3), nakon davanja

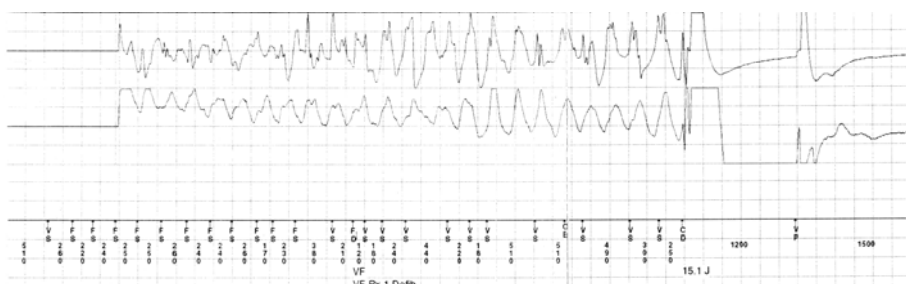
morskog implantabilnog kardioverter-defibrilatora (ICD). Jednokomorski ICD implantiran je februara 2008. godine, a prilikom testiranja aparata izazvana je polimorfna ventrikularna tahikardija dužine ciklusa od 210 do 260 ms prepo-



Sl. 3 – Normalan elektrokardiogram kod bolesnice sa sindromom Brugada – pre propafenoskog testa.

propafenona u *i.v.* bolusu 2 mg po kg telesne mase došlo je do elevacije ST segmenta u desnim prekordijalnim odvodima V<sub>1</sub>-V<sub>3</sub> sa registrovanjem pojedinačnih komorskih ekstarsistola. Nakon toga urađeno je ventrikularni program sa stimulacijom desne komore iz vrha sa S4 stimulusa i izazvana je ventrikularna tahikardija koja je spontano prošla (slika 4). Kod bolesnice je indicovana ugradnja jednoko-

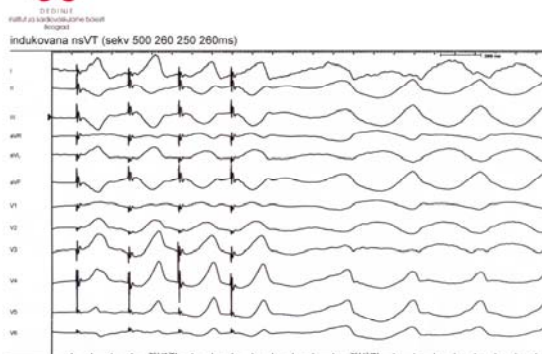
znata u zoni ventrikularne fibrilacije ICD-a i uspešno zastavljena defibrilacijom od 15 J, što je i zadovoljavajući prag defibrilacije (slika 5). U terapiju, pored metoprolola, uveden je i amiodaron *per os*. Nakon godinu dana praćenja i kontrole ICD-a nisu detektovane ventrikularna tahikardija i ventrikularna fibrilacija, a, takođe, nije došlo do primene terapije ICD-a (antitahikardnog pejsinga i defibrilacije).



Sl. 4 – Programirana ventrikularna stimulacija iz vrha desne komore indukovala je kratkotrajnu ventrikularnu tahikardiju koja spontano prolazi.



**DEDINJE Institut za kardiovaskularne bolesti**  
Odeljenje za elektrofiziologiju i elektrostimulaciju  
Ul. Milana Tepica br. 1, Beograd, Srbija



Intervention Summary

Sl. 5 – Polimorfna ventrikularna tahikardija indukovana za vreme testiranja implantabilnog kardioverter-defibrilatora koja je zaustavljena DC šokom od 15 J.



## Diskusija

Sindrom Brugada je primarna „električna“ bolest miokarda koju odlikuje specifična elevacija ST segmenta u desnim prekodijalnim odvodima V<sub>1</sub>-V<sub>3</sub> i visoka incidencija polimorfne ventrikularne tahikardije ili ventrikularne fibrilacije<sup>4</sup>. Elevacija ST segmenta morfološki može biti oblik major (oblik svoda ili platoa), oblik minor (izgled sedla) ili triangularni (trouglasta forma). Kod naše bolesnice postojao je tipičan major izgled ST segmenta, a prilikom testiranja ICD-a izazvana je polimorfna ventrikularna tahikardija. Blok desne grane koji je u početku opisan kao sastavni deo sindroma, ne mora obavezno postojati<sup>5</sup>.

Josef i Pedro Brugada<sup>3</sup> su 1992. godine otkrili ovaj sindrom, a naknadno je utvrđeno da se radi o ranije poznatim endemskim oboljenjima kao što su Vudu ili Laj Taj na Tajlandu, bolest Pokuri u Japanu, Bangungut na Filipinima<sup>6</sup>. Većinom oboljevaju muškarci, najčešće u trećoj deceniji života<sup>7</sup>. Čen je 1998. godine otkrio prve tri mutacije na hromozomu tri, na genu SCN5A koji je odgovoran za kanale jona natrijuma I<sub>Na</sub><sup>8</sup>. Opisani su bolesnici sa sindromom Brugada bez ovih mutacija. Treba ispitati gene odgovorne za rad i drugih jonskih kanala kao što su kalijumovi kanali (I<sub>K-ATP</sub>) i kalcijumovi kanali (I<sub>Ca</sub>). Kod naše bolesnice iz tehničkih razloga (ne radi se u Srbiji) nismo uradili analizu na do sada poznate genske mutacije. Kako postoji genska heterogenost SB, česte *de novo* mutacije, kao i slučajevi kod kojih nisu opisane, odnosno nisu otkrivene genske mutacije, to ne isključuje našu dijagnozu ovog oboljenja.

Opisana je korelacija između tonusa parasimpatikusa i stepena elevacije ST segmenta<sup>9</sup>. Kod naše bolesnice bila je veća učestalost pojedinačnih komorskih ekstrasistola u toku sna (Holter monitoring), kao i za vreme faze oporavka nakon testa opterećenja, što je posledica predominacije tonusa parasimpatikusa. Često se kod SB detektuju pozitivni kasni po-

tencijali u elektrokardiogramu sa usrednjavanjem signala<sup>5</sup>, što je zabeleženo i kod naše bolesnice. Koronarografski nalaz i ultrazvuk srca bili su normalni, što potvrđuje dijagnozu bolesti jonskih kanala (*chanellopathy*).

Elektrofiziološko ispitivanje indukuje ventrikularnu tahikardiju ili ventrikularnu fibrilaciju kod asimptomatskih bolesnika do 83%, a kod simptomatskih i do 100%. Kod bolesnika sa normalnim elektrokardiogramom može se izazvati specifična elevacija ST-segmenta („demaskiranje“), primenom antiaritmika koji blokiraju kanale jona natrijuma I<sub>Na</sub> kao što su propafen, ajmalin, prokainamid i flekainid.

Terapija izbora kod bolesnika sa sindromom Brugada je ugradnja ICD-a u cilju primarne i sekundarne prevencije malignih ventrikularnih poremećaja ritma. Bolesnici koji su na terapiji amiodaronom i beta blokatorom imaju manji mortalitet (26%) nego oni bez terapije (31%), a bolesnici kojima je ugrađen ICD preživeli su<sup>3</sup>. Genska terapija je terapija budućnosti za bolesnike sa sindromom Brugada, kao i drugih električnih bolesti srca kao što su *Long QT* sindrom, *Short QT* sindrom, *Short-Coupled variant Torsades de Pointes*, *Anderson-Tawil*-ov sindrom itd.

## Zaključak

Opisan je prvi slučaj SB u Srbiji sa tipičnim intermitentnim EKG znakovima major forme ovog oboljenja koji se demaskiraju propafenskim testom, dok se ventrikularni poremećaji ritma izazivaju elektrofiziološkim ispitivanjem i pojavljuju se za vreme predominacije tonusa parasimpatikusa - faza oporavka nakon testa opterećenja i u toku noći (detektovano 24-h Holter monitoringom). Ultrazvuk srca i koronarografija isključili su strukturno oboljenje miokarda i pomogli u postavljanju dijagnoze bolesti jonskih kanala, koja je moguća i bez identifikacije genske mutacije koja može biti *de novo* ili još neotkrivena, pored već poznatih genskih mutacija za sindrom Brugada.

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

1. Grimster A, Segal OR, Behr ER. Type I Brugada electrocardiogram pattern during the recovery phase of exercise testing. *Europace* 2008; 10(7): 897–8.
2. Jurčević R, Angelkov L, Mirić M, Nešković NA, Ristić V, Bojić M. Implantabilni kardioverter-defibrilatori. *Kardiologija* 2000; 21(3-4): 33–41. (Serbian)
3. Brugada J, Brugada R, Brugada P. Right bundle-branch block and ST-segment elevation in leads V1 through V3: A marker for sudden death in patients without demonstrable structural heart disease. *Circulation* 1998; 97(5): 457–60.
4. Brugada P, Brugada J. Right bundle branch block, persistent ST segment elevation and sudden cardiac death: a distinct clinical and electrocardiographic syndrome. A multicenter report. *J Am Coll Cardiol* 1992; 20(6): 1391–6.
5. Jurčević R, Angelkov L, Đurić D, Bošković S, Mirić M. The Brugada syndrome. *Srp Arh Celok Lek* 200; 130(1-2): 42–5. (Serbian)
6. Nademane K, Veerakul G, Nimmannit S, Chaowakul V, Bhuripanyo K, Likittanasombat K, et al. Arrhythmogenic marker for the sudden unexplained death syndrome in Thai men. *Circulation* 1997; 96(8): 2595–600.
7. Brugada P, Brugada R, Brugada J, Geelen P. Use of the prophylactic implantable cardioverter defibrillator for patients with normal hearts. *Am J Cardiol* 1999; 83(5B): 98D–100D.
8. Chen Q, Kirsch GE, Zhang D, Brugada R, Brugada J, Brugada P, et al. Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation. *Nature* 1998; 392(6673): 293–6.
9. Wichter T. What role for autonomic dysfunction in Brugada Syndrome? Pathophysiological and prognostic implications. *Europace* 2008; 10(7): 782–3.

Rad primljen 23. IX 2008.



## Oropharyngeal dysphagia as dominant and life-threatening symptom in dermatomyositis

### Orofaringealna disfagija kao dominantan i životnougrožavajući simptom kod dermatomiozitisa

Zorana Đaković, Sonja Vesić, Maja Tomović, Jelena Vuković

Clinical Center of Serbia, Institute of Dermatovenereology, Belgrade, Serbia

#### Abstract

**Background.** Dysphagia can be a serious problem in patients with inflammatory myopathies. It may be associated with nutritional deficit, aspiration pneumonia, and poor prognosis. **Case report.** We presented a 60-year-old male, suffering from difficulty in swallowing, pain and weakness in the proximal parts of his extremities, and skin manifestation. Laboratory findings showed increased creatine kinase and aldolase. Antinuclear antibodies to HEP-2 substrate revealed titer of 1:40. Electromyoneurography demonstrated evidence of a proximal myopathy. A muscle biopsy revealed myositis. The barium swallow test was remarkable for regurgitation, and nasal emerging of barium. Nuclear magnetic resonance images of cranium was normal. Tumor markers CEA, and Ca 19-9 were increased. A dose of 1 mg daily prednisolone was administered and percutaneous enteral feeding was performed. Two months later, the patient developed febrile state, aspiration pneumonia, and died due to respiratory failure. **Conclusion.** In cases of dermatomyositis with the serious dysphagia, percutaneous endoscopic gastrostomy should be performed as soon as possible. Overall survival rate is low, even with an adequate therapy administration. Inflammatory myopathies should be considered in any patient with oropharyngeal dysphagia.

#### Key words:

deglutition disorders; diagnosis; myositis; dermatomyositis; gastrostomy; enteral nutrition; treatment outcome.

#### Apstrakt

**Uvod.** Disfagija može biti životnougrožavajući simptom kod bolesnika sa dermatomiozitisom. **Prikaz bolesnika.** Muškarac, star 60 godina, javio se zbog eritema na koži obraza i čela, lakog periokularnog edema, kao i otežanog gutanja i bolova u mišićima ramenog i sedalnog predela. Dijagnoza dermatomiozitisa potvrđena je: laboratorijskim nalazom povišenih vrednosti mišićnih enzima u serumu, vrednostima antinuklearnih antitela na supstrat HEP 2 koje su iznosile 1:40, elektromiografskim nalazom miopatskih lezija, i potvrdom miozitisa nakon biopsije. Ezofagogastroduodenskopijom uočeno je vraćanje tečnosti kroz nos tokom akta gutanja, bez promene u strukturi jednjaka. Pregledom kranijuma nuklearnom magnetnom rezonancom utvrđen je normalan nalaz. Tumor markeri CEA i Ca19-9 bili su povišenih vrednosti. Započeta je terapija prednizolonom uz uvođenje perkutane enteralne ishrane. Dva meseca nakon prijema došlo je do febrilnosti, aspiracione pneumonije i smrtnog ishoda. **Zaključak.** Kod bolesnika sa dermatomiozitisom udruženim sa teškim oblicima disfagije, enteralna ishrana putem perkutane endoskopske gastrostome mora biti uvedena što pre. U stadijumu IV poremećenog akta gutanja, nivo preživljavanja je mali, a kod svih bolesnika sa pojavom orofaringealne disfagije kao jedinim simptomom potrebno je razmatrati i prisustvo autoimunih inflamatornih miopatija.

#### Ključne reči:

gutanje, poremećaji; dijagnoza; miozitis; dermatomiozitis; gastrostomija; ishrana, enteralna; lečenje, ishod.

#### Background

Dysphagia can be present as a serious problem at any time during inflammatory myopathies<sup>1,2</sup>. It is commonly observed in the acute inflammatory phase of these conditions, and may be associated with nutritional deficit, aspiration pneumonia, decreased quality of life, and poor prognosis<sup>3-5</sup>. In cases of dysphagia grade 4, rehabilitation procedures, and in-

terventional measures (cricopharyngeal or esophageal dilation, cricopharyngeal myotomy, botulinum injections of the upper esophageal sphincter) do not give desirable effects<sup>1</sup>. In such cases non-oral feeding is needed. Swallowing disorders are considered a major cause of both morbidity and mortality in polymyositis (PM) and dermatomyositis (DM) and may lead to life threatening complications (cachexia related to severe swallowing disorders, and recurrent aspiration infectious



pneumonia)<sup>6,7</sup>. Dysphagia in PM/DM has not been evaluated systematically, especially for the striated muscle dysfunction. Indeed, the subject has been focused on problems in the esophagus and scant attention has been paid on the oropharynx which may be equally affected in PM/DM<sup>8-10</sup>.

### Case report

A 60-year-old man had had difficulty in swallowing a month before his admission to our hospital. In that time he also had pain and weakness in the proximal parts of his extremities. Ten years ago he was treated for alcohol abuse, but otherwise was healthy. Skin manifestations demonstrated erythematous maculopapular eruption in his cheeks and forehead, mild periorbital edema and scarce Gottron's papules overlying dorsal metacarpophalangeal surfaces of his hands (Figures 1 and 2).



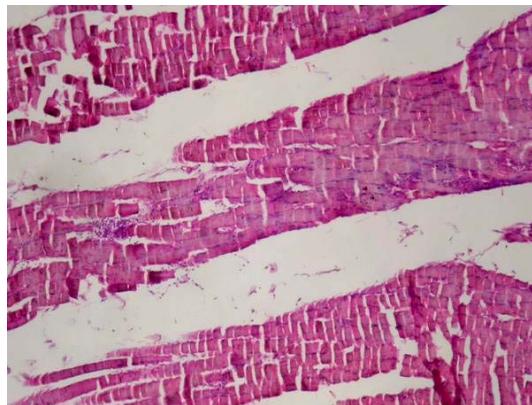
**Fig. 1 – Erythematous maculopapular eruption on the cheeks and forehead**



**Fig. 2 – Skin manifestations (Gottron's papules) seen in the patient with dermatomyositis**

Muscle strength on the Medical Research Council scale was grade 4 in the proximal arms and neck flexors, and 3 in the legs. We did not notice swelling and painful movement of his oral floor. The strength of the tongue was intact. Laboratory findings showed increased serum muscle enzymes. Serum creatine kinase (CK) was 1 526 IU/L, with the fraction CK reflecting myocardial injury (MB) between 36 - 40 ng/mL, MB mass fraction 5.1 µg/L, and aldolase 16.2 IU/L. There were also pathological levels of liver enzymes – lac-

tate dehydrogenase (LDH) 1047 U/L, aspartat aminotransferase (AST) 18 U/L, alanin aminotransferase (ALT) 72 U/L, and gamma glutamine transpherase (gamma GT) 67 U/L. Sedimentation rate (SE) was 90. Autoantibody screen was positive for extractable nuclear antigens (ANA HEP 2) with a value of 1:40, and negative for antinuclear antibody (ANA), C-reactive protein, and anti-Jo IgG. Electromyography demonstrated mild proximal myopathy in all extremities. A muscle biopsy was obtained from the right deltoid muscle, because electromyographic examination revealed mild neuromyopathy in this area. Biopsy findings presented the infiltration of lymphocytes and plasma cells mainly in perivascular areas. (Figure 3). A diagnosis of dermatomyositis was



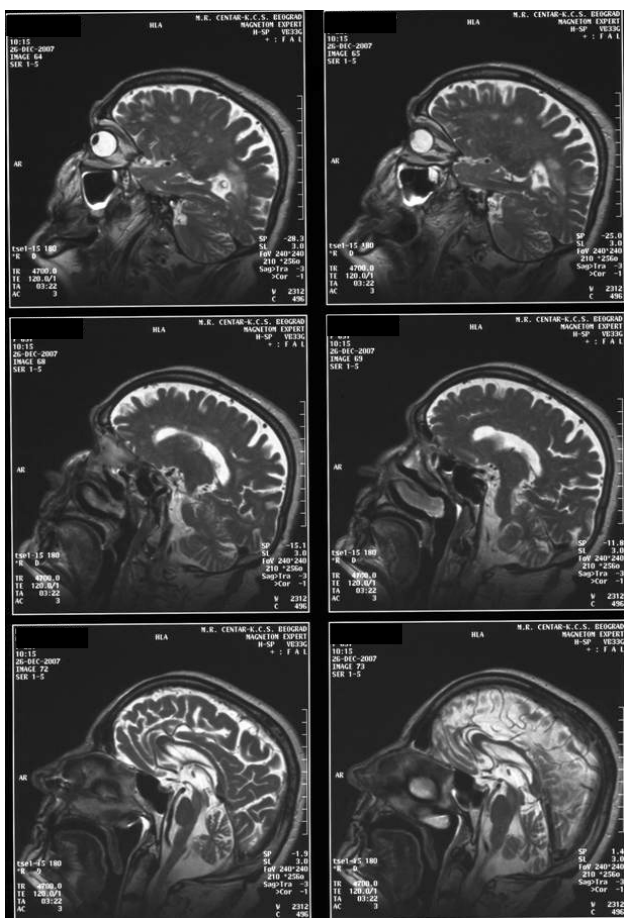
**Fig. 3 – Myositis (hematoxylin-eosin staining × 200)**

made. Severe dysphagia-related symptoms progressed over several days (“food sticking in the throat”, “deglutitive coughing”, “choking”, and “postnasal regurgitation”). Chest X-ray was normal. Abdominal ultrasonography showed no pathological findings. A barium sulphate swallow test (a contrast swallow X-ray film) was remarkable for regurgitation, aspiration, and no absolute emptying in the region of pharynx. There was also evidence to nasal emerging of barium (Figure 4). Nuclear magnetic resonance (MRI) images



**Fig. 4 – A barium sulphate swallow X-ray test – no absolute emptying in the region of pharynx**

of cranium revealed bilateral cortical and subcortical reduction of both cerebrum and cerebellum (Figure 5).

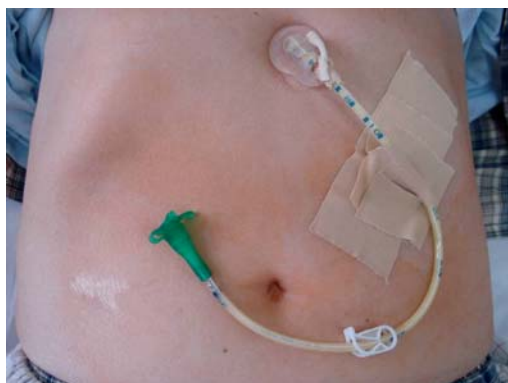


**Fig. 5 – Nuclear magnetic resonance images of cranium: cortical and subcortical reduction**

matic clinical deterioration. The patient was treated promptly with prednisolone 1 mg/kg daily. Although muscle pain, muscle enzyme values, and skin manifestations partially improved, dysphagia and dysphonia progressed over several days until he was unable to swallow liquids. A necessity for introduction of non-oral feeding was obvious. Seven days after his first visit, enteral feeding was performed introducing percutaneous endoscopic gastrostomy (PEG) (Figure 6). Unfortunately, the patient developed febrile state with aspiration pneumonia, and died two months afterwards due to respiratory failure.

**Discussion**

Polymyositis and DM are the two major idiopathic inflammatory myopathies, and usually affect the skeletal musculature of the body<sup>11</sup>. Skin lesions may precede the development of the myopathy and may persist after the control of myositis. Proximal muscle disease is usually symmetrical, and symptoms are fatigue, weakness and sometimes myalgia<sup>6</sup>. Proximal dysphagia reflect an involvement of striated muscle of the pharynx or proximal esophagus. The symptom is frequent and may occur in 60 - 73% of patient with the inclusion of body myositis<sup>2,5</sup> and 12 - 54% of patient with PM/DM<sup>1,5</sup>. The overall frequency of esophageal involvement in PM/DM has been reported to be 25 - 60 %, and it is considered a major cause of both morbidity and mortality<sup>5,12</sup>. Both striated and smooth muscles of the oropharynx and esophagus could be affected. These events lead to delayed emptying and dysmotility of these structures, cachexia, and recurrent aspiration infectious pneumonia<sup>1,6,7</sup>. In a retrospective 5-year study of dysphagia and inflammatory myopathy of elderly, Terry et al.<sup>2</sup> found that the highest 1-year mortality was in those with DM (31%). Among them



**Fig. 6 – Percutaneous endoscopic gastrostomy (left) and enteral feeding through the percutaneous endoscopic gastrostomy tube (right)**

No expansive processes were found. We performed tests to exclude an underlying malignancy. Carcinoembryonic antigen (CEA) was 8.7 ng/ml and carbohydrate antigen 19-9 (Ca 19-9) was 73,3 U/mL. Esophagogastroscopy was normal and histopathological findings from the biopsies performed from several parts of gastroduodenum showed only multiphocal atrophic pangastritis (MAG – Houston) grade 2, stage 2, as well as chronic duodenitis. Colonoscopy and prostate examination were not performed because of dra-

the highest mortality was in patients who required PEG (64%). However, dysphagia in PM/DM has not been evaluated systematically especially for the striated muscle dysfunction<sup>8,9</sup>. Most of the available studies are less detailed and based in personal experiences or reviews of records<sup>12-14</sup>. Furthermore, authors are usually focused on problems in the esophagus and scant attention has been paid on the oropharynx which may be equally affected in PM and DM<sup>8-10</sup>. In spite of the prevalence of dysphagia in inflammatory myosi-

tis reported among 29 - 44% of children, symptom can be overlooked until it becomes severe<sup>15</sup>. X-ray videofluoroscopic swallowing study is the procedure of choice in children to delineate pharyngeal and/or oesophageal phases of swallow. In juvenile DM even minimal swallow abnormalities recognition is crucial to avert aspiration and lung damage, and also preventable by nasogastric or parenteral feeding<sup>16</sup>. In latest investigations of Otao et al.<sup>17</sup> prompt and non-invasive recognition of inflammation in the muscles of oral floor was done using T2-weighted fat-saturated horizontal and coronal images of MRI. This is the first report of oral muscle inflammation in DM confirmed by MRI though there are similar cases that have been reported without MRI findings<sup>18</sup>.

## Conclusion

In cases of dermatomyositis with severe dysphagia PEG should be performed in surgical ward as soon as possible. It is very important to detect the first minimal signs of the swallowing dysfunction. According to newest approaches to this serious problem, this should be done with fast and harmless methods (like MRI). In such cases it is possible to prevent the lung damage, as well as damage of other organs and systems. Mortality is high, and overall survival rate is low, even if an adequate therapy is administered. On the other hand, inflammatory myopathy should be considered in any patient with unexplained oropharyngeal dysphagia.

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

1. *Ertekin C, Seçil Y, Yüceyar N, Aydoğdu I.* Oropharyngeal dysphagia in polymyositis/dermatomyositis. *Clin Neurol Neurosurg* 2004; 107(1): 32-7.
2. *Ob TH, Brumfield KA, Hoskin TL, Stolp KA, Murray JA, Bassford JR.* Dysphagia in inflammatory myopathy: clinical characteristics, treatment strategies, and outcome in 62 patients. *Mayo Clin Proc* 2007; 82(4): 441-7.
3. *Maugars YM, Berthelot JM, Abbas AA, Mussini JM, Nguyen JM, Prost AM.* Long-term prognosis of 69 patients with dermatomyositis or polymyositis. *Clin Exp Rheumatol* 1996; 14(3): 263-74.
4. *Benbassat J, Gefel D, Larholt K, Sukenik S, Morgenstern V, Zlotnick A.* Prognostic factors in polymyositis/dermatomyositis. A computer-assisted analysis of ninety-two cases. *Arthritis Rheum* 1985; 28(3): 249-55.
5. *Williams RB, Grehan MJ, Hersch M, Andre J, Cook IJ.* Biomechanics, diagnosis, and treatment outcome in inflammatory myopathy presenting as oropharyngeal dysphagia. *Gut* 2003; 52(4): 471-8.
6. *Sonies BC.* Evaluation and treatment of speech and swallowing disorders associated with myopathies. *Curr Opin Rheumatol* 1997; 9(6): 486-95.
7. *Marie I, Hatron PY, Levesque H, Hachulla E, Hellot MF, Michon-Pasturel U, et al.* Influence of age on characteristics of polymyositis and dermatomyositis in adults. *Medicine (Baltimore)* 1999; 78(3): 139-47.
8. *Porubsky ES, Murray JP, Pratt LL.* Cricopharyngeal achalasia in dermatomyositis. *Arch Otolaryngol* 1973; 98(6): 428-9.
9. *Dietz F, Logeman JA, Sahgal V, Schmid FR.* Cricopharyngeal muscle dysfunction in the differential diagnosis of dysphagia in polymyositis. *Arthritis Rheum* 1980; 23(4): 491-5.
10. *Jacob H, Berkowitz D, McDonald E, Bernstein LH, Beneventano T.* The esophageal motility disorder of polymyositis. A prospective study. *Arch Intern Med* 1983; 143(12): 2262-4.
11. *Machado WM, Freire BF, Rocha OM, Azambuja CA, Oliveira ME.* Proposal of a questionnaire for the characterization of the prevalence of digestive symptoms in connective tissue diseases. *Arq Gastroenterol* 2004; 41(1): 64-70. (Portuguese)
12. *Mii S, Niijama S, Kusunoki M, Arai S, Katsunaka K.* Cyclosporine A as treatment of esophageal involvement in dermatomyositis. *Rheumatol Int* 2006; 27(2): 183-5.
13. *Hachulla E.* Dermatomyositis and polymyositis: clinical aspects and treatment. *Ann Med Interne (Paris)* 2001; 152(7): 455-64.
14. *Williams RB, Grehan MJ, Hersch M, Andre J, Cook IJ.* Biomechanics, diagnosis, and treatment outcome in inflammatory myopathy presenting as oropharyngeal dysphagia. *Gut* 2003; 52(4): 471-8.
15. *Punaro L, Stichweh D, Powell MV, Wittenbrook W, Adams RC, Dodge NN.* Aspiration: hidden risk for patients for juvenile dermatomyositis. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22: S104.
16. *McCann LJ, Garay SM, Ryan MM, Harris R, Riley P, Pilkington CA.* Oropharyngeal dysphagia in juvenile dermatomyositis (JDM): an evaluation of videofluoroscopy swallow study (VFSS) changes in relation to clinical symptoms and objective muscle scores. *Rheumatology* 2007; 46(8): 1363-6.
17. *Otao G, Yamashita S, Kyoraku I, Shiomi K, Nakazato M.* Dysphagia due to inflammation of oral muscles as the first symptom of dermatomyositis. *Intern Med* 2007; 46(12): 923-4.
18. *Brown TF, Carr MM, Covert AA, Nasser JG.* Focal myositis in the mylohyoid muscle of an adult. *J Otolaryngol* 2000; 29(1): 47-50.

The paper received on October 20, 2008.





## Razvoj preventivne delatnosti u Nišu i na jugu Srbije sa posebnom ulogom Kraljevskog vojnog Pasterovog zavoda, prvog na Balkanu

Developing of preventive medicine in the town of Niš and the south Serbia with the specific role of Royal Military Pasteur Institute, the first in Balkan

Miodrag Stojanović\*<sup>†</sup>, Dijana Mušović\*, Zoran Milošević\*<sup>†</sup>, **Dragana Nikić**\*<sup>†</sup>,  
Miodrag Vučić\*, Aleksandar Višnjic\*<sup>†</sup>, Miroslav Vidanović<sup>‡</sup>

\*Medicinski fakultet Niš, Srbija; <sup>†</sup>Institut za javno zdravlje, Niš, Srbija;  
Vojnomedicinska akademija, <sup>‡</sup>Institut za naučne informacije, Beograd, Srbija

### Ključne reči:

medicina, vojna; istorija medicine; medicina, preventivna; vakcine; besnilo; srbija.

### Key words:

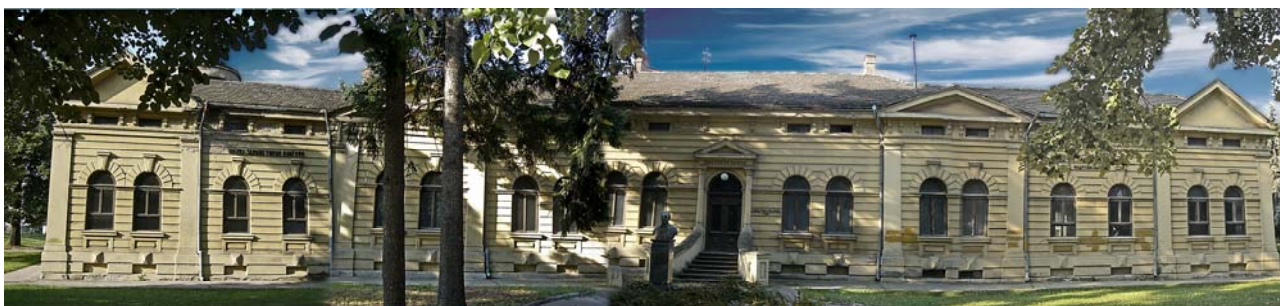
military medicine; history of medicine; preventive medicine; vaccines; rabies; yugoslavia.

### Uvod

Posle višegodišnjih napora i velikog truda, prvi Kara-ljevski Pasterov zavod u Srbiji i na Balkanu, preteča današnjih preventivnih zdravstvenih ustanova, počeo je sa radom 7. juna 1900. godine u Nišu, samo 15 godina posle Pariza, 14 godina posle Moskve, Petrograda i Odese i 10 godina posle Njujorka, Čikaga i Budimpešte (slika 1). Kao takav, parirao

nila sa Odeljenjem za spravljanje „animalne limfe“ zvanično nazove Kraljevski vojni Pasterov zavod, tako da je zavod i zvanično otvoren 1.1.1901. godine (dokument o otvaranju Zavoda čuva se danas u Muzeju zdravstvene kulture u Nišu, bivšoj zgradi Pasterovog zavoda iz 1900).

Glavni kandidat za upravnika Zavoda zapravo bio je dr Ljubomir Stojanović, koji je prešavši u vojnu službu, zajedno sa dr Mihajlom Mikom Markovićem (slika 2) bio upućen u



Sl. 1 – Zgrada Pasterovog zavoda u Nišu iz 1900. godine u kojoj se danas nalazi Muzej zdravstvene kulture

je tadašnjoj medicinskoj praksi na svetskom nivou. Taj hrabar i entuzijastički korak svrstao je tadašnju Srbiju, na pragu XX veka, sa 80% nepismenog stanovništva i nestabilnom političkom scenom, u red modernih država, te bio veliki korak ka pravom razvoju zdravstvene zaštite i podizanju zdravstvene kulture naroda. Proizvodnja animalne limfe, kao vakcine protiv velikih boginja, po prvi put u Srbiji počela je danom svečanog otvaranja Pasterovog zavoda.

Dana 25. decembra 1900. godine Ministarstvo vojno donelo je naređenje da se novi zavod u Nišu za spravljanje „antirabične emulzije“ za preventivno pelcovanje protiv bes-

Peštu i Beč na stručno usavršavanje. Stvorivši animozitet pukovnika Markovića, koji je u to vreme bio načelnik vojnog saniteta Srbije, donešena je odluka da umesto dr Stojanovića, upravnik Zavoda bude dr Petković (slika 3). Dr Stojanović negirao je zasluge, kako pukovnika Markovića tako i dr Petkovića za osnivanje Zavoda i najeksplicitniji je bio u radu objavljenom 1902. godine u „Srpskom arhivu“<sup>1,2</sup>.

I pored toga, dr Dragutin Petković (1873-1947) bio je imenovan za prvog stalnog upravnika Pasterovog zavoda u Nišu<sup>3-5</sup>. U toku 1901. godine na mesto pomoćnika upravnika dolazi, ondašnji sanitetski poručnik, dr Miloš Stevanović. Dr

Stevanović prvi je radio vakcinu protiv besnila, a drugi animalnu limfu protiv velikih boginja<sup>1</sup>. Svoj radni vek proveo je na mestu šefa Odeljenja za spravljanje animalne limfe. U odsustvu doktora Petkovića, koje je trajalo gotovo dve godine, kada se on usvršavao u Parizu, Nemačkoj i Beču, doktor Stevanović je obavljao funkciju upravnika Zavoda. Do kraja svog radnog veka zapravo do svoje smrti od pegavca 1915. godine, radio je u Pasterovom zavodu.



Sl. 2 – Dr Mihajlo Mika Marković (1848-1911), pukovnik i načelnik vojnog saniteta Srbije, jedan od najzaslužnijih lekara za otvaranje Pasterovog zavoda u Nišu



Sl. 3 – Dr Dragutin Petković (1873-1947), prvi stalni upravnik Pasterovog zavoda u Nišu.

#### Rad Pasterovog zavoda od osnivanja do kraja Prvog svetskog rata

Tokom 1900. godine, domaćom limfom protiv boginja bilo je pelcovano 11 540 regruta. Prvi antirabično lečeni bolesnik bio je vojnik, te se može reći da su prve vakcine proizvedene u Pasterovom zavodu bile korišćene za potrebe vojnog saniteta. Krajem iste godine, u Nišu su stigli, radi lečenja, i prvi civilni bolesnici sa ujedom besnog vuka, ljudi sa sela iz Čačanskog sreza<sup>6</sup>.

Do otvaranja Zavoda u Nišu, ljudi sa ujedom od besnih životinja, najčešće pasa, bili su upućivani sami ili sa pratiocem, najčešće u Pasterov zavod u Pešti radi lečenja. Bilo je između 100 i 200 takvih bolesnika, od kojih su polovinu činila deca.

U prvim godinama rada Zavod je davao ozbiljne rezultate, koji su, uostalom, pri osnivanju ove institucije i očekivani. Otvoren kao zvanična vojna ustanova, radio je za potrebe vojnog saniteta (slika 4), ali je u isto vreme korisnik njegovih usluga, u sve većoj meri postajalo i civilno stanovništvo Srbije. Ta tradicija korišćenja vojnih sanitetskih ustanova u civilne svrhe održala se do danas i sa ponosom možemo reći da je temelje te saradnje gradio prvi Kraljevski vojni Pasterov zavod u Nišu.



Sl. 4 – Prvi kurs za dezinfektore 1904. god. (vojne slušaoce), pod vodstvom dr Dragutina Petkovića (na slici u sredini)

Prema statističkim podacima Kraljevine Srbije iz perioda 1901–1904. godine u Pasterovom zavodu antirabičnom vakcinom lečeno je 1 140 lica, od kojih je umrlo 7. Broj lečenih se godinama povećavao, dok je broj smrtnih slučajeva ostajao u granicama proseka medicinskih centara u Evropi, što je rezultat koji je Pasterov zavod u Nišu tada svrstavao u red medicinski najnaprednijih institucija u Evropi.

Srpsko lekarsko društvo 7. septembra 1904. godine održalo je Prvi kongres lekara i prirodnjaka na kome je dr Dragutin Petković vrlo zapaženo govorio o razvojnom putu i uspešnom radu Pasterovog zavoda koji se za vrlo kratko vreme po svojim rezultatima izravnao sa uspesima renomiranih zavoda u Parizu (0,47% umrlih od besnila u periodu od deset godina, naspram 0,77% u Nišu za tri godine rada), Pešti ili Beču, što je tada za tako mladu instituciju bio pravi podvig i svojevrsno priznanje koje i danas predstavlja stručno-kulturni ponos<sup>7-9</sup>.

Nakon 1904. godine dolazi do proširenja primarnih delatnosti. Prva novina te godine bila je instaliranje Bakteriološkog odeljenja u okviru Pasterovog zavoda, koje je rešenjem Ministarstva vojnog službeno otvoreno 1. aprila<sup>10</sup>. Već 20. aprila otvoreno je Dezinfekciono odeljenje, kada je otpočeo sa radom i prvi kurs za dezinfektore<sup>11</sup>. Iste godine bile su izvršene i pripreme za otvaranje Seroterapijskog i hemijskog odeljenja. Ove promene bile su od ključne važnosti za Srbiju, ako se zna da su dominantno mesto u strukturi obolevanja, pa i uzroka umiranja stanovništva imale zarazne bolesti.

U godinama koje su usledile, do Prvog svetskog rata, Pasterov zavod u Nišu, pored toga što mu je osnovna delatnost bila orijentisana na suzbijanje besnila i velikih boginja, radio je i na drugim zadacima vezanim za suzbijanje zaraza i higijenskim pitanjima uopšte. Bakteriološko odeljenje Pasterovog zavoda 1915. godine spremalo je tetravakcinu i radilo više na bakteriološkim dijagnozama. Broj lečenih za prvih 14 godina njegovog rada, od 1901–1915, iznosio je ukupno 8 649 ili prosečno 617 lica godišnje<sup>12</sup>.

Prema pisanju prvog posleratnog upravnika dr Gerasi- ma Alivizatososa, za vreme Prvog svetskog rata, okupatori, Bugari i Austrijanci, opljačkali su sve što je za stručni rad Zavoda bilo potrebno, zajedno sa dragocenom arhivom, i u Zavodu su ostali samo „goli zidovi“. S obzirom da je Srbija podnela najveću žrtvu Prvog svetskog rata, zapravo 28% stanovništva stradalo je u ratnom vihoru, po analogiji se isti scenario odigrao i na planu preventivne medicinske delatnosti razorene Srbije.

#### Rad Pasterovog zavoda između dva svetska rata

Posle Prvog svetskog rata, kada se Pasterov zavod kao i cela Srbija našao opustošen, započeo je delatnost kao civilna ustanova. Već 1919. godine pod rukovodstvom tek otvorenog Ministarstva narodnog zdravlja, Pasterov zavod sa svojim tadašnjim upravnikom dr Alivizatosom, započeo je temeljan rad na borbi protiv sve veće opasnosti od besnila. Zbog toga, u Pasterovom zavodu još prvih godina nakon rata razvijan je naučnoistraživački rad koji je rezultovao pronalazanjem nove metode za zaštitu od besnila, poznate pod nazivom „eter metoda po Alivizatosu“ ili *Mixed* metoda, koja je, na svetskom nivou dala najbolje rezultate u zaštiti od besnila.

Zavod u Nišu, u narednom periodu, otpočeo je sa otvaranjem novih socijalno-medicinskih ustanova koje su predstavljale začetak zdravstvene službe Niša i okoline. Tako, 1920. godine osnovana je Venerična ambulanta, zatim stalna Bakteriološka stanica, Školske poliklinike u Nišu i drugim gradovima, zdravstvene stanice, dispanzeri za žene i decu, domovi narodnog zdravlja, narodna kupatila<sup>13</sup>. Najznačajniji podatak, ipak je, da je 14. oktobra 1923. godine renovirani i znatno proširen i osavremenjen Pasterov zavod prerastao u Epidemiološki zavod u Nišu<sup>14</sup>. Kao kompetentna naučno-stručna institucija na sebe je preuzeo borbu protiv svih zaraznih bolesti koristeći i vakcine protiv crevnih zaraza koje su izrađivane po metodi dr Alivizatososa.

Pošto je 1926. godine dotadašnji Epidemiološki zavod prerastao u Higijenski zavod, prvi u zemlji, počeo je znatno da širi svoju delatnost, tako da je u narednim godinama pos-

tao snažna higijensko-protivepidemijska, sanitarno-hemijska, sanitarno-tehnička i zdravstveno-prosvetna institucija, koja je pored borbe sa заразним bolestima, počela da menja nepovoljne higijenske prilike, naročito među seoskim stanovništvom<sup>15</sup>.

Higijenski zavod tridesetih godina imao je više odeljenja: Bakteriološko-serološko, Antirabično, Hemijsko, Sanitarno-tehničko i Odeljenje za medicinsku statistiku iz koga će poteći sva dalja socijalno-medicinska delatnost<sup>15</sup>. U zasluge Zavoda iz tog perioda spada i izgradnja dugo očekivanog vodovoda u Nišu, ali još više od toga, razvoj i rad prvog Antituberkuloznog dispanzera u Nišu, iste 1937. godine<sup>16,17</sup>. Tako uspešan period rada između dva rata može se objasniti izuzetnim angažovanjem svih zaposlenih, koji su tekovine savremene preventivne medicine u svetu objedinili sa sopstvenim naučnoistraživačkim radom. O kvalitetu rada Higijenskog zavoda u Nišu govore i podaci o posetama brojnih zdravstvenih radnika iz čitavog sveta. To su, uglavnom, bili lekari stipendisti Lige naroda, Rokfelerove fondacije ili Svetske zdravstvene organizacije. Njihov boravak u Higijenskom zavodu u Nišu imao je za cilj upoznavanje sa organizacijom i radom naše zdravstvene službe koja je bila uzor u svetskim razmerama.

#### Rad Zavoda nakon Drugog svetskog rata

Posleratni period predstavlja novu epohu u radu Zavoda. Osiromašen ratom, a zatim i osipanjem kadrova, bez osnovne opreme i sredstava za rad, u okruženju u kome su vladale brojne zarazne bolesti (pegavi tifus, tuberkuloza, trbušni tifus i dr) Zavod je tada funkcionisao sa šest odeljenja: Bakteriološko-epidemiološko, Socijalnomedicinsko, Sanitetsko-tehničko, Hemijsko, Odeljenje za zaštitu školske dece i Odeljenje za suzbijanje tuberkuloze. Uvođenjem socijalizma Zavod je doživeo najdublje promene, najpre zbog novog društvenog sistema, a zatim i zbog prelaska na samostalno finansiranje, kao i na samoupravljanje u zdravstvenoj zaštiti.

Velika uloga Zavoda u posleratnom periodu ogleđa se i u osnivanju Srednje medicinske škole u Nišu 1946. godine, a od osnivanja 1960, Medicinski fakultet postaje njegova najvažnija nastavna baza<sup>18</sup>. Osnivanje fakulteta dalo je novi polet ovoj značajnoj ustanovi kako u kadrovskom, tako i u stručnom smislu. Prema Zakonu o zdravstvenoj zaštiti i zdravstvenoj službi Narodne Republike Srbije od 23. juna 1961. Higijenski zavod u Nišu, kao i svi ostali higijenski zavodi u zemlji koji su pod tim nazivom funkcionisali od 1926. godine, prerasta u Zavod za zdravstvenu zaštitu<sup>19</sup>. U narednom periodu Zavod proširuje svoje epidemiološke, hemijske, mikrobiološke, virusološke, parazitološke, sanitarnotehničke, statističkoizveštajne i socijalnomedicinske aktivnosti. Pravo osnivača Zavoda prelazi 1965. godine na Medicinski fakultet u Nišu. Iste godine, po prvi put, u Zavodu održani su „Dani preventivne medicine“, jedinstveni naučno stručni sastanak koji se održava do današnjih dana.

Godine 1979. Zavod za zdravstvenu zaštitu prerasta u Zavod za zaštitu zdravlja u Nišu<sup>20</sup>. Od 1984. godine po novom statutu, Zavod za zaštitu zdravlja u Nišu, funkcioniše kao „samostalna i samoupravna organizovana zdravstvena



radna organizacija radnika povezanih zajedničkim interesima u jedinstvenom procesu rada.

Zavod za zaštitu zdravlja Niš svoju delatnost tih godina obavlja preko svojih pet sektora: Sektora za socijalnu medicinu, Sektora za epidemiologiju, Sektora za mikrobiologiju sa parazitologijom, Sektora za higijenu i zaštitu životne i radne sredine i Službe za zajedničke poslove<sup>20</sup>.

Devedesete godine XX veka i društveni potresi koje su sa sobom nosile otežale su, ali ne i zaustavile, aktivnosti ove renomirane ustanove koja odlukom vlade Srbije od 10. 2. 1998. godine prerasta u Institut za zaštitu zdravlja u Nišu.

U Institutu za zaštitu zdravlja od 2003. godine postoji i Sektor za promociju zdravlja čime je i zdravstvenovaspitni

rad, koji ova ustanova sprovodi uspešno od svog osnivanja, dobio formu koja omogućava moderan pristup i unapređenje ovih aktivnosti.

### Zaključak

Danas, 109 godina posle osnivanja prvog Kraljevskog vojnog Pasterovog zavoda, odnosno Instituta za zaštitu zdravlja, a odskora Instituta za javno zdravlje u Nišu, nije neskomno reći da njegov rad ima krucijalni istorijski i zdravstvenokulturni značaj za razvoj zdravstvene zaštite, ne samo jugoistočne Srbije, već i cele države, i da kao takav predstavlja kamen temeljac preventivne medicine u našoj zemlji.

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

1. *Stojanović Lj.* The truth about the Pasteur Institute. *Srp arh Celok Lek* 1902; 8 (4): 160–9. (Serbian)
2. *Marković M.* A reply to the "Truth about the Pasteur Institute". *Srp Arh Celok Lek* 1902; 9:403. (Serbian)
3. *Stanojević B.* Serbian Medical Society: Comemorative Volume 1872-1972. Belgrade: Srpsko lekarsko društvo. (Serbian)
4. *Andrejević B.* Serbian Medical Society: Comemorative Volume 1872–1972. Belgrade: Srpsko lekarsko društvo. (Serbian)
5. *Milojević B.* The history of the town of Niš. Niš; Gradina, Prosveta. 1984. (Serbian)
6. *Stanojević S.* The first civilian patients in the Paster Institute, Niš referred from the region of the town of Čačak with furious walfites. Niš: Pasterov zavod; 1900 (Serbian)
7. *Petković D.* On the treatment of rabies in general and in the Serbian Royal Pasteur Institute. In: Proceeding of the 1st Congress of Serbian Physicians and Naturalists; 1904 Sept 5-7; Belgrade. Belgrade: 1904. p. 1–20. (Serbian)
8. *Petković D.* On the treatment of rabies in general and in the Serbian Royal Pasteur Institute. In: Proceeding of the 1st Congress of Serbian Physicians and Naturalists; 1904 Sept 5-7; Belgrade. Belgrade; 1904. p. 8. (Serbian)
9. *Petković D.* On the treatment of rabies in general and in the Serbian Royal Pasteur Institute. Proceedings of the 1st Congress of Serbian Physicians and Naturalists; 1904 Sept 5-7; Belgrade. Belgrade: 1904. p. 12. (Serbian)
10. *Stanojević St.* The Pasteur Institute, Niš. Serbo-Croatian-Slovenian encyclopedia. Volume III. Zagreb: Bibliografski zavod DD; 1928. p. 302. (Serbian)
11. *Stanojević St.* The Pasteur Institute, Niš. Serbo-Croatian-Slovenian encyclopedia. Volume III. Zagreb: Bibliografski zavod DD; 1928. p. 30-32. (Serbian)
12. *Nikolić M.* The pasteur Institutes in Serbia. *Glasnik Higijenskog instituta*, III, 3-4, Beograd, 1954; p. 58–9.
13. Official Register of Ministry of people health, 10, 11 i 12, Beograd: 1922. p. 593-601. (Serbian)
14. *Alivižatos G.* The Institute for Epidemiology, Niš. *Glasnik Ministarstva za narodno zdravlje* 1923; 10–12: 490–2. (Serbian)
15. *Konstantinović B.* The history of Central Institute for Hygiene. *Social-Medical Review* 1936; 7(1): 1. (Serbian)
16. *Grujić Ž.* High School of Medicine, Niš. Niš: Zavod za zaštitu zdravlja, 1984. (Serbian)
17. Pasterov zavod. Civil engineering record look. Niš: Pasterov zavod; 1938. (Serbian)
18. *Šumonja A.* On the education and upbringing organization in the Medical Center "Dr Milenko Hadžić", Niš. Niš: "Dr Milenko Hadžić"; 1983. (Serbian)
19. "Serbian Offician Register" 22; 1961. (Serbian)
20. *Milojević V.* The Pasteur Institute, Niš 1900–1985. Niš: Prosveta; 1985.

Rad primljen 27. XI 2008.

## UPUTSTVO AUTORIMA

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

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

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

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

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

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

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

Radove (tekst i grafičke priloge) treba slati na disketi 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 eksperimentne životinje, uključujući kontrolne). Identifikovati metode, aparaturu (ime i adresa proizvođača u zagradi) i proceduru, dovoljno detaljno da se drugim autorima omogući reprodukcija rezultata. Navesti podatke iz literature za uhodane metode, uključujući i statističke. Tačno identifikovati sve primenjene lekove i hemikalije, uključujući generičko ime, doze i načine davanja. Za ispitivanja na ljudima i životinjama navesti saglasnost etičkog komiteta.

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

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

### Literatura

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

### Primeri oblika referenci:

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

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

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

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

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

### Tabele

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

### Ilustracije

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

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

### Skraćenice i simboli

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

**Detaljno uputstvo može se dobiti u redakciji.**

## INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

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

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

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

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

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

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

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

### Preparation of manuscript

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

#### 1. Title page

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

#### 2. Abstract and key words

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

#### 3. Text

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

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

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

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

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

### References

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

Examples of references:

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

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

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

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

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

### Tables

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

### Illustrations

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

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

### Abbreviations and symbols

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



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

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

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

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



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

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

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

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

