

ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

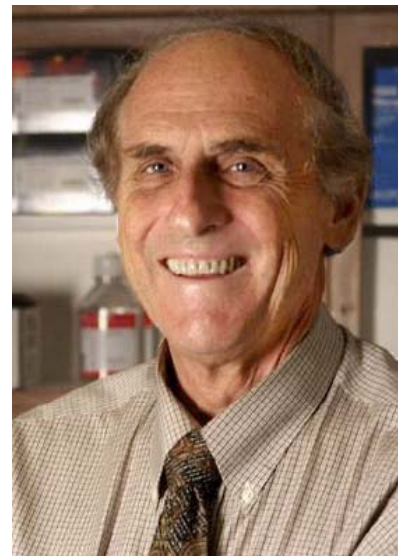


Часопис лекара и фармацеутика Војске Србије

Military Medical and Pharmaceutical Journal of Serbia

Vojnosanitetski pregled

Vojnosanit Pregl 2011; November Vol. 68 (No. 11): p. 903-1006.



VOJNOSANITETSKI PREGLED

Prvi broj *Vojnosanitetskog pregleda* izašao je septembra meseca 1944. godine

Časopis nastavlja tradiciju *Vojno-sanitetskog glasnika*, koji je izlazio od 1930. do 1941. godine

IZDAVAČ

Uprava za vojno zdravstvo MO Srbije

IZDAVAČKI SAVET

prof. dr sc. pharm. **Mirjana Antunović**
prof. dr sc. med. **Snežana Cerović**
prof. dr sc. med. **Dragan Dinčić**, puk.
prof. dr sc. med. **Zoran Hajduković**, puk.
dr **Mladen Milivojević**, puk.
prof. dr sc. med. **Marijan Novaković**, puk.
prof. dr sc. med. **Zoran Popović**, puk.
prof. dr sc. med. **Predrag Romić**, puk.
prim. dr **Stevan Sikimić**, puk.
doc. dr **Veljko Todorović**, brigadni general (predsednik)

MEĐUNARODNI UREĐIVAČKI ODBOR

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)
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)

UREĐIVAČKI ODBOR

Glavni i odgovorni urednik
prof. dr sc. pharm. **Silva Dobrić**

Urednici:

prof. dr sc. med. **Bela Balint**
prof. dr sc. stom. **Zlata Brkić**
prof. dr sc. med. **Snežana Cerović**
akademik **Miodrag Čolić**, puk.
akademik **Radoje Čolović**
prof. dr sc. med. **Aleksandar Đurović**, puk.
doc. dr sc. med. **Branka Đurović**
prof. dr sc. med. **Borisav Janković**
doc. dr sc. med. **Lidija Kandolf-Sekulović**
akademik **Vladimir Kanjuh**
akademik **Vladimir Kostić**
prof. dr sc. med. **Zvonko Magić**
prof. dr sc. med. **Đoko Maksić**, puk.
doc. dr sc. med. **Gordana Mandić-Gajić**
prof. dr sc. med. **Dragan Mikić**, puk.
prof. dr sc. med. **Darko Mirković**
doc. dr sc. med. **Slobodan Obradović**, major
akademik **Miodrag Ostojić**
prof. dr sc. med. **Predrag Peško**, FACS
akademik **Đorđe Radak**
prof. dr sc. med. **Ranko Raičević**, puk.
prof. dr sc. med. **Predrag Romić**, puk.
prof. dr sc. med. **Vojkan Stanić**, puk.
doc. dr sc. med. **Dara Stefanović**
prof. dr sc. med. **Dušan Štefanović**, puk.
prof. dr sc. med. **Vesna Šuljagić**
prof. dr sc. stom. **Ljubomir Todorović**
prof. dr sc. med. **Milan Višnjić**
prof. dr sc. med. **Slavica Vučinić**

Tehnički sekretari uređivačkog odbora

dr sc. Aleksandra Gogić, dr Maja Marković

REDAKCIJA

mr sc. med. dr Sonja Andrić-Krivokuća, dr sc. Aleksandra Gogić, dr Snežana Janković, dr Maja Marković

Tehnički urednik: Milan Perovanović

Redaktor za srpski i engleski jezik:

Dragana Mučibabić, prof.

Korektori: Ljiljana Milenović, Brana Savić

Kompjutersko-grafička obrada:

Vesna Totić, Jelena Vasilj, Snežana Čujić



Adresa redakcije: Vojnomedicinska akademija, Institut za naučne informacije, Crnotravska 17, poštanski fah 33–55, 11040 Beograd, Srbija. Telefoni: glavni i odgovorni urednik 3609 311, tehnički sekretar 3608 943, redakcija 3609 479 i 3609 179, pretplata 3608 997. Faks 2669 689. E-mail (redakcija): vsp@vma.mod.gov.rs

Radove objavljene u „Vojnosanitetskom pregledu“ indeksiraju: Science Citation Index Expanded (SCIE), Journal Citation Reports/Science Edition, Index Medicus (Medline), Excerpta Medica (EMBASE), EBSCO, Biomedicina Serbica. Sadržaje objavljuju *Giornale di Medicina Militare* i *Revista de Medicina Militara*. Prikaze originalnih radova i izvoda iz sadržaja objavljuje *International Review of the Armed Forces Medical Services*.

Časopis izlazi dvanaest puta godišnje. Pretplate: žiro račun kod Uprave za javna plaćanja u Beogradu br. 840-941621-02 – VMA (za Vojnosanitetski pregled), PIB 102116082. Za pretplatu iz inostranstva obratiti se službi pretplate na tel. 3608 997. Godišnja pretplata: 4 000 dinara za građane Srbije, 8 000 dinara za ustanove iz Srbije i 150 € (u dinarskoj protivvrednosti na dan uplate) za pretplatnike iz inostranstva. Kopiju uplatnice dostaviti na gornju adresu.

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

Military Health Department, Ministry of Defence, Serbia

PUBLISHER'S ADVISORY BOARD

Assoc. Prof. **Mirjana Antunović**, BPharm, PhD
Assoc. Prof. **Snežana Cerović**, MD, PhD
Col. Assoc. Prof. **Dragan Dinčić**, MD, PhD
Col. Assoc. Prof. **Zoran Hajduković**, MD, PhD
Col. **Mladen Milivojević**, MD
Col. Prof. **Marijan Novaković**, MD, PhD
Col. Prof. **Zoran Popović**, MD, PhD
Col. Prof. **Predrag Romić**, MD, PhD
Brigadier General Assist. Prof. **Veljko Todorović**, MD, PhD
(Chairman)

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)
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
Assoc. Prof. **Zlata Brkić**, DDM, PhD
Assoc. Prof. **Snežana Cerović**, MD, PhD
Col. Prof. **Miodrag Čolić**, MD, PhD, MSAAS
Prof. **Radoje Čolović**, MD, PhD, MSAAS
Col. Assoc. Prof. **Aleksandar Đurović**, MD, PhD
Assist. Prof. **Branka Đurović**, MD, PhD
Prof. **Borisav Janković**, MD, PhD
Assist. Prof. **Lidija Kandolf-Sekulović**, MD, PhD
Prof. **Vladimir Kanjuh**, MD, PhD, MSAAS
Prof. **Vladimir Kostić**, MD, PhD, MSAAS
Prof. **Zvonko Magić**, MD, PhD
Col. Prof. **Đoko Maksić**, MD, PhD
Assoc. Prof. **Gordana Mandić-Gajić**, MD, PhD
Col. Assoc. Prof. **Dragan Mikić**, MD, PhD
Assoc. Prof. **Darko Mirković**, MD, PhD
Major, Assist. Prof. **Slobodan Obradović**, MD, PhD
Prof. **Miodrag Ostojić**, MD, PhD, MSAAS
Prof. **Predrag Peško**, MD, PhD, FACS
Prof. **Đorđe Radak**, MD, PhD, MSAAS
Col. Prof. **Ranko Raičević**, MD, PhD
Col. Prof. **Predrag Romić**, MD, PhD
Col. Prof. **Vojkan Stanić**, MD, PhD
Assist. Prof. **Dara Stefanović**, MD, PhD
Col. Prof. **Dušan Stefanović**, MD, PhD
Prof. **Milan Višnjić**, MD, PhD
Assoc. Prof. **Slavica Vučinić**, MD, PhD
Assoc. Prof. **Vesna Šuljagić**, MD, PhD
Prof. **Ljubomir Todorović**, DDM, PhD

Editorial staff

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

Technical editor

Milan Perovanović

Proofreading

Ljiljana Milenović, Brana Savić

Technical editing

Vesna Totić, Jelena Vasilj, Snežana Čujić



Editorial Office: Military Medical Academy, INI; Crnotravska 17, PO Box 33–55, 11040 Belgrade, Serbia. Phone: +381–11–3608–943; +381–11–3609–479, subscription 3608–997; Fax: +381–11–2669–689; E-mail: vsp@vma.mod.gov.rs

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 in Uprava za javna plaćanja in Belgrade. Giro Account No. 840-941621-02 – VMA (za Vojnosanitetski pregled), PIB 102116082. To subscribe from abroad phone to +381 11 3608 997. Subscription prices per year: individuals 4,000.00 Din, institutions 8,000.00 Din in Serbia, and foreign subscribers 150 €.



SADRŽAJ / CONTENTS

EDITORIAL / UVODNIK

Miodrag Čolić

The 2011 Nobel Prize Laureates in Physiology or Medicine

Dobitnici Nobelove nagrade za fiziologiju ili medicinu u 2011..... 907

Dragana Mučibabić

The em dash –, the en dash -

Crta –, crtica - 909

ORIGINALNI ČLANCI / ORIGINAL ARTICLES

Irena Čojbašić, Lana Mačukanović-Golubović

Faktori koji utiču na postizanje i postojanost citogenetskog odgovora kod bolesnika sa hroničnom mijeloidnom leukemijom na terapiji imatinibom

Factors associated with achievement and durability of cytogenetic response in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib 911

Željka Savić, Vladimir Vračarić, Ljiljana Hadnadjev, Zora Petrović, Dragomir Damjanov

Iskustvo u lečenju nekih komplikacija portne hipertenzije kod alkoholne ciroze jetre

Experience in the treatment of some complications of portal hypertension in alcoholic liver cirrhosis 917

Nataša Stanković Nedeljković, Branislava Kocić, Branislav Todorović, Srbobran Branković, Snežana Mladenović Antić

Serotipizacija i analiza vrsta proizvedenih pigmenata kliničkih izolata *Pseudomonas aeruginosa*Serotyping and analysis of produced pigments kinds by *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates 923

Danijela Djukić-Ćosić, Aleksandra Stanojević, Marija Djekić-Ivanković, Marijana Čurčić, Zorica Plamenac-Bulat, Biljana Antonijević, Vesna Matović

Sadržaj kadmijuma u *Hypericum perforatum* L. i *Thymus serpyllum* L. sa lokaliteta planina Rtnja i OzrenaCadmium content in *Hypericum perforatum* L. and *Thymus serpyllum* L. from localities of Rtnj and Ozren mountains 930

Dejan Jeremić, Ivana Živanović Mačužić, Maja Vulović

Sex differences in anatomical parameters of acetabulum among asymptomatic Serbian population

Polne razlike u anatomskim parametrima acetabuluma kod asimptomatske srpske populacije 935

Ljiljana Mladenović Segedi, Katarina Parezanović Ilić, Aleksandar Čurčić, Nemanja Višnjevac

Kvalitet života žena sa oštećenom funkcijom karličnog dna

Quality of life in women with pelvic floor dysfunction 940

Ivan Marjanović, Miodrag Jevtić, Sidor Mišović, Danilo Vojvodić, Uroš Zoranović,

Siniša Rusović, Momir Šarac, Ivan Stanojević

Rani inflamatorni odgovor organizma posle elektivne rekonstrukcije aneurizme abdominalne aorte: komparacija endovaskularne i klasične, otvorene rekonstrukcije

Early inflammatory response following elective abdominal aortic aneurysm repair: a comparison between endovascular procedure and conventional, open surgery 948

Živko Perišić, Nataša Perišić, Svetlana Goločorbin Kon, Dušan Vešović, Ana Mitrović Jovanović, Momir Mikov

The influence of probiotics on the cervical malignancy diagnostics quality

Uticaj probiotika na kvalitet dijagnostike maligniteta cerviksa 956

Sait Sirin, Kaan Oysul, Serdar Surenkoc, Omer Sager, Ferrat Dincoglan, Bahar Dirican, Murat Beyzadeoglu

Linear accelerator-based stereotactic radiosurgery in recurrent glioblastoma: a single center experience

Stereotaksična radiohirurgija uz pomoć linearnog akceleratora kod rekurentnog glioblastoma – iskustvo jednog centra 961

OPŠTI PREGLED / GENERAL REVIEWS

Gordana Dragović, Lepasava Grbović, Djordje Jevtović, Spaso Andjelić, Bojan Vasić, Relja Lukić

Primena antiretrovirusnih lekova u trudnoći

Safety of antiretrovirals in pregnancy 967

AKTUELNA TEMA / CURRENT TOPIC

Bojan Vasić, Spaso Andjelić, Relja Lukić, Djordje Jevtović, Lepasava Grbović, Tatjana Vasiljević, Gordana Dragović

Postekspozicijska profilaksa infekcije prouzrokovane virusima hepatitisa B, hepatitisa C i humane imunodeficijencije kod zdravstvenih radnika

Postexposure prophylaxis against hepatitis B, hepatitis C and human immunodeficiency virus infection in healthcare workers..... 975

KAZUISTIKA / CASE REPORTS

Sergej Prijic, Sanja Rakić, Ljubica Nikolić, Bosiljka Jovičić, Mila Stajević, Vladislav Vukomanović, Jovan Košutić

Levosimendan kod dece sa najtežom formom kongestivne srčane insuficijencije refraktarnom na dobutamin/milrinon

Severe acute congestive heart failure treated with levosimendan in children refractory to treatment with dobutamine/milrinone..... 979

Nebojša Bojanić, Djordje Nale, Sava Mičić, Aleksandar Janičić, Aleksandar Vuksanović, Ivan Vuković

Isolated eyeball metastasis of non-seminomatous germ cell testicular tumor

Metastaza neseminomskog germinativnog tumora testisa u očnu jabučicu 985

Aleksandra Lovrenski, Milana Panjković, Živka Eri, Ištvan Klem, Djordje Považan, Dejan Ilinčić, Miljan Milić

Chronic necrotizing pulmonary aspergillosis

Hronična nekrotizirajuća plućna aspergiloza 988

Aleksandra Tomić-Lučić, Snežana Jovanović, Milan Petronijević, Mirjana Veselinović

Perforacija kolona kao retka manifestacija Behčetove bolesti

Colonic perforation as an unusual manifestation of Behcet's disease 992

PISMO UREDNIKU / LETTERS TO THE EDITOR 997

PRIKAZ KNJIGE / BOOK REVIEW 999

IN MEMORIAM 1001

UPUTSTVO AUTORIMA / INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS 1003

Ovogodišnju Nobelovu nagradu za fiziologiju ili medicinu dobila su trojica naučnika (slevo nadesno): Bruce A. Beutler (rođen 1957, Čikago, SAD), Jules A. Hoffman (rođen 1941, Echternach, Luksemburg) i Ralph M. Steinman (rođen 1943, Montreal, Kanada; umro 30. 09. 2011). Polovina nagrade pripala je prvoj dvojici od navedenih naučnika za istraživanja u vezi sa aktivacijom urođenog imuniteta, dok je druga polovina nagrade pripala Steinmanu za otkriće dendritičnih ćelija i njihovu ulogu u stečenom imunitetu (vidi Uvodnik).



The 2011 Noble Prize in Physiology or Medicine is divided to three scientists in the field of immunology. One half of the Prize is assigned jointly to (from left to right): Bruce A. Beutler (born in 1957, Chicago, IL, USA) and Jules A. Hoffman (born in 1941, Echternach, Luxemburg), and the other half to Ralph M. Steinman (born in 1943, Montreal, Canada; died on September 30, 2011). The first two scientists are awarded for their discoveries concerning the activation of innate immunity, and the third one for his discovery of the dendritic cell and its role in adaptive immunity (see Editorial).



The 2011 Nobel Prize Laureates in Physiology or Medicine

Dobitnici Nobelove nagrade za fiziologiju ili medicinu u 2011.

The 2011 Nobel Prize in Physiology or Medicine honors the discoveries in immunology by three Laureates, Jules Hoffmann, Bruce Beutler and Ralph Steinman. They have revolutionized our understanding of the immune system and provide new ways for prevention and therapy against infections, cancer, autoimmunity and inflammatory diseases.

Although pathogenic microorganisms threaten us continuously, the immune system has been organized as a powerful defense system, composed of innate and adaptive immunity. The innate immunity, as the first line of defense, can destroy invading microorganisms and trigger inflammation and thus block their effects. If pathogens break through this defense line, adaptive immunity is activated. The components of the adaptive immune system, such as T and B cells, produce specific antibodies to neutralize microorganisms and their toxins or differentiate into specific cytotoxic cells which destroy infected cells. After successfully combating an infection, the adaptive immune system maintains a long lasting immunologic memory. Memory cells respond faster and more effectively against the antigen than do naïve cells and show enhanced responses on subsequent encounters with the microorganism. These two defense lines of the immune system provide good protection against infections but they are also involved in the pathogenesis of hypersensitivity diseases caused by abnormal immune responses.

The components of the immune system have been discovered gradually during the last century and numerous scientists awarded the Nobel Prize for their outstanding achievements in immunology. The latest discoveries by the Nobel Laureates explain the mechanisms triggering the activation of innate immunity and subsequent generation of specific immune response.

Jules Hoffmann was born in Echternach, Luxembourg in 1941. He studied at the University of Strasbourg in France, where he received his PhD in 1969. After postdoctoral training at the University of Marburg, Germany, he returned to Strasbourg, where he headed a research department from 1974 to 2009. He has served as a Director of the Institute for Molecular Cell Biology in Strasbourg. During 2007-2008 Dr. Hoffmann was engaged as a President of the French National Academy of Sciences.

By investigating *Drosophila* with different mutation in Toll, a gene associated with embryonic development, he discovered the role of Toll-like receptors (TLR) as the key molecules of the innate immune system, which recognize pathogenic microorganisms. Up to now, more than dozen different TLR have been described and each of them recognizes certain types of molecules common in microorganisms. The signaling through TLR is of crucial importance for successful defense against microorganisms. Individuals with certain mutations in TLR carry an increased risk of infections. In addition, some genetic variants in these receptors are associated with an increased risk for chronic inflammatory diseases.

Bruce Beutler was born in Chicago, USA, in 1957. He obtained his MD from the University of Chicago in 1981 and has worked as a scientist at Rockefeller University in New York, at UT Southwestern Medical Center in Dallas, and the Scripps Research Institute in La Jolla, CA. Very recently, he rejoined the University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas as a Professor of Genetics of Host Defense.

Professor Beutler investigated lipopolysaccharide (LPS), a product from Gram negative bacteria, causing septic shock. Such studies resulted in the discovery of TLR4 as a LPS binding molecule. The ligation of TLR4 by LPS is followed by activation of signals that cause inflammation or even septic shock. Mice with mutant LPS receptors failed to bind LPS and never succumbed to shock. Cumulatively, the findings of Professors Hoffmann and Beutler showed that mammals and *Drosophila* use similar molecules to activate the innate immunity when encountering pathogenic microorganisms.

Ralph Steinman was born in Montreal, Canada, in 1943, where he studied biology and chemistry at the McGill University. After studying medicine at the Harvard Medical School in Boston, MA, USA, he obtained his MD in 1968. He was affiliated with Rockefeller University in New York since 1970, where he was a Professor of Immunology from 1988. Sadly, Professor Steinman passed away before the news of his Nobel Prize was announced.

Professor Steinman described dendritic cells, a new cell type, involved in the initiation and regulation of immune responses. These cells, as a part of the myeloid lineage sys-

tem, have long membranous projections and phagocytic capabilities and are widely distributed in lymphoid tissues, skin, mucosal epithelium and organ parenchyma. Dendritic cells are the main antigen presenting cells, which capture, process and present antigens, due to the expression of different receptors recognizing microbial molecules, including TLR, as well as major histocompatibility antigens. The crucial discovery of Professor Steinman was related to the unique role of dendritic cells to activate T cells, thus serving as a bridge between the non-specific and specific immunity. Further work have demonstrated that dendritic cells not only have an exceptional capacity to activate adaptive immunity, but that they can also induce subsets of T cells capable of preventing or down-regulating immunity. This latter finding has profound implications for the understanding of how the

adaptive immune system is regulated to fight against foreign pathogens, while tolerating normal autologous cells. Based on those discoveries, Professor Steinman focused his subsequent research on understanding the development of immune-based diseases and designing new dendritic cell-based antitumor vaccines. This approach, including the knowledge about the regulation of TLR, seems to be a very promising strategy for immunomodulation.

Taken together, the discoveries of Jules Hoffmann, Bruce Beutler and Ralph Steinman have brought us closer to the goal of treating and preventing infections, cancer and inflammatory diseases by mobilizing and regulating innate and adaptive immunity.

Academician, Colonel, Professor Miodrag Čolić



Faktori koji utiču na postizanje i postojanost citogenetskog odgovora kod bolesnika sa hroničnom mijeloidnom leukemijom na terapiji imatinibom

Factors associated with achievement and durability of cytogenetic response in patients with chronic myeloid leukemia treated with imatinib

Irena Čojbašić, Lana Mačukanović-Golubović

Klinički Centar Niš, Klinika za hematologiju i kliničku imunologiju, Niš, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Imatinib mesilat, selektivni inhibitor Bcr-Abl tirozin kinaze, doveo je do revolucije u lečenju Bcr-Abl pozitivne hronične mijeloidne leukemije i postao standard za lečenje ove bolesti. Cilj rada bio je procenjivanje i analiza citogenetskog odgovora u različitim vremenskim intervalima i rizičnim grupama, kao i pronalaženje povezanosti karakteristika bolesnika pre lečenja i kasnije mogućnosti postizanja velikog citogenetskog odgovora. **Metode.** Analizirana su 22 odrasla bolesnika sa novodijagnostikovanom Filadelfija-pozitivnom ranom hroničnom fazom hronične mijeloidne leukemije lečena u našoj ustanovi od juna 2006. do decembra 2009. godine. **Rezultati.** Srednje vreme praćenja bolesnika tokom lečenja imatinibom bilo je 25,7 meseci (opseg, 12–42 meseca). Kompletan hematološki odgovor postignut je kod svih bolesnika tokom šest meseci od početka lečenja. Stopa velikog citogenetskog odgovora bila je 81,8%, a stopa kompletnog citogenetskog odgovora 72,7%. Bolesnici sa niskim ili umerenim relativnim rizikom imali su stopu naknadnog postizanja velikog i kompletnog citogenetskog odgovora od 75–90%. Multivarijantnom analizom identifikovani su sledeći nezavisni prognostički faktori za postizanje velikog citogenetskog odgovora: odsustvo splenomegalije, broj leukocita manji od $10 \times 10^9/L$, broj trombocita manji od $450 \times 10^9/L$, manje od 5% blasta i bazofila u koštanoj srži, odsustvo blasta u krvnoj slici i manje od 7% bazofila u krvnoj slici. **Zaključak.** Bolesnici koji rano postignu kompletan i veliki citogenetski odgovor, kao i oni sa niskim i umerenim relativnim rizikom, imaju višu stopu postizanja i održavanja kompletnog citogenetskog odgovora. Takođe, postoje karakteristike bolesnika pre lečenja koje mogu ukazati na ishod lečenja.

Ključne reči:

leukemija, mijeloidna, hronična, bcr-abl pozitivna; antineoplastici; lečenje lekovima; lečenje, ishod.

Abstract

Background/Aim. Imatinib mesylate, a selective Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitor, has revolutionized the treatment of Bcr-Abl positive chronic myeloid leukemia and become the standard of care for this disease. The aim of this study was evaluation and analysis of cytogenetic response in different intervals and risk groups as well as finding association between pre-treatment characteristics and later probability of achievement of major cytogenetic response. **Methods.** We analyzed a total of 22 adult patients with newly diagnosed Philadelphia positive early chronic phase chronic myeloid leukemia treated at our institution from June 2006 to December 2009. **Results.** The median follow-up time for patients during treatment with imatinib was 25.7 months (range, 12–42 months). A complete hematologic response was achieved in all of the analyzed patients within 6 months from the start of the treatment. The major cytogenetic response rate was 81.8%, and the complete cytogenetic response rate was 72.7%. The patients with low or moderate relative risk had the rate of complementary achieving major and complete cytogenetic response of 75–90%. A multivariate analysis identified the following independent prognostic factors for achieving major cytogenetic response: the absence of splenomegaly, white blood cell count less than $10 \times 10^9/L$, the platelet count less than $450 \times 10^9/L$, the presence of less than 5% of bone marrow blasts and basophils, the absence of blasts in peripheral blood, the presence of less than 7% of basophils in peripheral blood. **Conclusion.** Patients who early achieve complete and major cytogenetic response as well as those with low and moderate relative risk have a higher rate of achieving and maintaining complete cytogenetic response. There are also characteristics of patients before treatment that may indicate the treatment outcome.

Key words:

leukemia, myelogenous, chronic, bcr-abl positive; antineoplastic agents; drug therapy; treatment outcome.

Uvod

Hronična mijeloidna leukemija (HML) je klonalna mijeloproliferativna bolest koja se kod više od 90% bolesnika karakteriše recipročnom hromozomskom translokacijom t(9;22)(q34;q11), koja stvara hromozom Filadelfija (Ph) i vodi ekspresiji Bcr-Abl fuzionog proteina sa povećanom tirozin-kinaznom aktivnošću, koja je odgovorna za leukemogenezu. Većina bolesnika prezentuje se u hroničnoj fazi, u

doze na 600 i 800 mg primenjena je kod bolesnika sa citogenetskim relapsom ili citogenetskom refraktnošću. Nakon početka lečenja bolesnici su procenjivani jednom mesečno na osnovu krvne slike i biohemijskih analiza. Aspiraciona punkcija koštane srži, zbog procenjivanja morfologije i citogenetike, sprovedena je svakih šest meseci. Minimalno vreme praćenja ovih bolesnika bilo je duže od 12 meseci. Značajne karakteristike bolesnika pre lečenja imatinib mesilatom prikazane su u tabeli 1.

Tabela 1

Bazne karakteristike bolesnika lečenih imatinib mesilatom	
Varijable	vrednosti
Godine, \bar{x} (opseg)	52,5 (19–68)
Pol, n (%)	
muški	15 (63)
ženski	9 (38)
Splenomegalija, n (%)	
da	18 (75)
ne	6 (25)
Leukociti, ($\times 10^9/L$); \bar{x} (opseg)	27,3 (3,5–146)
Trombociti, ($\times 10^9/L$); \bar{x} (opseg)	368,5 (140–863)
Hemoglobin (g/L); \bar{x} (opseg)	118,5 (87–145)
Blasti u krvnoj slici (%); \bar{x} (opseg)	2,1 (0–6)
Bazofili u krvnoj slici (%); \bar{x} (opseg)	2,2 (0–5,5)
Blasti u kosnoj srži (%); \bar{x} (opseg)	2,5 (0–6,5)

kojoj maligna progenitor ćelja brzo proliferiše, mada zadržava mnogo od svoje sposobnosti diferencijacije. Bolest kasnije evoluira u fazu akceleracije ili blastnu krizu¹.

Imatinib mesilat, selektivni inhibitor Bcr-Abl tirozin kinaze, doveo je do revolucije u lečenju Bcr-Abl pozitivne hronične mijeloidne leukemije i postao standard za lečenje ove bolesti. Imatinib mesilat indukuje kompletan hematološki odgovor kod 80–90% bolesnika sa novodijagnostikovanim hroničnom fazom HML, kompletni citogenetski odgovor kod 70–80% bolesnika, i molekularni odgovor kod 40% bolesnika. Dostizanje citogenetskog i molekularnog odgovora tokom terapije imatinibom dovodi do produženja preživljavanja bez bolesti i zaštite od progresije u uznapređovalu fazu bolesti. Ovi odlični rezultati učvrstili su imatinib kao standardnu terapiju za bolesnika sa HML^{2,3}.

Cilj ovoga rada bio je da se analizira citogenetski odgovor kod bolesnika sa hroničnom mijeloidnom leukemijom na terapiji imatinibom, kao i da se proceni udruženost ranog citogenetskog odgovora i kasnije mogućnosti postizanja kompletnog citogenetskog odgovora, odnosno mogućnost postizanja kompletnog i velikog citogenetskog odgovora u različitim rizičnim grupama. Takođe, cilj je bio i analiza baznih karakteristika bolesnika i kasnije mogućnosti za postizanje velikog citogenetskog odgovora.

Metode

Analizirana su 22 odrasla bolesnika sa novodijagnostikovanim Filadelfija-pozitivnom ranom hroničnom fazom HML, lečena u našoj ustanovi od juna 2006. do decembra 2009. godine. Kod svih bolesnika lečenje je započeto standardnom dozom imatinib mesilata od 400 mg. Eskalacija

Hronična faza HML definisana je kao prisustvo blasta u krvnoj slici manje od 15%, bazofila manje od 20%, blasta uz promijelocite manje od 30%, i trombocita više od $100 \times 10^9/L$. Hronična faza i kriterijumi za odgovore definisani su prema preporukama LeukemiaNet 2006 panela⁴: kompletan hematološki odgovor definisan je kao broj leukocita manji od $10 \times 10^9/L$, broj trombocita manji od $450 \times 10^9/L$, odsustvo mladih elemenata (blasta, promijelocita, mijelocita) u perifernoj krvi, i nestanak svih znakova i simptoma povezanih sa leukemijom (uključujući palpabilnu slezinu) u trajanju od najmanje četiri nedelje. Citogenetski odgovor procenjivan je standardnom citogenetskom analizom, direktnom preparacijom materijala iz koštane srži. Citogenetski odgovor dobijen je analizom 20 metafaza i definisan kao: kompletan – 0% Ph+ ćelija; parcijalni – 1%–35% Ph+ ćelija; mali – 36%–95% Ph+ ćelija i odsutan – >95% Ph+ ćelija. Veliki citogenetski odgovor podrazumeva zbir kompletnog i parcijalnog citogenetskog odgovora.

Deskriptivna statistika (broj, proporcija, srednja vrednost, opseg) korišćena je za sumiranje karakteristika bolesnika pre lečenja i analizu citogenetskog odgovora na terapiju imatinib mesilatom. Multivarijantna analiza korišćena je za identifikaciju potencijalnih prognostičkih faktora udruženih sa velikim citogenetskim odgovorom.

Rezultati

Srednje vreme praćenja bolesnika tokom lečenja imatinibom bilo je 25,7 meseci (opseg, 12–42 meseca).

Kompletan hematološki odgovor postignut je kod svih analiziranih bolesnika tokom šest meseci od početka lečenja. Kompletan citogenetski odgovor posle šest meseci bio je po-

stignut kod 36,4%, a posle 12 meseci kod 50% bolesnika, dok je veliki citogenetski odgovor posle šest meseci bio postignut kod 63,6%, a posle 12 meseci kod 81,8% lečenih bolesnika.

Povezanost između citogenetskog odgovora nakon šest i 12 meseci lečenja imatinibom i kasnije postignutog kompletnog citogenetskog odgovora prikazana je u tabeli 2.

Povezanost između karakteristika bolesnika pre lečenja i kasnije mogućnosti za postizanje velikog citogenetskog odgovora prikazana je u tabeli 4. Ova analiza pokazala je da je od 12 baznih faktora sedam nezavisno udruženo sa postizanjem velikog citogenetskog odgovora: odsustvo splenomegalije, broj leukocita manji od $10 \times 10^9/L$, broj trombocita manji od $450 \times 10^9/L$, manje od 5% blasta i bazofila u košta-

Tabela 2

Povezanost između odgovora na imatinib nakon šest i 12 meseci i kasnijeg kompletnog citogenetskog odgovora (CgR)

Citogenetski odgovor	n	Kompletni CgR, n(%)
Nakon šest meseci		
Ph > 95%	4	2 (50)
Ph 36–95%	4	2 (50)
Ph 1–35%	6	5 (83)
Ph 0%	8	7 (88)
Nakon 12 meseci		
Ph > 95%	1	0 (0)
Ph 36–95%	3	1 (33)
Ph 1–35%	7	5 (71)
Ph 0%	11	10 (91)

Ph – ćelije sa Filadelfija hromozomom

Od bolesnika koji su postigli samo mali citogenetski odgovor nakon šest i 12 meseci lečenja, stopa naknadnog postizanja kompletnog citogenetskog odgovora bila je 33–50%. Ta stopa pada na 18% bolesnika koji još imaju mali citogenetski odgovor nakon 12 meseci terapije. Bolesnici sa parcijalnim citogenetskim odgovorom, nakon 12 meseci terapije i dalje imaju 71% incidenciju za kasnije postizanje kompletnog citogenetskog odgovora.

Od 22 bolesnika, njih 16 (72,3%) i dalje je imalo postojan kompletan citogenetski, a dva (9,1%) parcijalan citogenetski odgovor u vreme poslednje kontrole; od toga je pet (22,7%) bolesnika taj odgovor postiglo nakon povećanja doze na 600 mg, tj. 800 mg. Četiri bolesnika i nakon povećanja doze nisu postigli veliki citogenetski odgovor.

Incidencija postizanja kompletnog citogenetskog odgovora tokom terapije imatinibom unutar svake rizične grupe prikazana je u tabeli 3.

noj srži, odsustvo blasta u krvnoj slici i manje od 7% bazofila u krvnoj slici.

Nije bilo slučajeva smrti i transformacije bolesti tokom terapije imatinib mesilatom.

Diskusija

Imatinib mesilat, inhibitor Bcr-Abl tirozin kinaze, značajno je poboljšao ishod lečenja hronične mijeloidne leukemije. Kod novodijagnostikovanih bolesnika sa HML imatinib je povezan sa stopom kompletnog citogenetskog odgovora od 82%, sa procenjenom mogućnošću 5-godišnjeg preživljavanja bez transformacije u fazu akceleracije ili blastnu fazu od 93%, i stopom preživljavanja od 89%⁵.

Imatinib mesilat je terapija prvog izbora kod bolesnika sa hroničnom fazom HML. Internacionalna randomizirana studija sa interferonom i imatinibom (IRIS) pokazala je su-

Tabela 3

Najbolji citogenetski odgovor (CgR) unutar različitih rizičnih grupa

Rizik i terapija	n	Kompletni CgR, n(%)	Veliki CgR, n(%)
Sokal skor			
nizak	12	9 (75)	10 (83)
umeren	8	6 (75)	7 (88)
visok	2	1 (50)	1 (50)
Hasford skor			
nizak	10	8 (80)	9 (90)
umeren	9	7 (78)	8 (89)
visok	3	1 (33)	1 (33)

Bolesnici sa niskim ili umerenim Sokal i Hasford skorom imali su stopu naknadnog postizanja kompletnog i velikog citogenetskog odgovora od 75–90%. Nasuprot tome bolesnici sa visokim Sokal i Hasford skorom imali su stopu naknadnog postizanja kompletnog i velikog citogenetskog odgovora od 33 do 50%.

periornost imatiniba nasuprot kombinaciji interferona- α i citozin-arabinozida u inicijalnom lečenju hronične faze HML. Projektovana stopa kompletnog citogenetskog odgovora postignuta posle 12 meseci terapije bila je 69% u grupi sa imatinibom, u poređenju sa stopom od 7% u grupi sa interferonom- α i citozin-arabinozidom⁶.

Tabela 4

Prognošički faktori udruženi sa velikim citogenetskim odgovorom (CgR)			
Parametar	n	Veliki CgR, n(%)	p
Godine			
mlađi od 60	17	14 (82)	0,14
60 ili stariji	5	4 (80)	
Splenomegalija (bcm)*			
nema	6	5 (83)	< 0,01
1–9	10	8 (80)	
≥ 10	6	4 (67)	
Hemoglobin (g/dL)			
< 10	4	2 (50)	0,24
10–11,9	11	10 (91)	
≥ 12	7	5 (73)	
Leukociti ($\times 10^9/L$)			
< 10	9	8 (89)	< 0,01
10–49	6	4 (67)	
≥ 50	7	5 (71)	
Trombociti ($\times 10^9/L$)			
≤ 450	12	10 (83)	< 0,01
> 450	10	7 (70)	
Blasti u krvnoj slici (%)			
0	11	10 (91)	< 0,01
1–3	7	6 (86)	
≥ 4	4	2 (50)	
Bazofili u krvnoj slici (%)			
< 7	19	17 (94)	< 0,01
≥ 7	3	1 (33)	
Blasti u koštanoj srži (%)			
< 5	19	17 (94)	< 0,01
≥ 5	3	1 (33)	
Bazofili u koštanoj srži (%)			
< 5	17	16 (94)	0,09
≥ 5	5	2 (40)	
Sokal skor			
nizak	12	10 (83)	0,1
umeren	8	7 (88)	
visok	2	1 (50)	
Performans status			
0–1	19	17 (85)	0,32
2	3	1 (33)	
HML trajanje pre imatiniba (meseći)			
< 3	7	6 (86)	0,26
3–6	10	9 (90)	
> 6	5	3 (60)	

* cm ispod rebarnog luka; HML – hronična mijeloidna leukemija

Kasnije studije pokazale su da se stopa kompletnog citogenetskog odgovora povećava na 82% posle pet godina kontinuirane terapije imatinibom⁷. Ostaje kontroverzno da li postizanje kompletnog citogenetskog odgovora rano tokom terapije imatinibom daje prognošičko preimućstvo kasnijeg održavanja kompletnog citogenetskog odgovora. Inicijalni izveštaji pokazali su da rani citogenetski odgovor predviđa bolji dugoročni ishod. U radu Kantarjiana i sar.² pokazano je da citogenetski odgovor nakon 12 meseci može predvideti ishod lečenja. Bolesnici koji su postigli manje od velikog citogenetskog odgovora imali su lošiju prognozu. Takođe, pokazano je da je duže preživljavanje bolesnika sa novodijagnostikovanom HML lečenih imatinibom postignuto kroz poboljšanje citogenetskog odgovora.

Nedavne analize ukazuju međutim, da je rizik od progresije bolesti među bolesnicima koji postignu kompletni citogenetski odgovor tokom prvih 12 meseci terapije imatinibom sličan kao kod bolesnika koji taj odgovor postignu ka-

snije⁷. Mada neki bolesnici zaista mogu da poboljšaju svoj odgovor sa trajanjem terapije imatinibom, bolesnici koji nisu u kompletnoj citogenetskoj remisiji suočavaju se sa dve konkurentne mogućnosti da ili postignu kompletni citogenetski odgovor ili eventualno progrediraju u uznaperedovalu fazu bolesti bilo kada tokom lečenja.

U studiji Quintás-Cardama i sar.⁸ bolesnici koji nisu postigli kompletni citogenetski odgovor nakon šest meseci terapije imali su 57% mogućnosti da eventualno postignu kompletni citogenetski odgovor tokom vremena uz nastavak terapije. Posle 12 meseci kontinuirane terapije imatinibom bez kompletnog citogenetskog odgovora, mogućnost postizanja kompletnog citogenetskog odgovora opala je na 42%. Među bolesnicima koji su bili postigli kompletni citogenetski odgovor nije opažena značajna razlika u dužini kompletnog citogenetskog odgovora i preživljavanja bez bolesti, bez obzira da li je kompletni citogenetski odgovor bio postignut pre šest meseci, između šest i 12 meseci, ili nakon 12 meseci.

Analiza naših rezultata pokazala je da bolesnici koji nisu postigli kompletan citogenetski odgovor nakon šest, odnosno 12 meseci imali su 64%, odnosno 55% mogućnosti kasnijeg postizanja kompletnog citogenetskog odgovora.

U radu Kantarjiana i sar.⁹ među bolesnicima koji su postigli samo mali citogenetski odgovor posle tri do šest meseci terapije, kasnija stopa kompletnog citogenetskog odgovora bila je 62–76%. Stopa opada na samo 10% kod bolesnika koji su još uvek imali mali citogenetski odgovor posle 12 meseci terapije. U našoj analizi bolesnici sa malim citogenetskim odgovorom nakon šest i 12 meseci imali su kasniju stopu kompletnog citogenetskog odgovora od 33–50%. Međutim, bolesnici sa parcijalnim citogenetskim odgovorom posle 12 meseci terapije imali su još 73% incidencije za kasnije postizanje kompletnog citogenetskog odgovora u analizi Kantarjiana i sar.⁹, dok je u našoj analizi ta stopa iznosila 71%.

Naši rezultati slični su rezultatima objavljenim u radu Kantarjiana i sar.² gde su bolesnici sa niskim ili umerenim Sokal i Hasford skorom^{10,11} imali stopu postizanja kompletnog i velikog citogenetskog odgovora od 87 do 95% (u našoj analizi ta stopa iznosila je 75–90%). Nasuprot tome, u radu Kantarjiana i sar.² bolesnici sa visokim Sokal i Hasford skorom imali su stopu postizanja kompletnog i velikog citogenetskog odgovora od 69 do 77%, dok je u našoj analizi ta stopa bila niža i iznosila je 33–50%.

U našem radu analizirane su i kliničke karakteristike bolesnika pre lečenja udružene sa postizanjem velikog citogenetskog odgovora. Bazne karakteristike udružene sa većom mogućnošću postizanja velikog citogenetskog odgovora uključivale su: odsustvo splenomegalije, broj leukocita manji od $10 \times 10^9/L$, broj trombocita manji od $450 \times 10^9/L$, prisustvo manje od 5% blasta i bazofila u koštanoj srži, odsustvo blasta u krvnoj slici i prisustvo manje od 7% bazofila u krvnoj slici. Prognostički faktori udruženi sa velikim citogenetskim odgovorom u studiji Cortesa i sar.¹² bili su: odsustvo blasta u krvnoj slici, bazofili u krvnoj slici manji od 7%, prisustvo blasta manje od 5% i bazofila manje od 5% u koštanoj srži, broj leukocita manji od $10 \times 10^9/L$ i odsustvo spleno-

megalije. Bazne karakteristike bolesnika udružene sa postizanjem kompletnog citogenetskog odgovora u analizi Kantarjiana i sar.⁹ bile su: broj leukocita manji od $10 \times 10^9/L$, broj trombocita manji od $450 \times 10^9/L$, odsustvo blasta i bazofila u krvnoj slici i prisustvo manje od 5% blasta u koštanoj srži.

Upotreba imatiniba znatno je poboljšala ishod lečenja bolesnika sa hroničnom mijeloidnom leukemijom, što je definitivno potvrđeno u studiji IRIS, u kojoj je u grupi sa imatinibom stopa kompletnog citogenetskog odgovora bila približno 80%, a 5-godišnje preživljavanje ispitivanih bolesnika blizu 90%. I pored odličnih rezultata sa standardnom dozom imatiniba razvijeni su i drugi terapijski pristupi koji mogu znatno poboljšati ishod bolesti. Jedan je upotreba viših doza imatiniba od samog početka lečenja. Dosadašnje studije pokazale su da ta strategija može dovesti do višeg i bržeg kompletnog citogenetskog i molekularnog odgovora u poređenju sa odgovorom koji se očekuje nakon upotrebe standardne doze imatiniba. Drugi pristup je primena druge terapijske linije, tj. druge generacije inhibitora tirozin kinaze dasatiniba i nilotiniba, kod bolesnika koji su doživeli neuspeh sa imatinibom. Na taj način, bolesnici koji nemaju dobar odgovor ili su rezistentni na imatinib još uvek mogu imati željeni dugoročni ishod sa ovim novim terapijama¹³.

Zaključak

Analizom naših rezultata pokazali smo da postizanje velikog i kompletnog citogenetskog odgovora nakon šest i 12 meseci terapije imatinibom značajno povećava mogućnost da se kompletan citogenetski odgovor postigne ili održi dalje tokom lečenja. Bolesnici koji u trenutku otpočinjenja lečenja imaju nizak ili umeren relativni rizik imaju veću stopu postizanja velikog i kompletnog citogenetskog odgovora od onih koji imaju visok relativni rizik. Takođe, postoje karakteristike bolesnika pre lečenja koje su udružene sa postizanjem velikog citogenetskog odgovora, tj. dovode do razlika u ishodu lečenja.

L I T E R A T U R A

1. *Palandri F, Castagnetti F, Alimena G, Testoni N, Breccia M, Luatti S, et al.* The long-term durability of cytogenetic responses in patients with accelerated phase chronic myeloid leukemia treated with imatinib 600 mg: the GIMEMA CML Working Party experience after a 7-year follow-up. *Haematologica* 2009; 94(2): 205–12.
2. *Kantarjian HM, Talpař M, O'Brien S, Jones D, Giles F, Garcia-Manero G, et al.* Survival benefit with imatinib mesylate versus interferon-alpha-based regimens in newly diagnosed chronic-phase chronic myelogenous leukemia. *Blood* 2006; 108(6): 1835–40.
3. *Hughes TP, Branford S, White DL, Reynolds J, Koelmeyer R, Seymour JF, et al.* Impact of early dose intensity on cytogenetic and molecular responses in chronic-phase CML patients receiving 600 mg/day of imatinib as initial therapy. *Blood* 2008; 112(10): 3965–73.
4. *Baccarani M, Saglio G, Goldman J, Hochhaus A, Simonsson B, Appelbaum F, et al.* European LeukemiaNet. Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommenda-
5. *Jabbour E, Kantarjian HM, Jones D, Shan J, O'Brien S, Reddy N, et al.* Imatinib mesylate dose escalation is associated with durable responses in patients with chronic myeloid leukemia after cytogenetic failure on standard-dose imatinib therapy. *Blood* 2009; 113(10): 2154–60.
6. *O'Brien SG, Guilbot F, Larson RA, Gathmann I, Baccarani M, Cervantes F, et al.* Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2003 Mar 13;348(11):994-1004.
7. *Druker BJ, Guilbot F, O'Brien SG, Gathmann I, Kantarjian H, Gattermann N, et al.* Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2006; 355(23): 2408–17.
8. *Quintás-Cardama A, Kantarjian H, Jones D, Shan J, Borthakur G, Thomas D, et al.* Delayed achievement of cytogenetic and molecular response is associated with increased risk of progression among patients with chronic myeloid leukemia in early

- chronic phase receiving high-dose or standard-dose imatinib therapy. *Blood* 2009; 113(25): 6315–21.
9. *Kantarjian HM, Cortes JE, O'Brien S, Luthra R, Giles F, Verstovsek S, et al.* Long-term survival benefit and improved complete cytogenetic and molecular response rates with imatinib mesylate in Philadelphia chromosome-positive chronic-phase chronic myeloid leukemia after failure of interferon-alpha. *Blood* 2004; 104(7): 1979–88.
 10. *Sokal JE, Cox EB, Baccarani M, Tura S, Gomez GA, Robertson JE, et al.* Prognostic discrimination in "good-risk" chronic granulocytic leukemia. *Blood* 1984; 63(4): 789–99.
 11. *Hasford J, Pffirmann M, Hehlmann R, Allan NC, Baccarani M, Kluin-Nelemans JC, et al.* A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa. Writing Committee for the Collaborative CML Prognostic Factors Project Group. *J Natl Cancer Inst.* 1998 Jun 3; 90(11): 850–8.
 12. *Cortes J, Talpař M, Giles F, O'Brien S, Rios M, Shan J, et al.* Prognostic significance of cytogenetic clonal evolution in patients with chronic myelogenous leukemia on imatinib mesylate therapy. *Blood* 2003; 101(10): 3794–3800.
 13. *Cortes J.* Imatinib therapy for chronic myeloid leukemia: where do we go now? *J Clin Oncol* 2008; 26(20): 3308–9.
- Primljen 04. II 2010.
Revidiran 15. IV 2010.
Prihvaćen 19. IV 2010.



Iskustvo u lečenju nekih komplikacija portne hipertenzije kod alkoholne ciroze jetre

Experience in the treatment of some complications of portal hypertension in alcoholic liver cirrhosis

Željka Savić, Vladimir Vračarić, Ljiljana Hadnadjev, Zora Petrović, Dragomir Damjanov

Klinički centar Vojvodine, Klinika za gastroenterologiju i hepatologiju, Novi Sad, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Portna hipertenzija (PH) je hemodinamska abnormalnost udružena sa ozbiljnim komplikacijama ciroze jetre kao što su ascites, nastanak ezofagogastričnih variksa i variksnog krvarenja. Cilj ove studije bio je da se ukaže na zastupljenost i značaj PH, prvenstveno variksnog krvarenja kod alkoholne ciroze jetre (ACJ). **Metode.** U Klinici za gastroenterologiju i hepatologiju u Novom Sadu lečeno je 237 bolesnika sa ACJ u periodu 1. 1. 2005 – 1. 1. 2008. **Rezultati.** Ukupno 161 bolesnik (68%) hospitalizovan je zbog komplikacija PH: 86 (36,3%) zbog gastrointestinalnog krvarenja, 75 (31,7%) zbog ascitesa, dok je 76 (32%) bolesnika hospitalizovano zbog ikterusa. Ukupna smrtnost bila je 36%. Uzrok krvarenja kod 61 (71%) bolesnika bili su variksi, a kod 25 (29%) drugi entiteti (najčešće peptički ulkusi), iako su i kod 16 (64%) ovih bolesnika konstatovani variksi, ali bez znakova krvarenja. Ukupno 63 bolesnika (73%) imalo je aktivno ili stigmata skorašnjeg krvarenja. Terapija variksnog krvarenja samo oktreotidom primenjena je kod 32 (52,46%) bolesnika; oktreotid + endoskopska hemostaza kod 20 (32,78%); oktreotid + balon tamponada kod 9 (14,75%) bolesnika. Kod 42 (48,8%) krvarećih bolesnika registrovan je ascites, a ranija krvarenja kod 41 (47,6%). Ukupno 25 (29%) ovih bolesnika bilo je u *Child Pugh* klasi A, skor 5,4, 43 (50%) u klasi B, skor 7,8, a 18 (21%) u klasi C, skor 10,9. Prosečne vrednosti hemoglobina bile su 93 g/L, hematokrita 0,27, AST 71,52 ij/L (normalno do 37 ij/L); ALT 37,74 ij/L (normalno do 40 ij/L). Od 75 dekompenzovanih bolesnika 3 (4%) bilo je u *Child Pugh* klasi A, skor 6, 42 (56%) u klasi B skor 8,3, a 30 (40%) u klasi C skor 10,6. **Zaključak.** Kod obolelih od ACJ neophodna je rana detekcija variksa, primarna profilaksa krvarenja, sprovođenje metoda zaustavljanja krvarenja i sekundarne profilakse, uz adekvatan tretman ascitesa.

Ključne reči:

jetra, bolesti izazvane alkoholom; hipertenzija, portalna; jednjak i želudac, variksi; krvarenje, gastrointestinalno; dijagnostičke tehnike i procedure; lečenje.

Abstract

Background/Aim. Portal hypertension (PH) is hemodynamical abnormality associated with the most serious complications of alcoholic liver cirrhosis (ALC): ascites, varices and variceal bleeding. The aim of this study was to determine characteristics of portal hypertension, especially of upper gastrointestinal bleedings in patients with alcoholic liver cirrhosis (ALC). **Methods.** A total of 237 patients with ALC were observed in a 3-year period. **Results.** A total of 161 patients (68%) were hospitalized because of PH elements: 86 (36.3%) had upper gastrointestinal bleeding, 75 (31.7%) were decompensated. Only 76 (32%) of the patients had icterus. General mortality was 85 (36%). According to the source of bleeding, 61 (71%) patients bled from varices, and 25 (29%) from other sources with existing varices but non-incriminated for bleeding in 16 (64%) of those patients. Active bleeding or stigmata of recent bleeding were found in 63 (73%) cases. Endoscopic treatment of variceal bleeding along with octreotide applied in 20 (32.78%) patients, just octreotide in 32 (52.46%), and octreotide plus balloon tamponade in 9 (14.75%). According to Child-Pugh classification, 25 (29%) of the bleeding patients were in class A, score 5.4; 43 (50%) in class B, score 7.8; and 18 (21%) in class C, score 10.9. Average hemoglobin level was 93 g/L, hematocrit 0.27, AST 71.52 U/L (normal to 37 U/L), ALT 37.74 U/L (normal to 40 U/L). Until this bleeding episode, 41 (47%) of the patients already bled. In the decompensated patients 3 (4%) were in Child Pugh class A, score 6; 42 (56%) in class B, score 8.3; and 30 (40%) in class C, score 10.6. Until this decompensation episode, 7 (9.3%) patients already bled. **Conclusion.** Patients with ALC need early detection of varices, primary and secondary profilaxis of variceal bleeding and adequate therapy of ascites. When bleeding occurs, patients need urgent upper endoscopy and intensive treatment.

Key words:

liver diseases, alcoholic; hypertension, portal; esophageal and gastric varices; gastrointestinal hemorrhage; diagnostic techniques and procedures; therapeutics.

Uvod

Cirozu jetre karakterišu difuzne promene strukture tkiva jetre što uz patofiziološke mehanizme uslovljava kliničku sliku oboljenja. Smrtnost obolelih je 34%, i ona je nepromenjena u poslednjih 30 godina^{1,2}.

Alkoholna bolest jetre ima tri stadijuma koji se mogu preklapati, a to su: steatoza jetre, alkoholni hepatitis i alkoholna ciroza jetre koju finalno dobije svega 10–30% alkoholičara. Količina konzumiranog alkohola koja je rizična za nastanak ovog oboljenja je ≥ 40 g/dan za žene i ≥ 80 g/dan za muškarce, uz period konstantne konzumacije tokom deset godina.

Portna hipertenzija (PH) je hemodinamska abnormalnost udružena sa najozbiljnijim komplikacijama ciroze jetre kao što su ascites, razvoj ezofagogastričnih variksa i nastanak variksnog krvarenja. Kod alkoholne ciroze jetre dominantno je ispoljavanje portne hipertenzije i njenih posledica, u odnosu na hepatocelularnu insuficijenciju.

Varikсно krvarenje najčešća je komplikacija portne hipertenzije i konstatuje se kod 30–60% obolelih od ciroze jetre³. Smrtnost od variksnog krvarenja tokom šest nedelja i dalje je 15–20%^{4–6}.

Osnovna metoda za detekciju variksa je ezofagogastroduodenoskopija, i bila bi idealna u momentu postavljanja dijagnoze ciroze jetre. Prevalencija variksa je 30% kod kompenzovanih i 60% kod dekompenzovanih ciroza. Preporučuje se kontrola endoskopijom svake 2–3 godine kod kompenzovanih bolesnika bez prisutnih ezofagealnih variksa, a svake 1–2 godine kod kompenzovanih bolesnika sa malim variksi-ma.

Ostale dijagnostičke metode vezane za portnu hipertenziju su ultrasonografija (US) gornjeg abdomena i dopler sliva vene porte, kompjuterizovana tomografija (KT) i magnetna rezonanca (MR) gornjeg abdomena, *multi slice* KT (MSKT), MR angiografija, splenoportografija, elastografija (*FibroScan*)^{7–9}.

Invazivna hemodinamska metoda koja nije rutinski primenljiva je merenje gradijenta pritiska u hepatičkim venama (*hepatic venous pressure gradient* – HVP). Ona odražava ozbiljnost PH sa direktnom 1:1 korelacijom između okludiranog i „vedž“ HVP i portnog pritiska. Predstavlja nezavisni prognostički faktor preživljavanja u svim studijama kod bolesnika sa postojećim ili očekivanim variksnim krvarenjima. Smatra se da PH postoji ako je HPVG > 5mmHG, a da je klinički značajna ako je HPVG ≥ 10 –12 mmHG¹⁰. Očekivani nastanak krvarenja je 7% tokom dve godine za bolesnike sa S (*small*) variksima, a 30% za bolesnike sa M (*medium*) i L (*large*) variksima. Indeks severnoitalijanskog endoskopskog kluba (NIEC) za procenu verovatnoće variksnog krvarenja tokom jednogodišnjeg perioda uzima tri nezavisna prediktora: težinu bolesti jetre (*Child Pugh Class*), veličinu variksa i prisustvo crvenih pega^{11,12}.

Ezofagealni variksi (EV) dele se prema NIEC na: male (*small*) – male prave vene koje nestaju na insuflaciju; srednji (*medium*) – uvećani tortuozni variksi koji zauzimaju manje od jedne trećine lumena, i velike (*large*) – izvjugani variksi

koji zauzimaju više od 1/3 lumena. Gastrični variksi (GV) detektuju se kod 20% ciroza pri prvoj endoskopiji kod svih tipova PH. Tokom eradikacije EV, 10% bolesnika razvija sekundarno GV. Primarni GV su češći kod ekstrahepatične PH.

Ezofagogastrični variksi (GV udruženi sa EV) dele se na tip 1 (GV su u kontinuitetu sa EV, pružaju se 2–5 cm ispod EG spoja uz malu krivinu želuca) i tip 2 (GV su u kontinuitetu sa EV i pružaju se ispod EG spoja na fundus želuca). Izolovani GV (IGV) dele se na tip 1 (u fundusu želuca) i tip 2 (korpus, antrum, pilorus, duodenum). Hipertenzivna portna gastropatija javlja se kod oko 65% bolesnika sa PH i cirozom jetre.

Ascites predstavlja glavnu komplikaciju ciroze i razvija se kod 50% bolesnika tokom 10 godina praćenja. Mortalitet je 50% tokom dve godine od nastanka. *International Ascites Club* definiše ascites kao: nekomplikovani – neinficiran, neudružen sa hepatorenalnim sindromom i to gr. I (*mild*) koji se detektuje samo USG pregledom, gr. II (*moderate*) koji karakteriše umerena simetrična distenzija abdomena i gr. III (*large*) koji podrazumeva značajnu distenziju abdomena; i refrakterni (10% bolesnika; 50% umire tokom šest meseci) – ne može se odstraniti ili zadovoljavajuće prevenirati medikamentnom terapijom (rezistencija na diuretike ili komplikacije diuretske terapije), i/ili pokazuje ranu rekurenciju nakon paracenteza¹³.

Infekcije se javljaju zbog bujanja bakterija u crevima (kod 1/3 bolesnika sa ACJ, pogotovo sa ascitesom i teškom insuficijencijom jetre), intestinalnog dismotiliteta (usporen tranzit), povećanog intestinalnog permeabiliteta i bakterijske translokacije^{14,15}.

Spontani bakterijski peritonitis je hematogena infekcija lokalizovana u ascitesnoj tečnosti. Javlja se kod 10–30% hospitalizovanih bolesnika sa cirozom i ascitesom, kod 1/3 je asimptomatska, mortalitet iznosi 20%, a kumulativna godišnja stopa rekurencije je 70%.

Hepatorenalni sindrom je najteži hemodinamski poremećaj koji karakterišu azotemija, oligurija i hiponatremija uz očuvanu morfologiju bubrega¹⁶.

Hepatična encefalopatija je kompleksan, potencijalno reverzibilni poremećaj neuropsihičkog stanja uz isključenje moždanih oboljenja i metaboličkih poremećaja.

Hepatocelularna insuficijencija podrazumeva smanjenu sintetsku funkciju jetre, konsekutivne poremećaje metabolizma, endokrinološke poremećaje i smanjenje detoksikacione funkcije jetre.

Cilj rada bio je da se ukaže na zastupljenost, značaj i terapiju nekih komplikacija portne hipertenzije, prvenstveno variksnog krvarenja kod ACJ, kao i na neke osnovne karakteristike samog oboljenja.

Metode

U Klinici za gastroenterologiju i hepatologiju u Novom Sadu, u trogodišnjem periodu (1. 1. 2005 – 1. 1. 2008) lečeno je 237 bolesnika sa ACJ koji su činili 50% hepatološke kazuistike (237/472). Uvidom u istorije bolesti retrospektivno su analizirani demografski podaci, klinička slika obolelih, dijagnostičke i terapijske procedure.

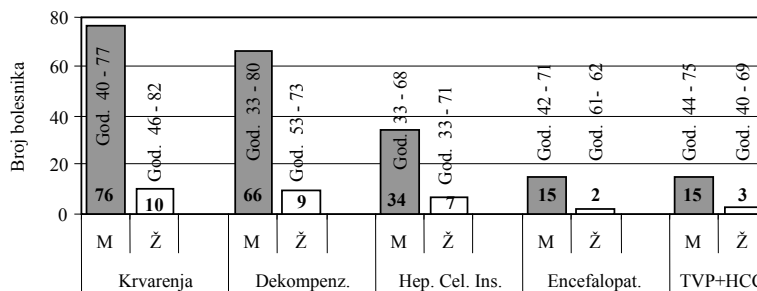
Rezultati

Od 237 bolesnika lečenih zbog ACJ u navedenom periodu bilo je 86,9% muškaraca prosečne starosti 56,9 (raspon 33–82) godine i 13,1% žena prosečne starosti 60,3 (33 – 80) godina.

Ukupno 161 (68%) bolesnik hospitalizovan je zbog elemenata portne hipertenzije: 86 (36,3%) zbog gastrointestinalnog krvarenja, a 75 (31,7%) zbog ascitesa i edema. Preostalih 76 (32%) bolesnika hospitalizovano je sa slikom hepatičke insuficijencije i/ili portne encefalopatije, tromboze vene porte i hepatocelularnog karcinoma (slika 1). Prosečne vrednosti albumina,

bilirubina, protrombinskog vremena i amonijemije po grupama bolesnika prikazane su u tabeli 1. Ukupna smrtnost bila je 85 (36%), sa direktnim uzrokom u vidu komplikacija portne hipertenzije, odnosno variksnog krvarenja kod 10 (11,7%) bolesnika.

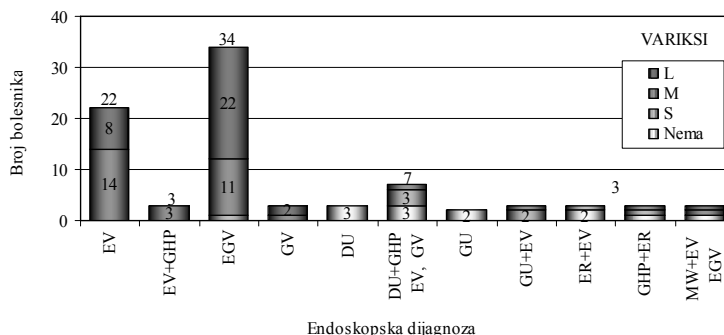
Uzrok krvarenja kod 61 (71%) bili su variksi (kod 25 bolesnika ezofagealni, kod 34 ezofagogastrični, a kod dva izolovani gastrični variksi). Kod 25 (29%) bolesnika uzrok krvarenja bili su drugi entiteti (najčešće peptički ulkusi) mada je i kod 16 (64%) ovih bolesnika konstatovano prisustvo variksa koji su u datom momentu bili bez znakova svežeg, skorašnjeg ili pretećeg krvarenja (slika 2).



Sl. 1 – Polna i starosna struktura obolelih prema osnovnim manifestacijama bolesti
 Hep. cel. ins. – hepatocelularna insuficijencija
 TVP+HCC – tromboza vene porte i hepatocelularni karcinom

Tabela 1
Prosečne vrednosti albumina, bilirubina, protrombinskog vremena i amonijemije (NH₃) prema grupama bolesnika

Klinička slika	Albumin (g/L)	PV (R)	Bilirubin (μmol/L)	NH ₃ (μmol/L)
Krvarenje, \bar{x} (min-max)	33,3 24,0–50,0	1,48 0,75–3,36	48,8 6,0–320,0	28,9 7,0–102,0
Dekompenzacija, \bar{x} (min-max)	30,4 18,0–43,0	1,43 1,04–2,27	54,2 5,0–207,0	32,9 9,0–91,0
Ikterus, \bar{x} (min-max)	30,7 18,0–45,0	1,60 0,12–2,50	178,0 43,0–560,0	41,9 5,0–81,0
Encefalopatija, \bar{x} (min-max)	34,1 19,0–42,0	1,47 1,01–2,10	52,9 13,0–148,0	46,1 12,0–94,0
Tromboza vena porte i hepatocelularni karcinom, n (min-max)	34,4 23,0–46,0	1,27 0,95–1,74	60,9 11,0–278,0	31,4 15,0–72,0



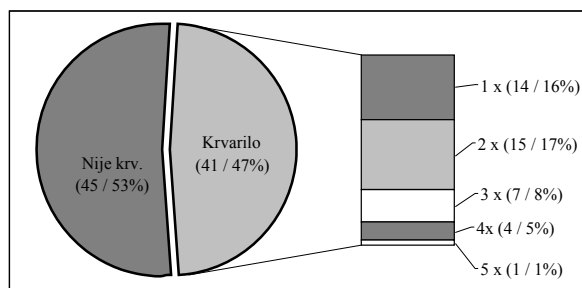
Sl. 2 – Endoskopski nalazi kod bolesnika sa alkoholnom cirozom jetre i krvarenjem iz gornjih partija gastrointestinalnog trakta
 EV – ezofagealni variksi; EGV – ezofagogastrični variksi; GV – gastrični variksi; GHP – hipertenzivna portna gastropatija; DU – duodenalni ulkus; GU – gastrični ulkus; ER – erozivne promene; MW – Mallory Weissov sindrom

Ukupno 63 (73%) bolesnika imalo je aktivno ili znakove skorašnjeg krvarenja. Terapija variksnog krvarenja samo vazoaktivnim lekom (oktreotidom) primenjena je kod 32/61 (52,46%) bolesnika; oktreotid + endoskopska hemostaza kod 20/61 (32,78%); oktreotid + balon tamponada kod 9/61 (14,75%). Kod 42/86 (48,8%) krvarećih bolesnika registrovan je ascites, a ranija krvarenja kod 41/86 (47,6%) bolesnika.

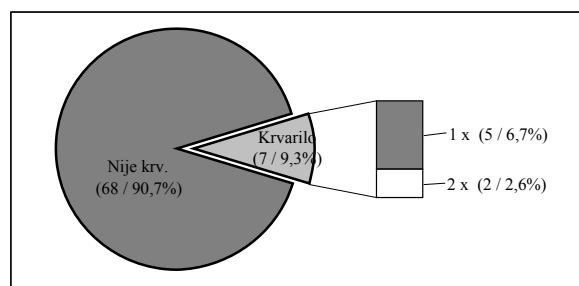
Od 86 krvarećih bolesnika 25 (29%) bilo je u *Child Pugh* klasi A, skor 5,4; 43 (50%) u klasi B, skor 7,8; a 18 (21%) u klasi C, skor 10,9; prosečan skor 8,03. Prosečne vrednosti hemoglobina bile su 93 g/L, hematokrita 0,27; AST 71,52 (normalno do 37); ij/L ALT 37,74 (normalno do 40) ij/L.

Od 75 bolesnika sa dominantom kliničkom slikom u vidu ascitesa i edema 3 (4%) bilo je u *Child Pugh* klasi A, skor 6; 42 (56%) u klasi B, skor 8,3; a 30 (40%), skor 10,6 u klasi C (prosečan skor 8,3).

Ranija krvarenja bila su prisutna kod 41 (47%) aktuelno krvarećih bolesnika (od jednog do pet prethodnih epizoda) kao i kod 7 (9,3%) dekompenzovanih bolesnika (slike 3 i 4).



Sl. 3 – Ranija krvarenja kod aktuelno krvarećih bolesnika



Sl. 4 – Ranija krvarenja kod aktuelno dekompenzovanih bolesnika

Kod 64/86 (74,42%) krvareća bolesnika bila je prisutna trombocitopenija, a kod 20/86 (23,25%) leukopenija. Trombocitopeniju je imalo 45/75 (60%) bolesnika sa ascitesom, a njih 13/75 (17,33%) leukopeniju.

Diskusija

U Klinici za gastroenterologiju i hepatologiju Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu, u trogodišnjem periodu (1. 1. 2005 – 31. 12. 2007) lečeno je 237 bolesnika sa ACJ, što čini 50% bolesnika hospitalizovanih zbog bolesti jetre (237/472).

Kod ispitivanih bolesnika sa ACJ dominantna klinička slika odgovarala je manifestacijama i komplikacijama portne hipertenzije: variksi, varikсно krvarenje, ascites i njegove posledice. Utvrđena je smrtnost od 36%, a poznato je da je ona visoka kod bolesnika sa cirozom jetre i da iznosi oko 34%¹.

Prema podacima iz Zdravstvenog statističkog godišnjaka za 2006. godinu u Srbiji 2,7% žena uzima > 20 g alkohola na dan, a njih 0,4% više od 50 g dnevno. Kod muškaraca je broj konzumenata veći, njih 8,7% uzima > 40 g alkohola dnevno, a 5,7% više od 50 g alkohola na dan. Procenat žena koje uzimaju više od 20 g i muškaraca koji uzimaju više od 40 g alkohola na dan najveći je u starosnoj grupi od 45 do 65 godina.

Odnos muškaraca i žena kod naših bolesnika bio je 6,7 : 1, a prosečna starost obolelih bila je 56,9 godina za muškarce i 60,3 godine za žene, što je (imajući u vidu gorenavedene podatke) kompatibilno sa karakterističnim periodom za razvoj ACJ kod predisponiranih osoba.

Dominantan uzrok hospitalizacije kod 86/237 (36,3%) ispitivanih bolesnika bilo je gastrointestinalno krvarenje (hematemeza i/ili melena), što sa bolesnicima hospitalizovanim zbog ascitesa, odnosno dekompenzacije ciroze kojih je bilo kod 75/237 (31,7%), ukupno iznosi 161/237 (68%) bolesnika lečenih zbog kliničke slike i komplikacija portne hipertenzije, dok je svega 76/237 (32%) lečeno sa dominantnom kliničkom slikom hepatičke insuficijencije.

Uzrok gastrointestinalnog krvarenja kod 61/86 (71%) bolesnika bilo je krvarenje iz ezofagealnih, ezofagogastričnih i gastričnih variksa, uz prisutnu sliku i hipertenzivne portne gastropatije. Kod 25/86 (29%) bolesnika radilo se o krvarenju u sklopu gastroduodenalnog ulkusa, erozija, Mallory-Weissovog sindroma, što ne isključuje prisustvo variksa koji su opisani (iako ne kao uzrok krvarenja) kod 16/25 (64%) ovih bolesnika.

Navedeno je u skladu sa podacima iz literature koji ukazuju da je kod 70% bolesnika sa cirozom jetre i portnom hipertenzijom varikсно krvarenje patomorfološki supstrat akutnog krvarenja iz gornjih partija gastrointestinalnog trakta¹⁷.

Smrtnost u akutnoj epizodi variksnog krvarenja (koja prema Baveno konsenzusu podrazumeva prvih pet dana od početka krvarenja) bila je prisutna kod 10/61 (16%) naših bolesnika sa uzrokom u vidu nemogućnosti kontrole i/ili recidiva krvarenja uz konsektivno pogoršanje funkcije jetre i prisutnih komorbiditeta, a šestonedeljnu smrtnost nismo mogli izračunati, jer je studija bila retrospektivna. Prema podacima iz literature šestonedeljna smrtnost kod variksnih krvarenja je oko 20%. Bosch i Abraldes¹⁸ konstatuju da ruptura gastroezofagealnih variksa dovodi do smrti tokom prvih 48 sati kod 5–8% bolesnika, a da je šestonedeljna smrtnost 20% kod ovih bolesnika.

D' Amico i De Franchis¹⁷ ustanovili su smrtnost od 9,2% u akutnoj epizodi variksnih krvarenja, a šestonedeljna smrtnost (1–42 dana) kod njihovih bolesnika bila je 20,8%. Prema ovim autorima na smrtnost tokom prvih pet dana utiču: prisustvo aktivnog krvarenja, hematokrit, vrednosti AST, ALT, *Child-Pugh score* i tromboza vene porte. Prediktivni faktori za neuspeh kontrole krvarenja tokom šest nedelja su alkoholna etiologija, bilirubin, albumini, encefalopatija i hepatocelularni karcinom. Kod bolesnika u navedenoj studiji inicijalnim lečenjem krvarenje je kontrolisano kod 90% bolesnika,

neuspešna kontrola tokom pet dana bila je kod 13% bolesnika, tokom šest nedelja 17% bolesnika, a mortalitet je iznosio 20%.

Naši bolesnici sa variksnim krvarenjem, 25/86 (29%), bili su u *Child Pugh* klasi A, skor 5,4; u klasi B 43/86 (50%) bolesnika, skor 7,8; a u klasi C 18/86 (21%) bolesnika, skor 10,9. Prosečan skor bio je 8,03. Rezultati su slični rezultatima iz studije pomenutih autora (klasa A 14%, B 51%, C 35%; prosečan skor 8,7). Aktivno krvarenje ili stigmata skorašnjeg krvarenja u navedenoj studiji bilo je prisutno kod 69% bolesnika, a u našoj studiji kod 63/86 (73%). Prosečne vrednosti hemoglobina kod naših bolesnika bile su 93 g/L, hematokrita 0,27; AST 71,52 IJ/L; ALT 37,74 IJ/L, a pomenuti autori navode prosečne vrednosti hemoglobina od 92,4 g/L. Terapija primenjena u citiranoj studiji uključivala je vazoaktivne lekove kod 27%, endoskopsku terapiju kod 10%, kombinaciju navedenog kod 45%, balon tamponadu kod 1% i drugo kod 17%. Kod naših bolesnika sa variksnim krvarenjem samo vazoaktivni lek primenjen je kod 32/61 (52,46%), kombinacija vazoaktivnog leka i endoskopske hemostaze kod 20/61 (32,78%), vazoaktivni lek + balon tamponada u 14,75% (9/61).

Prema studiji Nideggera i sar.¹⁹ za prognozu krvarenja kod bolesnika koji su ranije krvarili značajno je prisustvo tenzionog ascitesa (RR 3,4; 95% CI:2,5–5,9) i anamneza ranijih variksnih krvarenja (RR 4,4%; 95% CI:2,6–7,5), a kod onih koji prvi put krvare vrednosti protrombinskog vremena. Kod naših krvarećih bolesnika prisustvo ascitesa konstatovano je kod 42/86 (48,8%) bolesnika, a ranije krvarenje bilo je registrovano kod 41/86 (47%). Prosečne vrednosti protrombinskog vremena bile su $R = 1,48 (0,75–3,36)$.

U radu je konstatovano da je kod 64/86 (74,42%) krvarećih bolesnika bila prisutna trombocitopenija, a kod 20/86 (23,25%) leukopenija. Trombocitopeniju je imalo 45/75 (60%) bolesnika sa ascitesom, a njih 13/75 (17,33%) leukopeniju. Uzroci ovih poremećaja mogu biti splenomegalija ili nezavisno od nje drugi faktori – imunološki, toksični (prvenstveno toksično delovanje alkohola na koštano srž), kao i smanjenje sintetske funkcije jetre²⁰.

Navedeno bi moglo imati učešća u neinvazivnim kliničko-laboratorijskim metodama detekcije variksa, kao što je odnos između broja trombocita i prečnika slezine²¹. Prema Thomopoulosuovoj multivarijantnoj analizi faktori udruženi sa prisustvom L-variksa su broj trombocita (manje od $118 \times 10^9/L$), veličina slezine (više od 135 mm) i prisustvo ascitesa verifikovano ultrazvukom²².

Profilaksa variksnog krvarenja može biti primarna i sekundarna. U okviru primarne profilakse u našoj sredini najzastupljenija je primena neselektivnih beta blokatora, najčešće propranolola ili kombinovanje propranolola i izosorbid-5-mononitrata, a znatno je ređa primena endoskopskih metoda. Metode endoskopske hemostaze obavezne su u terapiji akutnog variksnog krvarenja i njegovoj sekundarnoj profilaksi, uz primenu medikamentne terapije.

Međutim, endoskopski tretman je samo lokalni i ne vodi do sniženja portnog pritiska, te se konstatuje rekurentnost variksa i kod bolesnika su neophodne kontrolne endoskopije.

Endoskopska injekciona skleroterapija iritansima koji vode do tromboze i konsekvantne fibroze variksa ima značajnu

primenu u zaustavljanju krvarenja, ali i sekundarnoj profilaksi. Endoskopske „band“ ligature, prema nekim autorima, su efektivne u prevenciji prvog variksnog krvarenja kod bolesnika sa M- i L- variksima, a osim značaja u zaustavljanju akutnog krvarenja izuzetno se primenjuju u sekundarnoj profilaksi^{23–26}.

Lečenje akutnog variksnog krvarenja podrazumeva restituciju volumena krvi, uspostavljanje hemodinamske i hematološke stabilnosti, primenu vazoaktivnih lekova, inhibitora protonske pumpe, antibiotika, prevenciju i terapiju hepatičke encefalopatije i poremećaja hemostaze, kao i sprečavanje komplikacija udruženih sa krvarenjem: bubrežne insuficijencije, infekcije i hepatičke dekompenzacije.

Preporučuje se sprovođenje ezofagogastroduodenoskopije tokom 12 sati od prijema u bolnicu, uz primenu endoskopske hemostaze u zavisnosti od endoskopskog nalaza. U slučaju neuspeha endoskopske i medikamentne terapije dolazi u obzir izrada portosistemskog šanta ili transjugularnog portosistemskog šanta (TIPS).

Šantne operacije imaju svoje mesto u lečenju portne hipertenzije i njenih komplikacija uz prihvat indikacija i kontraindikacija za njihovu primenu, kao i pravog momenta za operativno lečenje, imajući u vidu moguće akutne i hronične postoperativne sekvele. Zaustavljanje krvarenja konzervativnim metodama daje vremena za izbor najboljeg elektivnog lečenja, dok je hitna hirurgija „put bez povratka“²⁷. Treba imati u vidu da se u zavisnosti od tipa šanta (totalni, parcijalni i selektivni) menjaju i uslovi za izvođenje potencijalne transplantacione hirurgije koja je danas u ekspanziji.

Transjugularni portosistemski šant je metoda koja se koristi u okolnostima nekontrolisanog i recidivirajućeg krvarenja iz ezofagealnih i ezofagogastričnih variksa kada se kontrola krvarenja ne može uspostaviti endoskopski i medikamentno, kao i kod intraktabilnog ascitesa²⁸.

Transplantacija jetre je ultimativna metoda u slučaju neuspeha svih prethodnih modaliteta lečenja, ali sa poznatim ograničenjima kod ovih bolesnika²⁹.

Terapijski pristup kod krvarenja iz izolovanih gastričnih variksa bitno zavisi od uzroka njihovog nastanka (na primer ako je njihov nastanak posledica izolovane tromboze lijenalne vene rešenje je splenektomija), a sama endoskopska opturacija variksa N–butil-cijanoakrilatom ili izobutil-2-cijanoakrilatom ima brojne neželjene efekte i nije široko dostupna³⁰. Kod nekontrolisanog i/ili rekurentnog krvarenja iz izolovanih gastričnih variksa TIPS se pokazao kao mnogo efikasniji od endoskopske opturacije variksa^{31,32}.

Zaključak

Alkoholna ciroza jetre sa svojim posledicama i manifestacijama portne hipertenzije još uvek predstavlja ozbiljan terapijski problem. Od momenta postavljanja dijagnoze neophodna su stalna ambulantna kontrola i praćenje bolesnika, a u slučaju hospitalizacije multidisciplinarni pristup i intenzivan nadzor, najčešće inicijalno u jedinici intenzivne nege.

Rezultati našeg istraživanja pokazuju da su klinička slika i terapijski modaliteti alkoholne ciroze jetre u našoj sredini kompatibilni sa podacima vezanim za ovu problematiku koju su objavili drugih autori.

L I T E R A T U R A

1. Roberts SE, Goldacre MJ, Yeates D. Trends in mortality after hospital admission for liver cirrhosis in an English population from 1968 to 1999. *Gut* 2005; 54(11): 1615–21.
2. Glund C. Mortality from cirrhosis: lack of progress over the last 35 years. *Gut* 2005; 54(11): 1523–6.
3. Petrogiannopoulos C, Papamichael K, Goumas K, Soutos D. Management of variceal bleeding. *Ann Gastroenterol* 2004;17(4): 375–84.
4. De Franchis R. Evolving consensus in portal hypertension. Report of the Baveno IV consensus workshop on methodology of diagnosis and therapy in portal hypertension *J Hepatol* 2005;43(3): 167–76.
5. Carbonell N, Pauwels A, Serfaty L, Fourdan O, Lévy VG, Poupon R. Improved survival after variceal bleeding in patients with cirrhosis over the past two decades. *Hepatology* 2004; 40(3): 652–9.
6. Lo GH, Chen WC, Chen MH, Tsai WL, Chan HH, Cheng LC, et al. The characteristics and the prognosis for patients presenting with actively bleeding esophageal varices at endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2004; 60(5): 714–20.
7. Annet L, Materne R, Danse E, Jamart J, Horsmans Y, Van Beers BE. Hepatic flow parameters measured with MR imaging and Doppler US: correlations with degree of cirrhosis and portal hypertension. *Radiology* 2003; 229(2): 409–14.
8. Lemoine M, Katsabian S, Nabon P, Ganne-Carrie N, Kazemi F, Grando V, et al. Liver stiffness measurement is correlated with hepatic venous pressure gradient in patients with uncomplicated alcoholic and/or HVC related-cirrhosis. *Hepatology* 2006; 44(Suppl): 204A.
9. Bureau C, Metivier S, Peron JM, Robic MA, Rouquet O, Dupuis E, et al. Prospective assessment of liver stiffness for the noninvasive prediction of portal hypertension. *J Hepatol*. 2007; 46(Suppl. 1): 34A.
10. Burroughs AK, Triantos CK. Predicting failure to control bleeding and mortality in acute variceal bleeding. *J Hepatol* 2008; 48(2): 185–8.
11. North Italian Endoscopic Club for the Study and Treatment of Esophageal Varices. Prediction of the first variceal hemorrhage in patients with cirrhosis of the liver and esophageal varices. A prospective multicenter study. *N Engl J Med* 1988; 319(15): 983–9.
12. Jalan R, Hayes PC. UK guidelines on the management of variceal haemorrhage in cirrhotic patients. *Gut* 2000; 46(Suppl 3–4): 1–15.
13. Moore KP, Aithal GP. Guidelines on the management of ascites in cirrhosis. *Gut* 2006; 55 (Suppl 6): vi1–12.
14. Thalheimer U, Triantos CK, Samonakis DN, Patch D, Burroughs AK. Infection, coagulation, and variceal bleeding in cirrhosis. *Gut* 2005; 54(4): 556–63.
15. Lata J, Juránková J, Husová L, Senkyřík M, Díte P, Dastych M, et al. Variceal bleeding in portal hypertension: bacterial infection and comparison of efficacy of intravenous and peroral application of antibiotics—a randomized trial. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17(10): 1105–10.
16. Gines P, Guevara M, Arroyo V, Rodes J. Hepatorenal syndrome. *Lancet* 2003; 362(9398): 1819–27.
17. D'Amico G, De Franchis R. Upper digestive bleeding in cirrhosis. Post-therapeutic outcome and prognostic indicators. *Hepatology* 2003; 38(3): 599–612.
18. Bosch J, Abraldes JG. Management of gastrointestinal bleeding in patients with cirrhosis of the liver. *Semin Hematol* 2004; 41(1 Suppl 1): 8–12.
19. Nidegger D, Ragot S, Berthelémy P, Masliab C, Pilette C, Martin T, et al. Cirrhosis and bleeding: the need for very early management. *J Hepatol* 2003; 39(4): 509–14.
20. Giannini EG. Review article: thrombocytopenia in chronic liver disease and pharmacologic treatment options. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23(8): 1055–65.
21. Giannini E, Botta F, Borro P, Rizzo D, Romagnoli P, Fasoli A, et al. Platelet count/spleen diameter ratio: proposal and validation of a non-invasive parameter to predict the presence of oesophageal varices in patients with liver cirrhosis. *Gut* 2003; 52(8): 1200–5.
22. Thomopoulos KC, Labropoulou-Karatza C, Mimidis KP, Katsakoulis EC, Iconomou G, et al. Non-invasive predictors of the presence of large oesophageal varices in patients with cirrhosis. *Dig Liver Dis* 2003; 35(7): 473–8.
23. Lay CS, Tsai YT, Lee FY, Lai YL, Yu CJ, Chen CB, et al. Endoscopic variceal ligation versus propranolol in prophylaxis of first variceal bleeding in patients with cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21(2): 413–9.
24. Garcia-Pagan JC, De Gottardi A, Bosch J. Review article: the modern management of portal hypertension—primary and secondary prophylaxis of variceal bleeding in cirrhotic patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28(2): 178–86.
25. Norberto L, Polese L, Cillo U, Grigoletto F, Burroughs AK, Neri D, et al. A randomized study comparing ligation with propranolol for primary prophylaxis of variceal bleeding in candidates for liver transplantation. *Liver Transpl* 2007; 13(9): 1272–8.
26. Tripathi D, Ferguson JW, Kochar N, Leithead JA, Therapondos G, McAvoy NC, et al. Randomized controlled trial of carvedilol versus variceal band ligation for the prevention of the first variceal bleed. *Hepatology* 2009; 50(3): 825–33.
27. Mirković D, Mitrović M, Jovanović M. Portosystemic shunt in the treatment of portal hypertension. *Vojnosanit Pregl* 2010; 67(4): 321–8. (Serbian)
28. Abraldes JG, Bosch J. The treatment of acute variceal bleeding. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41(Suppl 3): S312–7.
29. Kotlyar DS, Burke A, Campbell MS, Weinrieb RM. A critical review of candidacy for orthotopic liver transplantation in alcoholic liver disease. *Am J Gastroenterol* 2008; 103(3): 734–43.
30. Tan PC, Hou MC, Lin HC, Liu TT, Lee FY, Chang FY, et al. A randomized trial of endoscopic treatment of acute gastric variceal hemorrhage: N-butyl-2-cyanoacrylate injection versus band ligation. *Hepatology* 2006; 43(4): 690–7.
31. Lo GH, Liang HL, Chen WC, Chen MH, Lai KH, Hsu PI, et al. A prospective, randomized controlled trial of transjugular intrahepatic portosystemic shunt versus cyanoacrylate injection in the prevention of gastric variceal rebleeding. *Endoscopy* 2007; 39(8): 679–85.
32. Garcia-Tsao G, Sanyal AJ, Grace ND, Carey W. Prevention and management of gastroesophageal varices and variceal hemorrhage in cirrhosis. *Hepatology* 2007; 46(3): 922–38.

Primljen 09. II 2010.
Revidiran 15. V 2010.
Prihvaćen 28. VI 2010.



Serotipizacija i analiza vrsta proizvedenih pigmenata kliničkih izolata *Pseudomonas aeruginosa*

Serotyping and analysis of produced pigments kinds by *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates

Nataša Stanković Nedeljković*, Branislava Kocić†, Branislav Todorović†, Srbobran Branković‡, Snežana Mladenović Antić§

Zdravstveni centar „Aleksinac“, *Higijensko-epidemiološka služba, †Hirurško-ortopedska služba, Aleksinac, Srbija; ‡Medicinski fakultet, Niš, Srbija; §Insitut za javno zdravlje, Niš, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Prema *International Antigenic Typing Scheme Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) deli se na 20 serotipova. *P. aeruginosa* jedan je od najvažnijih uzročnika bolničkih infekcija, pa je njegova serotipizacija važna iz epidemioloških razloga. Cilj ove studije bio je serotipizacija kliničkih izolata *P. aeruginosa*, analiza prisustva pojedinih serotipova *P. aeruginosa* u pojedinim bolesničkim materijalima i analiza proizvodnje fluorescina i piocijanina kod različitih serotipova. **Metode.** U mikrobiološkoj laboratoriji Zdravstvenog centra „Aleksinac“ ispitana su 233 izolata *P. aeruginosa*. Izolati *P. aeruginosa* presejavani su na: pseudomonas izolacioni agar, pseudomonas agar bazu, acetamidni agar, asparagin prolin bujon, pseudomonas asparagin bujon, Bushnell-Haasov agar, cetrimid agar bazu, King A i King B podlogu, podlogu za proizvodnju piocijanina, podlogu za proizvodnju fluorescina i triptikaza soja agar (Himedia). Za aglutinaciju korišćeni su polivalentni i monovalentni serum (Biorad). Proizvodnja pigmenata praćena je na osnovu porasta na podlogama za proizvodnju fluorescina i piocijanina. **Rezultati.** Serološki, identifikovani su sledeći serotipovi: O1, O3, O4, O5, O6, O7, O8, O10, O11 i O12. Najprisutniji bili su serotipovi O1 (38%), O11 (19%) i O6 (8,6%). Izolati koji nisu pokazali pozitivnu reakciju aglutinacije ni sa jednim serumom činili su 18,6% (42) uzoraka, dok je 21 izolat aglutinisao samo sa polivalentnim serumima. Najveći broj izolata *P. aeruginosa* proizvodio je fluorescin (58,54%), 53 (22,94%) piocijanin, a 49 (21,21%) sojeva oba pigmenta. **Zaključak.** *P. aeruginosa* izolovan je najčešće iz urina, sputuma i drugih bolesničkih materijala. Najčešće izolovani serotipovi *P. aeruginosa* bili su O1, O6 i O11. Najveći broj izolata *P. aeruginosae* proizvodio je fluorescin (58,54%) dok je 22,94% proizvodio piocijanin, a 21,21% oba pigmenta.

Ključne reči:

pseudomonas aeruginosa; infekcija, intrahospitalna; serotipizacija.

Abstract

Background/Aim. *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) is divided into 20 serotypes on the base of the International Antigenic Typing Scheme. *P. aeruginosa* serotyping is important because of few reasons but epidemiological is the most important. The aim of the study was serotyping of *P. aeruginosa* clinical isolates, analysing of single clinical isolates *P. aeruginosa* present in the particular samples, and analysing of pyocyanin and fluorescin production in different isolates of *P. aeruginosa*. **Methods.** A total of 233 isolates of *P. aeruginosa*, isolated in the microbiological laboratory of the Health Center “Aleksinac”, Aleksinac, were examined. *P. aeruginosa* isolates were put on the pseudomonas isolation agar, pseudomonas agar base, acetamid agar, asparagin prolin broth, pseudomonas asparagin broth, Bushnell-Haas agar, cetrimid agar base, King A and King B plates, plates for pyocyanin production, plates for fluorescin production and tripticasa soya agar (Himedia). Polyvalent and monovalent serums were used in the agglutination (Biorad). Pigment production was analysed on the bases of growth on the plates for pyocyanin and fluorescin production. **Results.** Serologically, we identified the serovars as follows: O1, O3, O4, O5, O6, O7, O8, O10, O11 and O12. O1 (38%) was the most often serovar, then O11 (19%) and O6 (8.6%). A total of 18.6% (42) isolates did not agglutinate with any serum, whereas 21 isolates agglutinated only with polyvalent serum. The majority of *P. aeruginosa* isolates produced fluorescin, 129 (58.54%), 53 (22.94%) produced pyocyanin whereas 49 (21.21%) isolates produced both pigments. **Conclusion.** *P. aeruginosa* was isolated most of the from urine, sputum and other materials. The majority often serovars were O1, O6 and O11. The most of isolates produced fluorescin (58.54%), while 22.94% produced pyocyanin and 21.21% both pigments.

Key words:

pseudomonas aeruginosa; cross infection; serotyping.

Uvod

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*) spada u vodeće uzročnike bolničkih infekcija zbog svojih fizioloških osobina¹⁻¹¹. Tipizacija izolata *P. aeruginosa* važna je zbog epidemioloških ispitivanja jer omogućava lakše praćenje prisustva pojedinih serotipova, pomaže da se lociraju izvori infekcija i epidemija i prati rezistencija bacila¹². Fenotipske metode tipizacije su: serotipizacija, biotipizacija, mikrobiološka ispitivanja osetljivosti na antibiotike, bakteriofag tipizacija, piocin tipizacija, multilokularna enzimska elektroforeza (MEE), masena spektrofotometrija (MS), DNAb tipizacija i druge^{13,14}. Genotipske metode su: direktna i reverzna hibridizacija, ribotipizacija, analiza restrikcionih endonukleaza (REA), PSR fingerprinting, analiza multilokularnih promenljivih gena, ispitivanje varijabilnih promenljivih parova (MLVA), tipizacija pojedinih sekvenci (SLST), genotipizacija profila plazmida (SNP) i druge¹⁵. Rezultati serotipizacije *P. aeruginosa* koriste se i u imunološkim, genetičkim i biohemijским ispitivanjima¹⁶⁻²¹.

P. aeruginosa proizvodi dve različite vrste LPS, označene kao A i B. Razlika u građi B-antigena deli *P. aeruginosa* na 20 različitih serotipova, kao što je to definisano u *International Antigenic Typing Scheme*^{22,23}. Temelji serotipizacije *P. aeruginosa* postavljeni su početkom prošlog veka. Aoki, 1926. god, aglutinacionom metodom klasifikovao je 50 kliničkih izolata u 18 serotipova. Kanzaki, 1934. god, klasifikovao je 102 izolata u 34 serotipa čime je izmenjena prvobitna klasifikacija. Wron, 1961, uspostavio je podelu na osnovu 13 antiseruma, a sojevi su podeljeni na tri grupe: A (tipovi 1, 3, 4, 6, 10), B (tipovi 2, 5, 7, 8) i C (tipovi 9, 11, 12, 13). U Japanu 1976. Homma klasifikovao je 13 serotipa *P. aeruginosa* aglutinacionom slajd metodom. Zatim, Terada i sar. 1977. god. predložili su grupisanje 17 serotipova u 13 grupa, od A do M. Kao dodatak tome, grupu N predložili su Terada i Sugiyama 1982. god. Liu je predložio internacionalni antigen tipizirajući sistem (IATS) 1983. god. Na osnovu termostabilnih antigena uvedena su tri nova serotipa, a 1990. još tri serotipa²⁴⁻²⁷.

Proizvodnja pigmenta jedna je od najvažnijih karakteristika *P. aeruginosa*. Plavičasti pigment, piocijanin, po hemijskom sastavu je derivat fenazina. Struktura fluorescentnog žutozelenog pigmenta pioverdina uključuje dihidrosikinolinske derivate, priključene tip-specifične peptide, obično karboksilnu kiselinu ili amide i kratke tip specifične peptide (6–12 aminokiselina). Peptidni deo molekula isti je kod svih sojeva, a postoji razlika u acil grupi. Postoje tri tipa pioverdina a, označeni kao I, II i III²⁸.

Cilj ove studije bio je serotipizacija kliničkih izolata *P. aeruginosa*, analiza prisustva pojedinih serotipova *P. aeruginosa* u različitim bolesničkim materijalima, kao i analiza proizvodnje fluorescina i piocijanina kod pojedinih serotipova i u različitim bolesničkim materijalima.

Metode

Istraživanjem, koje je sprovedeno od avgusta do decembra 2009. god, obuhvaćena su 233 klinička izolata *P. aeruginosa*, izolovana u mikrobiološkoj laboratoriji Higijen-

ske-epidemiološke službe Zdravstvenog centra „Aleksinac“ i Instituta za javno zdravlje u Nišu. Izolati su uzeti iz sledećih bolesničkih materijala: urinokultura, briseva iz rana, uva, grla i nosa, sputuma, punktata i sekreta dojke.

Od svih bolesnika kod kojih je izolovan *P. aeruginosa* anketom su uzimani anamnestički podaci. Bolesnicima su postavljana pitanja u zavisnosti od toga iz kog bolesničkog materijala je izolovan *P. aeruginosa*. Bolesnici kod kojih je *P. aeruginosa* izolovan iz urina, pitani su da li su imali neku operaciju urogenitalnog trakta i da li nose kateter. Ako je *P. aeruginosa* izolovan iz uzoraka respiratornog trakta bolesnici su pitani da li su odlazili na inhalacije u zdravstvene ustanove. Bolesnici kod kojih je uzročnik izolovan iz briseva iz rana odgovarali su na pitanje da li su operisani i da li odlaze na previjanje u neku zdravstvenu ustanovu.

Izolacija i identifikacija bakterija

Izolacija *P. aeruginosa* iz ispitivanih bolesničkih materijala vršena je klasičnim mikrobiološkim metodama²⁹. Identifikacija *P. aeruginosa* obavljena je na osnovu njihovih mikroskopskih, kulturalnih i fiziološko-biohemijških osobina. Izolati su presejavani na podloge specijalizovane za *P. aeruginosa*: pseudomonas agar bazu, acetamidni agar, pseudomonas izolacioni agar, asparagin prolin bujon, pseudomonas asparagin bujon, Bushnell-Haasov agar, cetrimid agar bazu, King A i King B podlogu, podlogu za proizvodnju piocijanina, podlogu za proizvodnju fluorescina i triptikaza soja agar (Himedia). Zasejane podloge inkubisane su 24 časa aerobno.

Aglutinacija

Izolati *P. aeruginosa* aglutinirani su sa triptikaza soja agara, slajd aglutinacionom tehnikom^{14,16}. Za aglutinaciju korišćeni su polivalentni i monovalentni zečji antiserumi (Biorad). Set za aglutinaciju sadrži četiri polivalentna i 16 monovalentnih seruma. Polivalentni serumi su PMA, PMF, PME i PMC. Grupa PMA obuhvata sledeće serotipove: O1, O3, O4 i O6 a, PME O2, O5, O15 i O16, dok grupa PMC obuhvata O9, O10, O13 i O14, a PMF O7, O8, O11 i O12.

Aglutinacija je opisivana kao pozitivna ako je dolazilo do jasne reakcije aglutinacije na pločici nakon mešanja kulture i seruma. Ispitivani izolati prvo su aglutinirani sa polivalentnim serumima, a nakon toga sa monovalentnim. Izolati su označavani kao netipibilni (NT), ako su bili poliaglutibilni, autoaglutibilni ili nisu pokazali pozitivnu reakciju aglutinacije ni sa jednim serumom. Neki izolati pokazali su pozitivnu reakciju aglutinacije samo sa polivalentnim serumima, ali ne pojedinačnim.

Proizvodnja pigmenta

Proizvedeni pigmenti ispitivanih izolata bili su uočljivi na skoro svim korišćenim podlogama. S obzirom na to da neki izolati luče više vrsta pigmenta, rezultati proizvodnje pigmenta očitavani su samo sa specijalizovanih podloga za proizvodnju pigmenta: pseudomonas podlozi za diferencijaciju fluorescina i pseudomonas podlozi za diferencijaciju piocijanina. Proizvodnja pigmenta očitavana je na osnovu izgleda i boje kolonija na specijalizovanim podlogama. Proizvodnja fluorescina očitavana je kao pozitivna ako je dolazilo

do proizvodnje zelenih fluorescentnih kolonija na pseudomonas podlozi za diferencijaciju fluorescina (slika 1). Proizvodnja piocijanina očitavana je kao pozitivna ako je dolazilo do proizvodnje plavog pigmenta na pseudomonas podlozi za proizvodnju piocijanina. Neki izolati proizvodili su fluorescin, drugi piocijanin, a neki oba pigmenta. Metoda je orijentaciona i pokazuje koju vrstu pigmenta, kao faktora virulencije proizvodi *P. aeruginosa*.



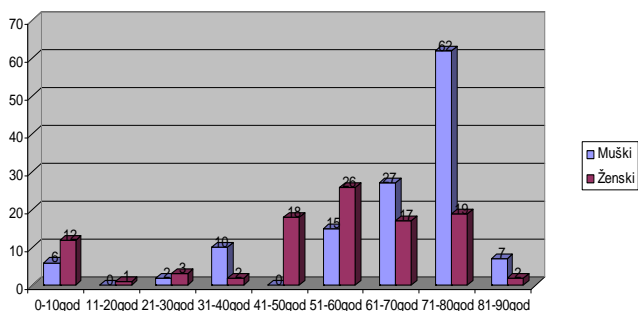
Sl. 1 – Izgled kolonija *P. aeruginosae* na pseudomonas podlozi za diferencijaciju fluorescina

Statistička obrada podataka

Datoteka je formirana u računar u programu SPSS 12,0 i pomoću njega je vršena analiza podataka. Za analizu dobijenih rezultata primenjeni su χ^2 test, C-koeficijent kontigencije i test parametrijskih i neparametrijskih malih i velikih uzoraka.

Rezultati

U toku ispitivanja analizirana su 233 izolata *P. aeruginosa*, izolovana od 110 ispitanika. U analiziranoj grupi bilo je 57 (51,81%) muškaraca i 53 (48,18%) žena ($\chi^2 = 0,14$; $C = 0,03$). Od muškaraca uzeta su 133 (57,08%) uzorka, a od žena 100 (42,91%) ($t = 1,06$; $p > 0,01$). Pojedini ispitanici imali su veći broj uzoraka: dva, tri, jedan ispitanik čak 14 i svi su prikazani u radu. Demografske karakteristike ispitivane populacije prikazane su na slici 2. Ambulantno uzorkovani materijali činili su većinu uzoraka (90,12%).



Sl. 2 – Starosne i demografske karakteristike ispitivane populacije

P. aeruginosa najčešće je izolovan kod ispitanika starosti od 50 do 80 godine, koji su činili 71,7% populacije. Kod ispitanika u 8. deceniji bacil je izolovan iz 35% uzoraka, u 7. kod 19%, tako da je u te dve grupe bilo 54% ispitanika.

Bolesnički materijali iz kojih je izolovan *P. aeruginosa* prikazani su u tabeli 1. Bacil je najčešće izolovan iz urinokultura (36,79%), briseva rana (29%), sputuma (17,74%), dok su sojevi iz brisa grla, uva i nosa, sekreta dojke i punktata bili manje zastupljeni ($\chi^2 = 31,41$; $C = 0,34$) (tabela 1).

Tabela 1
Prikaz različitih vrsta uzoraka iz kojih je izolovan *P. aeruginosa*

Vrsta uzorka	n	%
Urinokultura	85	36,79
Bris rane	67	29
Sputum	41	17,74
Bris grla	19	8,22
Bris uva	14	6,06
Bris nosa	3	1,2
Sekret dojke	1	0,43
Punktat	1	0,43

Identifikovani serotipovi pripadali su svim serološkim grupama: PMA, PME, PMF i PMC. Najveći broj identifikovanih serotipova pripadao je serogrupama PMA (49,6%) i PMF (21,1%), a serotipovi koji su pripadali drugim bili su ređi ($\chi^2 = 37,64$; $C = 0,4$) (tabela 2).

Tabela 2
Grupna pripadnost identifikovanih serotipova *P. aeruginosa*

Serološka grupa	n	%
PMA	114	49,6
PME	19	8,2
PMC	5	2,2
PMF	49	21,1

Identifikovani su sledeći serotipovi: O1, O3, O4, O5, O6, O7, O8, O10, O11 i O12. Reakcijom aglutinacije najčešće su identifikovani serotipovi O1, O11, O6, a ostali serotipovi bili su prisutni u manjem procentu (tabela 3). Serotip O1 bio je prisutan u 38% uzoraka, O11 u 19% a O6 u 8,6%. Ukupno, 21 izolat aglutinisao je samo sa polivalentnim, ali ne i monovalentnim serumima. Izolati koji su pokazali pozitivnu reakciju aglutinacije samo sa grupnim serumima reagovali su najčešće sa grupnim PME serumom (7,8%). Mali broj izolata reagovao je samo sa PMA (0,4%) i PMF (0,9%) serumom. Ukupno, 43 (18,6%) izolata nije aglutinisalo ni sa jednim grupnim serumom i oni su označeni kao netipibilni. Dva izolata kod jednog ispitanika pokazala su pozitivnu reakciju aglutinacije sa dva različita antiseruma i oni su tako i prikazani.

Analizom pojedinačnih uzoraka uočava se da je u urinokulturama najizolovaniji serotip O11 (11,2%) ($\chi^2 = 9,21$; $C = 0,31$ za $p > 0,95$). Ukupno, 6,5% izolata aglutinisalo je samo sa PME serumom, dok 8,6% izolata nije aglutinisalo ni sa jednim serumom. Serotip O1 bio je prisutan kod 6,5% slučajeva u urinokulturama. Ostali serotipovi bili su ređe prisut-

Tabela 3

Prevalencija pojedinih serotipova *P. aeruginosa* i vrste uzoraka iz kojih su izolovani

Vrsta uzorka	Serotipovi <i>P. aeruginosa</i>													
	O1	O3	O4	O5	O6	O7	O8	O10	O11	O12	NT	PME	PMA	PMF
Urinokultura														
broj sojeva	15	–	4	1	4	–	–	–	26	–	20	15	–	–
%	6,5	–	1,7	0,4	1,7	–	–	–	11,2	–	8,6	6,5	–	–
Bris rane														
broj sojeva	21	1	1	–	12	–	–	–	15	1	13	1	1	1
%	9	0,4	0,4	–	5,2	–	–	–	6,5	0,4	5,6	0,4	0,4	0,4
Sputum														
broj sojeva	35	–	–	–	2	–	–	–	2	–	2	–	–	–
%	15,1	–	–	–	0,9	–	–	–	0,9	–	0,9	–	–	–
Bris iz grla														
broj sojeva	8	–	–	–	2	1	–	–	1	–	6	–	–	1
%	3,5	–	–	–	0,9	0,4	–	–	0,4	–	2,6	–	–	0,4
Bris iz nosa														
broj sojeva	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–
%	0,9	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,4	–	–	–
Bris iz uva														
broj sojeva	5	–	–	–	–	–	1	5	–	–	1	2	–	–
%	2,2	–	–	–	–	–	0,4	2,2	–	–	0,4	0,9	–	–
Sekret dojke														
broj sojeva	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
%	0,4	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Punktat														
broj sojeva	–	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–
%	–	–	–	–	0,4	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Ukupno														
broj sojeva	87	1	5	1	21	1	1	5	44	1	3	4	18	1
%	38	0,4	2,2	0,4	9,1	0,4	0,4	2,2	19	0,4	18,6	7,8	0,4	0,9

ni. U brisevima rane bio je najčešće prisutan serotip O1 (9%), pa O11 (6,5%) i O6 (5,2%) ($\chi^2 = 8,5$; $C = 0,33$; $p > 0,95$). U ovim uzorcima 5,6% izolata nije aglutinisalo ni sa jednim grupnim serumom. U sputumima serotip O1 činio je 15,1% izolata, a ređe su identifikovani O6 i O11 (u po 4,87% uzoraka) ($\chi^2 = 25,06$; $C = 0,78$ za $p > 0,05$).

Najveći broj izolata *P. aeruginosa* produkovao je fluorescin, 129 (58,54%), dok je 53 (22,94%) produkovalo piocijanin. Ukupno 49 izolata produkovalo je oba pigmenta (21,21%) ($\chi^2 = 17,58$; $C = 0,26$; $p > 0,001$). Proizvodnja pigmenta kod izolata prikazana je u tabeli 4.

Ako analiziramo proizvodnju pigmenta *P. aeruginosa* kod različitih uzoraka, uočava se da su fluorescin najučestalije proizvodili izolati iz urinokultura (64,4%), ($\chi^2 = 14,49$;

$C = 0,37$; $p > 0,001$), briseva rana (51,5%), ($\chi^2 = 1,9$; $C = 0,2$; $p > 0,95$) i sputuma (46,7%), ($\chi^2 = 4,002$, $C = 0,23$; $p > 0,95$), a izolati iz drugih bolesničkih materijala ređe (tabela 5).

Anamnestički podaci dobijeni od bolesnika kod kojih je izolovan *P. aeruginosa* govore da su svi imali kontakte sa zdravstvenim ustanovama. Bolesnici kod kojih je bacil izolovan iz urina operisali su prostatu ili su nosili kateter. Ispitanici kod kojih je bacil izolovan iz sputuma i briseva iz grla i nosa, odlazili su na inhalacije. Ispitanici kod kojih je *P. aeruginosa* bio prisutan u uzorcima briseva rana, sekreta dojke i punktata odlazili su na previjanje u hiruršku ambulantu ili bili hospitalizovani u hirurško i ginekološko odeljenje.

Tabela 4

Proizvodnja pigmenta pojedinih serotipova *P. aeruginosa*

Vrsta uzorka	Serotipovi <i>P. aeruginosa</i>													
	O1	O3	O4	O5	O6	O7	O8	O10	O11	O12	NT	PME	PMA	PMF
Fluorescin														
broj sojeva	48	1	2	1	12	1	1	–	31	–	20	11	–	1
%	55,2	100	40	100	57,1	100	100	–	70,4	–	46,5	61,1	–	50
Piocijanin														
broj sojeva	16	–	3	–	6	–	–	3	6	1	18	–	–	–
%	18,4	–	60	–	28,6	–	–	66,6	13,6	100	41,8	–	–	–
Fluorescin i piocijanin														
broj sojeva	23	–	–	–	3	–	–	2	7	–	5	7	1	1
%	26,4	–	–	–	14,3	–	–	33,3	15,9	–	11,6	38,9	100	50
Ukupno														
broj sojeva	87	1	5	1	21	1	1	5	44	1	43	18	1	2
%	38	0,4	2,2	0,4	9,1	0,4	0,4	2,2	19	0,4	18,6	7,8	0,4	0,9

Tabela 5

Proizvodnja pigmenta *P. aeruginosa* kod različitih uzoraka

Vrsta pigmenta	Vrsta uzorka							Punktat	Sekret dojke
	Urinokultura	Sputum	Bris						
			rana	uva	grla	nosa			
Fluorescin broj sojeva	56	21	35	3	9	1	–	1	
%	64,4	46,7	51,5	37,5	45	100	–	100	
Piocijanin broj sojeva	9	16	21	1	4	–	–	–	
%	10,4	35,6	30,9	12,5	20	–	–	–	
Fluorescin i piocijanin broj sojeva	22	8	12	4	7	–	1	–	
%	25,3	17,8	17,6	50	20	–	100	–	

Diskusija

Svaka od metoda tipizacije *P. aeruginosa* ima i prednosti i nedostatke. Ispitivanja osjetljivosti dolaze do izražaja kod sojeva koji su multirezistentni. Bakteriocin tipizacija nije ponovljiva¹³. Nedostaci bakteriofag tipizacije su slabija ponovljivost i povremeno nedovoljna dostupnost bakteriofaga. Analiza plazmidskih ispitivanja daje brze rezultate, ali ta metoda može biti nedovoljno osjetljiva¹³. Analize DNK su najbolje. Ipak, najpotpuniji rezultati dobijaju se kombinacijom više metoda. *Study Group for Epidemiologic Markers* (ESGEM) u okviru *European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (ESCMID) bavi se standardizacijom tipizacionih metoda¹⁵. Neophodna je koordinacija metodoloških postupaka koji se izvode u različitim delovima sveta.

Serotipizacija *P. aeruginosa* je ponovljiva, jednostavna za izvođenje, brzo se izvodi i osjetljiva je. U odnosu na druge metode relativno je jeftina. Za većinu drugih metoda ispitivanja potrebna je dodatna oprema, te je serotipizacija adekvatna tipizaciona metoda za epidemiološka ispitivanja.

Serotipizacija *P. aeruginosa* ima i neka ograničenja. Izolati koji su neaglutibilni, poliaglutibilni ili autoaglutibilni označavaju se kao netipibilni¹⁶. Neki izolati reaguju samo sa polivalentnim, a ne pojedinačnim serumima. Serotizacija može biti otežana kod izolata koji su kultivisani na krvnim agar pločama ili nakon supkultivacije. Kod ovih izolata može se desiti poliaglutibilnost. U tim slučajevima preporučuje se zagrevanje izolata 10 min na 120°C, pa, nakon hlađenja, ponovno izvođenje reakcije aglutinacije¹². Izolati kod hroničnih bolesti, naročito kod cistične fibroze, zbog smanjene količine lipopolisaharida (LPS), preciznije zbog manjka D-glukoze i L-ramnoze, ne mogu aglutinirati²². Soler i sar.²⁴ bavili su se serotipizacijom netipibilnih izolata *P. aeruginosa*. Aglutinisalo je 108 izolata iz 14 različitih bolnica. Među ovim izolatima bili su najzastupljeniji O1 i O13. Mogućnost aglutinacije kod netipibilnih izolata povećava se ako se u glikozni bujon sa kulturom *P. aeruginosa* doda amikacin u količini od 1/6 minimalne inhibitorne koncentracije za taj soj.

Serotipovi O2, O5, O16, O18 i O20, koji čine drugu serogrupu, pokazuju imunohemijski ukrštenu reaktivnost, a hemijski se razlikuju među sobom na osnovu tipa glikozidne

veze ili izomera monosaharida i po prisustvu ili odsustvu acetil supstituenata u šećerima antigena²⁹.

P. aeruginosa u našem ispitivanju nije bio statistički značajnije prisutan ni kod jednog pola. Bacil je izolovan sa najvećom statističkom značajnošću kod starijih ispitanika, žena u 6. deceniji (11,2%) i muškaraca u 7. (11,7%) i 8. deceniji (26,8%) ($\chi^2 = 22,13$; $C = 0,29$).

P. aeruginosa najčešće je izolovan iz urina, rana i uzoraka respiratornog trakta: sputuma i brisa grla i nosa. Identifikovani su sledeći serotipovi: O1, O3, O4, O5, O6, O7, O8, O10, O11 i O12. Veliki broj prisutnih serotipova opravdava primenu serotipizacije kao tipizacione metode koja se primenjuje u kontroli i nadzoru nad infekcijama, posebno bolničkim. Prema podacima američkog Centra za kontrolu bolesti *Pseudomonas* spp. je na drugom mestu u bolničkim infekcijama u SAD (od gram-negativnih mikroorganizama *E. coli* izaziva 10% infekcija, vrste roda *Pseudomonas* 8%, *Enterobacter* 7%, *Proteus* 4%, *Klebsiella* 3% i to kod infekcija kože i sluznica, respiratornog sistema mokraćnog sistema³⁰. Kada se ovome doda i činjenica da je otporan na uslove okoline, na kvarterne amonijeve baze, a osjetljiv na kiseline i hlorne preparate, onda ova ubikvitarna bakterija, koja se može naći i u probavnom sistemu ljudi, predstavlja veoma značajnog izazivača bolničkih infekcija, pre svega kod imunokompromitovanih³¹. Još uvek nema dovoljno podataka o kretanju pojedinih serotipova u našoj sredini, naročito u bolničkoj. Osim serotipizacije preporučuje se primena i neke dodatne metode, analiza osjetljivosti na antibiotike, na primer, ili genetička ispitivanja.

Rezultati našeg ispitivanja donekle se razlikuju od rezultata ispitivanja koje su obavili Tomanović i sar.³² 1991. Ispitivana je proizvodnja piocijanina, a serotipizacijom sojeva *P. aeruginosa* došlo se do novih saznanja o bolničkim infekcijama u našoj zemlji. Analizirano je 235 izolata od 131 ispitanika. Najčešće identifikovani serotipovi bili su O11 (21%), O6 (18%) i O12 (16%)³².

Različiti serotipovi preovlađuju u pojedinim delovima sveta i imaju različiti klinički značaj^{33–38}. Jamasbi i Proudfoot³⁹ vršili su serotipizaciju 167 izolata *P. aeruginosa*, dobijenih iz Ohajo bolnice, zajedno sa ispitivanjem osjetljivosti i genetskim ispitivanjima (PSR). Serotipizacija je vršena tehnikom slajd aglutinacije. Od 167 sojeva, 25 nije bilo tipibilno. Serotip O11 bio je najzastupljeniji, dok serotipovi O8, O12, O13 i O17 nisu detektovani.

Winstanley i sar.⁴⁰ vršili su fenotipska i genotipska ispitivanja 63 izolata *P. aeruginosa* koji su izazivali ulcerozni keratitis. Ispitivani su izolati iz šest bolnica iz Londona, Birminghama, Njukastla, Bristol, Mančestera i Liverpoola. Konačna identifikacija izolata vršena je pomoću PCR testa za *exoA* gen. Serotipizacija je obavljena komercijalnim kompletom Biorad. Identifikovano je 59 od 63 izolata. Preostala četiri izolata aglutinisala su polivalentni PME serum, ali ne monovalentne serume. Ukupno, 61% izolata pripadalo je serotipovima O1 i O11. Dominantni serotipovi O1 i O11 bili su povezani sa tipom a flagelina.

Ispitivanje u Ljubljani obuhvatilo je 208 kliničkih izolata *P. aeruginosa*. Vršena je serotipizacija i ispitivanja osetljivosti na antibiotske lekove. Kod 16 izolata vršena su i genetička ispitivanja. Najzastupljeniji bio je serotip O11 (36% izolata), pa O6 (14,4% izolata). Ukupno 25,6% izolata pripadalo je drugim serotipovima, a 20,2% aglutinisalo je sa više seruma. Rezišencija na antibiotike bila je najveća kod serotipa O11³⁶.

Autori iz Indije ispitivali su 19 serotipova *P. aeruginosa* koji su korišćeni da se njima eksperimentalno izazovu urinarne infekcije kod miša. Osim serotipizacije merili su nivo enzima koji su važni faktori patogenosti: proteaze, elastaze, alginate, hemolizin, piohelin, pioverdin i fosfolipaze C. Serotipizacijom najčešće je identifikovan serotip O11. Svi izolati lučili su ispitivane enzime i njihova proizvodnja opisivana je kao niska i visoka. Uočena je najveća podudarnost između proizvodnje hemolizina i patogenog efekta bakterije⁴¹.

Pigmenti *P. aeruginosa* na različite načine učestvuju u nastanku i održavanju lezija u inflamiranom tkivu. Pocijanin je toksičan za respiratorni epitel i deluje na strukturu ćelija i funkciju pila. Služi kao ćelijski transmitter koji učestvuje u regulaciji ekspresije gena. Pocijanin i njegov derivat piohelin vezuju se za jone gvožđa, pa tako omogućavaju opstanak *P. aeruginosa*. Pioverdin je toksičan za respiratorne ćelije. Utiče na pokretljivost ćelija i narušava integritet membrane. Deluje baktericidno na mnoge bakterije. Zato proizvodnja pigmenta nije samo fenotipska karakteristika, nego ukazuje i na nivo patogenosti pojedinog soja.

Analizom proizvodnje pigmenta došli smo do saznanja da su izolati *P. aeruginosa* statistički značajnije lučili fluorescein (79,75%) nego pocijanin (44,14%). Najčešće identifikovani serotip O1 pratila je proizvodnja fluoresceina kod 55,2% uzoraka, O11 kod 70,4%, a O6 kod 57,1%. Ako se *P. aeruginosa* razvija u atmosferi u kojoj nema dovoljno kiseonika, može se desiti da se pigment ne uočava, pošto se nalazi u leuko obliku. Takve kulture treba izložiti dejstvu vazduha jer pigment prelazi u oksidisan oblik i uočava se. Ako ni to ne pomogne, pomoću testa citohrom-oksidge može se proveriti da li soj uopšte proizvodi pigment²⁸.

Lamont i Martin²⁸ ispitivali su 14 gena za koje se pretpostavlja da su vezani za proizvodnju pioverdina. Sintetisane su jedinice sa mutantnim ispitivanim genima. Identifikovano je osam novih pvd gena, pored šest starih. Prisustvo homolognih pvd gena određivano je Southern blot analizama. Pet pvd gena bilo je ograničeno na sojeve *P. aeruginosa* koji proizvode isti pioverdin kao serotip O1, ukazujući da oni direktno sintetišu tip-specifične peptide. Ostali geni bili su prisutni kod svih serotipova *P. aeruginosa*. Geni neophodni za sintezu pioverdina najbolje su opisani kod serotipa O1 i nalaze se na 47 min na genetičkoj mapi. Odvojeni klaster četiri gena (pvcABCD) na 66–70 min na genetičkoj mapi potreban je za sintezu pioverdina. Pvc mutanti su sposobni da sintetišu pioverdin, pa ovi geni nisu neophodni za sintezu pigmenta.

Zaključak

Najveći broj kliničkih izolata *P. aeruginosa* potiče iz urinokultura, briseva rana i sputuma. Identifikovani su sledeći serotipovi: O1, O3, O4, O5, O6, O7, O8, O10, O11 i O12. Najčešće izolovani serotipovi *P. aeruginosa* su O1, O11 i O6. Analizom proizvodnje pigmenta ustanovljeno je da većina izolata proizvodi fluorescein (54,47%), manji broj proizvodi oba pigmenta, a najmanji broj sojeva proizvode pocijanin. Serotipizacija *P. aeruginosa* je ponovljiva, jednostavna za izvođenje, brza osetljiva je i prikladna za epidemiološka ispitivanja. S obzirom na veliki broj identifikovanih serotipova preporučuje se pronalaženje izvora infekcija i praćenje kretanja pojedinih serotipova u našoj populaciji.

L I T E R A T U R A

1. Severino P, Magalhães VD. The role of integrons in the dissemination of antibiotic resistance among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from an intensive care unit in Brazil. *Res Microbiol* 2002; 153(4): 221–6.
2. Loughlin MF, Jones MV, Lambert PA. *Pseudomonas aeruginosa* cells adapted to benzalkonium chloride show resistance to other membrane-active agents but not to clinically relevant antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49(4): 631–9.
3. Li L, Ledizet M, Kar K, Koski RA, Kazmierczak BI. An indirect enzyme-linked immunosorbent assay for rapid and quantitative assessment of Type III virulence phenotypes of *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2005; 4: 22.
4. Worgall S, Krause A, Qin J, Job J, Hackett NR, Crystal RG. Protective immunity to *Pseudomonas aeruginosa* induced with a capsid-modified adenovirus expressing *P. aeruginosa* OprF. *J Virol* 2007; 81(24): 13801–8.
5. Komiyama K, Habbick BF, Martin T, Tumber SK. Characterization by pyocine typing and serotyping of oral and sputum strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis patients. *Can J Microbiol* 1987; 33(3): 221–5.
6. Loureiro MM, de Moraes BA, Mendonca VL, Quadra MR, Pinheiro GS, Asensi MD. *Pseudomonas aeruginosa*: study of antibiotic resistance and molecular typing in hospital infection cases in a neonatal intensive care unit from Rio de Janeiro City, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002; 97(3): 387–94.
7. Albrecht MT, Wang W, Shamova O, Lehrer RI, Schiller NL. Binding of protegrin-1 to *Pseudomonas aeruginosa* and Burkholderia cepacia. *Respir Res* 2002; 3: 18.
8. Estabbanati HK, Kashani PP, Ghanaatpisheb F. Frequency of *Pseudomonas aeruginosa* serotypes in burn wound infections and their resistance to antibiotics. *Burns* 2002; 28(4): 340–8.

9. Englender M, Harell M, Guttman R, Segal S. Typing of *Pseudomonas aeruginosa* ear infections related to outcome of treatment. *J Laryngol Otol* 1990; 104(9): 678–81.
10. Parks QM, Young RL, Poch KR, Malcolm KC, Vasil ML, Nick JA. Neutrophil enhancement of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development: human F-actin and DNA as targets for therapy. *J Med Microbiol* 2009; 58(Pt 4): 492–502.
11. O'May CY, Sanderson K, Roddam LF, Kirov SM, Reid DW. Iron-binding compounds impair *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation, especially under anaerobic conditions. *J Med Microbiol* 2009; 58(Pt 6): 765–73.
12. Ninane G, Harper PB. The in vitro activity of ceftazidime against a multi-resistant serotype 12 *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection* 1983; 11 Suppl 1: S16–9.
13. Jamasbi JR. Frequency and distribution of *Pseudomonas aeruginosa* serotypes O:3, O:6, O:11 in three northwestern Ohio hospitals as determined by ELISA using specific monoclonal antibodies. *Ohio J Sci* 1999; 99(2): 10–5.
14. Al-Dujaili HA, Harris DM. Evaluation of commercially available antisera for serotyping of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Clin. Path* 1974; 27(7): 569–71.
15. van Belkum A, Tassios PT, Dijkshoorn L, Haegeman S, Cookson B, Fry NK, et al. Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13(Suppl 3): 1–46.
16. Perumal D, Lim CS, Chow VT, Sakbarkar KR, Sakbarkar MK. A combined computational-experimental analyses of selected metabolic enzymes in *Pseudomonas* species. *Int J Biol Sci* 2008; 4(5): 309–17.
17. Faure K, Shimabukuro D, Ajayi T, Allmond LR, Sawa T, Wiener-Kronish JP. O-antigen serotypes and type III secretory toxins in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 2003; 41(5): 2158–60.
18. McLean MD, Almqvist KC, Niu Y, Kimmel R, Lai Z, Schreiber JR, et al. A human anti-*Pseudomonas aeruginosa* serotype O6ad immunoglobulin G1 expressed in transgenic tobacco is capable of recruiting immune system effector function in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(9): 3322–8.
19. Kaluzny K, Abeyratne PD, Lam JS. Coexistence of two distinct versions of O-antigen polymerase, Wzy-alpha and Wzy-beta, in *Pseudomonas aeruginosa* serogroup O2 and their contributions to cell surface diversity. *J Bacteriol* 2007; 189(11): 4141–52.
20. Grothues D, Koopmann U, von der Hardt H, Tümmler B. Genome fingerprinting of *Pseudomonas aeruginosa* indicates colonization of cystic fibrosis siblings with closely related strains. *J Clin Microbiol* 1988; 26(10): 1973–7.
21. Elaichouni A, Verschaegen G, Claeys G, Devleeschouwer M, Godard C, Vaneecboutte M. *Pseudomonas aeruginosa* serotype O12 outbreak studied by arbitrary primer PCR. *J Clin Microbiol* 1994; 32(3): 666–71.
22. Raymond CK, Sims EH, Kas A, Spencer DH, Kutyanin TV, Ivey RG, et al. Genetic variation at the O-antigen biosynthetic locus in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 2002; 184(13): 3614–22.
23. Currie HL, Lightfoot J, Lam JS. Prevalence of *gca*, a gene involved in synthesis of A-band common antigen polysaccharide in *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995; 2(5): 554–62.
24. Soler CP, Gidenne S, Saint-Blancard P, Kerleguer A, Gerome P. Recovery method of serotypable character in non serotypable *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Pathol Biol (Paris)* 2004; 52(1): 33–8. (French)
25. Zierdt CH, Williams RL. Serotyping of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis of the pancreas. *J Clin Microbiol* 1975; 1(6): 521–6.
26. Mutbaria LM, Nicas TI, Hancock RE. Outer membrane proteins of *Pseudomonas aeruginosa* serotype strains. *J Infect Dis* 1982; 146(6): 770–9.
27. Goto S, Tsuji A, Oguri T, Kobayashi I, Nishida M, Yabuuchi E. Present situation of serotyping of *Pseudomonas aeruginosa* in Japan and correlation among three kinds of commercially available serotyping kits. *J Infect Chemother* 1999; 5(4): 201–5.
28. Lamont IL, Martin LW. Identification and characterization of novel pyoverdine synthesis genes in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology* 2003; 149(Pt 4): 833–42.
29. Karakašević B. Manual on standard methods for microbiological routine experiments. Beograd-Zagreb: Medicinska knjiga; 1967. (Serbian)
30. Kumar A, Gao N, Standiford TJ, Gallo RL, Yu FS. Topical flagellin protects the injured corneas from *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Microbes Infect* 2010; 12(12–13): 978–89.
31. Shupp JW, Pavlovich AR, Jeng JC, Pezzullo JC, Oetgen WJ, Jaskille AD, et al. Epidemiology of bloodstream infections in burn-injured patients: a review of the national burn repository. *J Burn Care Res* 2010; 31(4): 521–8.
32. Tomanović B, Joković B, Tatić M, Mirović V, Nanusević O. Serotyping and pyocin typing of *Pseudomonas aeruginosa* in a study of intrahospital infections. *Vojnosanit Pregl* 1991; 48(1): 31–3. (Serbian)
33. Thuruthyil SJ, Zhu H, Willcox MD. Serotype and adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from contact lens wearers. *Clin Experiment Ophthalmol* 2001; 29(3): 147–9.
34. de Vicente A, Codina JC, Martínez-Manzanares E, Aviles M, Borrego JJ, Romero P. Serotypes and pyocin types of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from natural waters. *Lett Appl Microbiol* 1990; 10(2): 77–80.
35. Burke V, Richardson CJ, Robinson J. Serotype and serum sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* from children with cystic fibrosis: longitudinal studies and typing with monoclonal antibodies. *Pathology* 1990; 22(4): 223–6.
36. Millesimo M, de Intinis G, Chirillo M, G. Musso T, Savoia D. *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates: Serotypes, resistance phenotypes and plasmid profiles. *European journal of epidemiology* 1996; Vol. 12, No2: 123-130
37. Tsakris A, Pournaras S, Woodford N, Palepon MF, Babini GS, Dauboyas J, et al. Outbreak of infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-1 carbapenemase in Greece. *J Clin Microbiol* 2000; 38(3): 1290–2.
38. Manos J, Arthur J, Rose B, Tingpej P, Fung C, Curtis M, et al. Transcriptome analyses and biofilm-forming characteristics of a clonal *Pseudomonas aeruginosa* from the cystic fibrosis lung. *J Med Microbiol* 2008; 57(Pt 12): 1454–65.
39. Jamasbi JR, Proudfoot ME. Phenotypic and genotypic characteristics of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*: Rate of occurrence and distribution of different serotypes antimicrobial susceptibility profiles and molecular typing. *Lab Med* 2008; 39(3): 155–61.
40. Winstanley C, Kaye SB, Neal TJ, Chilton HJ, Miksch S, Hart CA. Genotypic and phenotypic characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* isolates associated with ulcerative keratitis. *J Med Microbiol* 2005; 54(Pt 6): 519–26.
41. Mittal R, Khandvaha RK, Gupta V, Mittal PK, Harjai K. Phenotypic characters of urinary isolates of *Pseudomonas aeruginosa* & their association with mouse renal colonization. *Indian J Med Res* 2006; 123(1): 67–72.

Primljen 18. II 2010.
Revidiran 22. VII 2010.
Prihvaćen 31. VIII 2010.



Sadržaj kadmijuma u *Hypericum perforatum* L. i *Thymus serpyllum* L. sa lokaliteta planina Rtnja i Ozrena

Cadmium content in *Hypericum perforatum* L. and *Thymus serpyllum* L. from localities of Rtnj and Ozren mountains

Danijela Djukić-Ćosić*, Aleksandra Stanojević[†], Marija Djekić-Ivanković[‡],
Marijana Ćurčić*, Zorica Plamenac-Bulat*, Biljana Antonijević*, Vesna Matović*

*Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu, Katedra za toksikologiju „Akademik Danilo Soldatović“, Beograd, Srbija; [†]Galenika a.d., Beograd, Srbija; [‡]Institut za medicinska istraživanja, Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Lekovitost nekih biljnih vrsta bila je poznata čoveku još pre naše ere. Međutim, do ekspanzije fitofarmacije i fitoterapije dolazi tek poslednjih decenija. Lekovite biljke usled zagađenja životne sredine mogu da apsorbuju prisutne zagađivače. Kvalitet biljnih sirovina prati se standardnim metodama koje se prvenstveno odnose na identifikaciju biljne vrste i ispitivanja aktivnih principa. Ipak, i pored toga, uočena je potreba za kontrolisanjem i praćenjem nivoa zagađivača, među kojima značajno mesto zauzimaju toksični metali. U ovom radu ispitivan je sadržaj kadmijuma (Cd) u herbi dve biljne vrste, *Hypericum perforatum* L. i *Thymus serpyllum* L. koje su prikupljene sa različitih lokaliteta planina Rtnj i Ozren, sa ciljem procene nivoa kontaminacije. **Metode.** Herbe ispitivanih lekovitih biljaka sakupljene su tokom jula 2005. godine sa različitih lokaliteta planina Rtnja i Ozrena. Nakon sušenja, homogenizacije i mineralizacije, sadržaj Cd određivan je metodom atomske apsorpcione spektrofotometrije. **Rezultati.** Dobijeni rezultati ukazali su na značajne varijacije sadržaja Cd u sakupljenim uzorcima *Hypericum perforatum*. Najniži sadržaj Cd od 0,25 mg Cd/kg

dobijen je u uzorku sa lokaliteta Rtnja, dok je najviši nivo Cd određen u uzorku *Hypericum perforatum* sa lokaliteta Ozrena (1,24 mg/kg). Dobijene vrednosti sadržaja Cd u herbi *Hypericum perforatum* sa tri od četiri ispitivana lokaliteta bile su iznad vrednosti koju preporučuje SZO (0,3 mg/kg osušene droge). U svim ispitivanim uzorcima *Thymus serpyllum* nivoi Cd bili su ispod nivoa detekcije primenjene analitičke tehnike (0,2 mg Cd/kg osušene herbe). **Zaključak.** Rezultati ovog rada doprineli su istraživanju sadržaja Cd u biljnim vrstama *Hypericum perforatum* i *Thymus serpyllum* koje rastu na lokalitetima Rtnja i Ozrena i ukazuju na potrebu uvođenja sistematske kontrole sadržaja Cd u *Hypericum* vrstama radi bezbedne upotrebe preparata izrađenih na bazi ovih biljnih vrsta. Imajući u vidu toksičnost Cd nameće se potreba da se nacionalnim zakonodavstvom odrede i ustanove maksimalno dozvoljene koncentracije sadržaja ovog metala u biljnim lekovitim sirovinama.

Ključne reči: fitoterapija; kantarion; majkina dušica; kadmijum; standardi; svetska zdravstvena organizacija; srbija.

Abstract

Background/Aim. The beneficial effects of medicinal plants are well-known from the ancient times. However, expansion of phytopharmacy and phytotherapy occurred during the last decades. Medicinal plants can absorb environmental contaminants from the ground and consequently may cause harmful effects on human health. Quality control usually comprises standard methodology which includes macroscopic identification and examination of active ingredients. Additionally, there is a permanent need to control the level of pollutants in herbs, with a particular attention to the level of toxic metals. In this study we estimated the level of contamination by deter-

mining the content of cadmium (Cd) in the herbs of *Hypericum perforatum* and *Thymus serpyllum* collected from the different localities of the mountains Rtnj and Ozren. **Methods.** Herbs of investigated plants were collected during July 2005 from various localities of Rtnj and Ozren mountains. After drying, homogenization and mineralization, Cd content was determined by atomic absorption spectrophotometry. **Results.** The obtained results show that Cd content varies significantly in *Hypericum perforatum* samples collected. The lowest Cd level was found in samples from the one of Rtnj localities (0.25 mg Cd/kg), while the highest was observed in *Hypericum perforatum* from Ozren locality (1.24 mg/kg). Levels of Cd in the three of four investigated localities were higher than pro-

posed by WHO (0.3 mg/kg dried herb material). In all investigated samples of *Thymus serpyllum* herbs Cd levels were below the limit of detection of analytical method (0.2 mg Cd/kg dried materials). **Conclusion.** This work contributes to the issue of Cd content in *Hypericum perforatum* and *Thymus serpyllum* grown in localities of Rtanj and Ozren, and implies the importance for systemic control of Cd content in *Hypericum* species in order to provide safety of

their preparations. Furthermore, regarding Cd toxicity, maximal permissible level of Cd in plant material should be evaluated and established concerning national legislative frame.

Key words:
phytotherapy; hypericum; thymus plant; cadmium; reference standards; world health organization; serbia.

Uvod

Lekovitost nekih biljnih vrsta bila je poznata čoveku još pre naše ere, međutim do ekspanzije fitofarmacije i fitoterapije dolazi tek poslednjih decenija. Podaci Svetske zdravstvene organizacije (SZO) ukazuju da oko 80% svetske populacije koristi različite lekovite biljke i preparate izrađene na bazi biljnih sirovina¹. Kvalitet biljnih sirovina prati se standardnim metodama koje se prvenstveno odnose na identifikaciju biljne vrste i ispitivanja aktivnih principa. I pored toga, uočena je potreba za kontrolisanjem i praćenjem nivoa zagađivača, među kojima značajno mesto zauzimaju toksični metali. Shodno tome, i SZO daje preporuke za kvalitativnu i kvantitativnu analizu toksičnih metala u fitopreparatima, a posebno u biljnim sirovinama².

Kantarion (*Hypericum perforatum* L., *Hypericaceae*) je lekovita biljka koja se koristi od davnina kao sredstvo za umirenje, antiflogistik, u lečenju respiratornog i urogenitalnog trakta, lečenju hemoroida, opekotina, a danas se preporučuje upotreba kantariona za terapiju depresije, pa i AIDS-a³.

Majkina dušica (*Thymus serpyllum* L., *Lamiaceae*) je veoma cenjena lekovita i aromatična biljka čiji se osušeni nadzemni deo u cvetu koristi kao sirovina za potrebe farmaceutske industrije. Deluje kao spazmolitik, bronholitik, ek-spektorans, diuretik, sedativ, a ima i antibakterijsko i antimikrobno dejstvo⁴.

Jedan od najznačajnijih metala, zagađivača životne sredine, je kadmijum (Cd) čiji sadržaj, usled brojnih ljudskih aktivnosti, neprestano raste. Prema navodima Agencije za registar toksičnih supstanci i bolesti (*Agency for Toxic Substances and Diseases Registry – ATSDR*) na listi od 20 toksikološki najznačajnijih supstanci Cd zauzima sedmo mesto⁵. Kritični toksični efekti koje Cd izaziva su patohistolške promene na proksimalnim tubulima bubrega, porast nivoa serumskih transaminaza usled masivne hepatocelularne nekroze, kao i osteomalacija i osteoporoz. Međunarodna agencija za istraživanje karcinoma (*International Agency for Research on Cancer – IARC*) svrstava Cd u I grupu karcinogena⁶.

Iako Cd nije esencijalan element za biljke, može se u njima naći u povećanim količinama usled prirodnog i/ili antropogenog zagađenja zemljišta, vode i vazduha, pri čemu određene biljke vrsta *Brassica*, *Thlaspi*, *Viola*, *Arabis*, *Potentilla*, *Solanum* itd. imaju sposobnost bioakumulacije ovog metala^{7, 8}. Podaci iz literature pokazuju da je *Hypericum perforatum* L. hiperakumulator Cd i da se može koristiti kao bioindikator zagađenja teškim metalima⁹⁻¹¹.

U ovom radu ispitivan je sadržaj Cd u herbi dve biljne vrste, *Hypericum perforatum* L. i *Thymus serpyllum* L., koje su prikupljene sa različitih lokaliteta planina Rtanj i Ozren, sa ciljem procene nivoa kontaminacije.

Metode

U radu su korišćene hemikalije odgovarajućeg stepena čistoće: azotna kiselina, (HNO₃ – Merck, Darmstadt, Germany), perhlorna kiselina, obično (HClO₄ – Merck, Darmstadt, Germany), standard Cd [(1002 ± 2 µg/mL) – Merck, Darmstadt, Germany]. Svi reagensi su pravljeni sa redestilovanom vodom.

Herbe *Hypericum perforatum* i *Thymus serpyllum* sakupljene su sa četiri lokaliteta planina Rtanj i Ozren 2005. godine, sa livada sa kojih i lokalno stanovništvo sakuplja lekovito bilje. Uzorci kantariona sakupljeni su sa dva lokaliteta Rtnja i dva lokaliteta Ozrena, a majkina dušica sa po jednog lokaliteta ovih planina, s obzirom na to da na drugom lokalitetu ova lekovita biljka nije identifikovana. Uzorci su sušeni na sobnoj temperaturi na tamnom mestu, homogenizovani i čuvani u papirnim kesama do analize.

Za razaranje osušenog biljnog materijala korišćen je postupak vlažne mineralizacije azotnom i perhlornom kiselinom. Na 1 g osušene herbe u erlenmajeru uskog grla dodavane su koncentrovane HNO₃ i HClO₄ (4 : 1), a razaranje je vršeno na peščanom kupatilu do suvog ostatka. Mineralni ostatak rastvaran je 0,1 M HNO₃.

Sadržaj Cd u mineralizovanim uzorcima herbe *Hypericum perforatum* i *Thymus serpyllum* određen je metodom plamene atomske apsorpcione spektrofotometrije (AAS) na aparatu GBC932AA, Australija. Optimalni radni uslovi za određivanje Cd u plamenu vazduh-acetilen bili su: struja lampe 3,0 mA; talasna dužina 228,8 nm; širina razreza 0,5 nm; osetljivost 0,009 µg/mL.

Linearnost metode testirana je u opsegu koncentracija od 0,03 do 0,3 µg/mL. Merni standardni rastvori Cd koncentracija 0,03; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3 µg/mL dobijeni su razblaživanjem osnovnog standardnog rastvora Cd koncentracije 1 000 µg/mL, a potom radnog standardnog rastvora (10 µg/mL) u 0,1 M HNO₃.

Validacijom metode dobijeni su sledeći parametri: limit detekcije od 0,2 mg Cd/kg, i limit kvantifikacije od 0,3 mg Cd/kg. Linearnost metode opisana jednačinom: $y = 0,2363x + 0,0015$ i koeficijentom korelacije od $r = 0,9996$, a tačnost metode potvrđena je dobijenim *recovery* vrednostima u opsegu 89,4 – 102,6%.

Za statističku analizu korišćen je program Statistica 7.0 (*StatSoft*, Tulsa, Oklahoma, USA) i Student-ov *t*-test ($p < 0,05$).

Rezultati

Rezultati ove studije, prikazani kao srednje vrednosti koncentracija Cd u herbi lekovitih biljaka *Hypericum perforatum* i *Thymus serpyllum* sakupljenih sa različitih lokaliteta Rtnja i Ozrena, dati su u tabeli 1.

nosti koje preporučuje SZO, pri čemu su vrednosti za dva lokaliteta bile posebno visoke (slika 1). Za Rtnj su te vrednosti bile više nego dva puta, a za Ozren čak oko 4 puta veće od vrednosti koje preporučuje SZO. Analiza dostupnih podataka iz literature pokazala je da su rezultati ovog rada u skladu sa rezultatima drugih istraživanja (tabela 2).

Tabela 1

Koncentracija kadmijuma (Cd) u herbi lekovitih biljaka *Hypericum perforatum* i *Thymus serpyllum*

Biljke	Lokalitet	Koncentracija Cd (mg/kg) $\bar{x} \pm SD$	
		Rtnj	Ozren
<i>Hypericum perforatum</i>	1	0,25 ^a ± 0,03	0,31 ^b ± 0,03
	2	0,65 ^c ± 0,09	1,24 ^d ± 0,05
	$\bar{x} \pm SD$	0,45 ± 0,07	0,78 ± 0,04
	(min-max)	0,22 – 0,76	0,27 – 1,28
<i>Thymus serpyllum</i>	1	< 1.d.*	< 1.d.*

\bar{x} : srednja vrednost (n = 4); n – broj paralelnih uzoraka; SD – standardna devijacija

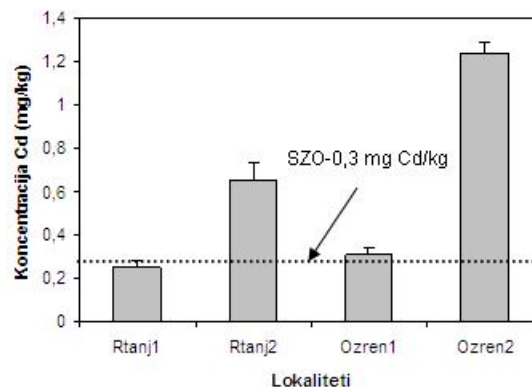
^{a, b, c, d} vrednosti označene različitim slovima se međusobno statistički značajno razlikuju ($p < 0,05$);

* 1.d – limit detekcije aparata za Cd iznosi 0,02 µg Cd/mL, tj. 0,2 mg Cd/kg osušene herbe

Vrednosti koncentracija Cd za uzorke *Hypericum perforatum* sa Rtnja nalazile su se u opsegu od 0,22 do 0,76 mg/kg osušenog biljnog materijala, a sa Ozrena u opsegu od 0,27 do 1,28 mg/kg osušenog biljnog materijala. Na po jednom od lokaliteta Rtnja i Ozrena dobijene vrednosti za Cd bile su relativno niske (srednja vrednost iznosila 0,25, odnosno 0,31 mg/kg), dok je koncentracija Cd u uzorcima kantarijona sa drugog lokaliteta Rtnja bila znatno veća i iznosila je 0,65 mg/kg osušenog biljnog materijala. Za Ozren je razlika u sadržaju kadmijuma u kantarijonu sa različitih lokaliteta bila još izraženija.

U svim uzorcima majkine dušice sa lokaliteta Rtnj i Ozren koncentracija Cd bila je ispod limita detekcije aparata (LOD = 0,02 µg Cd/mL), tj. < 0,2 mg Cd/kg osušenog nadzemnog dela biljke u cvetu (tabela 1).

Preporučena vrednost sadržaja Cd u osušenom biljnom materijalu iznosi 0,3 mg/kg (0,3 ppm)², međutim regulativa naše zemlje ne daje granične vrednosti za Cd u osušenom biljnom materijalu. Vrednosti sadržaja Cd u *Hypericum perforatum* na tri od četiri ispitivana lokaliteta bile su iznad vred-



Sl. 1 – Koncentracija kadmijuma (Cd) u herbi *Hypericum perforatum* sa Rtnja i Ozrena u poređenju sa vrednošću koju preporučuje Svetska zdravstvena organizacija

Tabela 2

Uporedni prikaz rezultata ovog i drugih istraživanja

Vrste lekovitih biljaka	Region	Koncentracija Cd (mg/kg) $\bar{x} \pm SD$	Referenca
<i>Hypericum</i> vrste			
<i>H. perforatum</i>	Srbija, Rtnj	0,45 ± 0,07	prezentovani rad
<i>H. perforatum</i>	Srbija, Ozren	0,78 ± 0,04	prezentovani rad
<i>H. perforatum</i>	Kina	1,10 ± 0,20	Mamani i sar, 2006. ¹³
<i>H. perforatum</i>	Kina	0,56 ± 0,01	Mamani i sar, 2006. ¹³
<i>H. perforatum</i>	Bugarska	0,27 ± 0,05	Arpadjan i sar, 2008. ¹⁴
<i>H. perforatum</i>	Austrija	0,31 ± 0,29	Chizzola i sar, 2006. ¹¹
<i>H. maculatum</i>	Austrija	0,29 ± 0,71	Chizzola i sar, 2006. ¹¹
<i>H. tetrapterum</i>	Austrija	0,23 ± 0,08	Chizzola i sar, 2006. ¹¹
<i>H. maculatum</i>	Austrija - Fröschnitzal oblast	3,7	Chizzola i sar, 2006. ¹¹
<i>H. perforatum</i>	Austrija	0,59 ± 0,36	Chizzola i sar, 2003. ¹³
<i>Thymus</i> vrste			
<i>T. serpyllum</i>	Srbija - Rtnj i Ozren	< 0,2	prezentovani rad
<i>T. serpyllum</i>	Bugarska	0,14–0,27	Arpadjan i sar, 2008. ¹⁴
<i>T. serpyllum</i>	Austrija	0,03	Chizzola i sar, 2003. ¹³
<i>T. vulgaris</i>	Austrija	0,01	Chizzola i sar, 2003. ¹³

Cd – kadmijum

Diskusija

Kadmijum je prirodni sastojak zemljišta, ali je njegova koncentracija u stalnom porastu usled permanentnog zagađenja životne sredine⁹. Povećano prisustvo Cd, prvenstveno u vodi i zemljištu, odražava se na povišenje sadržaja ovog metala u biljnim vrstama, pa i na sadržaj farmakološki aktivnih sastojaka lekovitog bilja, a time i na kvalitet, bezbednost i efikasnost upotrebe prirodnih biljnih sirovina^{2, 12}. Svetska zdravstvena organizacija propisuje standarde koji se odnose na kontrolu kvaliteta lekovitih biljaka: klasifikaciju, identifikaciju biljne vrste, određivanje aktivnih principa i identifikaciju zagađivača. Imajući u vidu moguću kontaminaciju biljaka metalima kao i toksične efekte koje oni izazivaju u organizmu, SZO takođe preporučuje kvalitativnu i kvantitativnu analizu teških metala u fitopreparatima i biljnim sirovinama za izradu ovih proizvoda.

Rezultati ovoga rada ukazuju na povećane vrednosti sadržaja Cd u uzorcima kantariona i sa planine Rtnj i Ozren i u saglasnosti su sa rezultatima drugih autora. Naime, Maman i sar.¹³ su u uzorcima kantariona iz Kine odredili 0,56 – 1,08 mg Cd/kg herbe kantariona. U Bugarskoj su Arpadjan i sar.¹⁴ detektovali kadmijum u kantarionu u koncentraciji od 0,27 mg/kg, dok su u Austriji Chizzola i sar.^{11, 15} odredili kadmijum u koncentraciji 0,31, 0,29 i 0,23 mg/kg u vrstama *Hypericum perforatum*, *Hypericum maculatum* i *Hypericum tetrapterum*. Ista grupa autora je u Fröschnitzal oblasti Austrije u vrsti *maculatum* dobila rezultat o sadržaju Cd u vrednosti od čak 3,7 mg/kg osušenog nadzemnog dela biljke u cvetu¹⁵. Navedena ispitivanja potvrdila su sposobnost *Hypericum* vrsta da bioakumuliraju Cd iz zemljišta^{11, 13, 15, 16}.

U našem radu Cd nije detektovan u uzorcima majkine dušice sa datih lokaliteta Rtnja i Ozrena. Vrednosti koje daju drugi autori takođe su veoma niske. Tako Arpadjan i sar.¹⁴ u uzorcima iz Bugarske nalaze 0,14 – 0,27 mg Cd/kg u osušenom nadzemnom delu biljke u cvetu, a Chizzola i sar.¹⁵ u uzorcima sa teritorije Austrije nalaze 0,03 mg/kg u *Thymus serpyllum*, odnosno 0,01 mg/kg u *Thymus vulgaris*.

Istraživanjem sadržaja teških metala u različitim biljnim vrstama koje rastu na teritoriji Republike Srbije bavila se grupa autora predvođena Radanovićem¹⁶⁻¹⁹. Autori su, osim nikla, hroma, kobalta i olova (Ni, Cr, Co i Pb), ispitivali i sadržaj Cd u korenu gencijane. Dobijene vrednosti sadržaja pojedinih metala iznosili su: Ni 54,0 ± 12,3 mg/kg, Cr 14,1 ± 2,1 mg/kg, Co 3,4 ± 0,5 mg/kg, Pb 5,1 ± 0,5 mg/kg, dok je sadržaj Cd u korenu gencijane bio 0,7 ± 0,1 mg/kg¹⁹. Analiza sadržaja Cd u uzorcima kantariona sakupljenim na teritoriji bivše Savezne Republike Jugoslavije i Republike Srpske pokazala je da su vrednosti bile ispod 0,5 mg/kg pri pH zemljišta nižoj od 5,9²⁰. Autori su u istoj studiji pokazali da sadržaj cinka i mangana linearno opada u herbi kantariona sa porastom pH vrednosti zemljišta, dok sadržaj Cd takođe opada, ali eksponencijano. Razlike u koncentraciji Cd među biljkama *Hypericum* vrsta sa različitim lokaliteta mogu se objasniti različitim mineralnim sastavom zemljišta, intenzivnijom apsorpcijom metala u biljke u uslovima niskih vrednosti pH, malim kapacitetom izmene jona, oskudnim sadržajem

organskih materija i fosfata. Na ove razlike dodatno mogu uticati i antropogeni faktori^{11, 15, 20}. Prethodno nabrojani faktori okoline spadaju u spoljašnje mehanizme tolerancije. Takođe, biljke su tokom evolucije razvile vrlo specifične potrebe za određenim hemijskim elementima i razlikuju se u sposobnosti upijanja i akumuliranja, podnošljivosti i po afinitetu prema različitim toksičnim metalima. Biljke metalofite su hiperakumulativne i podnose veće koncentracije metala^{21, 22}. Neke biljne vrste uspevaju da akumuliraju znatne količine toksičnih metala zahvaljujući proizvodnji fitohelatina i metalotioneina koji se svrstavaju u unutrašnje mehanizme tolerancije biljaka prema metalima zbog procesa detoksikacije koji se obavlja u unutrašnjosti ćelija²¹⁻²³.

Rezultati ovih ispitivanja potvrđuju da *Hypericum* vrste imaju sposobnost akumuliranja Cd, ali je neophodno istaći da je stepen kontaminacije Cd značajan, iako su u pitanju lokaliteti na kojima nema industrijskog zagađenja. Novija istraživanja sadržaja teških metala u kantarionu na serpentinitskim zemljištima Srbije ukazuju da, pored Cd, kantarion može sadržati povećane koncentracije i drugih toksičnih metala²⁴. Sve ovo navodi na neophodnost redovne kontrole sadržaja toksičnih metala u kantarionu, ali i ostalim biljnim vrstama koje se koriste za izradu fitopreparata.

Razlike u dobijenim vrednostima za sadržaj Cd u herbi kantariona sa različitim lokaliteta može se objasniti različitim profilom ovih zemljišta. Na usvajanje mineralnih elemenata od strane korenovog sistema prvenstveno utiče sastav akumulatnog horizonta na kome počiva šumski i livadski pokrivač i reakcija zemljišnog rastvora pri čemu na stepen kiselosti bitno utiče vlažnost podloge. Kiselost zemljišta, kao dugotrajan proces izazvan atmosferskom depozicijom, uzrokuje ireverzibilno smanjenje sposobnosti izmene katjona i mobilizaciju potencijalno toksičnih koncentracija teških metala²⁵.

Sadržaj teških metala u biljkama uglavnom zavisi od koncentracije i oblika teških metala u zemljišnom rastvoru, kretanja teških metala iz čvrste faze zemljišta do korenovog sistema i transporta kroz biljku, ali razlike u usvajanju teških metala iz zemljišta pre svega zavise od genetske konstitucije biljke, a zatim i od karakteristika korenovog sistema, njegovog kapaciteta za apsorpciju jona i nivoa evapotranspiracije²⁶. Razlike u koncentraciji Cd među *Hypericum* i *Thymus* vrstama sa istih lokaliteta, koje pokazuju da je akumulacija Cd u *Hypericum perforatum* značajno veća, mogu se objasniti genetskim osobenostima biljaka, tj. intrinzičnoj sposobnosti *Hypericum* vrsta da akumuliraju Cd²⁰.

Zaključak

I pored činjenice da se lekovite biljke i biljni preparati široko primenjuju, u mnogim zemljama ne sprovodi se sveobuhvatna kontrola kvaliteta biljnih lekovitih sirovina i njihovih proizvoda. Svetska zdravstvena organizacija preporučuje kvalitativnu i kvantitativnu analizu teških metala u fitopreparatima i biljnim sirovinama za izradu ovih proizvoda. Rezultati prezentovanog rada ukazuju na potrebu uvođenja sistematske kontrole sadržaja Cd u *Hypericum* vrstama radi bezbedne upotrebe preparata izrađenih na bazi ovih biljnih

vrsta. Od posebnog značaja je činjenica da ni prirodna, „nezagađena“ staništa ne mogu biti garancija za ispravnost biljne sirovine, barem kada je u pitanju kantarion. Osim toga, imajući u vidu toksičnost Cd, nameće se potreba da se nacionalnim zakonodavstvom odredi i ustanovi maksimalno dozvoljena koncentracija sadržaja ovog metala u biljnim lekovitim sirovinama.

Zahvalnica

Ovaj rad delom je finansiralo Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije (projekat III46009), a delom je predmet donacije odobrene i finansirane od strane Balkanskog udruženja za zaštitu okoline (B.EN.A) u saradnji sa Carlsberg Srbija.

L I T E R A T U R A

1. WHO *Drug information*. Herbal medicines. Geneva: World Health Organization; 2002; 16(2): 115–8.
2. WHO. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva: World Health Organization; 2005. p. 19–25.
3. Radanović D, Nastovski T, Menković N. Kantarion (*Hypericum perforatum* L.) i druge vrste roda *Hypericum*. Belgrade: Institut za proučavanje lekovitog bilja „Dr. J. Pančić“; 2006.
4. Kovačević N. Osnovi farmakognozije. Belgrade: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2003. (Serbian)
5. ATSDR. CERCLA Priority List of Hazardous Substances That Will be the Subject of Toxicological Profiles and Support Document, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. Atlanta, USA; Department of Health and Human Services; 2007.
6. Agents reviewed by the IARC monographs. (alphabetical order). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2007.
7. Markert B. Plants as biomonitors/indicator for heavy metals in the terrestrial environment. Weinheim: VCH Publisher; 1993. p. 435–60.
8. Deng H, Ye ZH, Wong MH. Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environ Pollut* 2004; 132(1): 29–40.
9. Caldas ED, Machado LL. Cadmium, mercury and lead in medicinal herbs in Brazil. *Food Chem Toxicol* 2004; 42(4): 599–603.
10. Djukić-Čosić D, Čurčić M, Cmiljanović M, Vasović I, Matović V. Heavy metal contents in samples of *Hypericum* and *Thymus* spec. collected from different mountain areas of Serbia. *Planta Med* 2007; 73(9): 1005.
11. Chizzola R, Lukas B. Variability of the cadmium content in *Hypericum* species collected in Eastern Austria. *Water Air Soil Pollut* 2006; 170(1–4): 331–43.
12. ATSDR. Toxicology profile for Cadmium, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. Atlanta, USA: Department of Health and Human Services; 2007.
13. Mamani MCV, Aleixo LM, Ferreira de Abreu M, Rath S. Simultaneous determination of cadmium and lead in medicinal plants by anodic stripping voltammetry. *J Pharm Biomed Anal* 2005; 37(4): 709–13.
14. Arpadjan S, Çelik G, Taşkesen S, Güçer S. Arsenic, cadmium and lead in medicinal herbs and their fractionation. *Food Chem Toxicol* 2008; 46(8): 2871–5.
15. Chizzola R, Michitsch H, Franz C. Monitoring of metallic micro-nutrients and heavy metals in herbs, species and medicinal plants from Austria. *Eur Food Res Technol* 2003; 216(5): 407–11.
16. Radanović D, Nastovski T, Pljevljakušić D. Comparative investigation of *Hypericum perforatum* L. populations in Serbia. *Acta Fytotech Zootech* 2005; 8(4): 107–12.
17. Chatzopoulou PS, Marković T, Radanović D, Koutsos TV, Katsiotis ST. Hypericin content and essential oil composition of a Serbian *H. perforatum* local population cultivated in different ecological conditions. *JEOBP* 2009; 12(6): 666–73.
18. Radanović D, Nastovski T. Comparative investigation of *Hypericum perforatum* L. populations in Serbia. III Conference on MAP of Southeast European Countries; 2004 September 5–8; Slovak Republic, Nitra: Book of Abstracts; 2004. p. 67.
19. Radanović D, Antić-Mladenović S, Jakovljević M, Kresović M. Content of heavy metals in *Gentiana lutea* L. roots and galenic forms. *J Serb Chem Soc* 2007; 72(2): 133–8.
20. Radanović D, Antić-Mladenović S, Jakovljević M. Influence of some soil characteristics on heavy metal content in *Hypericum perforatum* L. and *Achillea millefolium* L. *ISHS Acta Horticulturae* 2002; 576: 295–300.
21. Schneider M, Marquard R. Investigations on the uptake of cadmium in *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort). *Acta Horticulturae* 1996; 426: 435–42.
22. Kastori R. Teški metali u životnoj sredini. Novi Sad: Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo; 1997. (Serbian)
23. Cobbett CS. Phytochelatin and their roles in heavy metal detoxification. *Plant Physiol* 2000; 123(3): 825–32.
24. Obratov-Petković D, Bjedov I, Belanović S. The content of heavy metals in the leaves of *Hypericum perforatum* L. on serpentinite soils in Serbia. Belgrade: Glasnik Šumarskog fakulteta; 2008; 98: 143–54. (Serbian)
25. Blake L, Goulding KWT. Effect of atmospheric deposition, soil pH and acidification on heavy metal content in soil and vegetation of semi-natural ecosystems at Rothamsted experimental station. *Plant Soil* 2002; 240: 235–51.
26. Alloway BJ. Heavy Metals in Soils. 2nd ed. Glasgow: Blackie Academic & Professional; 1995.

Primljen 24. II 2010.
Revidiran 13. VII 2010.
Prihvaćen 14. VII 2010.



Sex differences in anatomical parameters of acetabulum among asymptomatic Serbian population

Polne razlike u anatomskim parametrima acetabuluma kod asimptomatske srpske populacije

Dejan Jeremić, Ivana Živanović Mačužić, Maja Vulović

Medical Faculty, University of Kragujevac, Department of Anatomy and Forensic Medicine, Kragujevac, Srbija

Abstract

Background/Aim. Anatomical parameters of the bony components of the hip joint are essential for better understanding of etiopathogenesis of diseases like primary osteoarthritis of the hip joint. The aim of this research was to examine the normal acetabular morphometry in Serbian population and to determine whether there are sex differences in anatomical parameters of the acetabulum among asymptomatic subjects. **Methods.** Pelvic radiographies of 320 adult asymptomatic patients (640 hips) were analyzed in 170 men and 150 women to determine the morphology of the acetabulum in Serbian population. For each hip the center edge angle of Wiberg (CEA), the acetabular angle of Sharp (AA), acetabular depth (AD), acetabular roof obliquity (ARO) and roof angle (RA) were measured. **Results.** The following average measurements for acetabulum geometry were obtained ($\bar{x} \pm SD$): CEA – $33.5 \pm 6.5^\circ$ ($33.6 \pm 5.8^\circ$ in male, $33.3 \pm 6.9^\circ$ in female), AA – $38.0 \pm 3.8^\circ$ ($37.5 \pm 3.6^\circ$ in male, $38.5 \pm 3.9^\circ$ in female), AD – 11.9 ± 2.8 mm (12.5 ± 2.7 mm in male, 11.2 ± 2.7 mm in female), ARO – $7.6 \pm 5.7^\circ$ ($6.2 \pm 4.9^\circ$ in male, $9.0 \pm 6.0^\circ$ in female) and RA – $18.4 \pm 10.0^\circ$ ($19.6 \pm 8.5^\circ$ in male, $17.1 \pm 9.5^\circ$ in female). There were significant differences in the CEA, AA, AD, ARO and RA related to gender ($p < 0.01$, t -test). **Conclusion.** There are significant gender differences in Serbian population for all the examined anatomical parameters of acetabulum. We found sex-related differences in acetabular morphology, female acetabulum being marginally more dysplastic than male acetabulum. There is also a clear tendency of female hips to be more dysplastic than male ones.

Key words:

hip joint; acetabulum; anatomy; gender identity; serbia.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Anatomski parametri koštanih struktura zgloba kuka najvažniji su za bolje razumevanje etiopatogeneze bolesti kao što je primarna osteoartrza zgloba kuka. Cilj istraživanja bio je ispitivanje normalne acetabularne morfometrije i postojanje polnih razlika u anatomskim parametrima acetabuluma, kod asimptomatskih osoba srpske populacije. **Metode.** Analizirani su radiografski snimci karlice 320 odraslih asimptomatskih ispitanika (640 zglobova kuka) srpske populacije radi utvrđivanja normalne morfologije acetabuluma. Među ispitanicima bilo je 170 muškaraca i 150 žena. Za svaki zglob kuka mereni su Wiberg ugao (CEA), Šarp ugao (AA), acetabularna dubina (AD), kosina krova acetabuluma (ARO) i ugao krova acetabuluma (RA). **Rezultati.** Dobijene su sledeće vrednosti acetabularne morfometrije ($\bar{x} \pm SD$): CEA je $33,5 \pm 6,5^\circ$ ($33,6 \pm 5,8^\circ$ kod muškaraca, $33,3 \pm 6,9^\circ$ kod žena), AA – $38,0 \pm 3,8^\circ$ ($37,5 \pm 3,6^\circ$ kod muškaraca, $38,5 \pm 3,9^\circ$ kod žena), AD – $11,9 \pm 2,8$ mm ($12,5 \pm 2,7$ mm kod muškaraca, $11,2 \pm 2,7$ mm kod žena), ARO – $7,6 \pm 5,7^\circ$ ($6,2 \pm 4,9^\circ$ kod muškaraca, $9,0 \pm 6,0^\circ$ kod žena) i RA – $18,4 \pm 10,0^\circ$ ($19,6 \pm 8,5^\circ$ kod muškaraca, $17,1 \pm 9,5^\circ$ kod žena). Uočene su statistički značajne razlike u odnosu na pol za sve ispitivane parametre: CEA, AA, AD, ARO i RA ($p < 0,01$, t test). **Zaključak.** Za sve ispitivane anatomske parametre acetabuluma postoje statistički značajne razlike u odnosu na pol, pri čemu je ženski acetabulum pokazivao veće znake displazije nego acetabulum muškaraca. Dobijeni rezultati u skladu su sa istraživanjima razlika displastičnosti muškog i ženskog acetabuluma, vršenih u različitim rasnim grupama.

Ključne reči:

kuk, zglob; acetabulum; anatomija; pol; srbija.

Introduction

The hip joint is functionally a three-dimensional ball and socket joint, often called cotyloid joint because of its anatomical feature. It enables movements in all the three planes as rotation. The femoral head articulates with the cup-shaped (cotyloid) acetabulum, its center lying a little below the middle third of the inguinal ligament. The acetabulum, with a median curvature radius of 2.7 cm, is formed by parts of the *ilium*, *pubis*, and *ischium* which rejoin in a cartilaginous Y to the hip bone. The femoral head, slightly more than one-half a sphere, has a constant curvature radius of about 2.5 cm. Its smoothness is interrupted *posterior inferior* to its center by a small rough *fovea*. The femoral neck is about 5 cm long and connects the head to the shaft at the angle of about 125° ¹.

More information is needed about the anatomical parameters of the acetabulum of the normal hip joint, including its shape, depth at precise locations, and the influence of age, sex and congenital morphology^{2,3}. As race, climate, heredity and geographical areas have strong influence on the anthropometric parameters of the bone, therefore, the present study was undertaken to note the average anatomical parameters of the acetabular part of the hip joint in Serbian population. Anatomical parameters of the bony components of the hip joint are essential for better understanding of etiopathogenesis of diseases like primary osteoarthritis of the hip joint. Also, knowledge about various bony components of the hip joint will not only help the radiologists, but will be also of immense importance to the orthopedicians and prosthetists to construct suitable prosthesis. The awareness about average dimensions of hip bones joints in both sexes will also help in early detection of disputed sex by forensic experts.

The aim of this study was to examine normal acetabular morphometry and to determine whether there are sex differences in anatomical parameters of acetabulum among asymptomatic subjects without structural change.

Methods

Pelvic radiographies of 320 adult patients, 170 men and 150 women, with clinically normal hip joints (640 hips) were analyzed in to determine the morphology of the acetabulum in Serbian population. The average age of patients was 47.8 years (from 21 to 65), divided by decades: the twenties 10.0% (32), the thirties 15.0% (48), the forties 19.69% (63), the fifties 28.12% (90) and over sixties 27.19% (87). The research was conducted as a prospective study. For each acetabulum the center-edge angle of Wiberg (CEA), the acetabular angle of Sharp (AA), acetabular depth (AD), acetabular roof obliquity (ARO) and roof angle (RA) were measured (Figure 1).

Patients with known hip disease or pain located in the hip region, including ambiguous pain probably of lumbar origin but irradiating to the region of the greater trochanter, groin, or thigh, were excluded from this study. We also excluded patients with bone disorders such as Paget's disease, femoral head disease, acquired deformities, unequivocal OA

of the hip, and evident osteophytes or cysts adjacent to the hip joint cavity. Films with incorrect patient positioning (misalignment of the sacropubic symphysis vertical axis ≥ 1.5 cm) were also excluded.

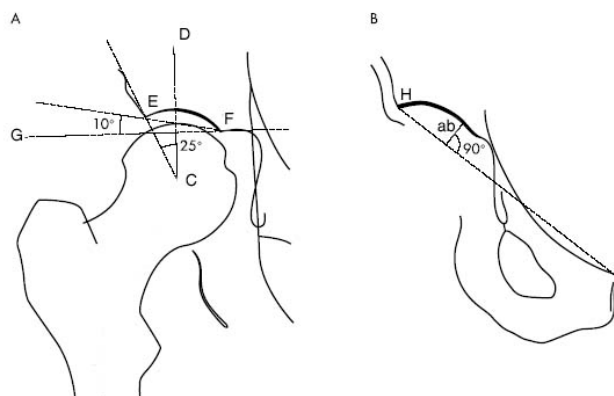


Fig. 1 A – DCE (the center-edge angle of Wiberg); GFE – acetabular roof obliquity; B – acetabular depth (segment “ab”)

Antero-posterior (AP) radiograph was used to measure the radiography of the hip joint. The patients were placed in the supine position with legs extended and internally rotated for 15° , with a distance of 100 cm between the radiographic source and the film. The central radiographic ray was aligned to be perpendicular to the cassette, entering 5 cm superior to the pubic symphysis. All measurements were made using a new Plexiglas instrument, the „arthrometer“, which comprises a ruler and protactor appropriate for measuring hip architectural angles³. Interpretations were performed by a single physiatrist trained in the radiographic characteristics of acetabular morphometry.

The AA was measured from the intersection of the horizontal line passing through the bottom of the “tear drop” and the line connecting the bottom of the “tear drop” to the lateral lip of the acetabulum. The greater the angle, the more dysplastic the hip (Figure 1A)^{4,5}.

The CEA was defined as the angle between the line joining the center of the femoral head to the lateral margin of the acetabular roof and the line perpendicular to that joining the centers of the two femoral heads (Figure 1B)⁶. The center of each femoral head was established by superimposing a circle around its margin.

The AD was defined as the greatest perpendicular distance from the acetabular roof to the line joining the lateral margin of the acetabular roof and the upper corner of the symphysis pubis on the same side (Figure 1B)⁶.

The ARO was defined as the angle between the line connecting the lateral edge of the acetabular roof and the lower iliacus tip of the acetabular surface and the line parallel to the pelvic “tear drop” (Figure 1A)⁵.

The RA was determined by the line along the lateral side of the *ilium* on the acetabular surface and the line parallel to the pelvic “tear drop”⁵.

Sex-related differences of anatomical parameters of acetabulum were assessed by paired samples *t*-test. A significant level of $p < 0.05$ was assumed. Statistical software for Windows version 15.0 SPSS was used for all calculations.

Results

Table 1 summarizes the means and standard deviations of the center-edge angle of Wiberg, acetabular angle of Sharp, acetabular depth, acetabular roof obliquity and roof angle of groups in Serbian population.

The average CEA was significantly greater in the men than in the women: 33.6° (SD = 5.8°) in male hips and 31.3° (SD = 6.9°) in female hips ($p < 0.01$, *t*-test).

The average AA was significantly lower in the men than in the women: 37.5° (SD = 3.6°) in male hips and 38.5° (SD = 3.9) in female hips ($p < 0.01$, *t*-test).

The average AD was significantly greater in the men than in the women: 12.5 mm (SD 2.7) in male hips and 11.2 mm (SD = 2.7) in female hips ($p < 0.01$, *t*-test).

Table 1

Values of each parameter of acetabulum by gender of subjects in Serbian population

Acetabular parameters	Male	Female	<i>t</i> -test	<i>p</i>	Total
CEA (°)	33.6 ± 5.8	31.3 ± 6.9	0.51	< 0.01*	32.5 ± 6.4
AA (°)	37.5 ± 3.6	38.5 ± 3.9	0.28	< 0.01*	38.0 ± 3.8
AD (mm)	12.5 ± 2.7	11.2 ± 2.7	0.35	< 0.01*	11.9 ± 2.8
ARO (°)	6.2 ± 4.9	9.0 ± 6.0	1.57	< 0.01*	7.6 ± 5.7
RA (°)	19.6 ± 8.5	17.1 ± 9.5	1.02	< 0.01*	18.4 ± 10.0

*significant difference

CEA – Wiberg angle; AA – acetabular angle of Sharp; AD – acetabular depth; ARO – acetabular roof obliquity; RA – roof angle

The following parameters for acetabular geometry were obtained ($\bar{x} \pm SD$): CEA – 32.5 ± 6.4° (33.6 ± 5.8° in male, 31.3 ± 6.9° in female), ($\bar{x} \pm SD$) AA – 38.0 ± 3.8° (37.5 ± 3.6° in male, 38.5 ± 3.9° in female) AD – 11.9 ± 2.8 mm (12.5 ± 2.7 mm in male, 11.2 ± 2.7 mm in female), ARO – 7.6 ± 5.7° (6.2 ± 4.9° in male, 9.0 ± 6.0° in female) and 18.4 ± 9.1° (19.6 ± 8.5° in male, 17.1 ± 9.5° in female).

Acetabular angle, center – edge angle of Wiberg, acetabular depth, acetabular roof obliquity and roof angle differed significantly by gender.

The average ARO was significantly lower in the men than in the women: 6.2° (SD = 4.9) in male hips and 9.0° (SD = 6.0) in female hips ($p < 0.01$, *t*-test).

The Average RA was significantly greater in the men than in the women: 19.6° (SD = 8.5) in male hips and 17.1° (SD = 9.5) in female hips ($p < 0.01$, *t*-test).

Distribution of anatomical parameters of acetabulum and sex related differences within various ethnic groups are presented in Tables 1–6⁷⁻¹⁵.

Table 2

The published values of the mean center-edge angle of Wiberg (°) by gender and ethnic group⁷⁻¹⁵

The ethnic group	Mean centre edge angle of Wiberg (°)		<i>p</i>	Total
	Male	Female		
Turkish	34.5 ± 7.4	35.0 ± 7.0	> 0.05	34.6 ± 7.2
British	31.7 ± 5.5	30.4 ± 5.4	< 0.1	31.1 ± 5.7
Denmark	35.0 ± 7.3	35.0 ± 7.4	> 0.05	35.0 ± 7.4
Japanese	29.5 ± 5.9	27.9 ± 6.5	< 0.001*	28.7 ± 6.2
Singaporean	30.6 ± 8.1	33.5 ± 7.1	< 0.05*	31.2 ± 7.9
Korean	32.6 ± 5.7	32.3 ± 6.8	> 0.05	32.5 ± 6.4
Malawian	34.0 ± 7.5	34.3 ± 7.5	> 0.5	34.2 ± 7.5

* significant difference

Table 3

The published values of the acetabular angle of Sharp (°) by gender and ethnic group⁷⁻¹⁵

The ethnic group	Acetabular angle of Sharp (°)		<i>p</i>	Total
	Male	Female		
Denmark	37.0 ± 3.5	39.1 ± 3.7	< 0.05*	38.0 ± 3.6
British	36.2 ± 2.8	39.0 ± 3.2	< 0.001*	37.6 ± 3.0
Japanese	39.0 ± 3.2	41.8 ± 3.4	< 0.001*	40.4 ± 3.3
Singaporean	39.9 ± 6.0	38.3 ± 5.9	> 0.05	39.1 ± 6.0
Korean	36.5 ± 3.5	37.5 ± 3.8	< 0.01*	37.0 ± 3.7
Malawian	36.9 ± 4.0	38.6 ± 4.9	< 0.05*	37.6 ± 4.5

* significant difference

Table 4

The published values of the acetabular depth (mm) by gender and ethnic group^{9, 11, 18}

Ethnic group	Acetabular depth (mm)		<i>p</i>	Total
	Male	Female		
Turkish	13.8 ± 3.6	13.3 ± 3.0	> 0.05	13.6 ± 3.3
Austrian	17.9 ± 1.2	14.5 ± 2.2	< 0.05*	16.2 ± 1.7
Korean	11.5 ± 2.6	10.2 ± 2.6	< 0.01*	10.9 ± 2.7

* significant difference

Table 5

The published values of the acetabular roof obliquity (°) by gender and ethnic group^{11 12}

Ethnic group	Acetabular roof obliquity (°)		<i>p</i>	Total
	Male	Female		
Japanese	4.6 ± 4.1	5.4 ± 4.5	< 0.05*	5.0 ± 4.3
Korean	5.2 ± 4.8	8.0 ± 5.9	< 0.01*	6.6 ± 5.6
Singaporean	7.8 ± 6.5	7.8 ± 6.8	> 0.05	7.8 ± 6.7

* significant difference

Table 6

The published values of the acetabular roof angle (°) by gender and ethnic group¹¹

Ethnic group	Roof angle (°)		<i>p</i>	Total
	Male	Female		
Japanese	20.9 ± 10.1	17.9 ± 10.2	< 0.01*	19.4 ± 10.2
Korean	18.6 ± 8.4	16.1 ± 9.4	< 0.01*	17.4 ± 9.0

* significant difference

Discussion

According to the obtained results it can be concluded that Serbian female acetabulum in our study population are more dysplastic than in males using all methods of measurement. Regarding gender differences in the five most important acetabular parameters, CEA, AA, AD, ARO, RA, we found a distinct discrepancy between our data and those reported in the literature⁷⁻¹⁵.

The center-edge angle, originally described by Wiberg¹⁶, is perhaps the most used indicator and it is included in most of the radiographic classifications. It evaluates the degree of lateral coverage of the femoral head in the frontal plane and a large CEA correlates with a deep acetabulum. Consensus seems to exist regarding the normal and pathological values of the classic CEA. A classic CEA of more than 20° between 3 and 17 years and a classic CEA of more than 25° in adults was considered "normal", and CEA below 20° in adults and below 15° in children and adolescents "pathological"¹⁶. Hips with CEA between 20° and 25° in adults and between 15° and 20° in children and adolescents are "intermediate" or "uncertain" hips. However, detailed studies are required to evaluate the normal and pathological values of the refined CEA. Serbian male CEA (33.6 ± 5.8°) is significantly higher ($p < 0.05$) than female CEA (31.3 ± 6.9°), corresponding to the findings of Lavy¹³ in Japanese hips, who found a significantly higher male (29.5 ± 5.9°) than female CEA value (27.9 ± 6.5°). Umer et al.¹² reported the mean CEA in Singaporean population was 31.2 ± 7.9° (range 5-52°) and mean female CEA (33.5 ± 7.1°) that of is significantly higher ($p < 0.05$) than male CEA (30.6 ± 8.1°). No significant differences were

found in the CEA in Malawian, British, Korean, Turkish and Denmark population related to gender^{7, 9-11, 13-15}. The CEA differed significantly by gender in Japanese and Singaporean population.

The acetabular angle of Sharp is one of the most common anatomical parameters of acetabulum used to assess acetabular dysplasia. Our measurements revealed the Serbian male AA value (37.5 ± 3.6°) was lower than the female one (38.5 ± 3.9°, $p < 0.05$) corresponding to the findings of Jacobsen in the Denmark population, who found a significantly higher female value (39.1 ± 3.7°) than male AA value (37.0 ± 3.5°) in the right hip. These results differ from those reported by Umer et al.¹², who observed a male AA of 39.9 ± 6.0° and a female AA of 38.3 ± 5.9° in Singaporean population. No significant differences were found in the AA in Singaporean population related to gender. The AA differed significantly by gender in Malawian, British, Japanese, Korean and Denmark population^{7, 8, 10, 11, 13, 14}.

The acetabular index of depth to width evaluates the depth of the acetabulum. In comparison between normal and dysplastic hips with osteoarthritis, all normal hips were shown to have acetabular index values over 38°. Murrey¹⁷ reported another method, which use acetabular depth to compensate for the inaccuracy of the Wiberg angle which was caused by formation of a bony spur of lateral margin of the acetabulum and displacement of the femoral head. It is considered as acetabular dysplasia if the acetabular depth is less than 9 mm. Regarding the AD we determined a significantly lower value of the Serbian female (11.2 ± 2.7°) than the male (12.5 ± 2.7°, $p < 0.05$). This agrees with the findings of Genser-Strobl et al.¹⁸, who also found a significantly higher male value (17.98 ± 1.22°) than female (14.50 ± 2.21°)

($p < 0.05$) in Austrian population. No significant differences were found in the AD in Turkish population related to gender^{9,19}. The AD differed significantly by gender in Austrian and Korean population^{11,18}.

Acetabular roof obliquity is used to evaluate the orientation of the acetabular roof in a coronal plane, and the superior lateral coverage of the femoral head. Normal values are 10° and under, values above 10° are frequently found in acetabular dysplasia⁵. Acetabular roof obliquity was normal if the angle was less than 30° under one year of age, if the angle was less than 25° between age 1 and 3, and if the angle was less than 20° from age 3 to adult²⁰. The mean ARO $7.6 \pm 5.7^\circ$ (both genders) did not differ from the value given by Han et al.¹¹. Furthermore, Serbian female ARO ($9.0 \pm 6.0^\circ$) differed significantly from the male value ($6.2 \pm 4.9^\circ$, $p < 0.01$). These values concur with the findings of Umer et al.¹² who reported a similar difference between female ($7.78 \pm 6.81^\circ$) and male ($7.79 \pm 6.46^\circ$) in Singaporean

population. The ARO differed significantly by gender in Japanese and Korean population^{7,8,11}.

Our male RA ($19.6 \pm 8.5^\circ$) is significantly higher ($p < 0.01$) than our female RA ($17.1 \pm 9.5^\circ$), corresponding to the findings of Nakamura et al.²¹ who found a significantly higher male ($20.9 \pm 10.1^\circ$) than female RA value ($17.9 \pm 10.2^\circ$). The RA differed significantly by gender in Japanese and Korean population^{7,8,11}.

Conclusion

There are significant gender differences for all the examined anatomical parameters of the acetabulum in Serbian population. There is also a clear tendency of female hips within the ethnic group to be more dysplastic than their male counterparts. We also found sex-related differences in acetabular morphology which were the cause for more dysplastic female acetabula compared with male.

R E F E R E N C E S

- Mall G, Graw M, Gebring K, Hubig M. Determination of sex from femora. *Forensic Sci Int* 2000; 113(1–3): 315–21.
- Lanyon P, Muir K, Doherty S, Doherty M. Age and sex differences in hip joint space among asymptomatic subjects without structural change: implications for epidemiologic studies. *Arthritis Rheum* 2003; 48(4): 1041–6.
- Lequesne M, Morvan G. Description of the potential of an arthrometer for standard and reduced radiographs suitable to measurement of angles and segments of hip, knee, foot and joint space widths. *Joint Bone Spine* 2002; 69(3): 282–92.
- Cooperman DR, Wallensten R, Stulberg SD. Acetabular dysplasia in the adult. *Clin Orthop Relat Res* 1983; 175: 79–85.
- Delannay S, Dussault RG, Kaplan PA, Alford BA. Radiographic measurements of dysplastic adult hips. *Skeletal Radiol* 1997; 26(2): 75–81.
- Antoniades L, Spector TD, Macgregor AJ. The genetic contribution to hip joint morphometry and relationship to hip cartilage thickness. *Osteoarthritis Cartilage* 2001; 9(6): 593–5.
- Fuji G, Funayama K, Benson M. Radiological measurement of the hip joint: comparison between Japanese and British. British and Japanese Orthopaedic Associations Combined Congress; 2000 Oct 3–6; London; 2000.
- Inoue K, Wicart P, Kawasaki T, Huang J, Ushiyama T, Hukuda S, et al. Prevalence of hip osteoarthritis and acetabular dysplasia in French and Japanese adults. *Rheumatology* 2000; 39(7): 745–8.
- Goker B, Sancak A, Haznedaroglu S. Radiographic hip osteoarthritis and acetabular dysplasia in Turkish men and women. *Rheumatol Int* 2005; 25(6): 419–22.
- Jacobsen S, Sonne-Holm S, Soballe K, Gebuhr P, Lund B. Hip dysplasia and osteoarthritis: a survey of 4151 subjects from the Osteoarthritis Substudy of the Copenhagen City Heart Study. *Acta Orthop* 2005; 76(2): 149–58.
- Han CD, Yoo JH, Lee WS, Choe WS. Radiographic parameters of acetabular dysplasia in Korean adults. *Yonsei Med J* 1998; 39(5): 404–8.
- Umer M, Thambyah A, Tan WTJ, Das De S. Acetabular morphometry for determining hip dysplasia in the Singaporean population. *J Orthop Surg* 2006; 14(1): 27–31.
- Lavy CB, Msamati BC, Igbigbi PS. Racial and gender variations in adult hip morphology. *Int Orthop* 2003; 27(6): 331–3.
- Msamati BC, Igbigbi PS, Lavy CB. Geometric measurements of the acetabulum in adult Malawians: radiographic study. *East Afr Med J* 2003; 80(10): 546–9.
- Jacobsen S, Sonne-Holm S. Hip dysplasia: a significant risk factor for the development of hip osteoarthritis. A cross-sectional survey. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44(2): 211–8.
- Wiberg G. Studies on dysplastic acetabulae and congenital subluxation of the hip joint. *Acta Orthop Scand (Suppl)* 1939; 58: 1–132.
- Murray RO. The etiology of primary osteoarthritis of the hip. *Br J Radiol* 1965; 38(455): 810–24.
- Genser-Strobl B, Sora MC. Potential of P40 plastination for morphometric hip measurements. *Surg Radiol Anat* 2005; 27(2): 147–51.
- Aktas S, Pekindil G, Ercan S, Pekindil Y. Acetabular dysplasia in normal Turkish adults. *Bull Hosp Jt Dis* 2000; 59(3): 158–62.
- Massie WK, Howarth MB. Congenital dislocation of the hip. Part. I. Method of grading results. *J Bone Joint Surg Am* 1950; 32-A(3): 519–31.
- Nakamura S, Ninomiya S, Nakamura T. Primary osteoarthritis of the hip joint in Japan. *Clin Orthop Relat Res* 1989; (241): 190–6.

Received on May 14, 2010.

Revised on April 29, 2011.

Accepted on April 29, 2011.



Kvalitet života žena sa oštećenom funkcijom karličnog dna

Quality of life in women with pelvic floor dysfunction

Ljiljana Mladenović Segedi*, Katarina Parezanović Ilić[†], Aleksandar Ćurčić*,
Nemanja Višnjevac*

*Klinički centar Vojvodine, Klinika za ginekologiju i akušerstvo, Odeljenje za ginekologiju i urologiju, Novi Sad, Srbija, [†]Klinički centar Kragujevac, Centar za fizikalnu medicinu i rehabilitaciju, Kragujevac, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Disfunkcija karličnog dna čest je problem koji se javlja kod više od 50% žena u peri- i postmenopauzi. S obzirom na to da starenje i menopauza predstavljaju značajne faktore za nastanak ovog problema, a kako se trajanje života žena u svetu, pa tako i kod nas, produžava, očekuje se da će prevalencija disfunkcije karličnog dna u budućnosti biti još veća. Cilj rada bio je da se ispita kvalitet života žena sa oštećenom funkcijom karličnog dna kod kojih je planirano operativno lečenje, kao i da se ispita njihovo mišljenje o sopstvenom fizičkom izgledu. **Metod.** Istraživanjem je obuhvaćeno 50 bolesnica sa spadom genitalnih organa koje zahteva operativno lečenje bolesnica bez prisustva spada genitalnih organa i urinarnе inkontinencije. Bolesnice su popunile upitnik koji se odnosio na prisustvo i težinu tegoba disfunkcije karličnog dna, *Pelvic floor distress inventory – short form 20* (PFDI-20), upitnik o tome kako prisutne tegobe utiču na obavljanje svakodnevnih aktivnosti i kvalitet života (*Pelvic floor impact questionnaire – short form*) kao i upitnik o zadovoljstvu izgledom sopstvenog tela (*Body Image Scale*). **Rezultati.** Bolesnice ispitivane grupe imale su statistički značajno izraženije simptome disfunkcije karličnog dna nego bolesnice kontrolne grupe (vrednost PFDI-20 upitnika 134,91 prema 78,08; $p < 0,01$), kao i statistički značajnije snižen kvalitet života (89,23 prema 3,1; $p < 0,01$). Bolesnice su se stidele svog fizičkog izgleda (78% prema 42%; $p < 0,01$), smatrale su da su manje fizički privlačne (78% prema 22%; $p < 0,01$), manje ženstvene (56% prema 16%; $p < 0,05$), nezadovoljne izgledom bez odeće (70% prema 42%; $p < 0,01$) i da su manje seksualno privlačne (64% prema 32%; $p < 0,01$). Ustanovljena je pozitivna korelacija između stepena sniženja kvaliteta života i stepena nezadovoljstva fizičkim izgledom. Nije nađena razlika između ispitivanih grupa u nezadovoljstvu izgledom kada su odevene i sveukupnim izgledom svog tela, kao i u izbegavanju drugih zbog izgleda. **Zaključak.** Žene sa disfunkcijom karličnog dna imaju snižen kvalitet života i nezadovoljne su sopstvenim fizičkim izgledom.

Ključne reči:

materica, prolaps; hirurgija, ginekološke procedure; kvalitet života.

Abstract

Background/Aim. Pelvic floor dysfunction is a frequent problem affecting more than 50% of women in peri- and postmenopause. Considering that ageing and menopause befall in the significant factors causing this issue, as well as the expected longevity of women in the world and in our country, pelvic floor dysfunction prevalence is foreseen to be even higher. The aim of the study was to evaluate impact of the symptoms of pelvic dysfunction on quality of life and examine body image satisfaction in adult women with pelvic organ prolapse presenting to tertiary care clinic for surgical treatment. **Methods.** This prospective case-control study included 50 patients who presented to tertiary care gynecology clinic for surgical treatment and 50 controls with normal pelvic floor support and without urinary incontinence who presented tertiary care gynecology clinic for other reasons. Both, patients and controls, completed two questionnaires recommended for the evaluation of symptoms (*Pelvic floor distress inventory – short forms*) and quality of life impact (*Pelvic floor impact questionnaire – short form*) of pelvic organ prolapse, and *Body Image Scale*. **Results.** The patients scored significantly worse on the prolapse, urinary, colorectal scales and overall score of *Pelvic floor distress inventory - 20* than controls subjects (134.91 vs 78.08; $p < 0.01$). The patients also measured significant decrease in condition-specific quality of life (89.23 vs 3.1; $p < 0.01$). They were more likely to feel self-conscious (78% vs 42%; $p < 0.01$), less likely to feel physically attractive (78% vs 22%; $p < 0.01$), more likely to have difficulty looking at themselves naked (70% vs 42%; $p < 0.01$), less likely to feel sexually attractive (64% vs 32%; $p < 0.01$), and less likely to feel feminine (56% vs 16%; $p < 0.05$), than controls. There were no differences in their feeling of dissatisfaction with appearance when dressed, avoiding people because of appearance and overall dissatisfaction with their body. There was a positive correlation between decreased quality of life and body image in women with pelvic dysfunction. **Conclusion.** Women with pelvic floor dysfunction have decreased quality of life and body image.

Key words:

uterine prolapse; gynecologic surgical procedures.

Uvod

Spad genitalnih organa, urinarna i fekalna inkontinencija, kao i poremećaj funkcije mokrenja i defekacije, te seksualna disfunkcija zajedno čine grupu stanja koja se jednim imenom nazivaju poremećaj funkcije karličnog dna¹. Disfunkcija karličnog dna čest je problem koji se javlja kod više od 50% žena u peri- i postmenopauzi². S obzirom na to da starenje i menopauza predstavljaju značajne faktore za nastanak ovog problema kao i da se očekuje produženje trajanja života žena u svetu pa i kod nas, smatra se da će prevalencija disfunkcije karličnog dna u budućnosti biti još veća^{3,4}.

Problemi disfunkcije karličnog dna veoma retko vode do smrti žene ili teškog morbiditeta^{5,6}. Ako se kvalitet života posmatra kao sposobnost za obavljanje životnih i radnih funkcija koja predstavlja sintezu kvantifikovanih vrednosti objektivnog nalaza i subjektivne percepcije fizičkog i psihosomatskog stanja pojedinca, njegove socijalne interakcije i lične percepcije zdravlja, onda problemi disfunkcije karličnog dna kod žena svakako mogu značajno da utiču na njega⁷. Percepcija izgleda sopstvenog tela, takođe, predstavlja jedan od značajnih faktora koji može bitno da utiče na kvalitet života žene. S obzirom na veoma osetljivu prirodu žena sa problemom genitalnog spada, naročito ako je spad većeg stepena, može se javiti gubitak samopouzdanja, nezadovoljstvo sopstvenom ženstvenošću i seksualnošću, kao i nezadovoljstvo ukupnim fizičkim izgledom¹.

Naša hipoteza je da žene sa genitalnim spodom većeg stepena koji zahteva hirurško lečenje imaju snižen kvalitet života i da su one nezadovoljne svojim fizičkim izgledom. Cilj rada bio je da se ispita kvalitet života i zadovoljstvo fizičkim izgledom kod žena sa genitalnim spodom kod kojih je planirano operativno lečenje, te da se utvrdi da li postoji korelacija između dobijenih vrednosti.

Metode

Ispitivanje je sprovedeno u Klinici za ginekologiju i akušerstvo, Kliničkog centra u Novom Sadu, u periodu septembar 2008 – maj 2009. godine nakon dobijenog odobrenja Etičkog komiteta Kliničkog centra. Ispitivanu grupu činile su bolesnice koje su hospitalizovane radi hirurškog lečenja genitalnog spada. Kontrolnu grupu činile su ispitanice koje nisu imale genitalni spad, ni urinarnu inkontinenciju, već su se javile radi ginekološkog pregleda iz drugih razloga.

Ispitanicama obe grupe, uzeti su opšti podaci (starost, telesna masa, telesna visina), ginekološka anamneza (regularnost menstrualnih ciklusa, datum poslednje menstruacije, broj porođaja, način porođaja, težina dece na rođenju), socijalna anamneza (stepen stručne sprema, obavljanje teškog fizičkog rada). Sve ispitanice su nakon potpisivanja informisanog pristanka za učešće u ispitivanju popunile tri upitnika.

Prva dva upitnika sadrže specifična psihometrijska pitanja za spad genitalnih organa. Ovi upitnici spadaju u grupu visokopreporučenih upitnika za procenu težine simptoma i kvaliteta života kod žena sa spodom genitalnih organa⁸.

Prvi upitnik pod nazivom *Pelvic floor distress inventory – short form 20* (PFDI-20) (prilog 1) sadrži tri

skale: prva skala pod nazivom *The pevllic organ prolapse distress inventory* (POPDI-6) sadrži šest pitanja koja se odnose na prisustvo i težinu simptoma spada materice i zidova vagine (osećaj pritiska ili težine u donjem delu trbuha, pipanje „izbočenja“ izvan vagine, osećaj nepotpunog pražnjenja bešike, neophodnost pritiska na izbočenje vagine da bi se započeo ili završio akt mokrenja i/ili defekacije); druga skala pod nazivom *The colorectal-anal distress inventory* (CRADI-8) sadrži osam pitanja koja se odnose na simptome poremećaja funkcije debelog creva (otežana defekacija, bolna defekacija, urgentna defekacija, nepotpuno pražnjenje creva, nemogućnost voljnog kontrolisanja gasova, tečne i čvrste stolice kao i prolaps rektalne sluznice tokom ili posle defekacije); treća skala pod nazivom *The urinary distress inventory* (UDI-6) sadrži šest pitanja koja se odnose na poremećaj funkcije mokrenja (učestalost mokrenja, prisustvo i težina simptoma urgentne inkontinencije, prisustvo i težina simptoma stres inkontinencije, količina izgubljenog urina, postojanje teškoća prilikom mokrenja i prisustvo bolova). Bolesnice su na postavljena pitanja odgovarale zaokruživanjem jednog od brojeva 1–4 (1 – ne uopšte, 2 – malo, 3 – umereno, 4 – veoma), te se primenom odgovarajuće formule određivao skor upitnika i dobijao podatak o težini simptoma za svaku posmatranu skalu⁹.

Drugi upitnik pod nazivom *Pelvic floor impact questionnaire – short form* (PFIQ-7) (prilog 2), sačinjavaju tri skale: prva pod nazivom *The urinary impact questionnaire* (UIQ-7) odnosi se na uticaj urinarnih simptoma na obavljanje svakodnevnih životnih aktivnosti; druga pod nazivom *The pelvic organ prolapse impact questionnaire* (POPIQ-7) odnosi se na uticaj tegoba zbog spuštanja materice i/ili vagine na svakodnevni život; treća pod nazivom *The colorectal-anal impact questionnaire* (CRAIQ7) odnosi se na uticaj problema sa defekacijom na svakodnevni život. Svaka skala sadrži po sedam specifičnih pitanja koja su koncipirana tako da se ispita uticaj simptoma na sve socijalne sfere života žene: obavljanje kućnih poslova (kuvanje, pranje, čišćenje), fizičku rekreaciju (šetnja, plivanje, fizičke vežbe), zabavne aktivnosti (odlazak u bioskop, pozorište), putovanja autobusom ili kolima koja traju duže od 30 min, učestvovanje u društvenim događanjima, emocionalno zdravlje (nervoza, depresija) i osećaj frustriranosti. Odgovor je podrazumevao zaokruživanje jednog od brojeva 0–3 (0 – uopšte ne, 1 – malo, 2 – umereno, 3 – veoma), te se primenom odgovarajuće formule, takođe, određivao skor upitnika⁹.

Prikazani upitnici predstavljaju skraćene forme originalnih upitnika i odnose se na specifične probleme bolesnica sa disfunkcijom karličnog dna, a proistekli su iz Barberovih upitnika objavljenih 2001¹⁰. Kratke forme upitnika sadrže 20 (PFDI-20), odnosno 21 pitanje (PFIQ-7) i u visokoj su korelaciji sa originalnim formama. One su jednostavnije za upotrebu, manje vremena je potrebno da ih bolesnik reši, a kao i originalne forme daju reprezentativne i pouzdane rezultate koji se mogu koristiti u određivanju kvaliteta života i koji se mogu porediti, te se preporučuju za procenu težine simptoma i njihovog uticaja na kvalitet života kod žena sa genitalnim spodom⁹.

Upitnik o fizičkom izgledu, *Body image scale* (BIS) (prilog 3), predstavlja Jelovsekovu modifikaciju originalnog Hopwoodovog upitnika koja je opisana i primenjena prvi put 2006. kod onkoloških bolesnika^{1,11}. Sadrži 8 modifikovanih pitanja kojima se ispituje mišljenje bolesnice o izgledu sopstvenog tela kao i zadovoljstvo izgledom tela. Na postavljena pitanja bolesnica daje jedan od ponuđenih odgovora (uopšte ne, malo, umereno, veoma), pri čemu se odgovor „uopšte ne“ smatra kao „normalan“ a svi ostali se smatraju „patološki“.

Statistička obrada podataka urađena je primenom softverskog paketa Statgraphics Centurion uz korišćenje Studentovog *t*-testa, χ^2 testa, Fischerovog testa kao i linearne regresivne analize.

Rezultati

Ispitano je ukupno 100 bolesnica (50 u ispitivanoj i 50 u kontrolnoj grupi). Opšte karakteristike ispitanica prikazane su u tabeli 1. Ispitanice kontrolne grupe bile su statistički značajno mlađe ($p < 0,01$), dok su ispitanice ispitivane grupe imale statistički značajno veći indeks telesne mase ($p < 0,05$). U pogledu broja porođaja, načina porođanja, težine dece na rođenju, stepena obrazovanja i obavljanja teškog fizičkog posla nije zabeležena statistički značajna razlika ($p > 0,05$).

Vrednost svake skale PFDI-20 upitnika (tabela 2) bila je statistički značajno veća kod ispitanica sa problemom genitalnog spada: za upitnik koji se odnosi na prisutnost i težinu tegoba nastalih usled ispadanja materice i zidova vagine (POPDI-6) ukupan skor bio je 57,72 u ispitivanoj grupi, a 25,99 u kontrolnoj grupi ($p < 0,01$); za upitnik koji se odnosio na urinarnu disfunkciju (UDI-6) ukupan skor bio je u ispitivanoj grupi 42,29, a 25,58 u kontrolnoj grupi ($p < 0,01$); za upitnik koji se odnosio na kolorektalno-analnu disfunkciju (CRADI-8) ukupan skor bio je u ispitivanoj grupi 34,9, a 26,49 u kontrolnoj grupi ($p < 0,01$).

Razlika u vrednosti PFIQ-7 upitnika između ispitanica sa genitalnim spadom i bez genitalnog spada prikazana je u tabeli 2. Ukupna vrednost PFIQ-7 upitnika u ispitivanoj grupi bila je 89,23, a 3,1 u kontrolnoj grupi ($p < 0,01$). Ukupna vrednost POPIQ-7 upitnika u ispitivanoj grupi 48,66 u odnosu na kontrolnu grupu (1,04) bila je statistički značajno veća ($p < 0,01$). Razlika u prosečnoj vrednosti CRAIQ-7 upitnika (10,57 prema 1,61; $p < 0,05$) i vrednosti UIQ-7 (33,29 prema 0,47; $p < 0,01$) bila je, takođe, statistički značajna između ispitanica ispitivane i kontrolne grupe.

Rezultati upitnika o fizičkom izgledu prikazani su u tabeli 3. Ispitanice sa disfunkcijom karličnog dna, u značajno većoj meri stidele su se svog fizičkog izgleda (78% prema

Tabela 1

Karakteristike žena ispitivane i kontrolne grupe

Karakteristike	Ispitivana grupa	Kontrolna grupa	<i>p</i>
Starost (X ± SD) (godine)	58,74 ± 7,52	44,74 ± 6,8	< 0,01
U premenopauzi (%)	20	82	< 0,01
U menopauzi (%)	80	18	< 0,01
Telesna masa (X ± SD) (kg)	73,95 ± 8,94	71,50 ± 8,67	< 0,05
Indeks telesne mase (X ± SD), (kg/m ²)	27,395 ± 3,55	26,02 ± 2,91	< 0,05
Paritet (X ± SD), n	2,08 ± 1,07	1,98 ± 0,77	< 0,05
Prosečna TM beba (X ± SD) (kg)	3743,36 ± 541,51	3592,76 ± 284,37	< 0,05
Stepen stručne sprema (%)			
domaćice	24	18	< 0,05
srednja stručna sprema	64	56	< 0,05
visoka stručna sprema	12	26	< 0,05
Težak fizički rad (%)	64	48	< 0,05

X – srednja vrednost; SD – standardna devijacija; TM – telesna masa

Tabela 2

Razlike u vrednosti *Pelvic floor distress inventory – short form 20* (PFDI-20) i *Pelvic floor impact questionnaire – short form* (PFIQ-7) upitnika između ispitanica ispitivane i kontrolne grupe

Upitnici	Ispitivana grupa (X ± SD)	Kontrolna grupa (X ± SD)	<i>p</i>
PFDI-20	134,91 ± 34,07	78,08 ± 4,87	< 0,01
POPDI-6	57,72 ± 19,7	25,99 ± 2,31	< 0,01
CRADI-8	34,9 ± 12,68	26,49 ± 2,62	< 0,01
UDI-6	42,29 ± 13,11	25,58 ± 1,68	< 0,01
PFIQ-7	89,23 ± 65,4	3,1 ± 5,1	< 0,01
POPIQ-7	48,66 ± 40,09	1,04 ± 2,41	< 0,01
CRAIQ-7	10,57 ± 24,91	1,61 ± 3,13	< 0,05
UIQ-7	33,29 ± 35,0	0,47 ± 2,2	< 0,01

POPDI-6 – *Pelvic organ prolapse distress inventory*;
 CRADI-8 – *Colorectal – anal distress inventory*;
 UDI-6 – *Urinary distress inventory*;
 POPIQ-7 – *Pelvic organ prolapse impact questionnaire*;
 CRAIQ-7 – *Colorectal – anal impact questionnaire*;
 UIQ-7 – *Urinary impact questionnaire*

Tabela 3

Zadovoljstvo fizičkim izgledom kod ispitanica sa i bez genitalnog spada

Odgovori na pitanja o fizičkom izgledu*	Ispitivana grupa (%)	Kontrolna grupa (%)	<i>p</i>
Stide se fizičkog izgleda	78	42	<i>p</i> < 0,01
Manje fizički atraktivne	78	22	<i>p</i> < 0,01
Nezadovoljne izgledom	38	30	<i>p</i> < 0,05
Manje ženstvene	56	16	<i>p</i> < 0,05
Nezadovoljstvo nagim telom	70	42	<i>p</i> < 0,01
Manje seksualno aktivne	64	32	<i>p</i> < 0,01
Izbegavaju ljude	18	18	<i>p</i> < 0,05
Nezadovoljstvo telom	56	44	<i>p</i> < 0,05

*Jelovškova modifikacija Upitnika o fizičkom izgledu (prilog 3)

42%; *p* < 0,01). One su, takođe, smatrale da su manje fizički privlačne (78% prema 22%; *p* < 0,01), manje ženstvene (56% prema 16%; *p* < 0,05), bile su nezadovoljne izgledom kad su bez odeće (70% prema 42%; *p* < 0,01) i smatrale su da su manje seksualno privlačne (64% prema 32%; *p* < 0,01). Nije zabeležena statistički značajna razlika između ispitanica u pogledu nezadovoljstva izgledom kada su odevene, u pogledu potrebe da izbegavaju ljude, kao i u pogledu opšteg nezadovoljstva sopstvenim telom.

Regresionom analizom utvrđeno je da BIS kod ispitanica sa disfunkcijom karličnog dna pozitivno koreliše sa svim ispitanim skalama: sa PFDI-20 (*r* = 0,576; *p* < 0,01), sa POPDI-6 (*r* = 0,578; *p* < 0,01), sa CRADI-8 (*r* = 0,374; *p* < 0,01), sa UDI-6 (*r* = 0,446; *p* < 0,01), sa PFIQ-7 (*r* = 0,521; *p* < 0,01), sa POPIQ-7 (*r* = 0,530; *p* < 0,01), sa CRAIQ-7 (*r* = 0,21; *p* < 0,01) i sa UIQ-7 (*r* = 0,328; *p* < 0,01).

Diskusija

Spad genitalnih organa klinički se manifestuje u vidu različitih simptoma koji negativno utiču na sposobnost žene da obavlja svakodnevne životne aktivnosti¹. Veza između vrste i težine kliničkih simptoma i vrste i stepena genitalnog spada postoji, ali je relativno slaba i kompleksna¹². Mnogi simptomi koji su posledica poremećene funkcije debelog creva, koji su prisutni kod žena sa genitalnim spadam, takođe, mogu se sresti i u populaciji žena bez genitalnog spada (otežana defekacija, nemogućnost zadržavanja gasova, nemogućnost zadržavanja tečne stolice, nemogućnost zadržavanja čvrste stolice, prljanje donjeg veša stolicom, urgentni pozivi na stolicu, potreba da se prstom pritisne zadnji zid vagine ili perineum radi potpunog pražnjenja debelog creva, osećaj nepotpunog pražnjenja creva). Uočeno je da su žene sklone da navedene tegobe ne smatraju posledicom poremećene funkcije karličnog dna^{13,14}. Uočena je slaba do umerena veza između stepena spada materice i prisustva specifičnih simptoma kao što je osećaj težine i pritiska u donjem delu trbuha, postojanje izbočenja koje se pipa ili prisustvo osećaja da nešto ispada iz vagine, kao i problemi u vezi sa mokrenjem^{12,15}.

Što su simptomi genitalnog spada i/ili urinarne inkontinencije teži to se bolesnica češće obraća lekaru radi operativnog lečenja. Međutim, nekada bolesnica može da ima manji stepen genitalnog spada i ne tako izražene simptome, a da zahteva lečenje, za razliku od druge bolesnice koja ima veći stepen spada i težu kliničku sliku, a koja se ipak ne odlučuje za operativno lečenje. Ukoliko prisutne tegobe značajno me-

njaju stil života i životne navike bolesnice, ona će se ranije obratiti za pomoć. Stepenn sniženja kvaliteta života bitan je faktor za odluku žene da li će potražiti pomoć specijaliste i na kakav vid lečenja će pristati¹.

Nakon analize primenjenih upitnika PFDI-20 i PFIQ-7 uočeno je da su ispitanice ispitivane grupe imale statistički značajno izraženije simptome disfunkcije karličnog dna nego ispitanice kontrolne grupe (vrednost PFDI-20 upitnika 134,91 prema 78,08; *p* < 0,01). Među ispitivanim bolesnicama dominirale su tegobe vezane za spad materice (POPDI-6), dok su tegobe vezane za urinarnu i kolorektalno-analnu disfunkciju bile prisutne u manjoj meri (CRADI-8 i UDI-6) i ispitanice ih često nisu smatrale posledicom genitalnog spada. Do sličnih rezultata došli su i drugi autori^{1,16}. U kontrolnoj grupi 36% ispitanica imalo je prisutne slabije izražene simptome disfunkcije karličnog dna. Osim mlađeg životnog doba i manjeg indeksa telesne mase, u pogledu drugih ispitivanih parametara koji se smatraju faktorima rizika od nastanka spada genitalnih organa, ispitanice kontrolne grupe nisu se statistički razlikovale od ispitanica ispitivane grupe. Starenjem i ulaskom u menopauzu i kod ispitanica kontrolne grupe može doći do pojave genitalnog spada^{17,18}.

Razlika u vrednosti PFIQ-7 upitnika između ispitanica sa genitalnim spadam i bez genitalnog spada takođe je visoko statistički značajna. Genitalni spad i urinarna inkontinencija, u našem uzorku, imali su umereno značajan negativan uticaj na kvalitet života žena jer su doveli do brojnih ograničenja u ličnom i društvenom životu, što vremenom dovodi do samoizolacije i depresije. Problemi oštećene funkcije debelog creva ispitanicama manje smetaju, i često ih ne povezuju sa prisutnim spadam, i samim tim ove tegobe manje negativno utiču na kvalitet njihovog života^{1,16}.

U pogledu zadovoljstva fizičkim izgledom ispitanice sa genitalnim spadam osećaju se manje ženstvene, manje fizički i seksualno privlačne, stide se svog fizičkog izgleda, i nezadovoljnije su izgledom kada su nage. Do sličnih rezultata došli i Jelovsek i Barber¹ u svom istraživanju. Primenom analize linearne regresije dokazana je statistički značajna korelacija između vrednosti BIS i vrednosti PFDI-20 i PFIQ-7 upitnika (*p* < 0,01). Ispitanice kontrolne grupe, u celini, zadovoljnije su svojim fizičkim izgledom što je verovatno posledica toga što se radi o mlađim osobama koje imaju manji indeks telesne mase. Prisutna pozitivna korelacija između težine simptoma disfunkcije karličnog dna i kvaliteta života, sa jedne strane, i percepcije sopstvenog fizičkog izgleda uka-

zuje da su jače izraženi simptomi disfunkcije karličnog dna praćeni lošijom percepcijom izgleda sopstvenog tela, kao i većim nezadovoljstvom¹.

Zaključak

Žene sa genitalnim spadom koji zahteva hirurško lečenje značajno su manje zadovoljne svojim fizičim izgledom i

imaju značajno snižen kvalitet života u odnosu na žene sa očuvanom potpornom funkcijom karličnog dna. Na sniženje kvaliteta života u najvećoj meri utiču tegobe koje nastaju usled ispadanja materice i zidova vagine kao i urinarna inkontinencija sa kojima se češće suočavaju žene u menopauzi i perimenopauzi. Poremećaj funkcije debelog creva ispitanice najčešće ne povezuju sa genitalnim spadom i on u najmanjoj meri negativno utiče na kvalitet života.

L I T E R A T U R A

1. Jelovsek JE, Barber MD. Women seeking treatment for advanced pelvic organ prolapse have decreased body image and quality of life. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 194(5): 1455–61.
2. Gabriel B, Denschlag D, Göbel H, Fittkow C, Werner M, Gitsch G, et al. Uterosacral ligament in postmenopausal women with or without pelvic organ prolapse. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2005; 16(6): 475–9.
3. Weber AM, Richter HE. Pelvic organ prolapse. *Obstet Gynecol* 2005; 106(3): 615–34.
4. Moalli PA, Talarico LC, Sung VW, Klingensmith WL, Shand SH, Meyn LA, et al. Impact of menopause on collagen subtypes in the arcus tendineus fasciae pelvis. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190(3): 620–7.
5. Pauls RN, Berman JR. Impact of pelvic floor disorders and prolapse on female sexual function and response. *Urol Clin N Am* 2002; 29(3): 677–83.
6. Barber MD, Amundsen CL, Paraiso MF, Weidner AC, Romero A, Walters MD. Quality of life after surgery for genital prolapse in elderly women: obliterative and reconstructive surgery. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2007; 18(7): 799–806.
7. Jones GL, Kennedy SH, Jenkinson C. Health-related quality of life measurement in women with common benign gynecologic conditions: a systematic review. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187(2): 501–11.
8. Gotob M. Quality of life assessment for patients with urinary incontinence. *Nagoya J Med Sci* 2007; 69(3–4): 123–31.
9. Barber MD, Walters MD, Bump RC. Short forms of two condition-specific quality-of-life questionnaires for women with pelvic floor disorders (PFDI-20 and PFIQ-7). *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193(1): 103–13.
10. Barber MD, Kuchibhatla MN, Pieper CF, Bump RC. Psychometric evaluation of 2 comprehensive condition-specific quality of life instruments for women with pelvic floor disorders. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185(6): 1388–95.
11. Hopwood P, Fletcher I, Lee A, Al Ghazal S. A body image scale for use with cancer patients. *Eur J Cancer* 2001; 37(2): 189–97.
12. Ellerkmann RM, Cundiff GW, Melick CF, Nihira MA, Leffler K, Bent AE. Correlation of symptoms with location and severity of pelvic organ prolapse. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185(6): 1332–7.
13. Weber AM, Walters MD, Ballard LA, Boober DL, Piedmonte MR. Posterior vaginal prolapse and bowel function. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179(6 Pt 1): 1446–9.
14. Meschia M, Buonaguidi A, Pifarotti P, Somighiana E, Spennacchio M, Amicarelli F. Prevalence of anal incontinence in women with symptoms of urinary incontinence and genital prolapse. *Obstet Gynecol* 2002; 100(4): 719–23.
15. Burrows LJ, Meyn LA, Walters MD, Weber AM. Pelvic symptoms in women with pelvic organ prolapse. *Obstet Gynecol* 2004; 104(5 Pt 1): 982–8.
16. Murphy M, Sternschuss G, Haff R, van Raalte H, Saltz S, Lucente V. Quality of life and surgical satisfaction after vaginal reconstructive vs obliterative surgery for the treatment of advanced pelvic organ prolapse. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198(5): 573.e–7.
17. Patel PD, Amrute KV, Badlani GH. Pathophysiology of pelvic organ prolapse and stress urinary incontinence. *Indian J Urol* 2006; 22(4): 310–6.
18. Grodstein F, Fretts R, Lifford K, Resnick N, Curhan G. Association of age, race, and obstetric history with urinary symptoms among women in the Nurses' Health Study. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189(2): 428–34.

Primljen 27. V 2010.
Prihvaćen 2. XI 2010.

Prilog 1.

Upitnik o vrsti i težini simptoma disfunkcije karličnog dna, *Pelvic floor distress inventory – short form 20 (PFDI-20)*

Uputstvo: Pitanja se odnose na protekla najmanje 3 meseca života. Na postavljena pitanja možete da odgovorite sa NE ili DA. Ako je odgovor DA onda brojevima od 1 do 4 opišite koliko dato stanje ili simptom utiče na Vaš svakodnevni život na sledeći način:

uopšte ne = 1
nešto malo = 2
umereno, osrednje = 3
veoma = 4

1. Da li obično osećate pritisak u donjem delu trbuha ?
2. Da li obično imate osećaj težine ili tupog pritiska u donjem delu trbuha i karlici?
3. Da li obično možete da napipate ili osetite „izbočenje“ u predelu vagine ili imate osećaj da Vam „nešto ispada“ iz vagine?
4. Da li ste ikada morali da pritisnete na vaginu ili predeo oko rektuma da bi započeli ili završili defekaciju?
5. Da li obično imate osećaj da niste pri mokrenju u potpunosti ispraznili mokraćnu bešiku?
6. Da li ste ikada morali da pritisnete „izbočenje“ u vagini da biste započeli ili završili mokrenje?
7. Da li morate jako da se napinjete da bi ste imali stolicu?
8. Da li ste ikada imali osećaj da niste u potpunosti ispraznili creva, a završili ste defekaciju?
9. Da li obično nevoljno gubite dobro formiranu stolicu?
10. Da li obično nevoljno gubite stolicu koja je meka (nije formirana)?
11. Da li obično nevoljno gubite gasove (ne možete da zadržite gasove)?
12. Da li obično osećate bol pri defekaciji?
13. Da li obično imate jak nagon na stolicu i morate da otrčite u toalet?
14. Da li ste приметили/napipali da Vam je ispala sluznica creva kroz čmar tokom defekacije ili neposredno nakon nje?
15. Da li obično učestalo mokrite?
16. Da li obično imate jak nagon na mokrenje i umokrite se nevoljno pre nego što stignete do toaleta?
17. Da li obično gubite mokraću pri kašljanju, kijanju ili smehu?
18. Da li obično nevoljno gubite mokraću u malim količinama (nekoliko kapi)?
19. Da li Vam je obično sam akt mokrenja naporan?
20. Da li obično osećate nelagodnost u donjem delu trbuha ili genitalnoj regiji?

Pitanja br. 1-6 odnose se na **prolaps genitalnih organa (POPDI-6 – *Pelvic organ prolapse distress inventory 6*)**

Pitanja br. 7-14 odnose se na **kolorektalno-analni distress (CRADI-8 – *Colorectal-anal distress inventory 8*)**

Pitanja br. 15-20 odnose se na **urinarni distress (UDI-6 – *Urinary distress inventory 6*)**

Bodovanje za POPDI-6, CRADI-8 i UDI-6: Za svaku skalu posebno sabere se skor i odredi srednja vrednost skora koja sedobijena srednja vrednost zatim pomnoži sa 25 (vrednost svake skale je **od 0 do 100**).

Bodovanje za PFDI-20: dobijena vrednost svake skale sabere se i dobije se ukupan skor (vrednost **od 0 do 300**).

Prilog 2.

**Upitnik o uticaju simptoma pelvične disfunkcije na kvalitet života,
Pelvic floor impact questionnaire – short form 7 (PFIQ-7)**

Uputstvo: Neke žene smatraju da simptomi koje imaju od strane mokraćne bešike, debelog creva ili genitalnih organa utiču na njihovu svakodnevnu aktivnost i emocionalno stanje. Molim Vas da odgovorite na svako postavljeno pitanje i jedan od ponuđenih brojeva koji odgovara najboljem opisu kako simptomi datih organa utiču na Vas i Vaš svakodnevni život u proteklih više od 3 meseca.

<p>Moguć odgovor: Uopšte ne utiče = 0 Donekle, nešto malo = 1 Umereno, osrednje = 2 Veoma utiče = 3</p>

Kako simptomi ili stanja datih organa utiču na Vašu: ↓	→	mokraćna bešika	debelo crevo i rektum	vagina i genitalni organi
1. Sposobnost da obavljate kućne poslove (kuvanje, čišćenje, pranje veša itd.) ?				
2. Sposobnost da šetate, plivate ili radite druge telesne vežbe?				
3. Učestvujete u zabavnim aktivnostima (odlazak u bioskop, na koncert i slično)?				
4. Sposobnost da putujete kolima ili autobusom duže od 30 minuta?				
5. Učestvujete u društvenim događanjima van kuće?				
6. Emocionalno zdravlje (nervozni ste, depresivni i slično) ?				
7. Da li se osećate frustrirano ?				

Upitnik sadrži tri skale:

Uticaj disfunkcije mokraćne bešike na svakodnevni život - *Urinary impact questionnaire (UIQ-7)*: pitanja ispod kolone „mokraćna bešika“

Uticaj kolorektalno-analne disfunkcije na svakodnevni život – *Colorectal-anal impact questionnaire (CRAIQ-7)*: pitanja ispod kolone „debelo crevo i rektum“

Uticaj prolapsa pelvičnih organa na svakodnevni život – *Pelvic organ prolapse impact questionnaire (POPIQ-7)*: pitanja ispod kolone „vagina i genitalni organi“

Bodovanje: za svaku skalu posebno sabrati upisane bodove (od 0 do 3) i odrediti srednju bodovnu vrednost skale, a potom datu vrednost pomnožiti sa (100/3). Vrednost svake skale **od 0 do 100**.

Bodovanje za PFIQ-7: dobijene vrednosti sve tri skale sabrati i dobiće se ukupan skor čija vrednost može biti od **0 do 300**.

Prilog 3

Jelovšekova modifikacija upitnika o fizičkom izgledu *Body image scale* (BIS)

Pitanja	Uopšte ne*	Malo	Umereno	Veoma
1. Da li se stidite svog fizičkog izgleda?				
2. Da li se osećate manje fizički atraktivni zbog toga što Vam genitalni organi ispadaju?				
3. Da li ste nezadovoljni kako izgledate kad ste obučeni?				
4. Da li se osećate manje ženstveno zbog toga što Vam ispadaju genitalni organi?				
5. Da li kada ste nagi (bez odeće) sebi nalazite mane?				
6. Da li se osećate manje seksualno atraktivni zbog toga što Vam ispadaju genitalni organi?				
7. Da li izbegavate ljude zato što niste zadovoljni svojom pojavom?				
8. Da li ste nezadovoljni svojim telom?				

* odgovor „uopšte ne“ smatra se „normalnim“, svi ostali odgovori smatraju se „patološkim“



Rani inflamatorni odgovor organizma posle elektivne rekonstrukcije aneurizme abdominalne aorte: komparacija endovaskularne i klasične, otvorene rekonstrukcije

Early inflammatory response following elective abdominal aortic aneurysm repair: a comparison between endovascular procedure and conventional, open surgery

Ivan Marjanović*, Miodrag Jevtić†, Sidor Mišović*, Danilo Vojvodić‡, Uroš Zoranović*, Siniša Rusović§, Momir Šarac*, Ivan Stanojević‡

Vojnomedicinska akademija, *Klinika za vaskularnu hirurgiju, †Uprava, ‡Institut za medicinska istraživanja, §Institut za radiologiju, Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Aneurizma abdominalne aorte (AAA) predstavlja patološko proširenje infrarenalnog dela aorte za više od 50% njenog lumena. Jedini vid lečenja AAA je hirurška rekonstrukcija obolelog segmenta. Sve do kraja XX veka, hirurška rekonstrukcija podrazumevala je otvorenu, klasičnu rekonstrukciju (OR) AAA koja je bila praćena značajnim morbiditetom i mortalitetom operisanog bolesnika. Razvoj endovaskularne rekonstrukcije (EVAR) AAA, naročito u poslednjoj dekadi, pružio je još jednu mogućnost hirurške rekonstrukcije, pri čemu preliminarni rezultati svetskih studija pokazuju da su komplikacije ove procedure, kao i morbiditet i mortalitet bolesnika značajnije niži nego tokom OR AAA. Cilj rada bio je da se iznesu rezultati komparativne kliničke prospektivne studije ispitivanja ranog inflamatornog odgovora organizma nakon rekonstrukcije AAA EVAR i OR hirurškom tehnikom. **Metode.** Komparativna klinička prospektivna studija obuhvatila je 39 bolesnika podeljenih u dve grupe koji su elektivno operisani zbog AAA u periodu od decembra 2008. do februara 2010. Prvu grupu sačinjavao je 21 (54%) bolesnik, starosti od 58 do 87 (prosečno 74,3) godina kod kojih je učinjena EVAR procedura *excluder* stent graftom. Drugu grupu činilo je 18 (46%) bolesnika, starosti od 49 do 82 (prosečno 66,8) godine koji su operisani OR tehnikom. Svi operisani iz obe grupe imali su AAA prečnika većeg od 50 mm. Studijom nisu bili obuhvaćeni bolesnici koji su operisani kao hitni slučajevi, zbog rupture ili sa simptomatskom AAA (preteća ruptura). Analizirani su klinički, biohemijski i inflamatorni parametri reakcije organizma u neposrednom postoperativnom periodu (broj leukocita, trombocita, nivo cirkulišućih citokina:

interleukina (IL)-2, IL-4, IL-6 i IL-10 u serumu). Parametri su praćeni nultog, prvog, drugog, trećeg i sedmog postoperativnog dana. Studiju je odobrio Etički komitet Vojnomedicinske akademije. **Rezultati.** Ustanovljeno je statistički značajno kraće trajanje operacije u EVAR grupi (prosečno 90 min) u odnosu na OR grupu (prosečno 136 min). Takođe, pokazan je statistički značajno manji gubitak krvi kod bolesnika operisanih EVAR tehnikom (prosečno 60 mL) u odnosu na bolesnike operisane OR tehnikom (prosečno 495 mL), i kraća postoperativna hospitalizacija bolesnika u EVAR grupi (prosečno 4 dana) u odnosu na OR grupu (prosečno 8 dana). U OR grupi otkriven je statistički značajan porast broja leukocita i statistički značajan pad broja trombocita u poređenju sa EVAR grupom u svim ispitivanim terminima. Značajno povećanje koncentracije IL-2 u OR grupi, a koncentracije IL-6 u EVAR grupi, utvrđeno je 24 h nakon operacije, dok je drugog postoperativnog dana utvrđen značajan pad IL-6 u EVAR grupi. Koncentracija IL-4 u OR grupi značajno se povećavala od trećeg postoperativnog dana u poređenju sa EVAR grupom. Nije utvrđena značajna razlika među grupama u koncentraciji IL-10. **Zaključak.** Primena EVAR tehnike predstavlja bezbedniju i za bolesnika manje invazivnu i manje traumatsku proceduru u poređenju sa OR AAA. Nakon EVAR dolazi do manje inflamatorne reakcije organizma u ranom postoperativnom periodu u poređenju sa OR AAA, samim tim i manje mogućnosti za nastanak sistemskog inflamatornog odgovora.

Ključne reči:

zapaljenje, medijatori; postoperativni period; hirurgija, vaskularna, procedure; aorta, aneurizma; endoskopija.

Abstract

Background/Aim. Abdominal aorta aneurysm (AAA) represents a pathological enlargement of infrarenal portion of aorta for over 50% of its lumen. The only treatment of AAA

is a surgical reconstruction of the affected segment. Until the late XX century, surgical reconstruction implied explicit, open repair (OR) of AAA, which was accompanied by a significant morbidity and mortality of the treated patients. Development of endovascular repair of (EVAR) AAA, especially in the last

decade, offered another possibility of surgical reconstruction of AAA. The preliminary results of world studies show that complications of such a procedure, as well as morbidity and mortality of patients, are significantly lower than with OR of AAA. The aim of this paper was to present results of comparative clinical prospective study of early inflammatory response after reconstruction of AAA between endovascular and open, conventional surgical technique. **Methods.** A comparative clinical prospective study included 39 patients, electively operated on for AAA within the period of December 2008 – February 2010, divided into two groups. The group I counted 21 (54%) of the patients, 58–87 years old (mean 74.3 years), who had been submitted to EVAR by the use of excluder stent graft. The group II consisted of 18 (46%) of the patients, 49–82 (mean 66.8) years, operated on using OR technique. All of the treated patients in both groups had AAA larger than 50 mm. The study did not include patients who have been treated as urgent cases, due to the rupture or with symptomatic AAA. Clinical, biochemical and inflammatory parameters in early postoperative period were analyzed, in direct postoperative course (number of leucocytes, thrombocytes, serum circulating levels of cytokine - interleukine (IL)-2, IL-4, IL-6 and IL-10). Parameters were monitored on the zero, first, second, third and seventh postoperative days. The study was approved by the Ethics Committee of the Military Medical Academy. **Results.** The study showed a statistically significantly shorter time of treatment in the EVAR group (average 90 min) compared to the OR

group (average 136 min). Also, there was a statistically significantly less blood loss in the patients operated on by the use of EVAR surgery (average 60 mL) as compared to the patients treated with OR technique (average 495 mL), as well as a shorter postoperative hospitalization of patients in the EVAR group (average 4 days) compared to the OR group (average 8 days). The OR group was detected with a statistically significant increase of leucocytes and statistically significant fall of the number of thrombocytes in comparison with the EVAR group in all the investigated terms. A significant concentration rise of IL-2 in the OR group and concentration rise of IL-6 in the EVAR group was shown 24 hours after the procedure, whereas on the second postoperative day there was detected a significant fall of IL-6 in the EVAR group. IL-4 concentration in the OR group was significantly higher as of the third postoperative day in comparison to the EVAR group. There was no significant difference in IL-10 concentration between the groups. **Conclusion.** The EVAR technique is a safer and less invasive and less traumatic procedure for patients than the OR of AAA. Following the EVAR, there are less inflammatory reactions in the early postoperative period compared to the OR and therefore less possibility of the development of systemic inflammatory response syndrome in patients treated.

Key words:**inflammation mediators; postoperative period; vascular surgical procedures; aortic aneurysm; endoscopy.**

Uvod

Aneurizma abdominalne aorte (AAA) predstavlja patološko proširenje dela aorte u infrarenalnom segmentu za više od 50% njenog normalnog lumena¹. U ovom delu, od odvajanja renalnih arterija, pa sve do račve ilijačnih arterija, normalan transverzalni prečnik aorte je 16–20 mm². Kada dođe do povećanja poprečnog prečnika aorte na 30 mm i više, govorimo o aneurizmatički izmenjenoj abdominalnoj aorti^{3,4}. Najzastupljenija lokalizacija pojave aneurizme na aorti je infrarenalni deo i kod 63% slučajeva aneurizma se javlja na ovom delu aorte⁵. Poslednjih 30 godina incidencija AAA u svetu povećana je za čak 300%, sa tendencijom daljeg rasta. U SAD se svake godine otkrije 32 000 bolesnika sa AAA a smatra se da oko dva miliona bolesnika sa AAA ostane neotkriveno⁶.

Etiološki, AAA predstavlja još uvek nedovoljno razjašnjeno oboljenje. Velike randomizirane svetske studije pokazale su da od AAA više obolevaju pripadnici muškog roda (5 : 1), pušači, dijabetičari, hipertoničari; da postoji familijarna sklonost ka AAA (genetska predispozicija) i da obolevaju osobe sa hroničnom opstruktivnom bolesti pluća (HOBP)⁶. Pretpostavlja se da su neposredni uzroci nastanka AAA procesi degeneracije kolagena i elastina u samom zidu aorte, lokalna inflamatorna stanja i ishemija samog zida aorte. Sve to dovodi do slabljenja zida krvnog suda i pojave aneurizme⁷⁻⁹. Proširenje aorte može biti uniformno (celim obimom zida), kada govorimo o fuziformnim aneurizmama, i proširenje samo dela obima zida, kada govorimo o sakular-

nim aneurizmama. Najznačajnija, ujedno i najopasnija komplikacija AAA jeste njena ruptura i ona je u direktnoj korelaciji sa samim prečnikom aorte¹⁰. Podaci iz literature ukazuju na to da kod 50% bolesnika, kod kojih je rupturirala aneurizma, smrt nastupi pre nego što stignu u bolnicu, dok od onih koji budu operisani 50–70% umre tokom ili neposredno nakon same operacije. Po smrtnosti u svetu AAA se nalazi na 13. mestu vodećih uzroka smrti, a na 9. mestu uzroka smrti kod osoba starijih od 65 godina¹¹.

Operativno lečenje jedini je vid lečenja AAA i predstavlja hiruršku rekonstrukciju obolelog segmenta, veštačkom protezom – alograftom. Kod tehnike otvorene rekonstrukcije (OR), klemovanje aorte neposredno ispod račvanja renalnih arterija, tj. distalna ishemija i kasniji reperfuzioni efekat nakon puštanja klema, pokreću sistemski inflamatorni odgovor koji može dovesti do oštećenja endotela i povećane vaskularne propustljivosti. Pridružena hipoksija tkiva dovodi do oslobađanja velike količine slobodnih radikala, za koje se smatra da imaju jednu od glavnih uloga u ishemijsko-reperfuzijskoj povredi organizma koja nastaje tokom OR AAA. Povećana kapilarna permeabilnost dovodi do albuminurije, moguće bubrežne insuficijencije, edema pluća, akutnog plućnog i akutnog srčanog zastoja, što sve može dovesti do razvoja multiorganskog distres sindoma^{12,13}.

Sistemska inflamatorna reakcija, indukovana hirurškom traumom, povezana je sa povećanom koncentracijom citokina, interleukina (IL) kao što su IL-2, IL-4, IL-6 i IL-10, naročito kod komplikovanih operacija rekonstrukcije AAA¹⁴⁻¹⁶. Takođe, otvorena rekonstrukcija AAA izaziva značajan po-

remećaj funkcije i broja trombocita i leukocita kao i faktora koagulacije u neposrednom postoperativnom toku. Trombocitopenija, leukocitoza i hiperkoagulabilnost krvi su u korelaciji sa dužinom trajanja prekida cirkulacije kroz infrarenalni segment aorte, nastao klemovanjem aorte distalno od odvajanja bubrežnih arterija¹⁷.

Uporednom prospektivnom kliničkom studijom izvedenom u periodu od decembra 2008. do februara 2010. godine, analizirali smo kliničke, biohemijske i inflamatorne parametre odgovora organizma na rekonstrukciju AAA u neposrednom postoperativnom periodu kod dve kohortne grupe bolesnika. U prvoj grupi rekonstrukcija AAA učinjena je tehnikom endovaskularne rekonstrukcije (EVAR), a u drugoj primenom OR. Pratili smo dužinu trajanja operativne procedure, dužinu trajanja hospitalizacije, brzinu uspostavljanja pune životne aktivnosti i gubitak krvi kod bolesnika tokom same operacije rekonstrukcije AAA (klinički parametri), broj leukocita i trombocita (biohemijski parametri) i koncentraciju pojedinih citokina u serumu (IL-2, IL-4, IL-6 i IL-10). Svi parametri praćeni su u ranom postoperativnom toku (do sedmog postoperativnog dana), kada se javlja najveći broj komplikacija vezanih za samu operaciju rekonstrukcije AAA. Cilj našeg istraživanja bio je da ispitamo da li odsustvo otvaranja trbušne duplje, klemovanja i opsežne disekcije abdominalne aorte, kao i manipulacije crevima (kojih nema kod EVAR tehnike) smanjuju inflamatorne manifestacije kod operisanih bolesnika.

Metode

Serijski uzorci periferne venske krvi, uz pismenu saglasnost bolesnika, prikupljani su neposredno pred operaciju

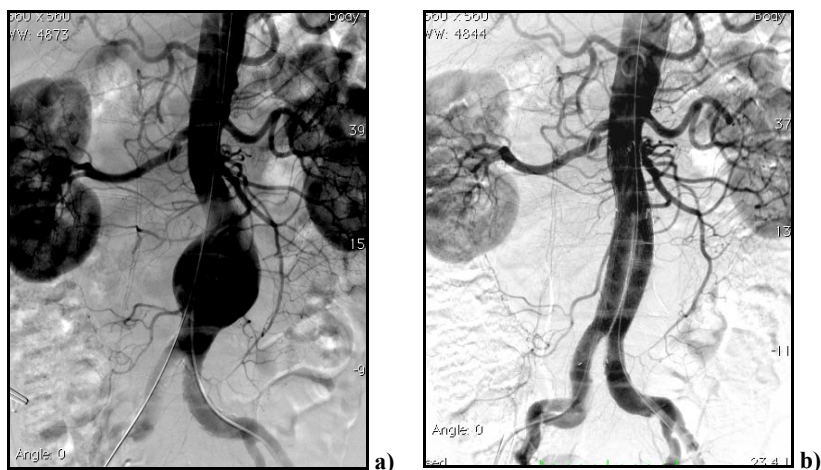
Kliničkom prospektivnom studijom obuhvaćeno je 39 bolesnika koji su elektivno operisani zbog AAA u periodu od decembra 2008. do februara 2010. godine u Klinici za vaskularnu hirurgiju Vojnomedicinske akademije u Beogradu. Kod 18 bolesnika (16 muškog i 2 ženskog pola) učinjena je transperitonealna OR abdominalne aorte (OR grupa), dok je kod 21 bolesnika (19 muškarca i 2 žene) učinjena EVAR procedura (EVAR grupa). Uslovi koje su bolesnici morali da ispune da bi bili obuhvaćeni studijom bili su: infrarenalna AAA prečnika 5 cm ili više i odsustvo kliničkih, radioloških i biohemijskih parametara zapaljenske AAA. Takođe, u studiju su ušli samo oni bolesnici koji nisu operisani kao hitni slučajevi zbog rupture ili preteće rupture (simptomatske AAA).

Sve EVAR procedure učinjene su *excluser* stentgraftom [(politetrafluoretilenski (PTFE) graft sa nitinolskim egzoskeletom – stentovima proizvođač Gore-Tex)].

Odluka o tome koja će se tehnika rekonstrukcije AAA primeniti (EVAR ili OR), donošena je na osnovu morfoloških i anatomskih karakteristika same AAA uz poštovanje standarda i preporuka koje je dala Svetska zdravstvena organizacija.

Kod procedure EVAR pristup aneurizmi je transluminalnim putem, preko zajedničkih femoralnih arterija, te se tokom procedure nakon identifikacije renalnih arterija i račve ilijačnih arterija vrši plasiranje stent grafta u infrarenalnu korektnu poziciju. Konačan ishod procedure EVAR je ekskluzija (isključenje) aneurizme iz same cirkulacije, tj. kompletna rekonstrukcija abdominalne aorte. Na slici 1 prikazana je AAA pre i nakon EVAR.

Klasična OR AAA vršena je transperitoneumskim pristupom kroz medijalnu laparotomiju, pri čemu je nakon pro-



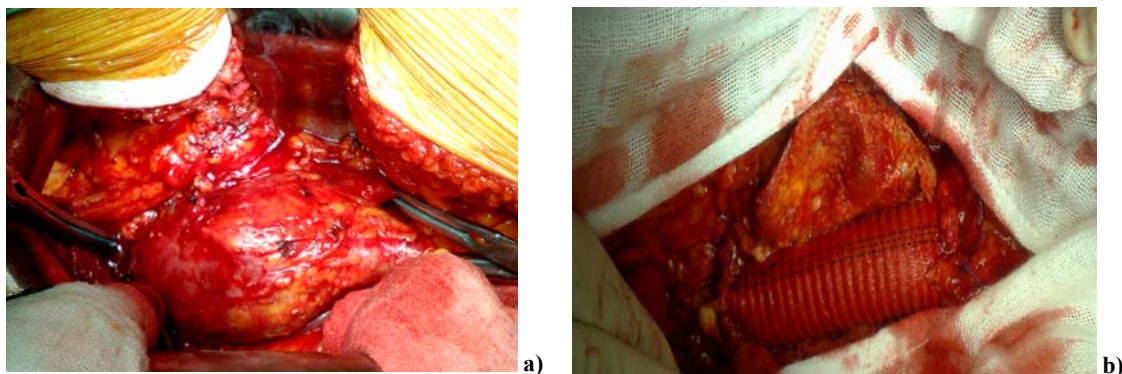
Sl. 1 – Aneurizma abdominalne aorte pre (a) i posle (b) endovaskularne rekonstrukcije

(nultog dana), i postoperativno, prvog, drugog, trećeg i sedmog dana. Iz dela krvi izdvojen je serum koji je zamrznut i uskladišten do vršenja analiza. Ostatak krvi je korišćen za određivanje osnovnog hematološkog profila bolesnika.

Određivanje koncentracije citokina u serumu vršeno je pomoću kompleta *Bender MedSystems BMS 810 Flow cytomix*, Human Th1/Th2 MULTIPLEX seta za detekciju.

ksimalnog i distalnog klemovnja infrarenalne aorte izvršena njena rekonstrukcija iste standardnim dakronskim ili PTFE tubularnim ili bifurkacionim graftom. Na slici 2 prikazan je transperitoneumski pristup AAA, postavljene kleme na vrat aneurizme i obe zajedničke ilijačne arterije.

Dobijeni rezultati analizirani su na nivou deskriptivne statistike merama centralne tendencije (aritmetička sredina i



Sl. 2 – Aneurizma abdominalne aorte pre (a) i posle (b) otvorene rekonstrukcije

medijana) i merama varijabiliteta (standardna devijacija i standardna greška). Na nivou inferencijalne statistike, značajnost hipoteza istraživanja testirana je χ^2 testom, t -testom, Fišerovim i Mann Whitney U -testom. Linearni Pearson χ^2 i neparametarski Spearman-ov koeficijent korelacije korišćeni su za testiranje povezanosti. Takođe, korišćene su i analiza varijansnog količnika za ponovljena merenja i Fridmanova dvosmerna varijansa sa rangovima u dizajnu ponovljenih merenja. Za statističku analizu svih podataka korišćen je statistički programski paket SPSS za *Windows* softver.

Vrednost $p < 0,05$ smatrana je statistički značajnom.

Rezultati

Nije bilo statistički značajne razlike u godinama starosti, niti polnoj pripadnosti među bolesnicima obe grupe. Rezultati su prikazani u tabeli 1.

Primenom *American Society of Anesthesiologists* (ASA) klasifikacije pratećih komorbidnih preoperativnih

stanja bolesnika obuhvaćenih studijom i analizom njihove zastupljenosti unutar ispitivanih grupa pokazali smo da postoji statistički značajna razlika između grupa EVAR i OR. Bolesnici u grupi EVAR imali su veći broj pridruženih oboljenja koja otežavaju hiruršku rekonstrukciju AAA. Najveći broj operisanih u grupi EVAR prema ASA klasifikaciji pripadao je ASA IV, dok je najveći broj operisanih u grupi OR pripadao ASA II klasifikaciji (tabela 1).

Najčešća prateća oboljenja kod ispitanika u obe grupe bila su okluzivna koronarna bolest, dijabetes, hronična miokardiopatija, hronična opstruktivna bolest pluća i hronična bubrežna insuficijencija.

Svi bolesnici obuhvaćeni studijom operisani su u opštoj, endotrahealnoj anesteziji i imali su multislajnsnom skenerskom angiografijom dijagnostikovanu AAA, najmanjeg prečnika 50 mm ili veću (tabela 2). Nije bilo statistički značajne razlike u veličini AAA između EVAR i OR grupa bolesnika ($p = 0,883$, Man Whitney U -test). Tokom studije nije bilo mortaliteta bolesnika ni u EVAR, ni u OR grupi.

Tabela 1
Karakteristike bolesnika podvrgnutih endovaskularnoj (EVAR) i otvorenoj rekonstrukciji (OR) aneurizme abdominalne aorte

Karakteristike bolesnika	Tip operacije		Ukupno (n = 39)
	EVAR (n = 21)	OR (n = 18)	
Godine života, $\bar{x} \pm SD$ (min–max)	74,3 \pm 8,5 (58 – 87)	66,8 \pm 8,3 (49–82)	70,8 \pm 9,1 (49–87)
Pol, n (%)			
muški	19 (90,5)	16 (88,9)	35 (89,7)
ženski	2 (9,5)	2 (11,1)	4 (10,3)
ASA klasifikacija, n (%)			
II	5 (23,8)	13 (72,2)	18 (46,1)
III	6 (28,6)	3 (16,7)	9 (23,1)
IV	10 (47,6)	2 (11,1)	12 (30,8)

ASA – *American Society of Anesthesiologists*

Tabela 2
Distribucija bolesnika podvrgnutih endovaskularnoj (EVAR) i otvorenoj rekonstrukciji (OR) aneurizme abdominalne aorte (AAA) u zavisnosti od njenog prečnika

Prečnik AAA (cm)	Tip operacije		Ukupno, n (%)
	EVAR, n (%)	OR, n (%)	
5–6	6 (28,6)	6 (33,3)	12 (30,8)
6,1–7	8 (38,1)	5 (27,8)	13 (33,3)
7,1–8	3 (14,3)	2 (11,1)	5 (12,8)
više od 8	4 (19,0)	5 (27,8)	9 (23,1)
Svega	21 (100,0)	18 (100,0)	39 (100,0)

Analizom dužine trajanja operacije pokazana je visoko statistički značajna razlika između grupa EVAR i OR ($p < 0,001$). Otvorena rekonstrukcija AAA trajala je značajno duže (tabela 3).

Tabela 3
Dužina trajanja rekonstrukcije aneurizme abdominalne aorte

Tip operacije	Trajanje operacije (min)	
	$\bar{x} \pm \text{SD}$ (min – max)	
EVAR (n = 21)	90,00 \pm 37,88 (50–210)	
OR (n = 18)	136,39 \pm 37,41 (75–225)	
Ukupno (n = 39)	111,41 \pm 43,93 (50–225)	

EVAR – endovaskularna rekonstrukcija; OR – otvorena rekonstrukcija

Kod bolesnika koji su pripadali grupi EVAR detektovan je značajno manji gubitak krvi tokom operacije (0–1 260 mL, prosečno 60 mL) u poređenju sa bolesnicima u grupi OR (0–1 280 mL, prosečno 495 mL). Supstitucija krvi intraoperativno statistički značajno češće ($p < 0,001$) primenjena je kod bolesnika grupe OR. Kod ove grupe supstitucija krvlju bila je značajno češća ($p < 0,05$) i u neposrednom postoperativnom toku (tabela 4).

Broj dana postoperativne hospitalizacije bolesnika grupe OR bio je statistički značajno veći ($p < 0,001$) u poređenju sa grupom EVAR. U grupi EVAR prosečan broj dana bio je 4 (2–7 dana), dok je a u grupi OR prosečan broj dana postoperativne hospitalizacije iznosio 8 (6–14 dana).

Promene broja leukocita i trombocita unutar grupa OR i EVAR prikazane su na slici 3. U grupi OR pokazan je statis-

tički značajan porast ($p < 0,001$) broja leukocita i statistički značajan pad broja trombocita ($p < 0,001$) u poređenju sa grupom EVAR u svim ispitivanim terminima.

Ispitivanjima koncentracije IL-2, IL-4, IL-6 i IL-10 u serumu bolesnika u testiranim grupama dobijeni su sledeći rezultati: u grupi EVAR nije nađena promena u koncentraciji IL-2 u odnosu na preoperativni nivo. U grupi OR zabeleženo je statistički visokoznačajno povećanje IL-2 prvog postoperativnog dana ($p < 0,001$) (slika 4a).

Nije pokazana značajna razlika u nivoima IL-10 između ispitivanih grupa EVAR i OR. U odnosu na preoperativne vrednosti ovog citokina, nađen je rast produkcije u prvom danu i linearni pad od prvog do trećeg dana (slika 4b).

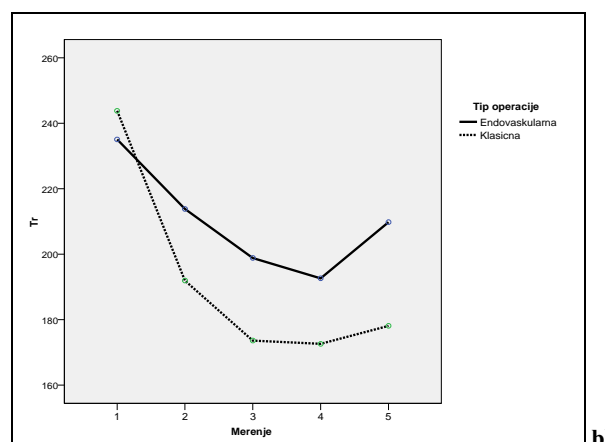
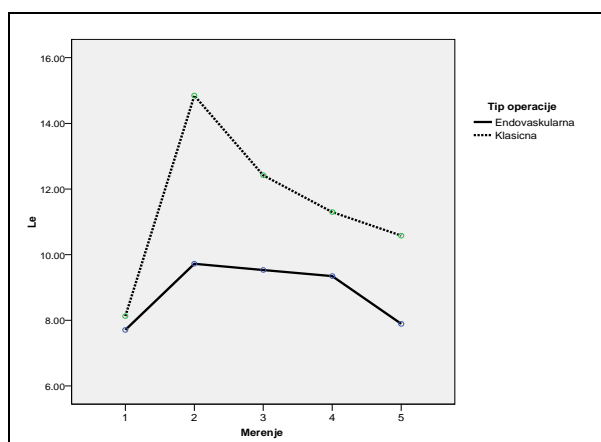
Prvog postoperativnog dana nađen je statistički značajan porast koncentracije IL-6 kod bolesnika grupe EVAR. Nasuprot tome, drugog postoperativnog dana zabeležen je značajan pad nivoa IL-6 kod bolesnika u grupi EVAR i njegovo vraćanje na preoperativne vrednosti, u poređenju sa bolesnicima grupe OR kod kojih je došlo do normalizacije vrednosti IL-6 tek sedmog postoperativnog dana (slika 4c).

Nivoi IL-4 u plazmi bolesnika ispitivanih grupa prikazani su na slici 4d. U odnosu na preoperativne vrednosti, zabeleženo je povećanje koncentracije cirkulišućeg IL-4 kod bolesnika obe ispitivane grupe u prva 24 h. Poređenjem nivoa ovog citokina među grupama pokazan je porast koncentracije IL-4 u grupi OR od trećeg do sedmog dana nakon intervencije i statistički značajno povećanje proizvodnje u poređenju sa grupom EVAR.

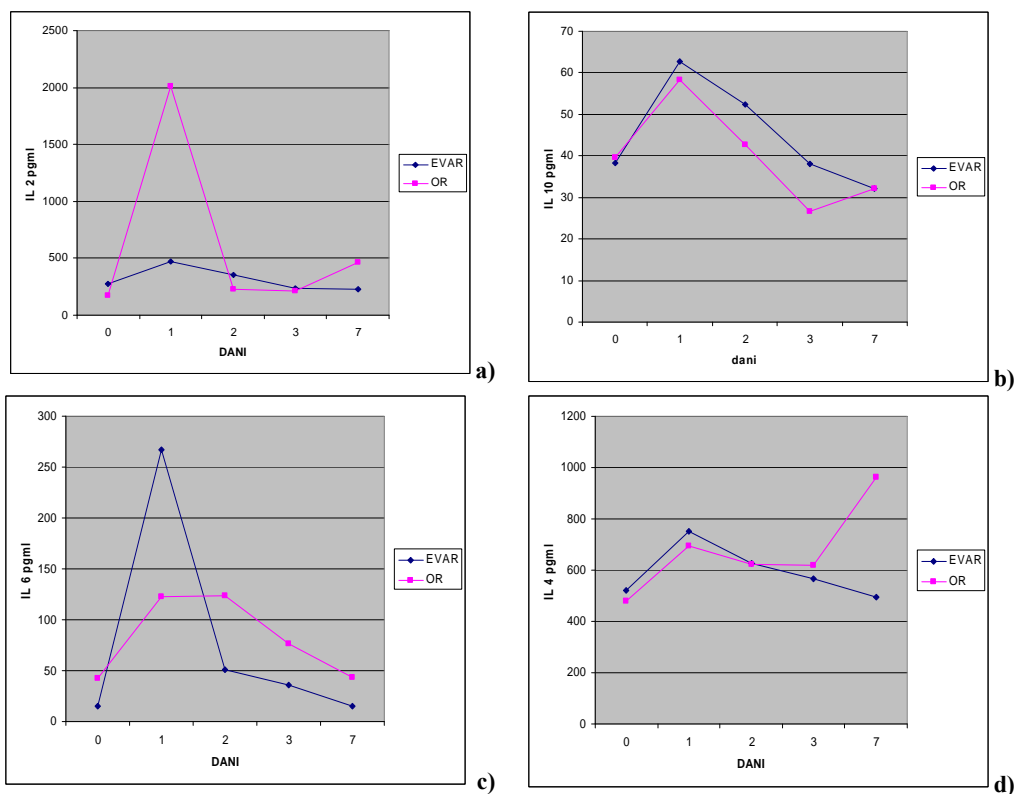
Tabela 4
Supstitucija krvi bolesnika tokom operacije i u neposrednom postoperativnom toku

Tip operacije	Nadoknada krvi, n (%)					
	pre operacije		ukupno	posle operacije		ukupno
	ne	da		ne	da	
EVAR	20 (95,2)	1 (4,8)	21 (100,0)	20 (95,2)	1 (4,8)	21 (100,0)
OR	12 (66,7)	6 (33,3)	18 (100,0)	12 (66,7)	6 (33,3)	18 (100,0)
Svega	32 (82,1)	7 (17,9)	39 (100,0)	32 (82,1)	7 (17,9)	39 (100,0)

EVAR – endovaskularna rekonstrukcija; OR – otvorena rekonstrukcija



Sl. 3 – Promene u broju leukocita (Le) i trombocita (Tr) kod bolesnika podvrgnutih endovaskularnoj i klasičnoj rekonstrukciji aneurizme abdominalne aorte
a) Le ($\times 10^{12}/L$); b) Tr ($\times 10^9/L$)



Sl. 4 – Dinamika produkcije pojedinih citokina kod bolesnika podvrgnutih endovaskularnoj (EVAR) i otvorenoj rekonstrukciji (OR) aneurizme abdominalne aorte
a) IL-2; b) IL-10; c) IL-6 i d) IL-4

Diskusija

Cilj naše studije bio je ispitivanje inflamatornog odgovora bolesnika na elektivnu rekonstrukciju AAA u neposrednom postoperativnom toku. Analizirali smo uticaj hirurških tehnika EVAR i OR na neke od parametara inflamacije (broj leukocita, trombocita i nivoje cirkulišućih citokina IL-2, IL-4, IL-6 i IL-10). Veliki broj svetskih studija bavio se procenom invazivnosti i traume koje kod bolesnika indukuju OR i EVAR AAA. Najčešće su ispitivani parametri sistemskog inflamatornog odgovora organizma¹⁸. Nalazi većine autora ukazivali su na izraženiji inflamatorni odgovor, meren proizvodnjom proinflatornih citokina, nakon primene OR AAA¹⁹.

Trauma izazvana obimnim hirurškim intervencijama može da dovede do pokretanja različitih procesa u organizmu, kao što su aktivacija komplementa, aktivacija koagulacione kaskade, aktivacija fibrinolitičke i kalikreinske kaskade, aktivacija leukocita, oslobađanje proteaza, slobodnih radikala i proizvodnju citokina²⁰. Svi ovi faktori mogu da utiču na nastanak i razvoj inflamacije.

Citokini su veoma važni solubilni faktori uključeni u međućelijsku interakciju tokom imunskih i inflamatornih procesa i imaju veliki uticaj na amplitudu i dužinu trajanja inflamatornog odgovora. Tokom hirurške traume, citokini se oslobađaju iz oštećenog i devitaliziranog tkiva, aktiviraju ćelije imunskog odgovora koje i same počinju da sekretuju citokine²¹.

Citokinski odgovor tokom traume može se podeliti u tri faze²². U prvoj fazi (u prvim satima nakon traume) postoji

lokalna proizvodnja citokina na mestu traume. U drugoj fazi (u prvih 48 h nakon traume) pojedini proizvedeni citokini (IL-2, IL-6, TNF) mogu se detektovati u sistemskoj cirkulaciji. Citokini proizvedeni u prvoj i drugoj fazi deluju protektivno. U trećoj fazi (48 h od traume) proinflatorni cirkulišući citokini, kojih je značajno više nego što je potrebno za protektivno delovanje, mogu indukovati povećanu propustljivost endotela, kapilarno krvarenje, edem i organsku disfunkciju. Sve to može dovesti do razvoja klinički manifestnog sindroma sistemskog inflamatornog odgovora (SIRS), koji može preći u multiplo organsko otkazivanje (MOF – *Multi Organ Failure*), pri čemu se plućna i bubrežna funkcija prve kompromituju. Sistemski inflamatorni odgovor predstavlja prvi korak u razvoju multiorganskog otkazivanja, a rezultat je aktivacije čitavog niza inflamatornih reakcija koje su podstaknute oslobođenim citokinima²².

Inflamatorni odgovor je kompleksan i multifaktorijalan, i na njega ne utiče samo hirurška trauma, već i anestetici, lekovi, klemovanje aorte, visceralna ishemija i reperfuzija, kao i transfuzije krvi tokom i nakon operacije. Balans između proinflatornih i antiinflatornih citokina u značajnoj meri može da odredi tok nekog oboljenja.

Početna pretpostavka bila je da EVAR sa sobom nosi značajno manje manipulacije i oštećenja tkiva, a samim tim izaziva i manju hiruršku traumu i, sledstveno, manji sistemski inflamatorni odgovor. U pojedinim studijama ova pretpostavka je potvrđena¹⁹. Tako su Galle i sar.²³ istražujući inflamatorni odgovor u neposrednom postoperativnom toku (prvih 7 dana) u studiji izvedenoj na 12 bolesnika (6 operisa-

nih tehnikom EVAR i 6 tehnikom OR), pokazali da kod bolesnika u grupi OR postoji značajniji porast citokina u serumu, pre svega IL-6 i IL-8 u poređenju sa grupom EVAR²³. Na još većem broju bolesnika (23 operisana tehnikom EVAR i 20 operisanih tehnikom OR), Boyle i sar.²⁴ pokazali su statistički značajno povećanje nivoa IL-6 i TNF- α u grupi OR u poređenju sa grupom EVAR u svim ispitivanim terminima (do petog dana). I mi smo našli veće koncentracije IL-6 u grupi OR od drugog do sedmog postoperativnog dana. Utvrdili smo, takođe, značajno veći gubitak krvi i duže trajanje operacije u grupi OR. Ovi nalazi su u saglasnosti sa rezultatima drugih autora da su sistemske koncentracije IL-6 u korelaciji sa dužinom trajanja operacije i neophodnošću supstitucije krvi¹⁹.

Nasuprot ovome, u nekim studijama pokazano je da postoji značajan inflamatorni odgovor organizma nakon rekonstrukcije AAA tehnikom EVAR²⁵, čak da je inflamatorni odgovor, izražen kroz proizvodnju citokina IL-6 i TNF- α , veći nego kod bolesnika operisanih tehnikom OR¹⁶. Norgren i Swartbol¹⁶ otkrili su značajniji porast broja granulocita, telesne temperature i nivoa IL-6 i TNF- α u cirkulaciji bolesnika operisanih tehnikom EVAR u poređenju sa tehnikom OR AAA. Ovi autori pokazali su da je porast nivoa IL-6 značajno veći u grupi EVAR 1 h nakon operacije. Mi smo otkrili značajno veću koncentraciju IL-6 u grupi EVAR nego u grupu OR u prva 24 h postoperativno, nakon čega se koncentracija IL-6 vrlo brzo vratila na preoperativni nivo. Ovakva dinamika proizvodnje IL-6 u saglasnosti je sa ranijim nalazima drugih autora da je pik proizvodnje IL-6 nakon elektivne operacije od 4 h do 48 h postoperativno i da se normalizuje nakon ovog perioda, osim kod bolesnika koji razvijaju komplikacije kod kojih se beleži povećana koncentracija IL-6 i nakon ovog perioda²⁶.

Sistemska inflamatorna reakcija koja se javlja kod endovaskularne rekonstrukcije AAA može se dovesti u vezu sa intraluminalnom manipulacijom u krvnim sudovima (ostavljanjem sajli vodilja, dilatatora i raznih katetera) i aktivacijom endotela koji oslobađa citokine ili muralnog tromba za koji je pokazano da može biti izvor IL-6^{23,25}. Naime, Swartbol i sar.²⁷ u supernatantima trombnih masa izolovanih iz infrarenalne aorte otkrili su visoke koncentracije (oko 3 000 pg/mL) IL-6. Jedna od pretpostavki bila je i da bi inflamatorni odgovor prilikom procedure EVAR mogao biti pokrenut delovanjem kontrastnog radiografskog sredstva. Međutim, ova pretpostavka nije potvrđena²⁸. Rezultati naše studije koji se odnose na broj leukocita i trombocita, kao ćelijske elemente krvi koji indirektno ukazuju na odgovor organizma na traumu, potvrdili su nalaze nekih autora²³. Kod bolesnika u grupi OR otkrili smo značajan porast broja leukocita i pad broja trombocita u poređenju sa grupom EVAR. U skladu sa ovim mogla bi biti i značajno povećana koncentracija IL-2 detektovana u grupi OR prvog postoperativnog dana. Zabeležena dinamika produkcije IL-2 u saglasnosti je

sa poznatim pikom sekrecije ovog citokina od 8 h do 12 h nakon specifične aktivacije T-limfocita. IL-2 je prototip autokrinog faktora rasta T-ćelija koji skoro isključivo proizvode aktivisani T-limfociti. Osim indukcije proliferacije T-limfocita, IL-2 je faktor rasta B-limfocita i NK ćelija i aktivator makrofaga. Takođe, IL-2 stimuliše produkciju drugih citokina od strane T-limfocita. Jedan od citokina na čiju proizvodnju utiče IL-2 je i IL-4²⁹. Mi smo pokazali statistički značajno povećanje proizvodnje IL-4 u grupi OR sedmog postoperativnog dana. Poznato je da IL-4 inhibira aktivaciju makrofaga, suprimira celularni imunski odgovor, inhibira proizvodnju proinflamatornih citokina i antagonizuje njihove efekte³⁰. Navedeno delovanje IL-4 išlo bi u prilog pretpostavci da bi povećana proizvodnja ovog citokina koju smo našli od trećeg do sedmog dana mogla biti posledica težnje organizma da suprimira proinflamatornu reakciju uzrokovanu velikim traumatizmom same OR AAA.

Nasuprot našim očekivanjima, nije pokazana značajna razlika u nivoima IL-10 između ispitivanih grupa EVAR i OR. Porast proizvodnje ovog citokina u obe ispitivane grupe našli smo prvog postoperativnog dana. Taj rezultat je bio u skladu sa poznatom dinamikom sekrecije IL-10 nakon hirurške intervencije i pikom proizvodnje u neposrednom postoperativnom vremenu¹⁹. IL-10 jedan je od ključnih antiinflamatornih citokina koji se otkriva u sistemske cirkulaciji mnogih inflamatornih poremećaja i jedan je od endogenih inhibitora celularnog imunskog odgovora³⁰. Imajući na umu ove činjenice i s obzirom na početnu pretpostavku da dve različite tehnike indukuju različit stepen inflamacije, očekivali smo razliku u proizvodnji IL-10 među ispitivanim grupama OR i EVAR, što se nije desilo. Međutim, dobijeni rezultat ne isključuje mogućnost različite proizvodnje lokalno, na mestu traume.

Zaključak

Preliminarni rezultati kliničke retrospektivne studije inflamatornog odgovora organizma u neposrednom postoperativnom periodu kod bolesnika kod kojih je učinjena elektivna rekonstrukcija AAA podržavaju koncept da je primena tehnike EVAR bezbednija i za bolesnika manje invazivna i manje traumatska procedura, u poređenju sa tehnikom OR, naročito kod visokorizičnih bolesnika. Rezultati ove studije otvaraju polja za buduća istraživanja kojima će moći da se utvrdi preciznija uloga različitih proinflamatornih i antiinflamatornih citokina u oštećenju tkiva tokom hirurške rekonstrukcije AAA i da se pronikne u mehanizme koji se nalaze u osnovi zapaženih inflamatornih dešavanja. Takođe, dobijeni rezultati predstavljaju značajan doprinos u daljem formulisanju mesta i uloge endovaskularne hirurgije u odnosu na klasičnu hirurgiju i podsticaj za dalji razvoj endovaskularne hirurgije kako u Vojnomedicinskoj akademiji, tako i u ostalim medicinskim centrima u Srbiji.

L I T E R A T U R A

1. *Johnston KW, Rutherford RB, Tilson MD, Shah DM, Hollier L, Stanley JC.* Suggested standards for reporting on arterial aneurysms. Subcommittee on Reporting Standards for Arterial Aneurysms, Ad Hoc Committee on Reporting Standards, Society for Vascular Surgery and North American Chapter, International Society for Cardiovascular Surgery. *J Vasc Surg* 1991; 13(3): 452–8.
2. *O'Rourke MF, Nichols WW.* Aortic diameter, aortic stiffness, and wave reflection increase with age and isolated systolic hypertension. *Hypertension* 2005; 45(4): 652–8.
3. *Dubost C, Chaubin F.* Aortic aneurysms. Technique – indications – results. 1958. *Ann Chir* 1997; 51(5): 531–6. (French)
4. *Katz DA, Littenberg B, Cronenwett JL.* Management of small abdominal aortic aneurysms. Early surgery vs watchful waiting. *JAMA* 1992; 268(19): 2678–86.
5. *Lederle FA, Johnson GR, Wilson SE, Gordon IL, Chute EP, Littooy FN, et al.* Relationship of age, gender, race, and body size to infrarenal aortic diameter. The Aneurysm Detection and Management (ADAM) Veterans Affairs Cooperative Study Investigators. *J Vasc Surg* 1997; 26(4): 595–601.
6. *Singh K, Banaa KH, Jacobsen BK, Bjork L, Solberg S.* Prevalence of and risk factors for abdominal aortic aneurysms in a population-based study: The Tromsø Study. *Am J Epidemiol* 2001; 154(3): 236–44.
7. *Campa JS, Greenhalgh RM, Powell JT.* Elastin degradation in abdominal aortic aneurysms. *Atherosclerosis* 1987; 65(1–2): 13–21.
8. *Busutil RW, Abou-Zamzam AM, Machleder HI.* Collagenase activity of the human aorta. A comparison of patients with and without abdominal aortic aneurysms. *Arch Surg* 1980; 115(11): 1373–8.
9. *White JV, Haas K, Phillips S, Comerota AJ.* Adventitial elastolysis is a primary event in aneurysm formation. *J Vasc Surg* 1993; 17(2): 371–81.
10. *Bengtsson H, Bergqvist D.* Ruptured abdominal aortic aneurysm: a population-based study. *J Vasc Surg* 1993; 18(1): 74–80.
11. *Lawrence PF, Gazak C, Bhirangi L, Jones B, Bhirangi K, Oderich G, et al.* The epidemiology of surgically repaired aneurysms in the United States. *J Vasc Surg* 1999; 30(4): 632–40.
12. *Khaira HS, Maxwell SR, Thomason H, Thorpe GH, Green MA, Shearman CP.* Antioxidant depletion during aortic aneurysm repair. *Br J Surg* 1996; 83(3): 401–3.
13. *Smith FC, Gosling P, Sanghera K, Green MA, Paterson IS, Shearman CP.* Microproteinuria predicts the severity of systemic effects of reperfusion injury following infrarenal aortic aneurysm surgery. *Ann Vasc Surg* 1994; 8(1): 1–5.
14. *Froon AH, Greve JW, Van der Linden CJ, Buurman WA.* Increased concentrations of cytokines and adhesion molecules in patients after repair of abdominal aortic aneurysm. *Eur J Surg* 1996; 162(4): 287–96.
15. *Swartbol P, Norgren L, Albrechtsson U, Cwikiel W, Jahr J, Jonung T, et al.* Biological responses differ considerably between endovascular and conventional aortic aneurysm surgery. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1996; 12(1): 18–25.
16. *Norgren L, Swartbol P.* Biological responses to endovascular treatment of abdominal aortic aneurysms. *J Endovasc Surg* 1997; 4(2): 169–73.
17. *Bradbury A, Adam D, Garrioch M, Brittenden J, Gillies T, Ruckley CV.* Changes in platelet count, coagulation and fibrinogen associated with elective repair of asymptomatic abdominal aortic aneurysm and aortic reconstruction for occlusive disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1997; 13(4): 375–80.
18. *Lin E, Calvano SE, Lowry SF.* Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery* 2000; 127(2): 117–26.
19. *Swartbol P, Truedsson L, Norgren L.* The inflammatory response and its consequence for the clinical outcome following aortic aneurysm repair. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2001; 21(5): 393–400.
20. *Butler J, Rucker GM, Westaby S.* Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993; 55(2): 552–9.
21. *Fong Y, Moldaver LL, Shires GT, Lowry SF.* The biologic characteristics of cytokines and their implication in surgical injury. *Surg Gynecol Obstet* 1990; 170(4): 363–78.
22. *Bone RC.* Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: what we do and do not know about cytokine regulation. *Crit Care Med* 1996; 24(1): 163–72.
23. *Galle C, De Maertelaer V, Motte S, Zhou L, Stordeur P, Delville JP, et al.* Early inflammatory response after elective abdominal aortic aneurysm repair: a comparison between endovascular procedure and conventional surgery. *J Vasc Surg* 2000; 32(23): 234–46.
24. *Boyle JR, Goodall S, Thompson JP, Bell PR, Thompson MM.* Endovascular AAA repair attenuates the inflammatory and renal responses associated with conventional surgery. *J Endovasc Ther* 2000; 7(5): 359–71.
25. *Morikage N, Esato K, Zenpo N, Fujioka K, Takenaka H.* Is endovascular treatment of abdominal aortic aneurysms less invasive regarding the biological responses? *Surg Today* 2000; 30(2): 142–6.
26. *Baigrie RJ, Lamont PM, Kwiatkowski D, Dallman MJ, Morris PJ.* Systemic cytokine response after major surgery. *Br J Surg* 1992; 79(8): 757–60.
27. *Swartbol P, Truedsson L, Norgren L.* Adverse reactions during endovascular treatment of aortic aneurysms may be triggered by interleukin 6 release from the thrombotic content. *J Vasc Surg* 1998; 28(8): 664–8.
28. *Odegard A, Lundbom J, Myhre HO, Hatlinghus S, Bergh K, Waage A, et al.* The inflammatory response following treatment of abdominal aortic aneurysms: a comparison between open surgery and endovascular repair. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2000; 19(5): 536–44.
29. *Bachmann MF, Oxenius A.* Interleukin 2: from immunostimulation to immunoregulation and back again. *EMBO Rep* 2007; 8(12): 1142–8.
30. *Opal SM, DePalo VA.* Anti-inflammatory cytokines. *Chest* 2000; 117(4): 1162–72.

Priljubljen 16. VI 2010.
Revidiran 08. XII 2010.
Prihvaćen 21. II 2011.



The influence of probiotics on the cervical malignancy diagnostics quality

Uticaj probiotika na kvalitet dijagnostike maligniteta cerviksa

Živko Perišić*, Nataša Perišić*, Svetlana Goločorbin Kon†, Dušan Vešović‡,
Ana Mitrović Jovanović*, Momir Mikov§

*University of Belgrade, School of Medicine, Department for Early Cancer Detection, Gynecology and Obstetrics Clinic „Narodni front“, Belgrade, Serbia; University of Novi Sad, School of Medicine, †Department of Pharmacy, ‡Department of Pharmacology and Toxicology, Novi Sad, Serbia; §Belgrade’s Medical Center, Belgrade, Serbia

Abstract

Background/Aim. Probiotics help to provide an optimum balance in the intestines. Probiotics species competitive block toxic substances and growth of unwanted bacteria and yeast species while they compete for the space and food. Lactogyn® is the first oral probiotics on Serbian market dedicated to maintaining a normal vaginal flora. Lactogyn® contains two well studied probiotics strains – *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14. Both of them are considered as probiotic agents with therapeutic properties increase the population of beneficial *lactobacillus* organisms within the vagina. The aim of this study was to exam an influence of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 on results of cervical smear cytological testing including detection of atypical cells, detection of false positive and false negative findings as well as on vaginal microflora content in patients with vaginal infection signs and symptoms. **Methods.** Totally 250 women with signs of vaginal infection were selected to participate in the study. The study group comprised 125 patients taking studied probiotic strains along with specific anti-infective therapy. The control group comprised, also, 125 patients taking anti-infective agents, only. Probiotic preparation

(Lactogyn® capsules) was administered orally (one capsule daily) during 4 weeks. Before and six weeks after beginning of the therapy a cervical smear cytological test (the Papanicolaou test), as well as microbiological examination of the vaginal smear were performed. **Results.** Number of cases of inflammation and atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS) in the study group were significantly higher before administration of the probiotic preparation. The number of lactobacilli was significantly higher, and the number of pathogenic microorganisms lower in the group treated with this preparation. **Conclusion.** The application of probiotic strains *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 concomitantly with specific anti-infective agents provides more reliable cytological diagnostics, reduces the number of false positive and false negative findings on cervical malignancy and normalizes vaginal microflora in higher percentage of patients with vaginal infections compared with therapy including anti-infective agents only.

Key words: probiotics; *lactobacillus rhamnosus*; *lactobacillus reuteri*; administration, oral; vaginal smears; treatment outcome.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Probiotici pomažu u uspostavljanju ravnoteže u crevima. Probiotičke vrste kompetitivno inhibišu stvaranje toksičnih supstanci i rast manje poželjnih vrsta boreći se za prostor i hranu. Lactogyn® je prvi oralni probiotik registrovan u Srbiji za zaštitu zdravlja vaginalne flore. Ovaj preparat sadrži dve dobro poznate probiotičke bakterije: *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 i *Lactobacillus reuteri* RC-14. Cilj ove studije bio je da ispita uticaj primene *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 i *Lactobacillus reuteri* RC-14 na rezultate citoloških testova koji se koriste u dijagnostici maligniteta cerviksa uključujući detekciju atipičnih ćelija, detekciju lažno pozitivnih i lažno ne-

gativnih nalaza, kao i uticaj na vaginalnu mikrofloru. **Metode.** U studiju bilo je uključeno 250 žena sa znacima vaginalne infekcije. Studijsku grupu činilo je 125 žena kod kojih je započeta primena specifične antiinfektivne terapije i probiotičkog preparata (Lactogyn® kapsule, 1 kapsula dnevno), a kontrolnu grupu, takođe, 125 žena koje su bile na odgovarajućoj antiinfektivnoj terapiji, ali bez dodatog probiotičkog preparata. Terapija je trajala 4 nedelje. Pre početka terapije, kao i 6 nedelja kasnije izvršeno je citološka i mikrobiološka analiza analiza cervikalnog brisa. **Rezultati.** U studijskoj grupi broj slučajeva sa inflamacijom i atipičnim skvamoznim ćelijama neodređene značajnosti (ASCUS) bio je značajno veći pre upotrebe probiotika. Broj laktobacila bio je značaj-

no već, a broj patogenih mikroorganizama u vaginalnom sekretu niži u grupi žena koja je koristila preparat sa probiotičkim bakterijama u odnosu na one koje su bile samo na terapiji antiinfektivnim agensima. **Zaključak.** Primena preparata na bazi probiotičkih bakterija *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 i *Lactobacillus reuteri* RC-14, u kombinaciji sa specifičnim antiinfektivnim agensima, kod žena sa znacima vaginalne infekcije, omogućava pouzdaniju citološku dijagnostiku, smanjuje procenat lažno negativnih i lažno pozitivnih nalaza i

procenat nezadovoljavajućih i granično zadovoljavajućih nalaza na malignitet i normalizuje vaginalnu mikrofloru u značajno većem broju slučajeva nego što se postiže primenom samo antiinfektivnih agensa.

Ključne reči:

probiotici; lactobacillus rhamnosus; lactobacillus reuteri; perooralna primena; vaginalni brisevi; lečenje ishoda.

Introduction

Probiotics are "live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host". One of the first researches in the field of probiotics were done by Nobel prize winner Elie Metchnikoff, Russian microbiologist, during an early 20th century (1905). Metchnikoff himself introduced in his diet sour milk fermented with the bacteria he called "Bulgarian Bacillus". The term "probiotics" was first introduced in 1953 by Kollath. Nowadays, interest in probiotics is growing at great speed. In recent years, more than 3.000 studies were published. There are numerous studies conducted with an aim to determine the effects of probiotics on the gastrointestinal tract and urogenital health of women; also, there are other studies which would try to discover other beneficial effects of probiotics on human health and animals. One of probiotics which were the most in focus of the scientists is *Lactobacillus rhamnosus* GG. It was isolated by scientists Goldin and Gorbach from the human digestive tract during 1985. The strain was named later with their initials (LGG). Compared to many pharmaceutical agents, probiotics are well tolerated and extremely safe, and serious adverse effects rarely occur^{1,2}.

When urogenital health of women is in question, literature shows that for over 30 years, urologists have recognized in females that urinary pathogens almost always infect the host through ascension from the rectum, vagina to the urethra and bladder. Likewise, the *Lactobacillus* organisms that predominate in the vagina of healthy women, spread from the rectum and perineum and form a barrier in the vagina to the bladder entry by uropathogens. The number and types of microbes change due to sexual contact, hormone levels, diet, and so on. The concept of artificially boosting the lactobacilli number through probiotic instillation has been long conceived, but only in recent years it has been shown to be possible. Not all lactobacilli are effective, and to date clinical efficacy only exists for *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* B-54 and RC-14^{3,4}.

Lactogyn[®] is the first oral probiotic for restitution of vaginal flora on Serbian market. Lactogyn[®] capsule contains two patented and clinically proved probiotics strains – *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14. Tingling and itching in the vaginal area and vaginal discharge, are complaints known to many women. These symptoms are usually related to unbalanced vaginal microflora⁵⁻⁷.

Lactogyn[®] can reconstitute vaginal flora balance and therefore may help, in a natural way, to establish and maintain urogenital health in women⁸⁻¹¹.

The presence of vaginal infections can deteriorate cytological diagnostics of malignancies when cervical smear is used. Due to infection, numerous microorganisms, white blood cells and degradation products can be found. In order to improve the reliability of malignancy diagnostics, the treatment of the infections is necessary. After the successful treatment of the infections, the reinfections are frequent due to the disturbance of vaginal flora. The supplementation of lactobacilli as an important part of natural vaginal flora is necessary.

The goal of this study is to examine an influence of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 on cervical smear diagnostics including: reliability of atypical cells detection, detection of false positive and false negative findings, as well as an influence on composition of vaginal microflora.

Methods

In this study 250 women who had vaginal discharge, burning and itching were included. Colposcopic examination was performed. Cervical smear was transferred to microscopy glass, fixed in 96% ethanol and tinted by the method of Papanicolaou (hematoxylin, methylorange, polychrome). After this, preparations were analyzed for malignancy and microorganisms by microscopic examination. To all patients the therapy for infections was prescribed and thus they were divided into two groups with 125 women each: the study group treated in addition to the specific antiinfective therapy with one capsule a day of Lactogyn[®] given perorally ("Jadran" galenska laboratorija, Rijeka, Croatia) containing probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* B-54 and RC-14 for 4 weeks, and the control group treated only with specific antiinfective therapy. After 6 weeks colposcopic examination was performed, was taken cervical smear and analyzed for malignancy and presence of microorganisms (bacteria, fungi, trichomonas). Parameters compared between these groups were signs (vaginal discharge), the presence of lactobacilli in the cervical smear and the malignancy finding.

Accuracy of the Papanicolaou test interpretation is a subjective based on experience of the screening cytotechnologist or pathologist; in good labs, error rate—false negative ranged from 5% to 15%. This test was done during a

routine pelvic exam of subjects enrolled in the study by scraping cells from the cervix prior and after the intervention. In this study, cells obtained from the uterine cervix and endocervix were sampled, put on a glass slide, stained, and interpreted by gynecologist-pathologist. The follow-up sampling was done 6 weeks after the beginning of the therapy and the findings were analyzed both on the Papanicolaou classification and the Bethesda system for cervical cytology 2001¹². The study was conducted during 2008 at Gyecology and Obstetrics Clinic "Narodni front" Belgrade. Study was approved by Institution Review Board of "Narodni front" Clinic, Belgrade.

The terminology for squamous epithelial lesions includes: atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS), squamous intraepithelial lesion (SIL), which encompasses the spectrum of squamous cell carcinoma precursors, divided into low-grade SIL (LSIL) (HPV-associated cellular changes and CIN1) and high-grade SIL (HSIL) (CIN2 and CIN3)¹³.

Data obtained this study were analyzed by chi-square test, Fisher's exact test and Student *t*-test. The statistical program used was SAS® (ver 9.1).

Results

The parameters which were followed and analyzed in both groups were: age of examinees (presented as mean \pm standard deviations), cytological findings in both examined groups and analysis of cytological findings prior and after therapy (the number of desquamous cells, the presence of cells of transformation zone, the level of atipicity of desqua-

mous cells), as well as the presence of lactobacilli and pathogenic microorganisms (bacteria, fungi, protozoas) and white blood cells.

Mean age of examinees in the study group was 31 ± 8.12 years and in the control one 35 ± 9.77 years. The difference between groups regarding age was statistically significant ($p < 0.01$).

Cytology findings before and after therapy are presented in table 1.

Before the treatment there were no significant differences between the study and the control group, but after the treatment there were significant differences between the study and the control group in cytology findings ($p < 0.05$). The results presented in Table 1 showed that number of patients in the study group with signs of cervical inflammation and ASCUS was significantly higher before administration of probiotic preparation.

The results from the Table 2 showed that there were no significant differences between the study and the control group in discharge and composition of vaginal microflora before the treatment.

However, there were significant differences between the study and the control group after the treatment indicating more efficient therapeutic response in the group treated with probiotic preparation. When compared results of the study group before and after the treatment, there were significant improvement in all indicators of the infection after the treatment with probiotics.

Representative microphotographs are presented in Figure 1.

Table 1.

Cytology findings before and after therapy

Bethesda classification	Papanicolaou test (PA)	Number of patients			
		Study group (n = 125)		Control group (n = 125)	
		before therapy	after therapy	before therapy	after therapy
Normal finding	PA I	79	109	90	96
Inflammation	PA II	19	4	19	15
ASCUS	PA IIIa	15	2	7	6
LSIL	PAIIIb-IV	5	4	6	5
HSIL		7	6	3	3

ASCUS - atypical squamous cells of undetermined significance; LSIL- low-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL - high-grade squamous intraepithelial lesion

Table 2.

The presence of vaginal infection indicators

Indicators of infection	Number of patients			
	Study group (n = 125)	Control group (n = 125)	Study group (n = 125)	Control group (n = 125)
	before therapy	after therapy	before therapy	after therapy
Discharge	125	33	125	48
Lactobacilli	16	85	20	46
Bacteria	24	4	23	7
Fungi	35	9	37	27
Mixed flora	42	26	38	44
Trichomonas	8	1	7	1

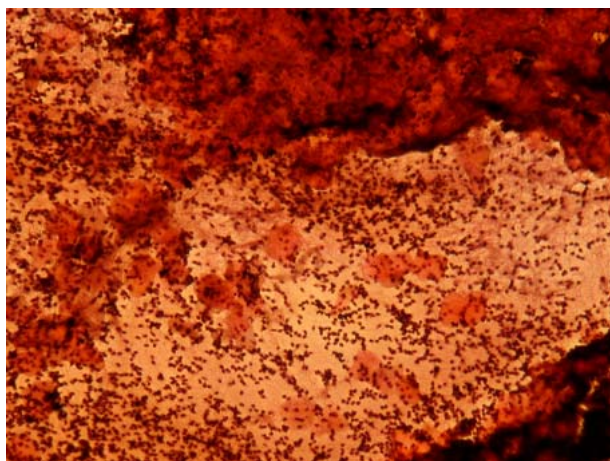


Fig. 1a – Inflammation – coilocytosis

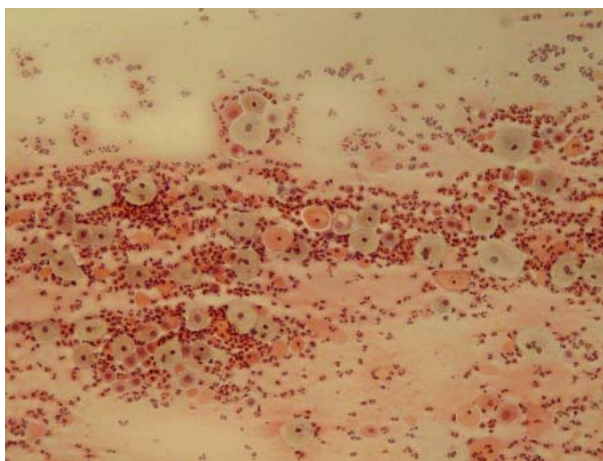


Fig. 1b – Inconclusive finding – inflammation

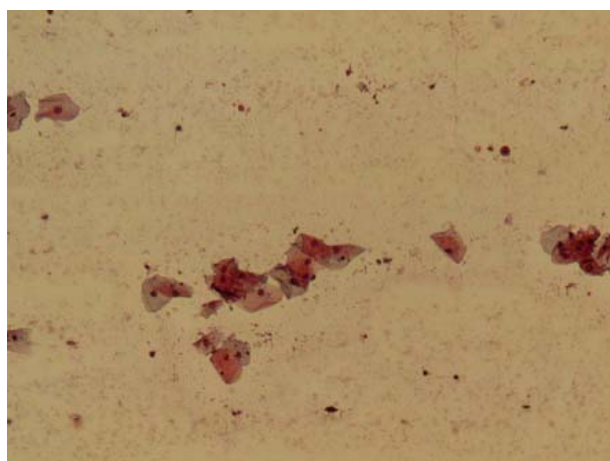


Fig. 1c – Inconclusive finding – red blood cell aggregate

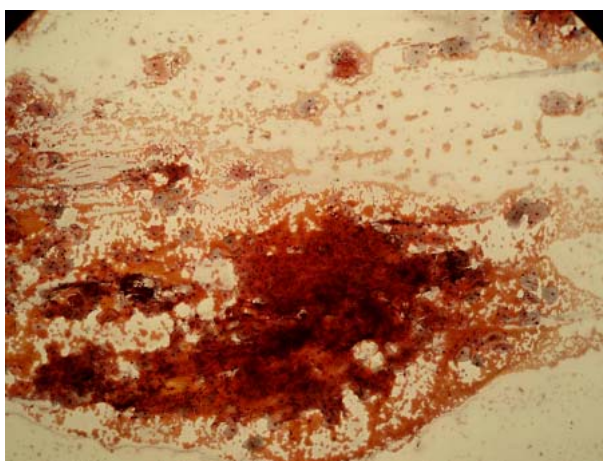


Fig. 1c – Cytological finding after the therapy

Discussion

Investigations of probiotic efficacy have shown benefits in reducing the recurrence of urogenital infections in women, while promising studies in cancer and allergies require further research for particular strains and better-designed trials¹⁴. It was found in *in vitro* studies that probiotics can inhibit the tumor growth and stop the growth of bacteria which play an important role in genesis of carcinogens. It was shown that some products of probiotic bacteria like lactic acid has anticancerous effect by decreasing the activity of enzyme beta-glucuronidase. All of these mentioned previously, can lead to conclusion that probiotics play an important role in prevention of colon cancer¹⁵.

In the gastrointestinal and urogenital tract, fungal infections are very common¹⁶. The most common cause of fungal infections is *Candida albicans* (90–95%). These fungi are naturally located at intestinal mucosa, the skin, mouth and vagina, but in very small quantities. Multiplication of *Candida albicans* can be provoked by various factors such as antibiotics, stress, immune response changes, chemotherapy, hormonal contraception etc. Destruction of normal flora by the factors mentioned above provides that, candida can start grow uncontrolled and can colonize all of the gut, vagina, and so on. Not only yeast can grow uncontrolled. That can

also be true for bacteria, especially *E. coli*. Prevention of all of these effects cannot be done only by diet changes itself. Therefore, it is recommended to take dietary supplements such are probiotics. Probiotics are very important factors in various infections prevention^{17, 18}. Due to hormone level changes before menstrual bleeding and during pregnancy, the growth of yeast can be enhanced due to vaginal pH changes. Additionally, during pregnancy, elevated level of oestrogen increases the blood glucose level which also leads to enhanced growth of vaginal candida.

Lactogyn[®] capsules contain two patented and for human use approved probiotic strains – *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 which are proved to be useful in prevention of bacterial vaginosis and candidiasis^{19, 20}. Probiotics strains, enable maintenance of normal vaginal flora. It is thought that the mechanisms of lactobacilli action (supplemented orally) include: modulation of host immunity, reduction in pathogen ascension from the rectum, and interference with colonization and survival of pathogens⁴. It is suggested that combination of probiotic bacteria present in Lactogyn[®] should be taken during antibiotics therapy with the purpose of candidiasis prevention. However, it should be noted that probiotics (and Lactogyn[®], as well), should be taken even without having symptoms and signs of the disease.

Not only for the prevention of yeast infection and support to antibiotics therapy, as seen in the study, Lactogyn® can enable faster, easier and more reliable cytological diagnosis. It, furthermore, can decrease the number of cytological analysis per woman, percent of false negative and false positive findings. The final result should be the decrease of presence of unsatisfactory and/or borderline satisfactory cytological findings. One recently published Italian study was focused on efficacy of the use of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 administered orally in the treatment and prevention of vaginosis and bacterial vaginitis relapses. It was found out that these two probiotic strains, taken orally following antibiotic therapy, were much helpful in vaginosis and bacterial vaginitis treatment and in relapse prevention by re-establishing the vaginal ecosystem remarkably²¹.

All of these mentioned above may lead to more efficient diagnosis and treatment which will directly influence the health of women with the reduction of costs in health system. Cervical carcinoma prevention and financial savings, should be the result of organized screening.

Conclusion

The use of the combination of probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 concomitantly with specific anti-infective therapy enables: more reliable cytological diagnostics, reduction of the percentage of false positive and false negative findings on cervical malignancy and reduction of unsatisfactory and/or borderline cytological findings. Also, it normalizes vaginal microflora in higher number of patients with vaginal infection compared with specific anti-infective therapy, only.

R E F E R E N C E S

1. Reid G. Safe and efficacious probiotics: what are they? Trends Microbiol. 2006; 14(8): 348-52.
2. Reid G, Bruce AW. Urogenital infections in women: can probiotics help? Postgrad Med J. 2003; 79(934): 428-32.
3. Reid G, Bruce AW. Probiotics to prevent urinary tract infections: the rationale and evidence. World J Urol. 2006; 24(1): 28-32.
4. Reid G. Probiotic Lactobacilli for urogenital health in women. J Clin Gastroenterol. 2008; 42 Suppl 3: Pt 2:S234-6.
5. Spiegel CA. Bacterial vaginosis. Clin Microbiol Rev. 1991; 4(4): 485-502.
6. Myzjuk L, Romanowski B, Johnson SC. BVBlue test for diagnosis of bacterial vaginosis. J Clin Microbiol 2003; 41: 1925-1928.
7. Klebanoff MA, Schwabke JR, Zhang J, Nansel TR, Yu KF, Andrews WW. Vulvovaginal symptoms in women with bacterial vaginosis. Obstet Gynecol. 2004; 104(2): 267-72.
8. Morelli L, Zonenenschain D, Del Piano M, Cognein P. Utilization of the intestinal tract as a delivery system for urogenital probiotics. Clin Gastroenterol. 2004; 38(6 Suppl): S107-10.
9. Reid G, Beuerman D, Heinemann C, Bruce AW. Probiotic Lactobacillus dose required to restore and maintain a normal vaginal flora. FEMS Immunol Med Microbiol. 2001; 32(1): 37-41.
10. Ness RB, Hillier S, Richter HE, Soper DE, Stamm C, Bass DC, Sweet RL, Rice P. Can known risk factors explain racial differences in the occurrence of bacterial vaginosis? J Natl Med Assoc. 2003; 95(3): 201-12.
11. Reid G, Charbonneau D, Erb J, Kochanowski B, Beuerman D, Poebner R, Bruce AW. Oral use of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *L. fermentum* RC-14 significantly alters vaginal flora: randomized, placebo-controlled trial in 64 healthy women. FEMS Immunol Med Microbiol. 2003; 35(2): 131-4.
12. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, Raab S, Sherman M, David Wilbur D, Wright T, Jr, Young N. The 2001 Bethesda System Terminology for Reporting Results of Cervical Cytology. JAMA. 2002; 287: 2114-2119.
13. Broso PR, Buffetti G. The Papanicolaou classification in the Bethesda system; National Cancer Institute, Bethesda, Maryland. Minerva Ginecol. 1993; 45(11): 557-63.
14. Reid G, Jass J, Sebulsky MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. Clin Microbiol Rev. 2003; 16(4): 658-72.
15. Burton JP, Cadioux PA, Reid G. Improved understanding of the bacterial vaginal microbiota of women before and after probiotic instillation. Appl Environ Microbiol. 2003; 69(1): 97-101.
16. Reid, G. The extra intestinal effects of probiotics. In, Interventions for improving human health, Gibson GR (Ed), Wiley and Sons, Ltd., London, UK. 2005
17. Andreeva PM, Omar HA. Effectiveness of current therapy of bacterial vaginosis. Int J Adolesc Med Health. 2002; 14(2): 145-8.
18. Huang M, Wang JH. Gram stain as a relapse predictor of bacterial vaginosis after metronidazole treatment. J Microbiol Immunol Infect. 2005; 38(2): 137-40.
19. Paavonen J, Mangioni C, Martin MA, Wajszyzyk CP. Vaginal clindamycin and oral metronidazole for bacterial vaginosis: a randomized trial. Obstet Gynecol. 2000; 96(2): 256-60.
20. Beigi RH, Austin MN, Meyn LA, Krohn MA, Hillier SL. Antimicrobial resistance associated with the treatment of bacterial vaginosis. Am J Obstet Gynecol. 2004; 191(4): 1124-9.
21. Cianci A, Giordano R, Delia A, Grasso E, Amodeo A, De Leo V, Caccamo F. Efficacy of *Lactobacillus Rhamnosus* GR-1 and of *Lactobacillus Reuteri* RC-14 in the treatment and prevention of vaginosis and bacterial vaginitis relapses. Minerva Ginecol. 2008; 60(5): 369-76.

Received on August 9, 2010.
Accepted on September 13, 2010.



Linear accelerator-based stereotactic radiosurgery in recurrent glioblastoma: a single center experience

Stereotaksična radiohirurgija uz pomoć linearnog akceleratora kod rekurentnog glioblastoma – iskustvo jednog centra

Sait Sirin*, Kaan Oysul†, Serdar Surenkok†, Omer Sager†, Ferrat Dincoglan†, Bahar Dirican†, Murat Beyzadeoglu†

Gulhane Military Medical Academy, *Department of Neurosurgery, †Department of Radiation Oncology, Ankara, Turkey

Abstract

Background/Aim. Management of patients with recurrent glioblastoma (GB) comprises a therapeutic challenge in neurooncology owing to the aggressive nature of the disease with poor local control despite a combined modality treatment. The majority of cases recur within the high-dose radiotherapy field limiting the use of conventional techniques for re-irradiation due to potential toxicity. Stereotactic radiosurgery (SRS) offers a viable non-invasive therapeutic option in palliative treatment of recurrent GB as a sophisticated modality with improved setup accuracy allowing the administration of high-dose, precise radiotherapy. The aim of the study was to, we report our experience with single-dose linear accelerator (LINAC) based SRS in the management of patients with recurrent GB. **Methods.** Between 1998 and 2010 a total of 19 patients with recurrent GB were treated using single-dose LINAC-based SRS. The median age was 47 (23–65) years at primary diagnosis. Karnofsky Performance Score was ≥ 70 for all the patients. The median planning target volume (PTV) was 13 (7–19) cc. The median marginal dose was 16 (10–19) Gy prescribed to the 80%–95% isodose line encompassing the planning target volume. The median follow-up time was 13 (2–59) months. **Results.** The median survival was 21 months and 9.3 months from the initial GB diagnosis and from SRS, respectively. The median progression-free survival from SRS was 5.7 months. All the patients tolerated radiosurgical treatment well without any Common Toxicity Criteria (CTC) grade > 2 acute side effects. **Conclusion.** Single-dose LINAC-based SRS is a safe and well-tolerated palliative therapeutic option in the management of patients with recurrent GB.

Key words:

glioblastoma; recurrence; palliative care; radiosurgery; particle accelerators.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Lečenje bolesnika sa recidivantnim glioblastomom (GB) predstavlja terapijski izazov u neuroonkologiji zbog agresivne prirode bolesti i loše lokalne kontrole, uprkos kombinovanom lečenju. Najveći broj bolesnika dobije recidiv, iako prima visokodoznu radioterapiju u ograničenom predelu. Konvencionalne tehnike reiradijacije imaju ograničenu primenu zbog potencijalne toksičnosti. Stereotaksična radiohirurgija (SRH) predstavlja neinvazivnu terapijsku opciju u palijativnom lečenju rekurentnog GB kao sofisticirani modalitet sa unapređenom preciznošću podešavanja čime se omogućava primena visokodozne, precizne radioterapije. Cilj ove studije bio je da se prikažu sopstvena iskustva sa primenom jednodozne SRH uz korišćenje linearnog akceleratora (LINAC) u lečenju bolesnika sa rekurentnim GB. **Metode.** U periodu od 1998. do 2010. godine lečeno je 19 bolesnika sa rekurentnim GB korišćenjem linearnog akceleratora za jednodoznu SRH. Prosečna starost bolesnika pri postavljanju dijagnoze bila je 47 (23–65) godina. Karnofsky Performance Score bio je ≥ 70 kod svih bolesnika. Prosečni planirani ciljni volumen (*median planning target volume* – PTV) bio je 13 (7–19) cc. Prosečna marginalna doza iznosila je 16 (10–19) Gy i bila je određena za 80–95% izodozne linije, ispunjavajući tako planirani ciljni volumen. Prosečno vreme praćenja bilo je 13 (2–59) meseci. **Rezultati.** Prosečno preživljavanje bolesnika iznosilo je 21 mesec, tj. 9,3 meseca od uspostavljanja inicijalne dijagoze GB i primene SRS. Prosečni interval od SRS do progresije bolesti iznosio je 5,7 meseci. Svi bolesnici dobro su podnosili radiohirurško lečenje bez pojave uobičajenih toksičnih efekata, nabrojanih u kriterijumima (*Common Toxicity Criteria* – CTC gradusa > 2) za akutne sporedne efekte. **Zaključak.** Jednodozna SRS pomoću linearnog akceleratora bezbedna je i dobro podnošljiva terapijska procedura u lečenju bolesnika sa rekurentnim GB.

Ključne reči:

glioblastom; recidiv; lečenje, palijativno; radiohirurgija; akceleratori čestica.

Introduction

Glioblastoma (GB) comprising the most common primary malignant brain tumor in adults, is as yet considered an incurable disease with a treatment-refractory, rapidly progressive course characterized by frequent recurrences despite a combined modality treatment. Recurrent glioblastoma is a more resistant form with a grim diagnosis in which treatment modalities are used with palliative intention. Today standard treatment of GB includes surgery followed by chemoradiation^{1,2}. Improved survival is achieved by adding radiotherapy with concurrent and adjuvant temozolomide following surgery^{1,3,4}, however, most patients eventually present with recurrence.

Many prognostic factors have been suggested for GB including age, tumor histopathology, extent of surgery and performance status. Recursive Partitioning Analysis (RPA) was applied to all of the prognostic factors to evaluate the associations between tumor characteristics, patient pre-treatment factors and treatment, versus survival⁵. Median survival by RPA classes III, IV, V and VI were 17.9, 11.1, 8.9, and 4.6 months, respectively⁵. This analysis conducted before the temozolomide era revealed that patients with GB represented a heterogeneous group with a median duration of survival ranging from 4.6 to 17.9 months⁵.

Therapeutic options at the time of recurrence include surgery, radiotherapy and/or chemotherapy^{6,7}, however these salvage treatment options used with palliative intention are usually hampered by initial primary treatment with surgery, full course radiotherapy and/or chemotherapy. Surgery may have a role in providing symptom's palliation and histopathological verification of recurrent disease, but infiltrative nature of GB usually precludes optimal surgery at recurrence owing to the risk of significant morbidity^{8,9}. Glioblastoma cells are chemoresistant and modest survival benefit has been achieved with systemic chemotherapy in the setting of recurrent disease¹⁰⁻¹². Re-irradiation is a therapeutic option for recurrent GB, however, the high dose delivered for initial primary disease releases concerns about radiation induced side effects in the recurrent disease setting due to the cumulative dose to normal brain structures with poor repair capacity, particularly when conventional involved field radiotherapy is considered¹³. Brachytherapy has been used in the treatment of recurrent malignant gliomas, but a high morbidity related with this invasive procedure limits its use^{14,15}. While delivering tumoricidal doses with conventional radiotherapy techniques is substantially limited by the potential adverse effects, focal re-irradiation in the form of stereotactic radiosurgery (SRS) and fractionated stereotactic radiotherapy (FSRT) exploiting the advantage of rigid immobilization and improved setup accuracy to deliver high dose of radiation precisely with a steep dose fall-off around the target are increasingly being used in the recurrent disease setting with promising results¹⁶⁻²³. In this study we reported our experience with single-dose LINAC-based SRS in the management of patients with recurrent GB.

Methods

Between 1998 and 2010 a total of 19 patients (13 males, 6 females) with recurrent GB were treated using single dose SRS. All the patients had a diagnosis of glioblastoma confirmed histopathologically. The patients were thoroughly evaluated by a multidisciplinary team consisting of the experts in radiation oncology, neurosurgery, medical oncology, and neuroradiology to decide on optimal management. Eligibility criteria for re-irradiation with SRS included the presence of a contrast-enhancing lesion on T1 weighted MRI of a suitable size and shape to allow accurate target definition. All the patients were required to have a Karnofsky Performance Score (KPS) of ≥ 70 and informed consent. The neurosurgical procedure for primary GB was gross-total resection in 5 patients, subtotal resection in 12 patients and biopsy in 2 patients. Local recurrence was diagnosed by neuroimaging, which showed regrowth of primary tumor; biopsy or resection was not required for confirmation. The median age at initial diagnosis of GB was 47 (23–65) years. Karnofsky Performance Score was ≥ 70 for all the patients, with a median KPS of 90. Recursive Partitioning Analysis (RPA) classification of the 19 patients was Class III in 2 patients, Class IV in 12 patients and Class V in 5 patients. All the patients received first line definitive radiotherapy with a median dose of 60 (54–62) Gy in daily fractions of 2 Gy. Eleven patients (57.9%) received chemotherapy consisting of temozolomide before recurrence. The median time between primary radiotherapy and SRS was 9 (5–49) months. The most common presenting symptoms in 15 out of 19 patients at recurrence included seizures, headache, nausea, vomiting, sensory and motor deficits.

For the first 10 years, SRS planning was done with XKnife-3 (Radionics, Boston, MA, USA) planning system and treatment was delivered with SL-25 LINAC (Elekta, UK). Radiosurgery planning system was then replaced with ERGO ++ (CMS, Elekta, US) allowing Volumetric Modulated Arc Radiosurgery and Synergy LINAC (Elekta, UK) with 3 mm thickness head-on micro-MLC (micro-multileaf collimator). On the day of treatment, a stereotactic frame (Leksell frame or 3D-Line frame, Elekta, UK) was affixed with the help of 4 pins to the patient's skull under local anesthesia, and a planning CT scan usually fused with a prior MRI was used for computerized treatment planning (Figure 1).

Coronal and sagittal images were used in addition to axial images to further improve target and organ-at-risk (OAR) delineation accuracy. Target volumes and critical structures were defined manually by both radiation oncologist and neurosurgeon. Gross tumor volume (GTV) was defined as contrast-enhancing lesion on T1 weighted MRI. In the generation of clinical target volume (CTV), GTV was expanded uniformly in each direction by 3 mm to cover potential microscopic tumor expansion. No additional margin was added to CTV to generate the planning target volume (PTV). Most often defined critical structures included the brainstem, optic chiasm and optic nerves, whereas dose constraints were < 10 Gy for all critical structures.

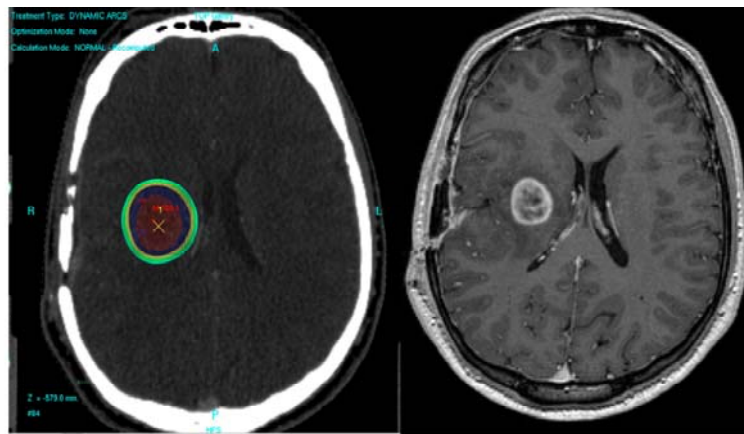


Fig. 1 – Treatment planning of a patient with recurrent glioblastoma in axial planning computerized tomography in ERGO planning system and T1 weighted magnetic resonance imaging used to improve target localization

A single 360° arc, double 360° arcs, or five 180° arcs were selected to spare the critical structures around the target location in the planning. Arc Modulation Optimization Algorithm (AMOA) was used to improve target coverage while sparing critical structures. Among different candidate treatment plans, the best plan was selected according to dose-volume histogram data analysis.

All the patients underwent single dose SRS using a LINAC with 6-MV photons. The median PTV was 13 (7–19) cc. The median marginal dose was 16 (10–19) Gy prescribed to the 80%–95% isodose line encompassing the PTV. Iso-centers of all the patients were checked by kV-CBCT (kilovoltage Cone Beam Computed Tomography) and setup verifications were done by XVI (X-ray Volumetric Imaging, Elekta, UK) system. Eight milligrams of intravenous dexamethasone with H2-antihistamines was used immediately after SRS.

After the completion of the treatment, follow-up visits were scheduled for every patient routinely at the first 2-month and then at 3-month intervals including clinical examination with neurological evaluation and neuroimaging with contrast-enhanced MRI. The patients were requested to inform the treating physician about any unexpected neurological worsening regardless of the follow-up schedule. Macdonald criteria were used to assess response to radiosurgical treatment²⁴. Complete response was defined as no clinically detectable cancer following treatment. Partial response was defined as ≥ 50% reduction in the size of enhancing tumor. Progressive disease was defined as ≥ 25% increase in the size of enhancing tumor or appearance of new lesions. If enhancing lesion did not meet the criteria for complete response, partial response, or progressive disease, then response was defined as stable disease. Local tumor control was calculated regarding complete or partial response and stable disease. If radiation necrosis was suspected, additional procedures such as MR-spectroscopy were scheduled. Acute toxicity was scored according to the Common Toxicity Criteria (CTC). The median follow-up time was 13 (2–59) months. Endpoints of the study were overall survival (OS) and progression-free survival (PFS). Overall survival was calculated from primary GB diagnosis and survival after SRS was calculated from the date of SRS. Progres-

sion-free survival was calculated from the date of SRS until progression of tumor or death.

Results

The characteristics of the patients are shown in Table 1. The median overall survival was 21 (6.1–58.8) months from diagnosis of primary GB. The median progression-free survival was 5.7 (1–49.7) months and overall survival was 9.3 (1.1–49.7) months after SRS.

Table 1

Characteristics of the patients with recurrent glioblastoma		
Patients characteristics (n = 19)	n = 19	(%)
Gender		
male	13	68
female	6	32
Age at primary diagnosis of glioblastoma		
≤ 50 years	12	63
> 50 years	7	37
Histologic diagnosis		
WHO grade IV glioblastoma	19	100
Neurosurgical procedures		
gross-total resection	5	26
subtotal resection	12	63
biopsy	2	11
KPS		
90–100	9	47
80	8	42
70	2	11
RPA classification		
class III	2	11
class IV	12	63
class V	5	26

KPS – Karnofsky Performance Score; RPA – Recursive Partitioning Analysis

All the patients tolerated the treatment well with no acute toxicities (> CTC grade 2). Headache, nausea and vomiting were observed in 3 patients (15.8%), which resolved after 3 weeks of steroid therapy. Magnetic resonance imaging of these patients 2 months after SRS at first follow-up revealed stable disease. The first follow-up MRI at 2

months after SRS revealed partial response in 1 patient (5.3%), stable disease in 14 patients (73.7%) and progressive disease in 4 patients (21%). Local tumor control was achieved in 15 out of 19 patients (79%) and median duration of response was 7 months. Tumor progression was the cause of death in all the patients during follow-up.

Discussion

Glioblastoma, the most common primary brain tumor in adults, is characterized by rapid progression and has a grim prognosis with the median survival of 12–18 months despite multidisciplinary management with surgery, radiotherapy and chemotherapy at primary diagnosis²⁵. Management of GB is mainly palliative since providing cure for this devastating tumor is almost unachievable. Most patients eventually present with local recurrence and die as a result of locally recurrent disease within the original tumor site^{26–29}. Therapeutic options at the time of recurrence include surgery, systemic therapy, re-irradiation and investigational treatment modalities. Surgery for repeat debulking of recurrent tumor may be considered. Carmustine wafers have also been used after reoperation for recurrent gliomas with promising results³⁰. However, surgical treatment is usually hampered by the infiltrative nature of GB, which frequently precludes optimal re-resection^{8,9}. Modest survival benefit has been achieved with systemic chemotherapy in the setting of recurrent disease^{10–12}. Systemic therapy agents used in recurrent GB include temozolomide with various dosing regimens, antiangiogenic agents such as bevacizumab which may be used in combination with irinotecan, nitrosoureas either as single agents or in combination regimens; however, optimal combination of systemic agents has yet to be defined and currently considered experimental. Brachytherapy has been used in the treatment of recurrent malignant gliomas, but needs surgical intervention, which may cause severe morbidity^{14,15}.

Re-irradiation using conventional techniques at recurrence is usually limited by the high dose delivered for initial primary disease. Cumulative dose to normal brain structures with poor repair capacity should be thoroughly assessed to avoid excess neurotoxicity when considering re-irradiation. Among the radiotherapeutic options considered for re-irradiation of recurrent GB, radiosurgery appears to be the most appealing treatment modality. Its capability to precisely deliver tumoricidal doses of irradiation in a single fraction offering a non-invasive, well tolerated treatment with a steep dose fall-off around the target location minimizing normal tissue exposure to avoid toxicity without any systemic side effects is the reason for selecting SRS as a viable therapeutic option. Utilizing sophisticated stereotactic techniques offer non-invasive high dose treatments with submillimeter geometric accuracy through rigid immobilization and improved setup accuracy. Stereotactic radiosurgery may be considered as a viable therapeutic option in the management of recurrent GB with its inherent advantages over other radiotherapeutic approaches, however, selecting eligible patients to be treated with this highly sophisticated technology requires thorough assessment. Lesion size and shape should be suitable for SRS to

allow accurate target definition. Infiltrative nature of glioblastomas limit the use of focal treatments owing to potential microscopic extension of the disease beyond radiological borders thus making target definition difficult, so utmost care should be focused on patient selection for re-irradiation with SRS.

In our study, the patients were thoroughly evaluated by a multidisciplinary team before deciding on optimal management. All the patients in our study tolerated the treatment well with no acute toxicities (> CTC grade 2). We used a 3 mm uniform margin around the contrast-enhancing lesion on T1 weighted MRI to cover potential microscopic expansion of the recurrent tumor. Maranzano et al.¹⁸ also used a 3 mm margin in their study. In the RTOG 0023 study by Cardinale et al.³¹, PTV for stereotactic radiotherapy included the GTV plus a 5 mm margin in all directions. In the study by Fogh et al.²² and Souhami et al.³², no margin was used in target definition. There is still no consensus on the use of margins for target definition in SRS of glioblastomas.

Most recurrences occur locally in patients with GB regardless of the initial management strategy^{26–29}. Failure to control the tumor at its original site has prompted the utilization of SRS in an attempt to achieve dose escalation in primary radiotherapy of GB, however, no improvement in overall survival was achieved³². In the recurrent setting, retrospective data with matched pair analyses suggest the benefit of salvage therapy although results are subject to selection bias favoring patients undergoing salvage³³. Stereotactic radiosurgery has been used to palliate GB recurrences with promising results^{16–23, 34–36}. In the case control study by Mahajan et al.¹⁶, the median survival was 11 months in the case group and 10 months in the control group from the date of SRS. In the study by Shrieve et al.¹⁷, the median actuarial survival was 10.2 months for patients treated with SRS from the time of treatment for recurrence. In a recent study by Maranzano et al.¹⁸, the median overall survival from the first surgery to death was 26 months, median overall survival after re-irradiation was 11 months, the median progression-free survival was 4 months while local control was obtained in 71% of patients. In the study by Hsieh et al.¹⁹, treatment with adjuvant gamma knife-SRS conferred a median overall survival of 14.3 months for the patient cohort. Adjuvant gamma knife-SRS performed at tumor progression yielded an improved median survival of 16.7 months compared with the median survival of 10 months when SRS was performed upfront after initial tumor resection¹⁹. In the study by Combs et al.²⁰, the median overall survival was 21 months and 8 months after primary diagnosis and after re-irradiation, respectively for patients treated with fractionated stereotactic re-irradiation for GB. In the study by Kong et al.²¹, the median overall survival was 23 months and median progression-free survival after SRS was 4.6 months for patients with GB. Compared with the historical control group, SRS was found to prolong survival significantly as a salvage treatment in patients with recurrent glioblastoma (23 months vs 12 months; $p < 0.0001$)²¹. In the study by Fogh et al.²², the median survival time (MST) from the date of diagnosis and from the time of hypofractionated stereotactic radiation therapy (H-SRT) was 23 months and 11 months, respectively for patients

with GB. Follow-up MRI scans after H-SRT revealed stable disease in 60% of the patients, minimal response in 10% of the patients, and progression in 30% of the patients²². In the study by Patel et al.²³, MST after SRS was 8.5 months. Radiographic tumor response or stable disease was observed in 35% of patients and tumor progression was seen in 65% of patients treated with SRS²³. In the study by Cho et al.³⁴ comparing single dose vs fractionated stereotactic radiotherapy for recurrent high grade gliomas, actuarial MST was 11 months for the SRS group and 12 months for the FSRT group, without a statistical significance. In the study by Hall et al.³⁵ evaluating the role of SRS in the management of recurrent malignant gliomas, the actuarial survival time for all patients was 21 months from diagnosis and 8 months from radiosurgery. In the study by Combs et al.³⁶, the median overall survival was 22 months and 10 months from primary diagnosis and after SRS, respectively for patients with recurrent GB.

In our study, the median overall survival was 21 months from diagnosis of primary GB. The median progression-free survival was 5.7 months and overall survival was 9.3 months after SRS. The first follow-up MRI at 2 months after SRS revealed a partial response in 1 patient (5.3%), stable disease in 14 patients (73.7%) and progressive disease in 4 patients (21%); thus local tumor control was achieved in 15 out of 19 patients (79%). Tumor progression was the cause of death for all the patients during the follow-up in our study.

Conclusion

LINAC-based, single-dose SRS, is a safe and well-tolerated palliative therapeutic option in the management of patients with recurrent GB. Further studies are warranted to refine the optimal management of this challenging, as yet incurable disease.

R E F E R E N C E S

1. *Stupp R, Mason WP, Bent MJ Van den, Weller M, Fischer B, Taphoorn MJ, et al.* Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005; 352(10): 987–96.
2. *Stupp R, Hegi ME, Mason WP, Bent MJ Van den, Taphoorn MJ, Janzer RC, et al.* Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol* 2009;10(5):459–66.
3. *Gorlia T, Bent MJ van den, Hegi ME, Mirimanoff RO, Weller M, Cairncross JG, et al.* Nomograms for predicting survival of patients with newly diagnosed glioblastoma: prognostic factor analysis of EORTC and NCIC trial 26981-22981/CE.3. *Lancet Oncol* 2008; 9(1):29–38.
4. *Mirimanoff RO, Gorlia T, Mason W, Bent MJ Van den, Kortmann RD, Fisher B, et al.* Radiotherapy and temozolomide for newly diagnosed glioblastoma: recursive partitioning analysis of the EORTC 26981/22981-NCIC CE3 phase III randomized trial. *J Clin Oncol* 2006; 24(16): 2563–9.
5. *Curran WJ Jr, Scott CB, Horton J, Nelson JS, Weinstein AS, Fischbach AJ, et al.* Recursive partitioning analysis of prognostic factors in three Radiation Therapy Oncology Group malignant glioma trials. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85(9): 704–10.
6. *Nieder C, Grosu AL, Molls M.* A comparison of treatment results for recurrent malignant gliomas. *Cancer Treat Rev* 2000; 26(6): 397–409.
7. *Nieder C, Wiedenmann N, Andrasschke N, Molls M.* Current status of angiogenesis inhibitors combined with radiation therapy. *Cancer Treat Rev* 2006; 32(5): 348–64.
8. *Harsb GR, Levin VA, Gutin PH, Seager M, Silver P, Wilson CB.* Reoperation for recurrent glioblastoma and anaplastic astrocytoma. *Neurosurgery* 1987; 21(5): 615–21.
9. *Dirks P, Bernstein M, Muller PJ, Tucker WS.* The value of reoperation for recurrent glioblastoma. *Can J Surg* 1993; 36(3): 271–5.
10. *Chua SL, Rosenthal MA, Wong SS, Ashley DM, Woods AM, Dowling A, et al.* Phase 2 study of temozolomide and Caelyx in patients with recurrent glioblastoma multiforme. *Neuro Oncol* 2004; 6(1): 38–43.
11. *Chamberlain MC, Tsao-Wei DD.* Salvage chemotherapy with cyclophosphamide for recurrent, temozolomide-refractory glioblastoma multiforme. *Cancer* 2004; 100(6): 1213–20.
12. *Brandes AA, Pasetto LM, Monfardini S.* New drugs in recurrent high grade gliomas. *Anticancer Res* 2000; 20(3B): 1913–20.
13. *Mayer R, Sminia P.* Reirradiation tolerance of the human brain. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 70(5): 1350–60.
14. *Chamberlain MC, Barba D, Kormanik P, Berson AM, Saunders WM, Shea MC.* Concurrent cisplatin therapy and iodine 125 brachytherapy for recurrent malignant brain tumors. *Arch Neurol* 1995; 52(2): 162–7.
15. *Scharfen CO, Sneed PK, Wara WM, Larson DA, Phillips TL, Prados MD, et al.* High activity iodine-125 interstitial implant for gliomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992; 24(4): 583–91.
16. *Mabajan A, McCutcheon IE, Suki D, Chang EL, Hassenbusch SJ, Weinberg JS, et al.* Case-control study of stereotactic radiosurgery for recurrent glioblastoma multiforme. *J Neurosurg* 2005; 103(2): 210–7.
17. *Shrieve DC, Alexander E III, Wen PY, Fine HA, Kooy HM, Black PM, et al.* Comparison of stereotactic radiosurgery and brachytherapy in the treatment of recurrent glioblastoma multiforme. *Neurosurgery* 1995; 36(2): 275–84.
18. *Maranzano E, Anselmo P, Casale M, Trippa F, Carletti S, Principi M, et al.* Treatment of recurrent glioblastoma with stereotactic radiotherapy: long-term results of a mono-institutional trial. *Tumori* 2011; 97(1): 56–61.
19. *Hsieh PC, Chandler JP, Bhangoo S, Panagiotopoulos K, Kalapurakal JA, Marymont MH, et al.* Adjuvant gamma knife stereotactic radiosurgery at the time of tumor progression potentially improves survival for patients with glioblastoma multiforme. *Neurosurgery* 2005; 57(4): 684–92.
20. *Combs SE, Thilmann C, Edler L, Debus J, Schulz-Ertner D.* Efficacy of fractionated stereotactic reirradiation in recurrent gliomas: long-term results in 172 patients treated in a single institution. *J Clin Oncol* 2005; 23(34): 8863–9.
21. *Kong DS, Lee JL, Park K, Kim JH, Lim DH, Nam DH.* Efficacy of stereotactic radiosurgery as a salvage treatment for recurrent malignant gliomas. *Cancer* 2008; 112(9): 2046–51.
22. *Fogh SE, Andrews DW, Glass J, Curran W, Glass C, Champ C, et al.* Hypofractionated stereotactic radiation therapy: an effective therapy for recurrent high-grade gliomas. *J Clin Oncol* 2010; 28(18): 3048–53.
23. *Patel M, Siddiqui F, Jin JY, Mikkelsen T, Rosenblum M, Movsas B, et al.* Salvage reirradiation for recurrent glioblastoma with radiosurgery: radiographic response and improved survival. *J Neurooncol* 2009; 92(2): 185–9.

24. Macdonald DR, Cascino TL, Schold SC Jr, Cairncross JG. Response criteria for phase II studies of supratentorial malignant glioma. *J Clin Oncol* 1990; 8(7): 1277–80.
25. Hou LC, Veeravagu A, Hsu AR, Tse VC. Recurrent glioblastoma multiforme: a review of natural history and management options. *Neurosurg Focus* 2006; 20(4): E5.
26. Wallner KE, Galicich JH, Krol G, Arbit E, Malkin MG. Patterns of failure following treatment for glioblastoma multiforme and anaplastic astrocytoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989; 16(6): 1405–9.
27. Sneed PK, Gutin PH, Larson DA, Malec MK, Phillips TL, Prados MD, et al. Patterns of recurrence of glioblastoma multiforme after external irradiation followed by implant boost. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 29(4): 719–27.
28. Leibel SA, Scott CB, Loeffler JS. Contemporary approaches to the treatment of malignant gliomas with radiation therapy. *Semin Oncol* 1994; 21(2): 198–219.
29. Combs SE, Gutwein S, Thilmann Cb, Huber P, Debus J, Schulz-Ertner D. Stereotactically guided fractionated re-irradiation in recurrent glioblastoma multiforme. *J Neurooncol* 2005; 74(2): 167–171.
30. Brem H, Piantadosi S, Burger PC, Walker M, Selker R, Vick NA, et al. Placebo-controlled trial of safety and efficacy of intraoperative controlled delivery by biodegradable polymers of chemotherapy for recurrent gliomas. The Polymer-brain Tumor Treatment Group. *Lancet* 1995; 345(8956): 1008–12.
31. Cardinale R, Won M, Choucair A, Gillin M, Chakeravarti A, Schultz C, et al. A phase II trial of accelerated radiotherapy using weekly stereotactic conformal boost for supratentorial glioblastoma multiforme: RTOG 0023. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 65(5): 1422–8.
32. Souhami L, Sejerbeld W, Brachman D, Podgorsak EB, Werner-Wasik M, Lustig R, et al. Randomized comparison of stereotactic radiosurgery followed by conventional radiotherapy with carmustine to conventional radiotherapy with carmustine for patients with glioblastoma multiforme: report of Radiation Therapy Oncology Group 93-05 protocol. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 60(3): 853–60.
33. Hau P, Baumgart U, Pfeijfer K, Bock A, Jauch T, Dietrich J, et al. Salvage therapy in patients with glioblastoma: is there any benefit? *Cancer* 2003;98(12): 2678–86.
34. Cho KH, Hall WA, Gerbi BJ, Higgins PD, McGuire WA, Clark HB. Single dose versus fractionated stereotactic radiotherapy for recurrent high-grade gliomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999; 45(5): 1133–41.
35. Hall WA, Djalilian HR, Sperduto PW, Cho KH, Gerbi BJ, Gibbons JP, et al. Stereotactic radiosurgery for recurrent malignant gliomas. *J Clin Oncol* 1995; 13(7): 1642–8.
36. Combs SE, Widmer V, Thilmann C, Hof H, Debus J, Schulz-Ertner D. Stereotactic radiosurgery (SRS): treatment option for recurrent glioblastoma multiforme (GBM). *Cancer* 2005; 104(10): 2168–73.

Received on March 23, 2011.

Revised on August 25, 2011.

Accepted on September 5, 2011.



Primena antiretrovirusnih lekova u trudnoći

Safety of antiretrovirals in pregnancy

Gordana Dragović*, Leposava Grbović*, Djordje Jevtović†, Spaso Andjelić‡,
Bojan Vasić‡, Relja Lukić‡

*Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju, Beograd, Srbija; †Institut za infektivne i tropske bolesti „Dr Kosta Todorović“, Centar za HIV/AIDS, Beograd, Srbija; ‡Ginekološko-akušerska klinika „Narodni front“, Beograd, Srbija

Ključne reči:

antiretrovirusni lekovi, trudnoća; HIV.

Key words:

anti-retroviral agents, pregnancy; HIV.

Uvod

Sindrom stečene imunodeficijencije *Syndrome d'immuno-deficence acquise* (SIDA) ili *Acquired Immunodeficiency Syndrome* (AIDS), jedno je od najtežih oboljenja savremenog sveta koje karakteriše teška i progresivna imunosupresija. Sa aspekta kliničkih simptoma i komplikacija ovaj sindrom predstavlja terminalni i najteži stadijum hronične infekcije izazvane virusom humane imunodeficijencije (*Human Immunodeficiency Virus – HIV*)¹. Ovaj virus prenosi se seksualnim kontaktom (heteroseksualnim i homoseksualnim), transfuzijom krvi, krvnim produktima, kontaminiranim iglama i sa inficirane trudnice na dete – intrauterino, za vreme porođaja i tokom dojenja (vertikalna transmisija)².

Epidemija AIDS-a ima karakteristike svetske pandemije. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije (SZO) na kraju 2008. godine procenjeno je da u proseku 33,4 miliona ljudi širom sveta živi sa HIV infekcijom, od kojih su 31,3 miliona odrasli i 2,1 milion deca mlađa od 15 godina³. U globalnoj pandemiji HIV infekcije niko nije posebno izuzet pa, samim tim, ni populacija žena, bilo da je u reproduktivnom periodu ili u starijem životnom dobu. Danas je sve veći broj žena koje žive sa HIV infekcijom, a među njima i onih koje žele da ostanu trudne i na taj način ostvare želju za potomstvom.

Etiologija HIV infekcije

Virus humane imunodeficijencije je RNK virus, koji pripada familiji retrovirida i podfamiliji *Lentivirinae*. Osnovna biološka karakteristika svih retrovirusa je konverzija vi-

rusne ribonukleinske kiseline (RNK) u dezoksiribonukleinsku kiselinu (DNK)^{1,2}. Po ulasku virusnog genoma u humanu ćeliju, dolazi do aktivacije virusne RNK-zavisne DNK polimeraze, odnosno enzima reverzne transkriptaze (RT). Koristeći virusnu RNK kao model i endogene, tj. ćelijske, dezoksinukleozide kao supstrat, RT katalizuje sintezu dvostruke DNK kopije virusne RNK. Pomoću HIV enzima integraze, DNK se integriše u genom inficirane ćelije domaćina koji se naziva provirus i koji ostaje u latentnom stanju sve dok inficirana ćelija ne bude aktivirana. Po aktivaciji inficirane ćelije, na osnovu provirusne DNK dolazi do transkripcije novih virusnih RNK molekula, koji se transportuju u citoplazmu, gde se sintetišu virusni polipeptidi (prekursori virusnih proteina) iz kojih, pod dejstvom HIV proteaze, nastaju nove virusne čestice. Transkribovana RNK dobija omotač, zreli virusi izlaze iz ćelije, diseminiraju se i inficiraju nove ćelije⁴.

Patogeneza HIV infekcije

Virus humane imunodeficijencije prevashodno inficira CD4+ T-limfocite i različitim mehanizmima dovodi do postepene eliminacije čitavih klonova CD4+ T-limfocita, što je praćeno akutnom i hroničnom fazom infekcije.

U akutnoj fazi, tokom prvih nedelja, odvija se intenzivna i nekontrolisana replikacija virusa u CD4+ T-limfocitima sekundarnih limfoidnih organa, što je praćeno masivnom viremijom. Virusna replikacija stimuliše HIV-specifične citotoksične limfocite koji eliminišu inficirane limfocite i/ili zaustavljaju virusnu replikaciju antivirusnim faktorima (hemokinima). Stoga, može da usledi pad viremije, što se vremenski poklapa sa serokonverzijom, tj. pojavom anti-HIV antitela⁵.

Hroničnu HIV infekciju odlikuje intenzivna replikacija virusa, koji neprestano mutira, uz stalno izmicanje „imunskom nadzoru“, što vremenom dovodi do iscrpljivanja imunskog sistema^{4,5}.

Antiretrovirusni lekovi

Antiretrovirusni lekovi (ART) primenjuju se u lečenju infekcije izazvane HIV i sindroma stečene imunodeficijencije. Registrovano je ukupno 25 antiretrovirusnih lekova, klasifikovanih u pet grupa koje deluju na različitim nivoima replikacionog ciklusa HIV:

Nukleozidni/nukleotidni inhibitori reverzne transkriptaze (NIRT): zidovudin (ZDV), zalcitabin (ddC), didanozin (ddI), stavudin (d4T), lamivudin (3TC), abakavir (ABC), emtricitabin (FTC) i tenofovir (TDF).

Nenukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze (NNIRT): nevirapin (NVP), delavirdin (DLV), efavirenz (EFV) i etravirin (ETR).

Inhibitori proteaze (PI): sakvinavir (SQV), ritonavir (RTV), indinavir (IDV), nelfinavir (NFV), lopinavir (LPV), fosamprenavir (FOS), atazanavir (ATV), tipranavir (TPV) i darunavir (DRV).

Inhibitori fuzije HIV: enfuvirtid (peptid T-20) klasični inhibitor fuzije i maravirok (MCV) kao antagonist CCR5 receptora.

Inhibitori virusne integracije: reltegravir (RAL).

Strategija primene antiretrovirusne terapije

Sve do 1995. godine za lečenje HIV infekcije koristili su se prvenstveno lekovi iz grupe NIRT u obliku monoterapije ili dualne terapije, što se vrlo brzo pokazalo nedovoljno efikasnim terapijskim pristupom, praćenim visokom stopom morbiditeta i mortaliteta. Tek krajem 1996. godine usvojena je nova strategija za lečenje HIV infekcije koja podrazumeva kombinovanu primenu tri i više antiretrovirusnih lekova koji deluju različitim mehanizmima (odnosno na različitim mestima replikativnog ciklusa HIV), poznatu pod nazivom visoko aktivna antiretrovirusna terapija (*Highly Active Antiretroviral Therapy - HAART*). Sa uvođenjem HAART, kompetentne svetske institucije za prevenciju i lečenje HIV infekcije usvojile su sledeće glavne ciljeve optimalnog lečenja: lečenje započeti što ranije, pre većeg oštećenja imunog sistema, kombinovanom primenom više lekova različitog mehanizma i mesta dejstva postići maksimalnu supresiju replikacije virusa, odnosno ispod granice detekcije (manje od 50 kopija/mL plazme); redovnim, periodičnim merenjem HIV-RNK i CD4 T-limfocita procenjivati tok bolesti i po potrebi modifikovati antiretrovirusni tretman; optimalnom kombinacijom lekova rezistenciju HIV-a svesti na minimum, izbeći preklapanje neželjenih i toksičnih dejstava, postići maksimalnu distribuciju leka u CNS; koliko god je moguće imunu funkciju održavati blizu normalnog stanja ili u granicama normale; usporiti ili sprečiti progresiju bolesti i popraviti kvalitet i dužinu života, značajno sniziti smrtnost⁶.

Visokoaktivnu antivirusnu terapiju najčešće čine kombinacije dva leka iz grupe NIRT sa jednim lekom iz grupe PI. Međutim, podjednako je efikasna i kombinacija dva NIRT sa jednim NNIRT, čime se PI „štede“ za kasnije faze lečenja. Efikasnost i uspešnost HAART danas je evidentna i jasno dokazana. Ovakav terapijski pristup dovodi do kompletne i dugotrajne supresije replikacije HIV, usled čega se značajno usporava progresija bolesti, obezbeđuje bolji kvalitet života bolesnika, i što je najvažnije, produžava se životni vek bolesnika sa HIV infekcijom^{6,7}.

Terapijska efikasnost HAART

Najvažniji parametri za procenu terapijske efikasnosti HAART su broj perifernih CD4+ T- limfocita i nivo viremije (HIV-RNK *plasma viral load* – HIV-RNK pVL), odnosno broj kopija HIV RNK u mililitru plazme.

Primenjeni terapijski protokol (HAART) smatra se efikasnim ukoliko dovede do kompletne supresije replikacije HIV ispod granice detekcije komercijalnog PCR testa za HIV RNK (< 50 kopija HIV RNK/mL plazme), uz istovremeni porast broja CD4+T- limfocita u odnosu na inicijalnu vrednost⁸.

Visoko aktivna antivirusna terapija inicijalno je neefikasna ukoliko se posle 6–8 nedelja njene primene ne postigne pad viremije do ispod granice detekcije. U suprotnom, indikovana je promena terapije. Ukoliko je jedna kombinacija lekova na početku terapije bila efikasna, a posle nekog vremena njene primene dođe do perzistentnog skoka viremije, ovakav terapijski protokol se smatra neefikasnim i tada treba promeniti terapiju. Pokazatelji terapijskog neuspeha su izostanak porasta broja CD4+ ćelija većeg od 250 limfocita/mm³ i/ili pojava novih oportunističkih infekcija, osim u slučaju bolesti imunske rekonstitucije koja ne spada u terapijske neuspehe^{6,8,9}.

Prva iskustva sa primenom kombinovane antiretrovirusne terapije ipak otkrivaju i njene značajne nedostatke. Neophodnost višegodišnjeg svakodnevnog uzimanja velikog broja različitih tableta, i to potencijalno toksičnih, uz pojavu neželjenih interakcija sa drugim lekovima i hranom, čine ovaj koncept lečenja vrlo komplikovanim za bolesnika sa, ponekad, negativnim implikacijama na kvalitet života.

HIV infekcija u trudnoći

Žene inficirane HIV-om koje su u drugom stanju ili one koje žele da zatrudne, predstavljaju izazov za lekare kako u terapijskom smislu, tako i u cilju prevencije transmisije HIV infekcije na fetus. Lečenje trudnice inficirane HIV-om, danas predstavlja jedan od najvećih izazova koji zahteva jedinstven pristup u odlučivanju o primeni pojedinih antiretrovirusnih lekova koji neće uticati samo na zdravlje majke, već i na zdravlje i razvoj samog ploda^{10,11}.

Primena antiretrovirusnih lekova u graviditetu veoma je delikatna, uključuje stručne, etičke i lične dileme. S jedne strane, opšte je prihvaćeno da je neophodno lečiti HIV pozitivne trudnice jer se značajno snižava transmisija infekcije na fetus, a istovremeno leči se i majka. S druge strane, antiret-

rovirusni lekovi poseduju izvestan embriotoksični i teratogeni potencijal, kao i neželjena i toksična dejstva i za majku i za fetus. Stoga, preporuka kompetentnih svetskih institucija za prevenciju i lečenje HIV infekcije je da se antiretrovirusni lekovi ne koriste u prvom trimestru trudnoće, već da lečenje treba započeti u drugom trimestru¹².

Odluka o lečenju trudnice sa HIV infekcijom i izbor HAART protokola donosi se na osnovu imunološkog i virološkog statusa trudnice, kliničkog stadijuma bolesti, prethodnog lečenja, postojećih informacija o bezbednosti odabranih antiretrovirusnih lekova i dobrovoljnog pristanka trudnice¹³⁻¹⁵.

Zaustavljanje i sprečavanje perinatalne transmisije HIV-a je primarni zadatak svih ginekologa. Primena visokoaktivne antiretrovirusne terapije snižava rizik od perinatalne transmisije HIV-a sa majke na dete na najmanji mogući nivo (ispod 2%) i istovremeno poboljšava zdravlje majke, jer veoma efikasno redukuje nivoe HIV-RNK u plazmi (na nivo ispod 50 kopija HIV RNK/mL)¹³.

U novije vreme preporuke za terapiju trudnice inficirane HIV-om podrazumevaju primenu kombinacije takvih antiretrovirusnih lekova koji će dovesti do poboljšanja zdravlja žene uz istovremeno odsustvo teških neželjenih efekata koji bi ugrozili život majke, ploda i/ili novorođenčeta. Preporuke za primenu antiretrovirusne terapije kod trudnica inficiranih HIV zahtevaju posebno razmatranje, fokusirano prvenstveno na promene doznih režima ART u skladu sa fiziološkim promenama u organizmu izazvanim samom trudnoćom, kao i potencijalnim efektima na sam fetus i novorođenče¹⁶⁻¹⁹.

Podaci o bezbednosti primene antiretrovirusnih lekova u trudnoći podrazumevaju rezultate testova *in vitro* i rezultate prekliničkih studija na životinjskim modelima (studije kancerogenosti, mutagenosti i teratogenosti). Pored toga, u cilju određivanja bezbednosti primene antiretrovirusnih le-

i koristi od njihove primene. Ovakve vrste podataka imaju isključivo prediktivnu vrednost i ograničenu upotrebnu vrednost u humanoju populaciji^{20, 21}.

I dalje postoji ograničen broj podataka o prolasku antiretrovirusnih lekova kroz placentalnu barijeru, kao i mali broj podataka o potencijalnoj teratogenosti i kancerogenosti ovih lekova pri njihovoj dugotrajnoj upotrebi na životinjskim modelima. Isto tako, malo je opservacionih, kao i eksperimentalnih podataka o upotrebi antiretrovirusnih lekova u trudnoći, kao i podataka o neželjenim efektima antiretrovirusne terapije kod dece koja su bila izložena antiretrovirusnim lekovima *in utero* i u prvim danima života.

Bezbednost primene antiretrovirusnih lekova u trudnoći

Nukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze

Pojedini NIRT, uključujući i ZDV pokazali su mutageni potencijal u *in vitro* studijama, ali i kancerogeni potencijal u studijama na životinjskim modelima, tj. na zečevima¹⁹.

Studije transplacentalne kancerogenosti ZDV pokazale su značajan porast broja tumora u različitim organskim sistemima kod miševa. Za razliku od ovih podataka, u opservacionim studijama u humanoju populaciji nisu zabeleženi podaci o pojavi tumora kod dece koja su *in utero* bila izložena dejstvu ZDV. Podaci o upotrebi ostalih antiretrovirusnih lekova iz grupe NIRT (lamivudin, stavudin, didanozin) u humanoju populaciji govore o najmanje dvostrukom porastu ukupnog rizika od pojave malformacija kardiovaskularnog sistema i urogenitalnog trakta, koji nije registrovan u studijama na životinjskim modelima^{19, 20}.

Tabela 1 predstavlja prikaz prekliničkih i kliničkih podataka o bezbednosti primene nukleozidnih inhibitora reverzne transkriptaze u trudnoći¹⁹⁻²².

Tabela 1

Preklinički i klinički podaci o bezbednosti primene nukleozidnih inhibitora reverzne transkriptaze (NIRT) u trudnoći

NIRT	FDA kategorija	Prolazak kroz placentalnu barijeru	Kancerogene studije na životinjama	Teratogene studije na životinjama
Abakavir (Ziagen®)	C	Da (pacov)	Pozitivne (pojava malignih i benignih tumora jetre i tireoideje kod miševa i pacova)	Pozitivne (anosakralne i skeletne malformacije kod kunića)
Didanozin (Videx®)	B	Da (čovjek)	Negativne	Negativne
Emtricitabin (Emtriva®)	B	Nepoznato	Nepoznato	Negativne
Lamivudin (Epivir®)	C	Da (čovjek)	Negativne	Negativne
Stavudin (Zerit®)	C	Da (majmun)	Pozitivne (tumori jetre i mokraćne bešike kod miševa i pacova)	Negativne
Tenofovir (Viread®)	B	Da (pacov)	Nepoznato	Negativne
Zalcitabin (Hivid®)	C	Da (majmun)	Pozitivne (limfom kod kunića)	Pozitivne (hidrocefalus kod kunića)
Zidovudin (Retrovir®)	C	Da (čovjek)	Pozitivne (neinvazivni tumori vaginalnog epitela kod kunića)	Pozitivne (fatalni ishod kod kunića)

FDA – Food and Drug Administration

kova u trudnoći, prikupljaju se i podaci epidemioloških, opservacionih i kliničkih studija. Podaci o toksičnosti antiretrovirusnih lekova na životinjskim modelima treba da predstavljaju bazično znanje lekara u proceni potencijalnih rizika, ali

Nenukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze

Lekovi iz grupe NNIRT, odnosno primena efavirenza kod primata u koncentracijama komparabilnim sa sistem-

skim terapijskim koncentracijama kod čoveka dovodi do značajnih malformacija u centralnom nervnom sistemu *in utero*²³. Pored toga, registrovan je slučaj mijelomeningo-kele kod deteta čija je majka tokom trudnoće lečena efavirenzom u vreme koncepcije i za vreme prvog trimestra trudnoće²³. Upravo zbog toga, savetuje se izbegavanje upotrebe efavirenza u prvom trimestru trudnoće. Nasuprot tome, podaci o primeni nevirapina u prvom trimestru trudnoće ne ukazuju na pojavu deformiteta i malformacija ploda, pa se nevirapin sa sigurnošću može koristiti u trudnoći²⁴⁻²⁶.

Tabela 2 predstavlja prikaz prekliničkih i kliničkih podataka o sigurnosti primene lekova iz grupe NNIRT u trudnoći^{11, 24-26}.

Proteazni inhibitori

Kod gotovo svih lekova iz grupe PI u studijama na životinjskim modelima, odnosno na zečevima registrovani su određeni oblici toksičnosti, ali ne i teratogeni efekti²⁷.

U tabeli 3 prikazani su rezultati prekliničkih i kliničkih studija bezbednosti primene PI u trudnoći²⁷.

Inhibitori fuzije HIV

S obzirom na činjenicu da je ovo relativno nova grupa lekova sa samo dva predstavnika (enfuvirtid i maravirok kao antagonista CCR5 receptora) i dalje nema rezultata kliničkih studija koji govore o bezbednosti njihove primene u trudnoći.

U tabeli 4 dat je prikaz prekliničkih i kliničkih podataka o bezbednosti kliničke primene inhibitora fuzije HIV u trudnoći²⁸.

Inhibitori integraze

Inhibitori integraze predstavljaju potpuno novu grupu lekova sa samo jednim predstavnikom, reltegravirom, čiju kliničku primenu je odobrila *Food and Drug Administration* (FDA) tek krajem 2007. godine. Zato, još uvek ne postoji dovoljan broj rezultata dugotrajnih studija o bezbednosti

Tabela 2

Preklinički i klinički podaci o bezbednosti primene nenukleozidnih inhibitora reverzne transkriptaze (NNIRT) u trudnoći

NNIRT	FDA kategorija	Prolazak kroz placentnu barijeru	Kancerogene studije na životinjama	Teratogene studije na životinjama
Delavirdin (Rescriptor®)	C	Nepoznato	Pozitivne (hepatocelularni adenom i karcinom, tumori mokraćne besike kod miševa, ali ne i pacova)	Pozitivne (ventrikularni septalni defekt kod kunića)
Efavirenz (Sustiva®)	D	Da (majmun, zec, pacov)	Pozitivne (hepatocelularni adenom i karcinom, tumori pluća kod ženki, ali ne i mužjaka miševa)	Pozitivne (anencefalija, anoftalmija i mikroftalmija kod majmuna)
Nevirapin (Viramune®)	B	Da (čovek)	Pozitivne (hepatocelularni adenom i karcinom kod miševa i pacova)	Negativne

FDA – Food and Drug Administration

Tabela 3

Preklinički i klinički podaci o bezbednosti primene proteaznih inhibitora (PI) u trudnoći

PI	FDA kategorija	Prolazak kroz placentnu barijeru	Kancerogene studije na životinjama	Teratogene studije na životinjama
Atanzavir	B	Nepoznato	Nisu završene studije	Negativne
Fosamprenavir (Telzir®)	C	Nepoznato	Pozitivne (benigni i maligni tumori jetre kod mužjaka kunića)	Negativne
Indinavir (Crixivan®)	C	Da, minimalno (čovek)	Pozitivne (adenom tireoideje kod mužjaka pacova)	Negativne
Lopinavir/Ritonavir (Kaletra®)	C	Nepoznato	Nisu završene studije	Negativne (kašnjenje procesa osifikacije skeleta pacova)
Nelfinavir (Viracept®)	B	Da, minimalno (čovek)	Pozitivne (folikularni adenom tireoideje, karcinomi kod pacova)	Negativne
Ritonavir (Norvir®)	B	Da, minimalno (čovek)	Pozitivne (adenom jetre kod kunića i karcinomi kod mužjaka miševa)	Negativne
Sakvinavir (Invirase®)	B	Da, minimalno (čovek)	Nisu završene studije	Negativne

FDA – Food and Drug Administration

Tabela 4

**Preklinički i klinički podaci o bezbednosti primene inhibitora fuzije (IF)
virusa humane imunodeficijencije (HIV) u trudnoći**

IF	FDA kategorija	Prolazak kroz placentalnu barijeru	Kancerogene studije na životinjama	Teratogene studije na životinjama
Enfuvirtid (Fuzeon®)	B	Nepoznato	Nisu završene studije	Negativne
Maravirok (Selzentry®)	B	Nepoznato	Nisu završene studije	Negativne

FDA – Food and Drug Administration

primene reltegravira u trudnoći, o njegovom efektu *in utero*, kao i o efektima na novorođenče. Za sada nije moguće dati tačnu procenu bezbednosti njegove primene u trudnoći.

Tabela 5 predstavlja prikaz prekliničkih i kliničkih podataka o bezbednosti primene inhibitora integraze u trudnoći²⁸.

Imajući u vidu rezultate prekliničkih i kliničkih istraživanja postignut je konsenzus iz koga je dalje proistekao Evropski vodič kliničke primene antiretrovirusnih lekova kod HIV-pozitivnih trudnica⁶. Preporuke navedene u pomenutom terapijskom vodiču usvojila je Komisija za borbu protiv AIDS-a Republike Srbije i u kliničkoj praksi su od 2005. godine. Najčešće primenjivane kombinacije antiretrovirusnih lekova u Srbiji prikazane su u tabeli 6. U tabeli 7 prikazan je algoritam terapijskih postupaka kod HIV pozitivnih trudnica.

sledične disfunkcije same mitohondrije. U uslovima *in vitro* NIRT imaju različit inhibitorski potencijal i u različitim stepenu utiču na replikaciju mitohondrijske DNK. Od svih lekova iz ove grupe, najveći inhibitorski potencijal imaju zalcitabin, didanozin, stavudin, lamivudin, zidovudin i abakavir. Toksičnost izazvana disfunkcijom mitohondrije, tzv. mitohondrijska toksičnost, zabeležena je kod bolesnika koji su duži vremenski period lečeni lekovima iz ove grupe. Mitohondrijska toksičnost može biti od posebnog značaja za samu trudnicu, ali i za novorođenče koje je *in utero* izloženo dejstvu lekova iz grupe NIRT²⁹.

Klinički poremećaji prouzrokovani pojavom mitohondrijske toksičnosti su razvoj periferne neuropatije, miopatije, kardiomiopatije, pankreatitisa, hepatičke steatoze i laktične acidoze²⁹⁻³¹. Među navedenim kliničkim poremećajima,

Tabela 5

**Preklinički i klinički podaci o bezbednosti primene inhibitora integraze
virusa humane imunodeficijencije**

II	FDA kategorija	Prolazak kroz placentalnu barijeru	Kancerogene studije na životinjama	Teratogene studije na životinjama
Raltegravir (Isentress®)	C	Nepoznato	Nisu završene studije	Negativne

FDA – Food and Drug Administration

Tabela 6

Kombinovana antiretrovirusna terapija terapija kod bolesnika sa HIV/AIDS

Izabrati jedan lek iz kolone A i jednu NRTI kombinaciju iz kolone B	A	B	Napomena
Preporuka	NNRTI - EFV - NVP ili PI sa <i>booster</i> dozom ritonavira - LPV/r	ABC/3TC	- ABC/3TC koformulacija - fosamprenavir/r: 700/100 mg, 2 × dnevno ili 1400/200 mg qd, 4 × dnevno - LPV/r : 400/100 mg 2 × dnevno ili 800/200 mg 4 × dnevno - SQV/r : 1000/100 mg 2 × dnevno ili 1500/100 mg ili 2000/100 mg qd 4 × dnevno
Alternativa	SQV/r FAPV/R	ZDV/3TC	ZDV/3TC koformulacija

NNRTI – nukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze; EFV – efavirenz; PI – inhibitori proteaze; LPV – lopinavir; SQV – sakvinavir; NVP – nevirapin; ABC – abakavir; ZDV – zidovudin; FAPV – fosamprenavir; 3TC – lamivudin

Najvažniji neželjeni efekti antiretrovirusnih lekova u trudnoći

Nukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze

Lekovi iz grupe NIRT, pored afiniteta vezivanja za virusnu reverznu transkriptazu, istovremeno imaju afinitet vezivanja i za mitohondrijsku gama-polimerazu, što utiče na replikaciju mitohondrijske DNK i dovodi do oštećenja i po-

simptomatska laktična acidoza i hepatička steatoza češće su prisutni u populaciji žena, pa samim tim i kod trudnica²⁹.

Nenukleozidni inhibitori reverzne transkriptaze

Teška, po život opasna, u pojedinim slučajevima fatalna hepatotoksičnost, kao i hipersenzitivna reakcija kože registrovani su neželjeni efekti kod trudnica inficiranih HIV-om koje se duži vremenski period leče nevirapinom, kao jednim

Tabela 7

Algoritam terapijskih postupaka kod trudnica inficiranih virusom humane imunodefijencije (HIV)

Kriterijumi za započinjanje <i>Highly Active Antiretroviral Therapy</i> (HAART) kod trudnica (različite vrste scenarija, vidi dole)	Isti kao i za žene koje nisu trudne
Cilj primene antiretrovirusne terapije kod trudnice je:	Kompletna supresija replikacije <i>Human Immunodeficiency Virus</i> (HIV) tokom trudnoće, posebno u trećem trimestru trudnoće i neposredno pred sam termin porođaja
Testovi rezistencije	Isti kao za žene koje nisu trudne, npr. pre započinjanja primene ART i u slučaju terapijskog neuspaha
Primeri iz kliničke prakse: 1. Trudnoća kod žene koja je već na terapiji antiretrovirusnim lekovima 2. Trudnoća kod žene koja ispunjava kriterijume za započinjanje terapije (CD4), a koja nikada nije bila lečena antiretrovirusnim lekovima 3. Trudnoća kod žene koja ne ispunjava kriterijume za započinjanje terapije, a koja nikada nije bila lečena antiretrovirusnim lekovima: 4. Trudnoća čije je praćenje počelo veoma kasno, u odmakloj fazi:	1. Nastaviti sa primenom propisane terapije, osim ukoliko je njena primena kontraindikovana u trudnoći (potencijalno teratogeni) 2. Početi sa primenom HAART tokom drugog trimestra trudnoće (optimalno vreme za započinjanje lečenja) 3. Početi sa primenom HAART najkasnije u 28. nedelji gestacije (odnosno 12 nedelja pre termina porođaja); sa terapijom treba početi ranije ukoliko visoka vrednost viremije pretili da dovede do prevremenog porođaja 4. Hitno početi sa primenom HAART
Antiretrovirusni lekovi u trudnoći	Isto kao i za žene koje nisu trudne – osim što treba izbeći primenu efavirenza (EFV) – ne treba započeti primenu nevirapina (NVP), ali je njegovu primenu moguće nastaviti ukoliko je bio primenjen pre trudnoće – među kombinacijama proteaznih inhibitora PI/r, favorizovati kombinacije LPV/r ili SQV/r – ukoliko je moguće, zidovudin (ZDV) bi trebao da bude sastavni deo terapije u trudnoći
Lekovi čija je primena kontraindikovana u trudnoći	Efavirenz, didanozin +stavudin, trostruka kombinacija lekova iz grupe NIRT
<i>in vivo</i> primena zidovudina tokom porođaja	Nepoznata korist od njegove primene ukoliko nije postignut broj kopija HIV RNK u plazmi manji od 50 kopija/mL
Pojedinačna doza nevirapina tokom porođaja	Ne preporučuje se
Carski rez	Indikovano, osim ako je dostignut broj kopija HIV RNK u plazmi manji od 50 kopija/mL u vremenskom periodu 34–36. nedelje gestacije

od lekova u sastavu HAART. Zanimljivo je da pomenuti neželjeni efekti nisu registrovani kod trudnica, kao ni kod novorođenčadi koje su jednokratno ili u kraćem vremenskom periodu (nekoliko meseci) lečeni nevirapinom u cilju prevencije perinatalne transmisije HIV-a sa majke na dete^{32,33}.

Proteazni inhibitori u trudnoći

Hiperglikemija, razvoj dijabetesa melitusa, egzacerbacija već postojećeg dijabetesa melitusa, dijabetična ketoacidoza i metabolički sindrom registrovani su neželjeni efekti terapijske primene proteaznih inhibitora, kako u opštoj populaciji, tako i kod trudnica lečenih visokoaktivnom antiretrovirusnom terapijom.

I dalje je nepoznato da li terapijska upotreba PI može da pogorša i/ili poveća rizik od razvoja hiperglikemije izazvane trudnoćom, i nije poznato da li postoji dozno-zavisna povezanost^{12,34}.

Zaključak

Jedan od najznačajnijih terapijskih uspeha u pandemiji HIV infekcije je upotreba antiretrovirusnih lekova u cilju redukcije transmisije HIV-a sa majke na dete. Uprkos sve ve-

ćem broju trudnica inficiranih HIV-om i dalje je prisutan jako mali broj podataka o bezbednosti primene antiretrovirusnih lekova u trudnoći.

Trudnica inficirana HIV-om predstavlja veliki izazov za infektologe, ginekologe, ali i pedijatre, jer su i trudnica i novorođenče istovremeno izloženi koristima, ali i neželjenim efektima antiretrovirusne terapije.

I dalje je neophodan veliki broj rezultata prospektivnih, randomiziranih kliničkih studija, kako bi se u budućnosti jasno utvrdile preporučene dnevne doze antiretrovirusnih lekova za terapiju trudnice inficirane HIV-om i prevenciju vertikalne transmisije ovog virusa. Takođe, neophodno je prospektivno praćenje novorođenčadi izloženih dejstvu antiretrovirusnih lekova tokom trudnoće i u neonatalnom periodu, da bi se preciznije utvrdile posledice nastale primenom antiretrovirusne terapije.

Zahvalnica

Izrada rada delom je podržana sredstvima projekta Ministarstva za prosvetu i nauku RS „Filogenetski pristup analizi molekularne evolucije visokovarijabilnih virusa: koinfekcije, interakcija virusa i domaćina“ (broj projekta 175024).

L I T E R A T U R A

1. *Folks TM, Clyde HE.* The life cycle of human immunodeficiency virus type-1. In: *DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA*, editors. AIDS. Etiology, Diagnosis, Treatment and Prevention. 6th ed. Philadelphia: Lippincot Co; 2007. p. 191–233.
2. *Pavlakis GN.* The Molecular Biology of HIV-1. In: *DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA*, editors. AIDS. Etiology, Diagnosis, Treatment and Prevention. 4th ed. Philadelphia: Lippincot Co; 1997; p. 45–74.
3. *World Health Organization.* Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). HIV in pregnancy: a review.WHO: Geneva; 2009.
4. *Gazzard B, Bernard AJ, Boffito M, Churchill D, Edwards S, Fisher N*, et al. British HIV Association (BHIVA) guidelines for the treatment of HIV-infected adults with antiretroviral therapy. *HIV Med* 2006; 7(8): 487–503.
5. *Staprans SI, Feinberg MB.* Natural history and immunopathogenesis of HIV/1 disease. In: *Sande MA, Volberding PA*, editors. The Medical Management of AIDS. 5th ed. Philadelphia: Saunders Company; 2007. p. 134–45.
6. *Clumeck N, Pozniak A, Raffi F.* European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of HIV-infected adults. *HIV Med* 2008; 9(2): 65–71.
7. *Kaplan JE, Benson C, Holmes KH, Brooks JT, Pau A, Masur H.* Guidelines for prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *MMWR Recomm Rep* 2009; 58(RR-4): 1–207.
8. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Department of Health and Human Services.Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents [cited 2009 December 1]. Available from: <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/AdultandAdolescentGL.pdf>.
9. *Jentović DJ, Salemović D, Ranin J, Pešić I, Zerjav S, Djurković-Djanković O.* The prevalence and risk of immune restoration disease in HIV-infected patients treated with highly active antiretroviral therapy. *HIV Med* 2005; 6(2): 140–3.
10. *Lockman S, Shapiro RL, Smeaton LM, Wester C, Thior I, Stevens L*, et al. Response to antiretroviral therapy after a single, peripartum dose of nevirapine. *N Engl J Med* 2007; 356(2): 135–47.
11. *Moodley D, Moodley J, Coonadia H, Gray G, McIntyre J, Hofmyer J*, et al. A multicenter randomized controlled trial of nevirapine versus a combination of zidovudine and lamivudine to reduce intrapartum and early postpartum mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus. *J Infect Dis* 2003; 187(5): 725–35.
12. *Tilson H, Doi PA, Covington DL, Parker A, Shields K, White A.* The antiretrovirals in pregnancy registry: a fifteenth anniversary celebration.. *Obstet Gynecol Surv* 2007; 62(2):137–48.
13. *Townsend CL, Cortina-Borja M, Peckham CS, de Ruiter A, Lyall H, Tookey PA.* Low rates of mother-to-child transmission of HIV following effective pregnancy interventions in the United Kingdom and Ireland, 2000-2006. *AIDS* 2008; 22(8): 973–81.
14. *Ouyang DW, Shapiro DE, Lu M, Brogly SB, French AL, Leighty RM*, et al. Increased risk of hepatotoxicity in HIV-infected pregnant women receiving antiretroviral therapy independent of nevirapine exposure. *AIDS* 2009; 23(18): 2425–30.
15. *Ouyang DW, Brogly SB, Lu M, Shapiro DE, Hershov RC, French AL*, et al. Lack of increased hepatotoxicity in HIV-infected pregnant women receiving nevirapine compared with other antiretrovirals. *AIDS* 2010; 24(1): 109–14.
16. *Mirochnick M, Siminski S, Fenton T, Lugo M, Sullivan JL.* Nevirapine pharmacokinetics in pregnant women and in their infants after in utero exposure. *Pediatr Infect Dis J* 2010; 20(8) : 803–5.
17. *Marzolini C, Rudin C, Decosterd LA, Telenti A, Schreyer A, Biollaz J*, et al. Transplacental passage of protease inhibitors at delivery. *AIDS* 2002; 16(6): 889–93.
18. *Mirochnick M, Dorenbaum A, Holland D, Cunningham-Schrader B, Cunningham C, Gelber R*, et al. Concentrations of protease inhibitors in cord blood after in utero exposure. *Pediatr Infect Dis J* 2002; 21(9): 835–8.
19. *Arrivé E, Newell ML, Ekouevi DK, Chaix ML, Thiebaut R, Masquelier B*, et al. Prevalence of resistance to nevirapine in mothers and children after single-dose exposure to prevent vertical transmission of HIV-1: a meta-analysis. *Int J Epidemiol* 2007; 36(5): 1009–21.
20. *Ayers KM, Clive D, Tucker WE Jr, Hajian G, de Miranda P.* Non-clinical toxicology studies with zidovudine: genetic toxicity tests and carcinogenicity bioassays in mice and rats. *Fundam Appl Toxicol* 1996; 32(2): 148–58.
21. *Ayers KM, Torrey CE, Reynolds DJ.* A transplacental carcinogenicity bioassay in CD-1 mice with zidovudine. *Fundam Appl Toxicol* 1997; 38(2):195–8.
22. *Watts DH, Li D, Handelsman E, Tilson H, Paul M, Foca M*, et al. Assessment of birth defects according to maternal therapy among infants in the Women and Infants Transmission Study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 44(3): 299–305.
23. *De Santis M, Carducci B, De Santis L, Cavaliere AF, Straface G.* Periconceptual exposure to efavirenz and neural tube defects. *Arch Intern Med* 2002; 162: 355.
24. *Cressey TR, Jourdain G, Lallemand MJ, Kunkeaw S, Jackson JB, Musesoke P*, et al. Persistence of nevirapine exposure during the postpartum period after intrapartum single-dose nevirapine in addition to zidovudine prophylaxis for the prevention of mother-to-child transmission of HIV-1. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 38(3) : 283–8.
25. *Dorenbaum A, Cunningham CK, Gelber RD, Culnane M, Mofenson L, Britto P*, et al. Two-dose intrapartum/newborn nevirapine and standard antiretroviral therapy to reduce perinatal HIV transmission: a randomized trial. *PACTG 316. JAMA* 2002; 288(2) : 189–98.
26. *Martinson NA, Ekouevi DK, Dabis F, Morris L, Lupodwana P.* Transmission rates in consecutive pregnancies exposed to single-dose nevirapine in Soweto, South Africa and Abidjan, Côte d'Ivoire. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 45(2): 206–9.
27. *Zorilla C, Van Dyke R, Bardeguex A.* Program and abstracts of the 10th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (San Francisco, CA). Foundation for Retrovirology and Human Health; 2003. Clinical response, safety, and tolerability to saquinavir-SGC with low-dose ritonavir boosting in combination with zidovudine and lamivudine in HIV-1-infected pregnant women and their infants. 10th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. CA: San Francisco; 2003.
28. *Coffie PA, Ekouevi DK, Chaix ML, Tomve-Gold B, Clarisse AB, Bequet R*, et al. Maternal 12-month response to antiretroviral therapy following prevention of mother-to-child transmission of HIV type 1, Ivory Coast, 2003-2006. *Clin Infect Dis* 2008; 46(4) : 611–21.
29. *Dragović GJ, Smith CJ, Jentović DJ, Johnson MA, Ranin J, Salemović D*, et al. Comparison of nucleoside reverse transcriptase inhibitor use as part of first-line therapy in a Serbian and a UK HIV clinic. *HIV Clin Trials* 2009; 10(5): 306–13.

30. *Dragović G, Milić N, Jevtović DJ*. Incidence of acute pancreatitis and nucleoside reverse transcriptase inhibitors usage. *Int J STD AIDS* 2005; 16(6): 427–9.
31. *Dragović G, Jevtović DJ*. Nucleoside reverse transcriptase inhibitor usage and the incidence of peripheral neuropathy in HIV/AIDS patients. *Antivir Chem Chemother* 2003; 14(5): 281–4.
32. *Kontorinis N, Dieterich DT*. Toxicity of non-nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors. *Semin Liver Dis* 2003; 23(2): 173–82.
33. *Lyons F, Hopkins S, Kelleber B, McGeary A, Sheehan G, Geoghegan J*, et al. Maternal hepatotoxicity with nevirapine as part of combination antiretroviral therapy in pregnancy. *HIV Med* 2006; 7(4): 255–60.
34. *Jevtović DJ, Dragović G, Salemović D, Ranin J, Djurković-Djaković O*. The metabolic syndrome, an epidemic among HIV-infected patients on HAART. *Biomed Pharmacother* 2009; 63(5): 337–42.

Primljen 7. IX 2010.
Prihvaćen 8. XII 2010.



Postekspozicijska profilaksa infekcije prouzrokovane virusima hepatitisa B, hepatitisa C i humane imunodeficijencije kod zdravstvenih radnika

Postexposure prophylaxis against hepatitis B, hepatitis C and human immunodeficiency virus infection in healthcare workers

Bojan Vasić*, Spaso Andjelić*, Relja Lukić*, Djordje Jevtović†, Leposava Grbović‡, Tatjana Vasiljević*, Gordana Dragović‡

*Ginekološko-akušerska klinika „Narodni front“, Beograd, Srbija; †Klinika za infektivne i tropske bolesti „Dr Kosta Todorović“, Centar za HIV/AIDS, Beograd, Srbija;

‡Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju, Beograd, Srbija

Ključne reči:

profilaksa, postekspozicijska; zdravstveno osoblje; hepatitis b virus; hepacivirus; hiv; profesionalna izloženost.

Key words:

post-exposure prophylaxis; health personnel; hepatitis b virus; hepacivirus; hiv; occupational exposure.

Uvod

Od vremena kada su prepoznate, pa sve do današnjih dana, postoji strah od infekcija izazvanih virusom hepatitisa B (HBV) i virusom hepatitisa C (HCV). Strah se posebno odnosi na virus humane imunodeficijencije (HIV). Strah od navedenih infekcija, pored laika, prisutan je i kod zdravstvenih radnika koji su, kao retko kada u istoriji moderne medicine, često iracionalno strahujući doveli u pitanje profesionalnost i osnovne principe medicinske etike, posebno kada se radi o sindromu stečene imunodeficijencije (na engleskom *Acquired Immunodeficiency Syndrome* – AIDS ili na francuskom *Syndrome d'immuno-deficence acquise* – SIDA). U odnosu na opštu populaciju, zdravstveni radnici su pod većim rizikom od izlaganja infektivnim bolestima koje se prenose putem krvi i drugim telesnim tečnostima, u koje se svrstavaju infekcije virusima kao što su HBV, HCV i HIV¹. Profesionalna izloženost definiše se kao rizičan kontakt zdravstvenih radnika sa potencijalno infektivnim materijalom^{1,2}. Međutim, sada već višedecenijsko iskustvo u borbi sa navedenim infekcijama i veliki broj epidemioloških studija o profesionalnoj izloženosti zdravstvenih radnika ovim infekcijama, omogućavaju da se relativno jednostavnim merama prevencije snizi postojeći rizik³. Podjednako je važno da se merama predostrožnosti snizi rizik od prenošenja navedenih infekcija, a prevencija izlaganja i dalje je primarna strategija za smanjenje profesionalno nastalih infekcija³.

Takođe, treba znati da za HBV, HCV i HIV infekciju postoji postekspozicijska profilaksa (PEP), koja se odnosi na skup mera i postupaka kojima se sprečava transmisija patogeno prenosivih putem krvi i drugih telesnih tečnosti kod osoba kod kojih je došlo do akcidenta^{1,2}.

Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije (SZO) profesionalni rizik od HBV infekcije iznosi 5,9% (oko 66 000 zdravstvenih radnika na godišnjem nivou)³, a od HCV infekcije 2,6% (oko 16 000 zdravstvenih radnika godišnje)⁴. Smatra se da je prosečan rizik od transmisije HIV virusa u slučaju profesionalne izloženosti oko 0,09–0,3%⁵, dok se rizik povećava u slučajevima percutane povrede predmeta kontaminiranim krvlju inficirane osobe⁵, dubokog uboda na iglu⁶ ili direktnog kontakta inficirane igle s arterijskim ili venskim krvnim sudom⁷.

Putevi transmisije, vrsta i izvor ekspozicije

Izuzetno je važno definisati šta je rizik, odnosno, koja vrsta ekspozicije i koja vrsta telesne tečnosti nosi rizik od razvoja HBV, HCV i HIV infekcije. Ekspozicija koja se smatra rizičnom za prenošenje HBV, HCV i HIV infekcije je kontakt s krvlju, spermom, vaginalnim sekretom, laboratorijskim koncentratom i svim telesnim tečnostima koje imaju vidljive tragove krvi. Mogući izvori su cerebrospinalna, pleuralna, sinovijska, peritoneumska, amnionska, perikardna tečnost, dok se ekspozicija ostalim telesnim tečno-

stima, u koje spadaju pljuvačka, suze, znoj, urin, feces i ispljuvak ne smatra rizikom osim kada su kontaminirane svežom krvlju⁷.

Faktori koji utiču na stepen rizika su: vrsta igle, odnosno instrumenta kojim je nanesena povreda (hirurške igle za suture, igle za injekcije sa širim i užim lumenom, troakar, skalpel, itd), karakteristike i težina povrede (perkutane povrede, ekspozicije mukoza, ekspozicije neintaktne kože), vrsta i količina potencijalno inficirane tečnosti, tj. inokuluma (krv, tečnost sa vidljivim primesama krvi, potencijalno infektivne tečnosti i tkiva, direktan kontakt sa laboratorijskim koncentratima virusa), stepen viremije kod bolesnika i stanje imunog sistema zdravstvenog radnika koji je bio izložen riziku^{8,9}.

Skup postupaka nakon ekspozicije

Postupak sa mestom ekspozicije

Prvi postupak posle ekspozicije zdravstvenog radnika krvi ili telesnim tečnostima je detaljno pranje potencijalno kontaminiranog predela vodom i sapunom, kada se radi o koži koja ima kontinuitet, kao i ispiranje izložene sluzokože velikom količinom vode. Primena dezinfekcionih i antiseptičkih sredstva tom prilikom se ne preporučuje⁹.

Prijava i dokumentovanje profesionalne ekspozicije

Potrebno je popuniti precizno formulisan upitnik koji sadrži sve neophodne detalje o nastalom incidentu kao i o zdravstvenom stanju izvora infekcije i povredene osobe⁹.

Procena izvora

U zavisnosti od vrste telesne tečnosti, tipa ekspozicije i ozbiljnosti povrede, procenjuje se potencijalni rizik od transmisije HBV, HCV i HIV infekcija. Najveći rizik od razvoja infekcije nosi duboki ubod na šiljati instrument sa lumenom (igla, troakar i slično), dok površna povreda predmetom bez lumena i ekspozicija sluzokože nose manji rizik⁸⁻¹⁰.

Ukoliko je HBV, HCV i HIV status potencijalnog izvora nepoznat, osobu koja je mogući izvor infekcije neophodno je informisati o incidentu i, nakon savetovanja predložiti i testiranje na prisustvo antitela, na infekcije prenosive putem krvi i drugim telesnim tečnostima, uz potpisivanje informisanog pristanka, u skladu s važećim zakonodavstvom i poštovanjem principa poverljivosti^{11,12}.

Primena postekspozicijske profilakse

Svi zdravstveni radnici kod kojih postoji potreba za primenom PEP treba da budu detaljno informisani o mogućnosti nastanka infekcije, dostupnim terapijskim protokolima, potrebi za redovnim uzimanjem lekova, neželjenim dejstvima lekova, kao i o potencijalnoj mogućnosti neuspeha PEP-a^{12,13}.

a) Profilaksa posle ekspozicije virusu hepatitisa B

Prema Pravilniku o imunizaciji i načinu zaštite lekovima Republike Srbije, obavezna vakcinacija protiv hepatitisa B sprovodi se kod svih nevakcinisanih i nepotpuno vakcinisanih lica koja rade u zdravstvenim ustanovama, uključujući i učenike i studente zdravstvenog usmerenja, koji u obavljanju svojih poslova dolaze u neposredan kontakt s infektivnim

materijalom¹⁴. Ukoliko zdravstveni radnik ipak nije vakcinisan, protokol PEP-a za prevenciju HBV infekcije treba započeti odmah, a najkasnije u roku od 12 do 24 sata nakon ekspozicije.

U slučaju da je izvor infekcije hepatitis B *surface* (Hbs) antigen pozitivan, terapijski protokol se započinje primenom višestrukih doza hiperimunog gamaglobulina protiv hepatitisa B (HBIG) u količini od 0,06 mL/kg telesne težine intramuskularno i inicijalnom vakcinacijom za HBV. Hiperimuni gamaglobulin protiv hepatitisa B primenjuje se istovremeno s prvom dozom vakcine (nulti dan). Ukoliko je izvor HBS antigen negativan, potrebno je sprovesti samo vakcinaciju, kao i kada je izvor nepoznatog HBS statusa.

Ukoliko je zdravstveni radnik prethodno vakcinisan i ima adekvatan nivo serumskih antitela na HBS (anti HBS ≥ 10 mLU/mL), bez obzira na HBS status izvora, nije neophodan dalji tretman, odnosno primena PEP-a. Ukoliko je zdravstveni radnik vakcinisan, ali je nivo antitela na HBS antigen < 10 mLU/mL, u slučaju HBS antigen pozitivnog izvora, preporučuje se jednokratna primena HBIG i revakcinacija na HBV, ili za osobe koje su prethodno vakcinisane dvema dozama vakcine, ali su imale neuspešan imunski odgovor, preporučuje se primena dve doze HBIG. U slučaju HBS antigen negativnog izvora, treba razmotriti revakcinaciju¹⁵.

Kada je HBIG nedostupan, može se pristupiti brzoj šemi vakcinacije – 0, 7, 21. dan i četvrta doza u 12. mesecu¹⁵.

Najčešća neželjena dejstva primene vakcine protiv hepatitisa B su bol na mestu injekcije i febrilnost, kao i blaža anafilaktička reakcija nakon primene HBIG. Nema opisanih kontraindikacija za primenu vakcine protiv hepatitisa B i HBIG za vreme trudnoće¹⁵.

b) Profilaksa posle ekspozicije virusu hepatitisa C

Svi zdravstveni radnici koji se brinu o HCV pozitivnim bolesnicima moraju biti informisani o riziku od nastanka HCV infekcije. Takođe, trebalo bi da dobiju odgovarajuća uputstva, da se testiraju i klinički prate. Nakon perkutane povrede i ekspozicije mukoze neophodno je obaviti konsultovanje i određivanje antitela na HCV. U okviru praćenja preporučuju se sledeći postupci: testiranje izvora na prisustvo anti-HCV antitela (nakon savetovanja); kod zdravstvenog radnika koji je bio izložen HCV pozitivnom izvoru uraditi bazno testiranje na anti-HCV i odrediti vrednosti ALT; ponoviti testiranje nakon 4–6 meseci. Za ranu dijagnozu HCV infekcije testiranje na HCV-RNK može se sprovesti 4–6 nedelja nakon akcidenta¹⁵.

Sve pozitivne anti-HCV rezultate neophodno je potvrditi koristeći rekombinantnu imunoblot tehniku. Imunoglobulini i antivirusni lekovi ne preporučuju se u okviru PEP-a nakon ekspozicije HCV pozitivnom krvi^{13,15}.

c) Postekspozicijska profilaksa nakon ekspozicije virusu HIV-a

Rezultati mnogobrojnih studija o patogenezi HIV infekcije potvrđuju da do infekcije ne dolazi odmah nakon kontakta s virusom. Rezultati ovih studija pokazali su da nakon kontakta sa receptor-prezentujućim ćelijama, HIV za 48 sati

dolazi do regionalnih limfnih žlezda, pa se taj period uzima kao vreme do kada zdravstveni radnik treba da primi terapiju, ukoliko se nakon procene rizika donese odluka o primeni postekspozicijske profilakse⁸. Ovaj period, tzv. „prozor mogućnosti“ je upravo vreme kada postekspozicijska profilaksa treba da postigne svoj cilj, deluje na virus i spreči razvoj infekcije. Idealno je započinjanje primene PEP-a u prvih četiri sata nakon ekspozicije, ali ima smisla primeniti PEP-a i do 72 sata od trenutka ekspozicije⁹.

U ovom slučaju, postekspozicijska profilaksa podrazumeva primenu antiretrovirusnih lekova, a izbor lekova zavisi od stadijuma AIDS-a kod izvora infekcije (bolesnika), od već primenjenih antiretrovirusnih lekova kod bolesnika, odnosno nosioca infekcije i stepena ozbiljnosti povrede⁹.

Preporuka u okviru PEP režima jeste da se primene dva ili više antiretrovirusnih lekova, na osnovu procene rizika od transmisije HIV-a u zavisnosti od vrste ekspozicije (perkutanе povrede, ekspozicija mukoze i neintaktne kože) i HIV statusa potencijalnog izvora infekcije^{12,16}. Izbor antiretrovirusnih lekova ponajviše zavisi od toga da li je izvor (bolesnik) uzimao lekove. Ukoliko je izvor-bolesnik inficiran HIV-om i leči se antiretrovirusnom terapijom, potrebno je uraditi test genotipizacije (samo ako je HIV RNK > 1 000 kopija/μL)¹⁷. Prema SZO, protokol primene dva leka preporučuje se u slučajevima ekspozicije mukoza i neintaktne kože, ukoliko je izvor HIV pozitivan, bez obzira na stadijum infekcije. Isti protokol preporučuje se i kada se ne zna HIV status potencijalnog izvora infekcije, ali se prepoznaju faktori rizika, pri čemu je zdravstveni radnik bio u kontaktu s velikim volumenom krvi. Tada se najčešće primenjuju kombinacije dva leka iz grupe nukleozidnih inhibitora reverzne transkriptaze (NIRT): zidovudin (AZT) i lamivudin (3TC), u trajanju od četiri nedelje¹⁶.

Protokol primene tri leka preporučuje se kada se sumnja ili postoji dokazana rezistencija na aniretrovirusne lekove. Primenjuje se i u slučajevima dubokih povreda kože debljim iglama s lumenom, ukoliko je poznato da je izvor infekcije HIV pozitivan bolesnik, i u slučaju kontakta sluzokože i neintaktne kože s velikom količinom krvi HIV pozitivnog bolesnika u simptomatskoj fazi bolesti¹⁶.

Najnovije preporuke *European AIDS Clinical Society* (EACS) iz 2008. godine bazirane su na trostrukoj terapiji, bez obzira na vrstu i težinu povrede i klinički status HIV pozitivnog izvora. Prema EACS preporukama, lekovi koji ulaze u sastav PEP-a su tenofovir (TDF) i emtricitabin (FTC) ili alternativna kombinacija AZT i 3TC plus jedan od lekova iz grupe proteaznih inhibitora (PI) kao što su lopinavir tablete s *booster* dozom ritonavira (LPV/r) ili sakvinavir s *booster* dozom ritonavira (SQV/r), takođe tokom četiri nedelje¹⁷.

Postekspozicijska profilaksa ne primenjuje se kada je poznato da je izvor HIV negativan, kada se HIV status izvora (bolesnika) ne zna i ne prepoznaju se faktori rizika (nakon

savetovanja), i kada je poznato da je zdravstveni radnik već HIV pozitivan^{18,19}.

Antiretrovirusni lekovi koji se koriste u okviru PEP-a imaju neželjene efekte kao što su gastrointestinalne tegobe (mučnina, povraćanje i dijareja)^{20,21}. Lekovi iz grupe NIRT mogu da imaju i druge ozbiljne neželjene efekte kao što su pankreatitis, laktična acidoza, periferna neuropatija, itd.^{22,23} dok su lekovi iz grupe PI praćeni neželjenim efektima kao što su metabolički sindrom, dijabetes, nefrolitijaza i drugo²⁴. Pokazano je da zbog pojave neželjenih dejstava antiretrovirusnih lekova oko 33% medicinskih radnika prestaje sa primenom PEP-a ranije od preporučenog vremena^{19,20}.

Neuspeh primene postekspozicijske profilakse može se dogoditi zbog rezistencije na upotrebljene lekove, kašnjenje sa primenom PEP-a, i kada je u pitanju veliki inokulum i nedovoljna dužina primene PEP-a^{19,20}.

Tokom sprovođenja PEP-a treba ponoviti savetovanje i testiranje zdravstvenog radnika na HIV posle šest nedelja, tri meseca i, konačno, posle šest meseci. Neophodno je od početka primene PEP-a pratiti zdravstveno stanje kroz laboratorijske parametre, uključujući krvnu sliku, i biohemijske parametre bubrežnih i jetrinih funkcija. Zdravstvene radnike koji primaju PEP neophodno je savetovati da ne budu davaoci krvi, semene tečnosti ili organa tokom šest meseci od ekspozicije kao i o primeni adekvatne zaštite pri seksualnim odnosima, kako bi se izbegla sekundarna transmisija tokom perioda praćenja. Ženama u periodu laktacije treba savetovati prestanak dojenja zbog moguće transmisije HIV-a na odojče. Takođe, potrebna je i adekvatna psihosocijalna podrška^{16,17}.

Zaključak

Uprkos mogućnostima specifične zaštite, zdravstveni radnici su pod povećanim rizikom od izloženosti infektivnim bolestima koje se prenose putem krvi i drugim telesnim tečnostima, kao što su HBV infekcija, HCV infekcija i HIV. S obzirom na kompleksnost virusa, tok bolesti, različite kliničke entitete, mnogobrojne komplikacije, lošu prognozu i ograničene terapijske mogućnosti, HBV, HCV i HIV infekcija i danas predstavljaju izazov za ogroman broj stručnjaka različitih profila i specijalnosti.

Prevenција ekspozicije je i dalje primarna strategija za smanjenje profesionalno nastalih infekcija. Međutim, za HBV, HCV i HIV infekciju postoji postekspozicijska profilaksa, čija primena ima zadovoljavajuću efikasnost.

Zahvalnost

Izrada rada delom je podržana sredstvima iz projekta „Filogenetski pristup analizi molekularne evolucije visokovarijabilnih virusa: koinfekcije, interakcija virusa i domaćina“ (broj projekta 175024).

L I T E R A T U R A

1. Chapman LE, Sullivent EE, Grobskopf LA, Beltrami EM, Perz JF, Kretsinger K, et al. Postexposure interventions to prevent infection with HBV, HCV, or HIV, and tetanus in people wounded during bombings and other mass casualty events-United

States, 2008: recommendations of the Centers for Disease Control and Prevention and Disaster Medicine and Public Health Preparedness. *Disaster Med Public Health Prep* 2008; 2(3): 150–65.

2. Subbarao I, Steinbrecher R, Tan L, Peleg K, Zeiger J, James JJ. Postexposure immunization and prophylaxis of bloodborne pathogens following a traumatic explosive event: preliminary recommendations. *Disaster Med Public Health Prep* 2007; 1(2): 106–9.
3. Prüss-Ustün A, Rapiti E, Hutin Y. Estimation of the global burden of disease attributable to contaminated sharps injuries among health-care workers. *Am J Ind Med* 2005; 48(6): 482–90.
4. Prüss-Ustün A, Rapiti E, Hutin Y. Sharp injuries: global burden of disease from sharps injuries to health-care workers. Geneva: World Health Organization; 2003.
5. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). The global HIV and AIDS epidemic in 2001. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2001; 50(21): 434–9.
6. Brzeczowska B, Kowalska M, Beniowski M, Zejda JE, Mazur W, Witor A. Occupational exposure to HIV in health care workers, Silesia voivodeship. *Med Pr* 2010; 61(3): 315–22. (Polish).
7. Elder A, Paterson C. Sharps injuries in UK health care: a review of injury rates, viral transmission and potential efficacy of safety devices. *Occup Med (Lond)* 2006; 56(8): 566–74.
8. Young TN, Arens FJ, Kennedy GE, Laurie JW, Rutherford G. Antiretroviral post-exposure prophylaxis (PEP) for occupational HIV exposure. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; (1): CD002835.
9. Chapman LE, Sullivent EE, Grobskopf LA, Beltrami EM, Perz JF, Kreisler K, et al. Recommendations for postexposure interventions to prevent infection with hepatitis B virus, hepatitis C virus, or human immunodeficiency virus, and tetanus in persons wounded during bombings and other mass-casualty events—United States, 2008: recommendations of the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *MMWR Recomm Rep* 2008; 57(RR-6): 1–21.
10. Weinbaum CM, Williams I, Mast EE, Wang SA, Finelli L, Wasley A, et al. Recommendations for identification and public health management of persons with chronic hepatitis B virus infection. *MMWR Recomm Rep* 2008; 57(RR-8): 1–20.
11. Sabin M, Lo YR. Progress in providing HIV testing and counseling in health facilities: WHO/UNAIDS guidance. *JAMA* 2010; 304(3): 342–3.
12. Tarantola A, Abiteboul D, Rachline A. Infection risks following accidental exposure to blood or body fluids in health care workers: a review of pathogens transmitted in published cases. *Am J Infect Control* 2006; 34(6): 367–75.
13. Davenport A, Myers F. How to protect yourself after body fluid exposure. *Nursing* 2009; 39(5): 22–8.
14. *Recommendations for immunization and protection by drugs*. Official Gazette of the Republic of Serbia No 11/06. (Serbian)
15. MacCannell T, Laramie AK, Gomas A, Perz JF. Occupational exposure of health care personnel to hepatitis B and hepatitis C: prevention and surveillance strategies. *Clin Liver Dis* 2010; 14(1): 23–36.
16. World Health Organization. Post-exposure prophylaxis to prevent HIV infection. Joint WHO/ILO guidelines on post-exposure prophylaxis (PEP) to prevent HIV infection. Geneva: WHO; 2007.
17. Clumeck N, Pozniak A, Raffi F. EACS Executive Committee. European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of HIV-infected adults. *HIV Med* 2008; 9(2): 65–71.
18. Jevtović Đ. Manual on HIV infection for physicians. Belgrade: Institut za javno zdravlje; 2007. (Serbian)
19. Bassett IV, Freedberg KA, Walensky RP. Two drugs or three? Balancing efficacy, toxicity, and resistance in postexposure prophylaxis for occupational exposure to HIV. *Clin Infect Dis* 2004; 39(3): 395–401.
20. Parkin JM, Murphy M, Anderson J, El-Gadi S, Forster G, Pinching AJ. Tolerability and side-effects of post-exposure prophylaxis for HIV infection. *Lancet* 2000; 355(9205): 722–3.
21. Dragović G, Smith C, Jevtović Đ, Johnson M, Ranin J, Salemović D, et al. Comparison of nucleoside reverse transcriptase inhibitor use as part of first-line therapy in a Serbian and a UK HIV clinic. *HIV Clin Trials* 2009; 10(5): 306–13.
22. Dragović G, Milić N, Jevtović Đ. Incidence of acute pancreatitis and nucleoside reverse transcriptase inhibitors usage. *Int J STD AIDS* 2005; 16(6): 427–9.
23. Dragović G, Jevtović Đ. Nucleoside reverse transcriptase inhibitor usage and the incidence of peripheral neuropathy in HIV/AIDS patients. *Antivir Chem Chemother* 2003; 14(5): 281–4.
24. Jevtović Đ, Dragović G, Salemović D, Ranin J, Đurković Đaković O. The metabolic syndrome, an epidemic among HIV-infected patients on HAART. *Biomed Pharmacother* 2009; 63(5): 337–42.

Primljen 29. X 2010.
Revidiran 24. II 2011.
Prihvaćen 24. II 2011.



Levosimendan kod dece sa najtežom formom kongestivne srčane insuficijencije refraktarnom na dobutamin/milrinon

Severe acute congestive heart failure treated with levosimendan in children refractory to treatment with dobutamine/milrinone

Sergej Prijić, Sanja Rakić, Ljubica Nikolić, Bosiljka Jovičić, Mila Stajević,
Vladislav Vukomanović, Jovan Košutić

Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“, Beograd,
Odeljenje za kardiologiju i kardiohirurgiju, Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod. Levosimendan predstavlja novu klasu kardi-toničnog agensa koji proizvodi pozitivni inotropni efekat povećanjem senzitivnosti kontraktilnih proteina na kalcijum bez povećanja potrošnje kiseonika u miokardu, posebno kod nezadovoljavajućeg odgovora na standardnu antikongestivnu terapiju. Otvaranjem ATP senzitivnih kanala za kalijum dolazi do vazodilatacije sa smanjenjem i *preload*-a i *afterload*-a (volumno opterećenje i opterećenje pritiskom). Zbog dugog poluživota, njegovo delovanje je produženo na 7–9 dana nakon 24-satne infuzije. **Prikaz bolesnika.** Retrospektivna analiza medicinske dokumentacije obuhvatila je tri bolesnika, starosti 2, 15 i 17 godina, sa prethodno registrovanim srčanim oboljenjem i teškom formom akutne kongestivne srčane insuficijencije refraktarnom na punu standardnu anti-kongestivnu terapiju. Srčana senka na radiografiji bila je uvećana, sa prosečnim kardiotorakalnim indeksom 0,65. Ehokardiografski, registrovana je značajna dilatacija leve komore (z-skor pojedinačnih bolesnika bio je 2,6; 4,1; 4,0) uz oslabljenu kontraktilnost, sa smanjenom ejectionom frakcijom (EF – 27, 25 i 35%), frakcionim skraćanjem (FS – 13, 11 i 15%) i udarnim volumenom (UV – 40, 60, 72 mL/m²). Pri prijemu bolesnika ordinirana je puna standardna terapija za tešku formu akutne srčane insuficijencije

koja je podrazumevala i kontinuiranu intravensku primenu dobutamina i milrinona. S obzirom na neadekvatno poboljšanje, nakon nekoliko dana u terapiju je uveden levosimendan 24-časovnom kontinuiranom infuzijom u dozi od 0,1 µg/kg/min, uz prekid prethodne inotropne stimulacije. Primenjena terapija dovela je do značajnog kliničkog poboljšanja, kao i poboljšanja ehokardiografskih parametara (EF – 42, 34 i 44%; FS – 21, 16 i 22% i UV – 59, 82, 93 mL/m²). Takođe, zapaženo je i poboljšanje hemodinamskih parametara sa sniženjem srčane frekvencije sa inicijalnih 134–138 otkucaja u minutu na frekvenciju koja je kod svih obolelih bila ispod 120 otkucaja u minutu i sa normalizacijom acidobaznog statusa. Nisu registrovane značajne promene u dimenziji leve komore. **Zaključak.** Početni rezultati pokazuju da primena levosimendana može da dovede do značajnog kliničkog, hemodinamskog i ehokardiografskog poboljšanja kod dece sa najtežom formom akutne kongestivne srčane insuficijencije koja ne reaguju na primenjenu punu standardnu intravensku antikongestivnu terapiju. Prema našim saznanjima, ovo su prvi pedijatrijski bolesnici u našoj zemlji kod kojih je primenjen levosimendan.

Ključne reči:

fosfodiesteraze, inhibitori; srce, insuficijencija; deca; hemodinamika; lečenje, ishod.

Abstract

Introduction. Levosimendan is a novel positive inotropic agent which, improves myocardial contractility through its calcium-sensitizing action, without causing an increase in myocardial oxygen demand. Also, by opening ATP-sensitive potassium channels, it causes vasodilatation with the reduction in both afterload and preload. Because of the long half-life, its effects last for up to 7 to 9 days after 24-hour infusion. **Case report.** We presented three patients 2, 15 and 17 years old. All the patients had severe acute deterioration of the previously diagnosed chronic heart failure (dilatative cardiomyopathy; univentricular heart with bidirectional Glenn

anastomosis and restrictive bulboventricular foramen; bacterial endocarditis on artificial aortic valve with severe stenosis and regurgitation). Signs and symptoms of severe heart failure, cardiomegaly (cardio-thoracic index 0.65) and left ventricular dilatation (end-diastolic diameter z-score 2.6; 4.1 and 4.0) were confirmed on admission. Also, myocardial contractility was poor with ejection fraction (EF – 27%, 25%, 35%), fractional shortening (FS – 13%, 11%, 15%) and stroke volume (SV – 40, 60, 72 mL/m²). The treatment with standard intravenous inotropic agents resulted in no improvement but in clinical deterioration. Thus, standard intravenous inotropic support was stopped and levosimendan treatment was introduced. All the patients received a

continuous 24-h infusion 0.1 µg/kg/min of levosimendan. In a single patient an initial loading dose of 11 µg/kg over 10 min was administered, too. Levosimendan treatment resulted in both clinical and echocardiography improvement with the improved EF (42%, 34%, 44%), FS (21%, 16%, 22%) and SV (59, 82, 93 mL/m²). Hemodynamic improvement was registered too, with the reduction in heart rate in all the treated patients from 134–138 bpm before, to less than 120 bpm after the treatment. These parameters were followed by the normalization of lactate levels. Nevertheless, left ventricular end-diastolic diameter did not change after the levosimendan treatment. **Conclusion.** Our

initial experience demonstrates that administration of levosimendan in patients with severe chronic heart failure not responsive to standard intravenous inotropic treatment might result in a significant clinical and hemodynamic improvement and that, in selected patients, it might be life saving. According to our best knowledge patients presented are the first pediatric patients treated with levosimendan in our country.

Key words:
phosphodiesterase inhibitors; hart failure; child; hemodynamics; treatment outcome.

Uvod

Levosimendan predstavlja novu klasu kardiotioničnih agenasa koji proizvode pozitivan inotropni efekat povećanjem senzitivnosti kontraktilnih proteina na kalcijum¹. Za razliku od drugih inotropnih agenasa (beta agonisti, inhibitori fosfodiesteraze, inhibitori Na-K pumpe) levosimendan ne izaziva povećanje koncentracije kalcijuma u ćeliji. Poznato je, međutim, da porast intraćelijske koncentracije kalcijuma aktivira intraćelijske mehanizme koji na kraju dovode do smrti ćelije bilo putem miocitolize ili apoptoze^{1,2}. Osim što povećava snagu kontrakcije srčanog mišića, ovaj lek smanjuje potrošnju kiseonika i omogućava normalnu ventrikularnu relaksaciju³⁻⁶. U glatkim mišićima krvnih sudova otvara ATP senzitivne kalijumske kanale, čime dovodi do vazodilatacije arterijskih i venskih krvnih sudova, te tako redukuje postopterećenje – opterećenje pritiskom (*afterload*) i predopterećenje – opterećenje volumenom (*preload*)⁷. Takođe, izaziva i vazodilataciju koronarnih arterija i na taj način povećava perfuziju srčanog mišića.

Levosimendan se primenjuje u kontinuiranoj intravenoskoj infuziji u dozi 0,05–0,2 µg/kg/min tokom 24 časa. I dalje ne postoje usaglašeni stavovi o primeni udarne doze leka (6–24 µg/kg tokom 10–60 min), kao ni o prekidu (tj. smanjenju) primene druge inotropne stimulacije^{2,3,5}. Ako se lek ordinira u terapijskim dozama, dolazi do stvaranja aktivnog metabolita koji proizvodi sličan hemodinamski efekat, uz održavanje dejstva tokom 7–9 dana nakon prekida 24-časovne infuzije². Maksimalna koncentracija aktivnog metabolita u krvi dostiže se nakon 48 časova.

Najznačajniji neželjeni efekti primene levosimendana su poremećaji srčanog ritma, tahikardija, hipotenzija i hipokalijemija, a lek je kontraindikovan kod bolesnika sa teškom renalnom i hepatičkom insuficijencijom. Dodatni oprez potreban je kod bolesnika sa produženim korigovanim QT intervalom². Pre primene leka neophodno je korigovati eventualnu hipokalijemiju i hipovolemiju a, takođe, potrebno je učiniti adekvatnu kontrolu eventualnih životno ugrožavajućih aritmija. Tokom primene leka neophodna je stalna kontrola vitalnih parametara. Ipak, studije učinjene kod dece sa akutnom srčanom insuficijencijom ukazuju da je levosimendan relativno bezbedan lek^{5,8,9}.

Prikaz bolesnika

Prikazali smo retrospektivnu analizu ishoda lečenja tri bolesnika sa teškom akutnom srčanom insuficijencijom (SI), kojima je ordiniran levosimendan nakon nezadovoljavajućeg odgovora na punu standardnu antikongestivnu terapiju koja je podrazumevala i kontinuiranu vensku primenu dobutamina i milrinona.

Sva tri bolesnika imala su teško akutno pogoršanje prethodno kompezovane hronične SI. Osnovna bolest kod prvog bolesnika bila je dilatativna kardiomiopatija, kod drugog jednokomorsko srce sa bidirekcionom Glenovom anastomozom i restriktivnim bulboventrikularnim otvorom, a kod trećeg bolesnika bakterijski endokarditis veštačkog aortnog zaliska. Prvi bolesnik imao je III, a druga dva obolela imala su IV stepen SI prema NYHA (*New York Heart Association*) klasifikaciji (tabela 1). Kod bolesnika bili su ispoljeni uobi-

Tabela 1

Karakteristike tri bolesnika koji su lečeni levosimendanom (L)

Parametri	Bolesnik 1	Bolesnik 2	Bolesnik 3
Godine	15	2	17
Pol	muški	muški	muški
Telesna masa (kg)	92	10	55
Uzrok srčane insuficijencije	kardiomiopatija	jednokomorsko srce	endokarditis
NYHA klasifikacija	III	IV	IV
Ejekciona frakcija (pre i posle L)	27% / 42%	25% / 34%	35% / 44%
Frakciono skraćivanje (pre / posle L)	13% / 21%	11% / 16%	15% / 22%
Udarni volumen (pre / posle L)	83 / 124 mL 40 / 59 mL/m ²	30 / 41 mL 60 / 82 mL/m ²	117 / 152 mL 72 / 93 mL/m ²
Enddijastolni (pre / posle L)	74 / 73 mm 2,6 / 2,5 z-skor	52 / 52 mm 4,1 / 4,1 z-skor	79 / 80 mm 4,0 / 4,1 z-skor

NYHA – New York Heart Association

čajeni znaci i simptomi SI: tahikardija, tahipneja, dispneja, ortopneja, respiratorna insuficijencija, hipotenzija i produženo kapilarno punjenje. Uz navedeno, registrovani su i znaci kongestije: povećanje telesne mase, edemi, ascites i hepatomegalija. Kod svih bolesnika zapažena je slabost, malaksalost i konfuzija. Uprkos primeni pune standardne antikongestivne terapije, simptomi i znaci teške SI pogoršavali su se sa pretećim smrtnim ishodom.

Prvi bolesnik, muškog pola, star 15 godina, imao je dilatativnu kardiomiopatiju. Usled nepridržavanja preporučenog higijensko-dijetetskog režima kod dečaka je, tokom kardiološkog praćenja, zabeležena izražena gojaznost sa indeksom telesne mase od $30,9 \text{ kg/m}^2$. U dva navrata registrovana je dekompezacija, koja je uspešno sanirana milrinonom i dobutaminom. Međutim, treća epizoda dekompezacije bila je refraktarna na dejstvo standardne inotropne stimulacije zbog čega je primenjen levosimendan.

Drugi bolesnik, star dve godine, imao je srčanu manu tipa jednokomorskog srca sa bidirekcionom Glenovom anastomozom i restriktivnim bulboventrikularnim otvorom. Nakon učinjene operacije proširenja restriktivnog defekta međukomorske pregrade, tokom prolongiranog dvonedelnog postoperativnog toka registrovan je težak poremećaj sistolne i dijastolne funkcije leve komore sa IV stepenom SI prema NYHA klasifikaciji i nemogućnošću odvajanja od mehaničke ventilacije.

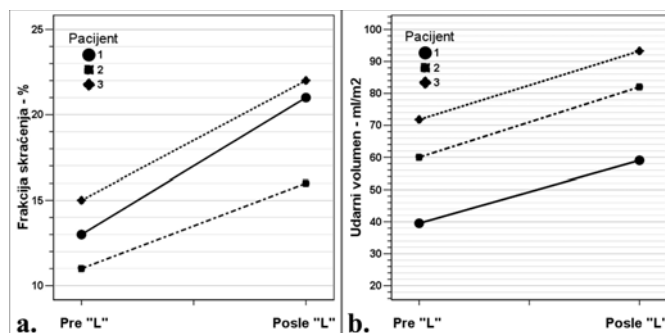
Treći bolesnik, star 17 godina, neredovno kontrolisan, imao je pet godina ranije neprepoznato zapaljenje ugrađenog veštačkog aortnog zaliska (*Medtronic Freestyle*), sa sledećom teškom aortnom insuficijencijom i terminalnom SI. Kliničkim nalazom dominirala je izrazita sinusna tahikardija (200/min), a ultrazvukom izrazito povećan enddijastolni prečnik leve komore od 79 mm (z-skor 4,0). Iako su hemokulture bile sterilne, na osnovu ultrazvučnog pregleda izražena je sumnja na bakterijski endokarditis aortnog zaliska, koja je potvrđena tokom operacije. Bakteriološkim nalazom potvrđen je uzročnik infekcije – *Staphylococcus viridans*.

Dilatacija srčanih šupljina registrovana je kod svih bolesnika ehokardiografskim pregledom, kao i radiografski (kardiorakalni indeks 0,65). Ehokardiografski, takođe, registrovana je i oslabljena kontraktilnost miokarda leve komore sa smanjenom ejskcionom frakcijom (EF), frakcionim skraćanjem (FS) i udarnim volumenom (UV) (tabela 1).

Pri prijemu bolesnika ordinirana je standardna terapija za SI (milrinon 0,5–0,75 $\mu\text{g/kg/min}$, dobutamin/dopamin 8–12 $\mu\text{g/kg/min}$, digoksin 5 $\mu\text{g/kg/dan}$, furosemid 1–3 mg/kg/dan , spironolakton 0,7–2 mg/kg/dan). S obzirom na to da je u narednih nekoliko dana registrovano kliničko pogoršanje, levosimendan je uveden u terapiju uz prekid prethodne inotropne stimulacije milrinonom i dobutaminom/dopaminom, uz napomenu da su kod trećeg bolesnika tokom primene levosimendana ordinirane male doze inotropa (40% vrednosti početnih doza). Lek je primenjen kontinuiranom 24-časovnom intravenoskom infuzijom u prosečnoj dozi od 0,1 $\mu\text{g/kg/min}$. Kod trećeg bolesnika, prethodno je primenjena udarna doza od 11 $\mu\text{g/kg}$ tokom 10 minuta. Po obustavljanju terapije levosimendanom u trodnevnom periodu, primenjivana je prethodna inotropna stimulacija milrinonom, dok je terapija dobutaminom/dopaminom kod svih bila prekinuta.

Na primenjenu terapiju registrovano je poboljšanje ehokardiografskog nalaza u proseku pet dana po prestanku primene leka. Naime, kontraktilnost leve komore nakon primene levosimendana bila je značajno bolja sa poboljšanjem EF, FS i UV (slika 1 a, b; tabela 1). Međutim, poboljšanje enddijastalnog prečnika leve komore nije registrovano.

Uporedo sa poboljšanjem ehokardiografskog nalaza, nakon primene levosimendana, zapaženo je i poboljšanje hemodinamskih parametara, sa značajnim smanjenjem srčane frekvencije kod svih bolesnika, kao i sa delimičnim povećanjem srednjeg arterijskog pritiska kod 2/3 bolesnika (tabela 2). Naime, pri primeni standardne inotropne stimulacije registrovano je kliničko pogoršanje s povećanjem srčane fre-



Sl. 1 – a) Vrednosti frakcionog skraćanja; b) udarnog volumena pre i posle uzimanja levosimendana (L)

Tabela 2
Srčana frekvencija (SF) i srednji arterijski pritisak (SAP) kod bolesnika lečenih levosimendanom (L)

Parametri	Bolesnik	Pre primene L		Na dan primene L		Posle primene L	
		-4 do -1 dan	-1 do 0 dan	0 do 1 dana	1 do 2 dana	2 do 10 dana	
SF (min)	1	112 ± 17	134 ± 6	132 ± 8	117 ± 9	105 ± 9	
	2	131 ± 8	138 ± 6	135 ± 9	131 ± 9	119 ± 14	
	3	138 ± 6	135 ± 5	113 ± 13	104 ± 6	118 ± 11	
SAP (mmHg)	1	84 ± 6	80 ± 6	89 ± 5	83 ± 13	91 ± 6	
	2	76 ± 8	76 ± 8	69 ± 9	65 ± 11	80 ± 9	
	3	76 ± 3	61 ± 11	52 ± 4	51 ± 6	55 ± 5	

kvencije do prosečne vrednosti za pojedinačne bolesnike, koja je iznosila 134–138 otkucaja u minutu i smanjenjem srednjeg artrijskog pritiska do prosečne vrednosti od 61 do 80 mmHg, a koji su registrovani dan pre uvođenja levosimendana (dan -1 do 0). Tokom primene leka neželjena tahikardija nije registrovana. Naprotiv, na dan primene levosimendana (dan 0 do 1) došlo je do smanjenja srčane frekvencije sa dodatnim padom narednog dana po primenjenoj terapiji (dan 1 do 2). Tendencija stabilizacije srčane frekvencije održavala se u narednih 7–8 dana (dani 2 do 10), kada je kod svih bolesnika prosečna frekvencija iznosila manje od 120/min, što predstavlja značajno poboljšanje u odnosu na dan pre primene leka. Za razliku od srčane frekvencije, značajno poboljšanje srednjeg arterijskog pritiska registrovano je samo kod prvog bolesnika, dok je kod drugog to poboljšanje bilo delimično, ali uz normalizaciju nivoa laktata sa početna 2,2 mmol/L na konačna 1,4 mmol/L. Kod trećeg obolelog, nakon primene levosimendana zabeleženo je sniženje pritiska uprkos kliničkom poboljšanju i poboljšanju udarnog volumena. Naime, kod ovog bolesnika sniženje srednjeg arterijskog pritiska sa 61 na 52 mmHg tokom primene leka koincidiralo je sa smanjenjem diureze sa vrednosti 1,7 mL/kg/h na 1,1 mL/kg/h. Međutim, nakon delimičnog poboljšanja srednjeg arterijskog pritiska na prosečnu vrednost od

55 mmHg registrovano je i povećanje urinarnog *output*-a do nivoa 3 mL/kg/h, kao i regulacija metaboličke acidoze sa smanjenjem acidobaznog ekscesa sa početnih -12 na konačna -2 mmol/L.

Kod svih bolesnika, uočeno je i značajno kliničko poboljšanje uporedo sa poboljšanjem hemodinamskih i ehokardiografskih parametara. Pre primene levosimendana jedan bolesnik imao je III stepen SI prema NYHA klasifikaciji, dok su dva bolesnika imala IV stepen SI sa pretećim smrtnim ishodom. Po primeni leka, kod svih obolelih registrovano je poboljšanje za jedan stepen prema NYHA klasifikaciji SI. Tako, kod bolesnika sa jednokomorskim srcem, bidirekcionom Glenovom anastomozom i restriktivnim bulboventrikularnim otvorom tokom prolongiranog dvonedelnog postoperativnog toka učinjen je bezuspešan pokušaj da se uz primenu pune standardne antikongestivne terapije postigne odvajanje od asistiranog mehaničke ventilacije. Dva dana nakon primene levosimendana registrovano je značajno poboljšanje cirkulatorne i respiratorne funkcije, što je omogućilo odvajanje bolesnika od aparata za veštačku ventilaciju.

Prema našim saznanjima, ovo su prvi slučajevi primene levosimendana kod dece u našoj zemlji, dok su u literaturi objavljene svega tri retrospektivne studije o upotrebi ovog leka u pedijatrijskoj populaciji (tabele 3, 4)^{5,8,9}.

Tabela 3

Najvažniji aspekti kliničkih studija o primeni levosimendana u pedijatrijskoj populaciji

Studije	Broj bolesnika (n)	Godine	Karakteristike bolesnika	Doza levosimendana		Preživljavanje	
				udama (10 min)	održavanje (24 h)	rano	kasno
Egan i sar. ⁵ , (2006)	19	3	USM-OP (6) USM-PO (13)	12 µg/kg	0,1 µg/kg/min	15/19	12/19
Namachiv-ayam sar. ⁸ , (2006)	15	3	HSI (7) ASI (8)*	6-12 µg/kg	0,1** µg/kg/min	10/15	7/15
Osthaus sar. ⁹ , (2009)	7	1 mesec	USM-OP	12 µg/kg	0,2 µg/kg/min	7/7	–
Kosutic sar. ¹ , (2010)	3	2–17	HSI (1) ASI (2)*	11 µg/kg [§]	0,1 µg/kg/min	3/3	3/3

* od navedenog broja 1/2 su bili bolesnici sa urođenim srčanim manama i akutnom srčanom insuficijencijom (SI) posle učinjene kardiohirurške intervencije; § udarna doza je primenjena kod trećeg bolesnika; ** dva bolesnika dobijala su dozu održavanja od 0,05 µg/kg/min tokom 48 h.

USM-OP – bolesnici sa urođenim srčanim manama kod kojih je levosimendan primenjen intraoperativno tokom kardiopulmonalnog bajpasa (ili neposredno posle), a zbog anticipacije smanjenog *cardiac output*-a; USM-PO – bolesnici sa urođenim srčanim manama kod kojih je levosimendan primenjen posle operacije zbog smanjenog *cardiac output*-a;

HSI – hronična srčana insuficijencija (poslednji stadijum); ASI – akutna srčana insuficijencija.

Tabela 4

Ehokardiografski i klinički parametri bolesnika lečenih levosimendanom (L)

Ehokardiografski i klinički parametri	Studije	Pre primene L	Tokom primene L	Posle primene L	<i>p</i>	
Ejkciona frakcija (%)	Egan i sar. ⁵	–	–	–	–	
	Egan i sar. ⁵	–	–	–	–	
	Namachivayam i sar. ⁸	29,8%	–	40,5%	0,02	
	Osthaus i sar. ⁹	–	–	–	–	
Srčana frekvencija (otkicaji / min)	Egan i sar. ⁵	–	143	144	0,69	
	Egan i sar. ⁵	152	165	148	0,05	
	Namachivayam i sar. ⁸	137	141	135	129	
	Osthaus i sar. ⁹	164	183	181	165	> 0,05
Arterijski pritisak (mmHg)	Egan i sar. ⁵	–	64	56	0,89	
	Egan i sar. ⁵	59	54	66	–	0,08
	Namachivayam i sar. ⁸	63	59	64	63	–
	Osthaus i sar. ⁹	56	59	56	61	> 0,05
Laktati (mmol/L)	Egan i sar. ⁵	–	2,1	0,9	–	0,04
	Egan i sar. ⁵	5,3	5	1,7	–	0,07
	Namachivayam i sar. ⁸	2,2	–	1,8	1,7	0,07
	Osthaus i sar. ⁹	4,5	6,1	2,6	1,6	< 0,05

Vreme u koje su učinjeni preseći u odnosu na početak davanja levosimendana: Egan i sar.⁵ (-1 h, 4 h, 25 h); Namachivayam i sar.⁸ (pre levosimendana, 1 h, 24 h, 48 h); Osthaus i sar.⁹: (0 h, 3 h, 24 h, 48 h).

Diskusija

Levosimendan proizvodi pozitivni inotropni efekat povećanjem senzitivnosti kontraktilnih proteina na kalcijum¹. Dejstvo se ostvaruje pomoću kalcijum-zavisnog vezivanja za N-terminalni domen kardijalnog troponina C⁶. Tokom poslednjih godina učinjeni su brojni pokušaji da se otkriju agensi koji povećavaju osetljivost miocita na kalcijum, među kojima je najpoznatiji pimobendan⁶. Nažalost, iako su izazivali pojačanu kontrakciju, navedeni agensi otežavali su dijastolnu funkciju i imali negativan luzotropni efekat. Za razliku od drugih, jedino je levosimendan pored pozitivnog inotropnog efekta omogućavao i normalnu ventrikularnu relaksaciju.

Indikacija za primenu levosimendana je najteža forma akutne SI, koja ne reaguje na punu standardnu antikongestivnu terapiju. Kliničke studije, sprovedene prethodnih 10 godina, ukazuju na značajno smanjenje mortaliteta kod bolesnika sa SI koji su dobijali levosimendan, u odnosu na bolesnike koji su lečeni drugim inotropnim agensima, pre svega dobutaminom^{3,4}. Naime, verovatnoća da će se pomoću stimulacije levosimendanom postići adekvatno hemodinamsko poboljšanje, definisano kao poboljšanje srčanog *output*-a za 30% i više, skoro dvostruko je veća nego terapijom dobutaminom³. Takođe, 6-mesečno preživljavanje bolesnika sa teškom SI bilo je značajno manje u grupi obolelih koji su dobijali dobutamin (58–62%) u odnosu na one kojima je ordiniran levosimendan (74–82%)^{3,4}.

Uloga levosimendana kao alternativnog inotropnog agensa u lečenju dece sa najtežim oblicima kongestivne SJ i dalje predstavlja predmet diskusije. Do sada nisu objavljene randomizovane prospektivne kliničke studije primene levosimendana u pedijatrijskoj populaciji, a podaci koji postoje veoma su ograničeni^{5, 8–13}. Pored izveštaja o pojedinačnim uspesima, do sada su, prema našim saznanjima, objavljene tri retrospektivne studije koje se odnose na primenu levosimendana kod dece^{5, 8, 9}. Inicijalna iskustva ovih studija ukazuju da je to lek koji može da dovede do pozitivnog ishoda lečenja dece sa najtežom formom akutne SI. S obzirom na to da je u svim ovim studijama primena levosimendana bila rezervisana za decu sa najtežom kliničkom slikom i predstavljala poslednju liniju odbrane, stopa preživljavanja bila je relativno mala^{5, 8}. Uprkos tome, kod sva tri naša bolesnika zabeleženo je rano preživljavanje tokom prvih 30 dana od primene leka. Udaljeni tok kod sva tri bolesnika bio je povoljan. Tako kod bolesnika sa dilatacionom miokardiopatijom, godinu dana nakon primenjene terapije levosimendanom nisu, zabeleženi relapsi srčane dekompezacije. Bolesnik sa restriktivnim bulboventrikularnim foramenom, godinu dana nakon napuštanja bolnice, bio je klinički stabilan i u planu je kompletiranje Fontanove cirkulacije. Treći bolesnik, sa endokarditisom veštačkog zaliska, uspešno je operisan, implantirana je nova veštačka valvula sa zadovoljavajućim operativnim i postoperativnim ishodom.

Podaci iz nama dostupne literature ukazuju da je primena levosimendana kod dece relativno bezbedna^{14–16}. Kod naših bolesnika, takođe, nisu zabeleženi neželjeni efekti primenjene terapije kao što su značajnija hipotenzija, pojava aritmija ili porasta srčane frekvencije. Podaci iz literature uka-

zuju da se tokom primene leka kod dece može registrovati kako delimično sniženje, tako i delimično povišenje srednjeg arterijskog pritiska.

Nakon primene levosimendana kod dece sa SI registrovano je značajno poboljšanje EF koje se odnosi pre svega na grupu bolesnika sa akutnom formom SI kod kojih se uočava poboljšanje EF za 2/3 u odnosu na početne vrednosti⁸. Tako je u studiji koju su objavili Namachivayam i sar.⁸, kod bolesnika sa akutnom SI zabeleženo poboljšanje EF sa 34,4 na 56,2%. Za razliku od te grupe, kod bolesnika sa poslednjim stadijumom hronične SI nije postignuto značajno povećanje EF. U našoj grupi kod svih bolesnika zabeleženo je relativno poboljšanje kontraktilnosti koje je za EF iznosilo prosečno 38%, za FS 51%, a za UV 37% u odnosu na početne vrednosti. Najsenzitivniji parametar kliničkog poboljšanja i poboljšanja *cardiac output*-a, u navedenim studijama, predstavlja normalizacija acidobaznog statusa sa normalizacijom koncentracije laktata, kao parametrom boljeg dotoka kiseonika u perifernim tkivima, što je potvrđeno i kod naših bolesnika. Uopredno sa kliničkim poboljšanjem nakon 24-h infuzije levosimendana, u većini studija registrovano je delimično, statistički beznačajno, smanjenje srčane frekvencije sa blagim povišenjem srednjeg arterijskog pritiska. Tokom same primene levosimendana, međutim, najčešće se uočava dodatno povećanje srčane frekvencije kao i varijabilnost pritiska^{5, 8}. Kod naših bolesnika, međutim, odmah po primeni levosimendana registrovana je tendencija normalizacije srčane frekvencije, dok su vrednosti pritiska, takođe, bile varijabilne.

Indikaciona područja za primenu levosimendana u pedijatrijskoj populaciji mogla bi biti akutne forme nekrotičkog miokarditisa, hronična postoperativna srčana slabost nakon korekcije urođenih srčanih mana, i pogoršanja teške hronične SI kod bolesnika koji su kandidati za transplantaciju srca. Osim toga, postoje podaci koji ukazuju na izvesna poboljšanja kod bolesnika sa septičkom disfunkcijom miokarda, kao i kod bolesnika sa refraktarnom hladnom fazom septičkog šoka^{14, 15}. Uočeno je i poboljšanje funkcije desne komore kod bolesnika sa akutnim respiratornim distres sindromom nakon terapije levosimendanom¹⁶.

Lečenje hronične SI prolongiranim standardnom inotropnom stimulacijom dovodi do povećanog mortaliteta¹. Naime, beta agonisti (dobutamin, dopamin), inhibitori fosfodiesteraze (milrinon), pa i inhibitori Na-K pumpe (digoksin) izazivaju povećanje intracelularne koncentracije kalcijuma i aktivaciju intraćelijskih mehanizama koji mogu da dovedu do apoptoze i nekroze miocita. S obzirom na to da levosimendan ne povećava koncentraciju kalcijuma u ćeliji, već samo povećava senzitivnost kontraktilnih proteina na kalcijum, moguća je hronična primena ovog leka koji bi se, imajući u vidu relativno dugačak poluživot, primenjivao jedinom nedeljno. U budućnosti ćemo dobiti odgovor na pitanje da li je, za razliku od ostalih inotropna, moguća dugotrajna oralna primena levosimendana kod bolesnika sa hroničnom SI i kako će se primena levosimendana odraziti na primenu i efekte ostalih lekova kao što su betablokatori i ACE inhibitori koji se danas standardno primenjuju u lečenju dece sa hroničnom SI.

Zaključak

Početni rezultati ove studije pokazuju da primena levosimendana kod selekcionisanih bolesnika sa teškom

akutnom SI, a koji ne reaguju na punu standardnu intravenusku antikonjestivnu terapiju, može da dovede do klinički značajnog poboljšanja sa znatno većom verovatnoćom preživljavanja.

L I T E R A T U R A

1. *Košutić J, Papić R, Vukomanović V.* Novine u lečenju srčane insuficijencije u dečijem uzrastu. In: *Marjanović B*, editor. Problemi u pedijatriji 2000. Belgrade: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2001. 21: 1–25. (Serbian)
2. *Kamath SR, Jaykumar I, Matha S.* Levosimendan. *Indian Pediatr* 2009; 46(7): 593–6.
3. *Follath F, Cleland JG, Just H, Papp JG, Scholz H, Peuhkurinen K*, et al. Efficacy and safety of intravenous levosimendan compared with dobutamine in severe low-output heart failure (the LIDO study): a randomized double-blind trial. *Lancet* 2002; 360(9328): 196–202.
4. *Zairis MN, Apostolatos C, Anastasiadis P, Mytas D, Katsaris C, Kouris N*, et al. The effect of a calcium sensitizer or an inotrope or none in chronic low output decompensated heart failure: results from the Calcium Sensitizer or Inotrope or None in Low Output Heart Failure study (CASINO) (abstr). *J Am Coll Cardiol* 2004; 43(Suppl A): 206A.
5. *Egan JR, Clarke AJ, Williams S, Cole AD, Ayer J, Jacobs S*, et al. Levosimendan for low cardiac output: a pediatric experience. *J Intensive Care Med* 2006; 21(3): 183–7.
6. *Haikala H, Kaivola J, Nissinen E, Wall P, Levijoki J, Lindén IB.* Cardiac troponin C as a target protein for a novel calcium sensitizing drug, levosimendan. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27(9): 1859–66.
7. *Yokoshiki H, Katsube Y, Sunagawa M, Sperelakis N.* Levosimendan, a novel Ca²⁺ sensitizer, activates the glibenclamide-sensitive K⁺ channel in rat arterial myocytes. *Eur J Pharmacol* 1997; 333(2–3): 249–59.
8. *Namachivayam P, Crossland DS, Butt WW, Shekerdemian LS.* Early experience with Levosimendan in children with ventricular dysfunction. *Pediatr Crit Care Med* 2006; 7: 445–8
9. *Osthaus WA, Boethig D, Winterhalter M, Huber D, Goerler H, Sasse M*, et al. First experiences with intraoperative Levosimendan in pediatric cardiac surgery. *Eur J Pediatr* 2009; 168(6): 735–40.
10. *Turanlalti M, Boldt T, Palkama T, Antila S, Lehtonen L, Pesonen E.* Pharmacokinetics of levosimendan in pediatric patients evaluated for cardiac surgery. *Pediatr Crit Care Med* 2004; 5(5): 457–62.
11. *Lœchner E, Moosbauer W, Pinter M, Mair R, Tulzer G.* Use of levosimendan, a new inodilator, for postoperative myocardial stunning in a premature neonate. *Pediatr Crit Care Med* 2007; 8(1): 61–3.
12. *Luther YC, Schulze-Neick I, Stiller B, Ewert P, Redlin M, Nasser B*, et al. Levosimendan long-term inodilation in an infant with myocardial infarction. *Z Kardiologie* 2004; 93(3): 234–9. (German)
13. *Braun JP, Schneider M, Kastrup M, Liu J.* Treatment of acute heart failure in an infant after cardiac surgery using levosimendan. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004; 26(1): 228–30.
14. *Noto A, Giacomini M, Palandi A, Stabile L, Reali-Forster C, Iapichano G*, et al. Levosimendan in septic cardiac failure. *Intensive Care Med* 2005; 31(1): 164–5.
15. *Brierley J, Carville JA, Choong K, Cornell T, Decaen A, Deymann A*, et al. Clinical practice parameters for hemodynamic support of pediatric and neonatal septic shock: 2007 update from the American College of Critical Care Medicine. *Crit Care Med* 2009; 37(2): 666–88.
16. *Morelli A, Teboul JL, Maggiore SM, Vieillard-Baron A, Rocco M, Conti G*, et al. Effects of levosimendan on right ventricular afterload in patients with acute respiratory distress syndrome: a pilot study. *Crit Care Med*. 2006; 34(9): 2287–93.

Primljen 26. III 2010.

Revidiran 17. VI 2010.

Prihvaćen 26. VII 2010.



Isolated eyeball metastasis of non-seminomatous germ cell testicular tumor

Metastaza neseminomskog germinativnog tumora testisa u očnu jabučicu

Nebojša Bojanić, Djordje Nale, Sava Mičić, Aleksandar Janičić,
Aleksandar Vuksanović, Ivan Vuković

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

Abstract

Introduction. Testicular tumors most frequently metastasize to regional lymph nodes. Non-seminomatous tumor metastasis of testicle (NSGCTT) to the eyeball is rare.

Case report. We presented a 24-year old man, referred to the ophthalmologist due to acute pain and abrupt loss of sight in the left eye accompanied by its enlargement. Orbital and endocranial computerized tomography (CT) was carried out, indicating the tumor in the left eye. His previous medical history provided the information that the right testicle was painlessly enlarged for 8 months. Ultrasonography showed a completely tumorously altered testis. Abdominal and chest CT failed to reveal any secondary deposits in visceral organs and lymph glands. Tumor markers (AFP – alpha-fetoproteins, beta hCG – human chorionic gonadotropin beta) were elevated. Right radical orchiectomy was performed (showed NSGCTT), followed by polychemotherapy with cisplatin 100 mg/m², etoposide 120 mg/m², bleomycin 15 mg/m² (PEB × 4), resulting in normalization of tumor marker values and significant regression of the left eyeball. Next, the left eye enucleation and ocular prosthesis implantation was carried out. Pathohistological evaluation indicated fibrosis and necrosis only. In a 5-year follow-up period, the patient was free of recurrence. **Conclusion.** Isolated hematogenous metastasis of the NSGCTT to the eye is rare. In our case, the left eye was the only metastatic localization. After chemotherapy and eye enucleation the patient was in a 4-year follow-up period free of the recurrence.

Key words:

testicular neoplasms; neoplasm metastasis; eye; orchiectomy; antineoplastic combined chemotherapy protocols; eye enucleation.

Apstrakt

Uvod. Tumori testisa najčešće daju metastaze u regionalne limfne čvorove. Metastaze neseminomskog germinativnog tumora testisa (NSGTT) u očnu jabučicu su retke. **Prikaz bolesnika.** Prikazali smo mladića, starog 24 godine, koji se javio oftalmologu zbog naglog bola i gubitka vida na levo oko praćenog njegovim uvećanjem. Učinjena je kompjuterizovana tomografija (KT) orbite i endokranijuma koja je pokazala tumor levog oka. Anamnestički, bolesnik je dao podatak o bezbolnom uvećanju levog testisa. Ultrazvučnim pregledom otkriven je kompletno tumorski izmenjen desni testis. Kompjuterizovanom tomografijom abdomena i grudnog koša nisu nađene patološke promene na visceralnim organima i limfnim žlezdama u retroperitoneumu. Tumorski markeri (AFP – alfa-fetoproteini, beta HCG – horionski gonadotropin) bili su povišeni. Učinjena je desnostrana radikalna orhiektomija (patohistološki nalaz – NSGTT) i otpočeto je sa primenom citostatske polihemioterapije: cisplatin 100 mg/m², etopozid 120 mg/m², bleomicin 15 mg/m² (PEB × 4), što je dovelo do normalizacije vrednosti tumorskih markera i značajne regresije tumora oka. Nakon toga, učinjena je enukleacija levog oka sa implantacijom okularne proteze. Patohistološki nalaz izvađenog preparata bio je fibroza i nekroza. U 4-godišnjem praćenju bolesnik je bio bez znakova recidiva bolesti. **Zaključak.** Izolovane hematogene metastaze NSGTT u oku veoma su retke. Kod prikazanog bolesnika levo oko bilo je jedina lokalizacija metastaze. Nakon hemoterapije i enukleacije levog oka bolesnik je tokom četvorogodišnjeg praćenja bio bez recidiva bolesti.

Ključne reči:

testis, neoplazme; neoplazme, metastaze; oko; orhiektomija; lečenje kombinovanjem antineoplastika, protokoli; oko, enukleacija.

Introduction

Testicular tumors most frequently metastasize to regional lymph nodes. However, if histopathological examina-

tion of testicular tumor confirms choriocarcinoma, hematogenous metastases might be expected. Most commonly metastatic sites can be present in pulmonary parenchyma, but rarely may be found in organs not otherwise expected. The

very fact of the presence of nonpulmonary metastases represents poor prognostic factor. Unfortunately, the outcome of these patients is usually fatal in spite of chemotherapy and other therapeutic options¹⁻⁴.

Isolated hematogenous metastases to distant organs (brain, kidney, liver, bones, eye) are rare. Secondary deposits in the eye are extremely rare, and such cases have been discussed in published articles.

Case report

A 24-year old man with sudden pain and loss of sight in the left eye associated with its enlargement referred to the ophthalmologist. He reported that he had experienced the problems with sight about two weeks earlier manifested in blurred vision as if a "curtain" was pulled over his eye. Computerized tomography of the orbit and endocranium (Figure 1) revealed a 12 mm soft tissue mass in the eye, located in the left bulbous behind the lens, which was not stained after *iv* contrast injection. The left lacrimal gland was enlarged and the left upper lid was edematous.

The patient's medical history provided the information on painless enlargement of the right testicle some 8 months ago. A complete urological evaluation was carried out. A painless hard enlargement, 6 × 6 cm in size, of the right testicle was found. Ultrasonography examination showed the enlarged, nonhomogenous, completely tumorously altered

testicle with intact tunica albuginea. Tumor marker levels were elevated: alpha-fetoproteins (AFP) 4977 ng/mL, and beta humane chorionic gonadotrophin (hCG) 3557 mIU/mL. Computerized tomography of the abdomen failed to show any secondary deposits in the parenchymatous organs or any enlargement of retroperitoneal lymphnodes. Radiography of the lungs was normal.

The right radical orchiectomy was performed, and histopathology disclosed non-seminomatous mixed germ-cell testicular tumor (NSGCTT).

In a postoperative period, the values of tumor markers declined. Due to NSGCTT with the increased values of tumor markers and distant metastases, polychemotherapy by PEB protocol (cisplatinum 100 mg/m², etoposide 120 mg/m², bleomycin 15 mg/m²) was introduced. A total of 4 cycles of the therapy were administered, which was well tolerated; consequently, the tumor marker values restored to normal (AFP 4.3 ng/mL, beta hCG 1.4 mIU/mL) with a considerable reduction of the formerly enlarged left eye, that was verified by CT scan of the orbit and endocranium (soft-tissue mass in the left bulbous was not imbibed by contrast) (Figure 2). Due to such outcome the left eye enucleation with ocular prosthesis implantation was carried out. Pathohistological examination proved the presence of fibrosis and necrosis only, without elements of vital cancer. The patient was controlled on regular basis and within a 4-year follow-up period the patient was free of recurrence of the underlying disease.

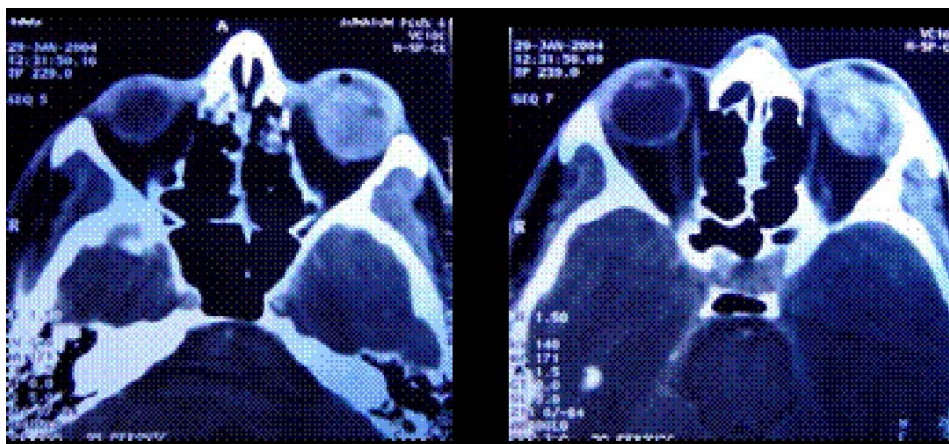


Fig. 1 – Computerized tomography of the orbit – the left eye changed by the tumor

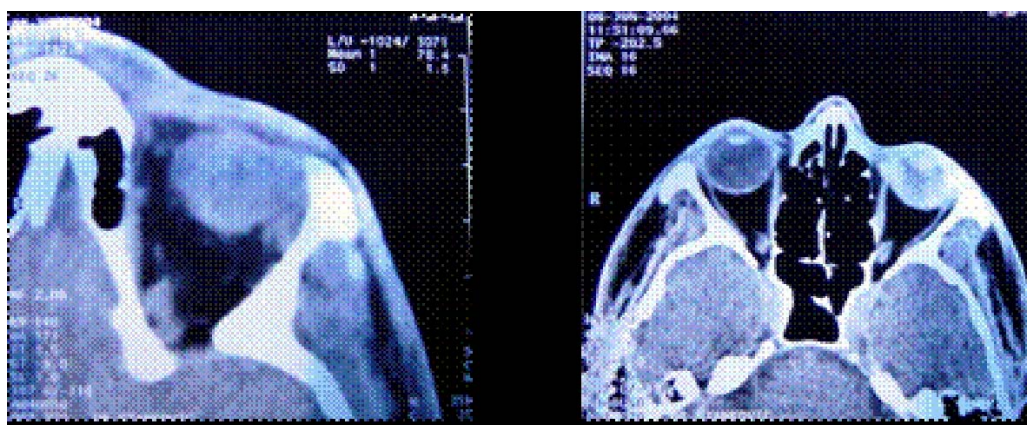


Fig. 2 – Computerized tomography of the orbit after polychemotherapy

Discussion

Testicular tumors are completely curable diseases even when they present with distant metastases. They primarily metastasize *via* lymphatic pathway to regional lymphatics and along the major blood vessels. The most common visceral hematogenous metastases of testicular tumors are to the lungs, liver, brain and bones. For easier evaluation of prognosis of testicular tumors, prognostic factors have been introduced, *ie* high values of tumor markers, mediastinum-origin tumor and the presence of non-pulmonary visceral metastases.

Due to a new more efficacious therapeutical protocol and, thus, longer survival of patients with malignant tumors of different primary localizations, patients with orbital metastases are seen more often. However in case of patients with testicular tumors, orbital metastases are still exceptional. Only a few cases have been reported in the available literature. Nevertheless, in all of these cases, metastatic changes of the eye were associated with other organs metastases (lungs, retroperitoneum, brain, etc).

It is well-known that choriocarcinoma metastasizes by hematogenous way and is followed by high hCG values, what accounts for multiple localizations of primary metastases. Literature review suggests that the very choriocarcinoma is the most frequent histological form found in intraocular metastases⁵⁻⁷. According to Kavanagh et al.⁴, metastases of testicular choriocarcinoma to the eye are rare, and a reader may find about dozen references in the literature, with that all the authors reported an association with other metastases. As the sequelae of secondary deposits in several organs and

choriocarcinoma are unfavorable histological variation, the survival of these patients was very poor. Only Nakajima et al.¹ described a successful outcome of patients with multiple secondary deposits in the eye, brain and lungs.

Isolated orbital metastases are very rare. Rush et al.² published the article on metastasis of testicular seminoma to the eye which was successfully treated by radiotherapy. Lodato et al.⁶ described metastasis of the embryonal cancer to the eye and, reviewing the primary and secondary eye tumors, they stressed the need for systemic examination in case of young people with ocular tumors. Kiyamaz et al.⁸ reported a case with embryonal testicular cancer with metastases to brain and eye with, unfortunately, fatal outcome, while the embryonal cancer tissue was found in the eye on post-mortem examination.

Conclusion

In our case, the left eye was the only metastatic localization and isolated metastasis of non-seminomatous testicular tumor. During chemotherapy, the values of serum tumor markers were restored to the normal ones and the eye tumor volume was reduced. Eye enucleation, where residua of secondary deposits remained after chemotherapy, was necessary because it could not be definitely established if eye tumor had been completely eliminated by the therapy. Final histological examination of the eye specimen failed to show any vital cancer, with only fibrosis and necrosis found, as the result of chemotherapy with a complete response.

R E F E R E N C E S

1. Nakajima H, Oki M, Matsukura S, Nakamura M, Tokunaga M, Ando K. Germ cell tumors. Case 1. Intraocular metastases from testicular cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22(9): 1753-5.
2. Rush JA, Older JJ, Richman AV. Testicular seminoma metastatic to the orbit. *Am J Ophthalmol* 1981; 91(2): 258-60.
3. Zech JC, Subiger L, Chiquet C, Bowvier R, Trepsat C. Testicular choriocarcinoma metastatic to the choroid. *Retina* 1999; 19:164-5.
4. Kavanagh MC, Pakala SR, Hollander DA, O'Brien JM. Choriocarcinoma metastatic to the choroid. *Br J Ophthalmol* 2006; 90(5): 650-2.
5. Ham JA, Carr NJ. Testicular cancer presenting as a red swollen lid. *Br J Ophthalmol* 1988; 72(11): 868-70.
6. Lodato G, Daniele E, Scimemi M. Choroidal metastasis of a testicular embryonal carcinoma. *J Fr Ophtalmol* 1983; 6(2): 155-60. (French)
7. Picinin MR, Almeida JA Jr, Aydos RD, Nogueira DC, Silva RF. Choroid metastasis of testicular primary site: case report. *Arq Bras Oftalmol* 2006; 69(6): 949-53. (Portuguese)
8. Kiyamaz N, Cirak B, Yilmaz N. Metastatic germ cell testicular tumor of the eye and brain: case report. *Acta Neurol Belg* 2005; 105(3): 178-9.

Received on March 29, 2010.
Accepted on September 8, 2010.



Chronic necrotizing pulmonary aspergillosis

Hronična nekrotizirajuća plućna aspergiloza

Aleksandra Lovrenski*, Milana Panjković*, Živka Eri*, Ištvan Klem*,
Djordje Považan†, Dejan Ilinčić‡, Miljan Milić§

Institute for Pulmonary Diseases of Vojvodina, *Center for Pathology, †Clinic For General
Pulmonology, ‡Chest Surgery Clinic, Sremska Kamenica, Serbia; §Clinical Center of
Vojvodina, Department for Pathology and Histology, Novi Sad, Serbia

Abstract

Introduction. Chronic necrotizing pulmonary aspergillosis (CNPA) is a cavitary, infectious process of lung parenchyma with slow progressive course. Vascular invasion and dissemination to other organs are unusual. **Case report.** We presented a 25-year old man with bilineal acute leukaemia who developed pulmonary and systemic symptoms. Chest CT showed nodular consolidations and cavitary lesions in both lungs. Bronchial biopsy revealed necrotic hyphae but it was negative for *Aspergillus* by culture. Serum was positive for antibodies to *Aspergillus*, but it was negative for antigens. A thoracoscopic lung biopsy of the upper left lobe revealed necrosis of lung tissue, with acute and chronic inflammation of the cavity wall and the presence of hyphae consistent with *Aspergillus* species. **Conclusion.** Although confirmation of the diagnosis is difficult, a combination of characteristic clinical, radiological and histological findings and either serological results positive for *Aspergillus* or the isolation of *Aspergillus* from respiratory samples are highly indicative of CNPA.

Key words:

pulmonary aspergillosis; diagnosis; tomography, x-ray computed; bronchoscopy; biopsy; histological techniques.

Apstrakt

Uvod. Hronična nekrotizirajuća plućna aspergiloza (HNPA) je infektivni proces prolongiranog toka praćen stvaranjem kavitacija u plućnom parenhimu. Vaskularna invazija i diseminacija u druge organe su izuzetno retke. **Prikaz bolesnika.** Prikazali smo bolesnika, starosti 25 godina, obolelog od akutne bilinijske leukemije kod koga su se razvili produktivni kašalj i povišena telesna temperatura. Na CT snimku grudnog koša obostrano nađene su mnogobrojne kavitacije i nodularne infiltracije. Bronhobiopsijom iz gornjeg levog reznja dokazana je infekcija gljivicama *Aspergillus* koja nije potvrđena mikrobiološki, a serološkim pregledom na gljivice dokazana su antitela na *Aspergillus*, ali ne i na antigen. Biopsijom gornjeg levog reznja otkriven je nekrotičan detritus sa hifama gljivica, a u zidu i u lumenu manjih bronha i bronhiola inflamatorni infiltrat limfocita, neutrofilnih granulocita, džinovskih ćelija i hife gljivica koje morfološki odgovaraju *Aspergillus*-u. **Zaključak.** Iako je teško potvrditi dijagnozu HNPA, karakteristični klinički radiološki i histološki nalazi, uz pozitivne serološke testove ili mikrobiološku potvrdu uzročnika, visoko su indikativni za HNPA.

Ključne reči:

aspergiloza, pulmonalna; dijagnoza; tomografija, kompjuterizovana, rendgenska; bronhoskopija; biopsija; histološke tehnike.

Introduction

Aspergillus is ubiquitous dimorphic fungus that is present worldwide, found in organic debris, dust, compost, foods, spices and rotten plants. More than 200 species of *Aspergillus* have been identified, however, only 19 are known to be pathogenic for humans. The most common species is *Aspergillus fumigatus*, whereas *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus terreus* are infrequently responsible for human infection¹. *Aspergillus* spp may cause a variety of pulmonary diseases, depending on immune status and the presence of underlying lung disease. These manifestations

range from invasive pulmonary aspergillosis in severely immunocompromised patients, to chronic necrotizing pulmonary aspergillosis (CNPA) in patients with chronic lung disease and/or mildly compromised immune systems. Aspergilloma is mainly seen in patients with cavitary lung disease, while allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA) is described in patients with hypersensitivity to *Aspergillus* antigens².

In fact, CNPA is a rare pathological entity and the available literature is based on case reports and small case series³⁻⁵. CNPA runs a slowly progressive course over weeks to months, and vascular invasion or dissemination to

other organs is unusual. Patients usually present with fever, malaise, fatigue, weight loss, hemoptysis and chronic productive cough. Occasionally, patients may be asymptomatic⁶. A chest radiograph and chest CT scan usually show consolidation, pleural thickening and cavitary lesions in the upper lung lobes. Pleural thickening is considered an early sign of a locally invasive process. Aspergilloma may be seen in nearly 50% of patients. These radiological findings tend to be progressive over weeks to months^{7,8}. Confirmation of the diagnosis requires a histological demonstration of tissue invasion by the fungus and either serological results positive for *Aspergillus* or the growth of *Aspergillus* on culture².

Case report

We presented a patient, aged 25, treated for acute bilineal leukemia at the Department of Hematology, Clinical Centre of Vojvodina from April 2009. In July of the same year the patient was moved to the Institute for Pulmonary Diseases of Vojvodina due to suspected pulmonary aspergillosis, and right sided spontaneous pneumothorax due to which a thoracic drain was placed and bronchoscopic examination was performed. Bronchoscopically, following the aspiration of pus at both sides, in the anterior segment and anterobasal segment on the right side, a purulent necrotic mass as a bronchial cast was seen. On the carinal mucosa of the upper left segmental bronchi, an infiltration was seen, and in the anterior segment a purulent necrotic mass that partially filled the bronchus was visualized. Histopathologically, in the material obtained from the anterior basilar bronchi at the right side, a fungal infection caused by the fungus *Aspergillus* was registered (differential diagnosis also included *Mucormycosis*) (Figure 1). The fungal infection was not confirmed microbiologically, and serological examination of the fungus confirmed the presence of antibodies to *Aspergillus* but not to the antigen (galactomannan). During this hospitalization the patient was, considering the probable fungal infection of the lungs, given a prolonged parenteral antifungal treatment with voriconazole.

Chest CT scan then showed, in addition to pneumothorax at the right side, a number of cavitations with fluid levels at both sides, as well as numerous nodular consolidations (Figure 2). In August the same year the patient was readmitted to the Institute for Pulmonary Diseases of Vojvodina for a histopathological verification of lung changes due to which

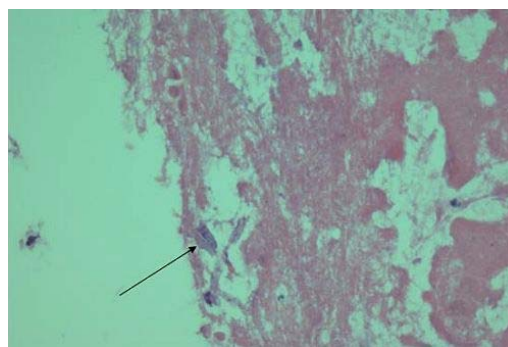


Fig. 1 – Catheter biopsy revealed necrotizing hyphae of *Aspergillus* in the anterior basal bronchus (HE, ×40)

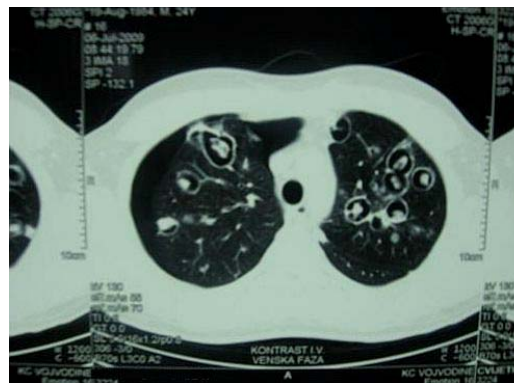


Fig. 2 – Chest CT scan showed a number of cavitations with fluid levels and numerous nodular consolidation of the lung parenchyma

open lung biopsy was indicated. At that time the patient complained of pain in the left hemithorax, productive cough and a fever of 38.5°C. At a follow-up CT scan of the thorax, the finding was worse in comparison to the previous one. Up to this admission to our hospital the patient had underwent two series of polychemotherapy in the following course: atrazine 3 days/cytosine + arabinoside 7 days. A video-assisted thoracoscopy was performed at the left side, along with a biopsy of the upper left lobe, and the slices of lung tissue in the area surrounding the organizing pneumonia contained necrotic detritus with rare necrotic fungi hyphae, while on the wall of small bronchi and bronchioles, as well as in their lumen, there was inflammatory infiltrate of lymphocytes, neutrophil granules, giant cells and numerous fungal hyphae that branch dichotomously at acute angles and correspond morphologically to *Aspergillus* (Figures 3). Hyphae were also present in the alveolar

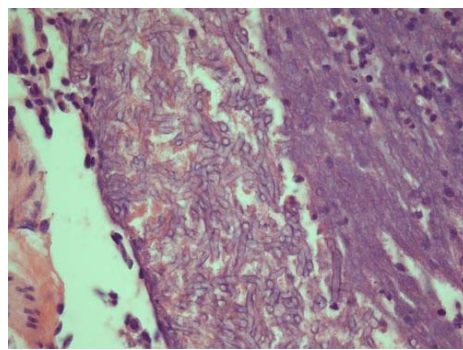
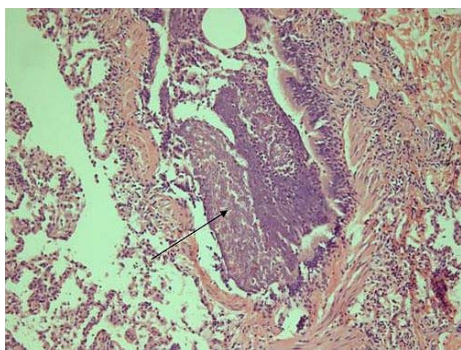


Fig. 3 – An open lung biopsy: numerous *Aspergillus* hyphae in lumen of bronchus (a – HE, ×10; b – HE, ×40)

areas. Ziehl-Neelsen coloring revealed the absence of acid-alcohol resistant bacilli. The described histological picture corresponded to chronic necrotizing pulmonary aspergillosis which, in this case, developed as a complication of bone marrow aplasia phase.

Discussion

Aspergillus spp may cause a variety of pulmonary diseases, depending on the immune status and the presence of underlying lung disease. Rare manifestation of pulmonary aspergillosis is chronic necrotizing pulmonary aspergillosis, also called semi-invasive aspergillosis or subacute invasive aspergillosis which was first described by Gefter et al.⁴ in 1981. and Binder et al.³ in 1982. It is an indolent, cavitary and infectious process of the lung parenchyma usually caused by *A. fumigatus*.

CNPA usually affects middle-aged and elderly patients with an underlying chronic lung disease such as chronic obstructive lung disease, previous pulmonary tuberculosis, pneumoconiosis, cystic fibrosis, lung infarction, sarcoidosis, or less commonly patients underwent thoracic surgery and radiation therapy. It may also occur in mildly immunocompromised patients due to diabetes mellitus, chronic liver disease, malnutrition, connective tissue diseases (such as rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis), alcoholism and low-dose corticosteroid therapy^{9,10}.

Histologically, CNPA is characterized by necrosis of lung tissue followed by acute or chronic inflammation of the cavity wall and especially the presence of hyphae consistent with *Aspergillus* species. In contrast to invasive pulmonary aspergillosis, in CNPA vascular invasion and dissemination to other organs are unusual¹¹. Denning⁶ has proposed criteria for diagnosis of CNPA which include: clinical (chronic pulmonary or systemic symptoms including at least one of the following: weight loss, productive cough, hemoptysis), radiological (cavitary pulmonary lesions with evidence of paracavitary infiltrates, new cavity formation or expansion of cavity size over time) and laboratory criteria (elevated levels of inflammatory markers, isolation of *Aspergillus* spp. from pulmonary or pleural cavity or positive serum *Aspergillus* precipitin test)¹². This criteria could be helpful in the earlier diagnosis and therapy of CNPA and may improve the prognosis in patients with this condition.

Differential diagnosis of CNPA includes a great number of infectious diseases associated with lung cavities such as tuberculosis, actinomycosis, necrotizing pneumonias and lung abscesses caused by *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylo-*

coccus aureus, *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* and other fungal and parasite infections. Differential diagnostic problem could also be the presence of noninfectious diseases associated with lung cavities such as Wegener granulomatosis, metastatic disease in lung parenchyma which may also cavitate, sarcoidosis, lymphomatoid granulomatosis, some primary tumors in the lung (lymphoma and Kaposi's sarcoma, especially in HIV positive patients), Langerhans' cell histiocytosis and autoimmune diseases (ankylosing spondylitis, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, primary amyloidosis)¹³.

It may be difficult to distinguish CNPA from aspergilloma, especially if a previous chest X-ray is not available. However, in CNPA there is a local invasion of lung parenchyma and a pre-existing cavity is not needed, although a cavity with a fungal ball may develop in the lung as a secondary phenomenon, due to destruction caused by the fungus. On the other hand, in patients with AIDS who have aspergilloma, progression of aspergilloma over time was seen probably because it may invade the cavity wall and cause a local parenchymal destruction, in the same way as in patients with CNPA^{12,14}.

Antifungal therapy is the mainstay of treatment for patients with CNPA. Amphotericin B was initially used, but it proved to be relatively toxic so itraconazole became an effective alternative. More recently, voriconazole has emerged as a primary therapy for CNPA. Treatment is best evaluated by following clinical, radiological, serological and microbiological parameters¹⁵⁻¹⁷. Surgical resection plays a minor role in the treatment of CNPA, being reserved for healthy young patients with focal disease and good pulmonary reserves, patients not tolerating antifungal therapy and patients with residual, localized but active disease despite the adequate antifungal therapy^{3,5,6}.

Conclusion

Because the yield of transbronchial biopsy specimens or percutaneous aspirates is relatively poor and thoracoscopic or open-lung biopsy is rarely performed in these patients, confirmation of the diagnosis is difficult and delayed diagnosis is common which may contribute to the morbidity and mortality associated with CNPA. However, a combination of characteristic clinical and radiological findings, histological demonstration of tissue invasion by fungus and either serological results positive for *Aspergillus* or the isolation of *Aspergillus* from respiratory samples are highly indicative of CNPA.

R E F E R E N C E S

1. Al-Alawi A, Ryan CF, Flint JD, Müller NL. Aspergillus-related lung disease. *Can Respir J* 2005; 12(7): 377-87.
2. Zmeili OS, Soubani AO. Pulmonary aspergillosis: a clinical update. *QJM* 2007; 100(6): 317-34.
3. Binder RE, Faling LJ, Pugatch RD, Mahasaen C, Snider GL. Chronic necrotizing pulmonary aspergillosis: a discrete clinical entity. *Medicine (Baltimore)* 1982; 61(2): 109-24.
4. Gefter WB, Weingrad TR, Epstein DM, Ochs RH, Miller WT. "Semi-invasive" pulmonary aspergillosis: a new look at the spectrum of aspergillus infections of the lung. *Radiology* 1981; 140(2): 313-21.
5. Saraceno JL, Phelps DT, Ferro TJ, Futerfas R, Schwartz DB. Chronic necrotizing pulmonary aspergillosis: approach to management. *Chest* 1997; 112(2): 541-8.

6. *Denning DW*. Chronic forms of pulmonary aspergillosis. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7(Suppl 2): 25–31.
7. *Greene R*. The radiological spectrum of pulmonary aspergillosis. *Med Mycol* 2005; 43(Suppl 1): S147–54.
8. *Kim SY, Lee KS, Han J, Kim J, Kim TS, Choo SW*, et al. Semiinvasive pulmonary aspergillosis: CT and pathologic findings in six patients. *AJR Am J Roentgenol* 2000; 174(3): 795–8.
9. *Zizgo G, Castriota-Scanderbeg A, Zarrelli N, Nardella G, Daly J, Cammisa M*. Pulmonary aspergillosis complicating ankylosing spondylitis. *Radiol Med* 1996; 91(6): 817–8.
10. *Parra I, Remacha A, Rezusta A, Suarez D, Suarez J, Herreras JA*, et al. Chronic necrotizing pulmonary aspergillosis. *Med Mycol* 2004; 42(4): 369–71.
11. *Stevens DA, Kan VL, Judson MA, Morrison VA, Dummer S, Denning DW*, et al. Practice guidelines for diseases caused by *Aspergillus*. Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2000; 30(4): 696–709.
12. *Denning DW, Riniotis K, Dobrashian R, Sambatakou H*. Chronic cavitary and fibrosing pulmonary and pleural aspergillosis: case series, proposed nomenclature change, and review. *Clin Infect Dis* 2003; 37(Suppl 3): S265–80.
13. *Gadkowski LB, Stout JE*. Cavitary pulmonary disease. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21(2): 305–33.
14. *Kawamura S, Maesaki S, Tomono K, Tashiro T, Kobno S*. Clinical evaluation of 61 patients with pulmonary aspergilloma. *Intern Med* 2000; 39(3): 209–12.
15. *Kauffman CA*. Quandary about treatment of aspergillomas persists. *Lancet* 1996; 347(9016): 1640.
16. *Caras WE, Pluss JL*. Chronic necrotizing pulmonary aspergillosis: pathologic outcome after itraconazole therapy. *Mayo Clin Proc* 1996; 71(1): 25–30.
17. *Sambatakou H, Dupont B, Lode H, Denning DW*. Voriconazole treatment for subacute invasive and chronic pulmonary aspergillosis. *Am J Med* 2006; 119(6): 527. e17–24.

Received on April 12, 2010.
Accepted on October 11, 2010.



Perforacija kolona kao retka manifestacija Behčetove bolesti

Colonic perforation as an unusual manifestation of Behcet's disease

Aleksandra Tomić-Lučić*, Snežana Jovanović*,
Milan Petronijević†, Mirjana Veselinović*

*Klinički Centar Kragujevac, Interna klinika, Odeljenje za reumatologiju, Kragujevac,
Srbija; †Vojnomedicinska akademija, Klinika za reumatologiju, Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod. Behčetova bolest je multisistemska vaskulitis koji može zahvatiti venske i arterijske krvne sudove. Perforacija creva retko se javlja u sklopu kliničke slike, kod svega 1% opisanih bolesnika, a naročito je retka perforacija transverznog dela kolona. Prikazan je bolesnik sa dijagnostikovanom Behčetovom bolešću koji je zbog perforacije kolona lečen i hirurškim konzervativnim pristupom. **Prikaz bolesnika.** Bolesnik star 34 godine, primljen je u bolnicu zbog visoke temperature, aftoznih ulceracija na sluznici ždrela i genitalnih organa, i bilateralnog uveitisa. Na osnovu simptomatologije i Internacionalnih kriterijuma za dijagnozu Behčetove bolesti iz 1990. godine postavljena je dijagnoza *Morbus Behcet*. U daljem toku bolesti došlo je do ispoljavanja nodoznog eritema, dijarejalnog sindroma, i započeto je lečenje metilprednizolom (1 mg/kg). Nakon nekoliko dana, usled perforacije transverznog dela kolona došlo je do razvoja akutnog abdomena. Bolesnik je hitno podvrgnut hirurškom lečenju, pri čemu je obavljena resekcija perforisanog dela kolona uz izvođenje bipolarne kolostomije. Neposredno nakon operacije, pored antibiotika, bolesnik je lečen trima uzastopnim pulsanim dozama metilprednizolona (500 mg dnevno) i ciklofosfamidom (15 mg/kg). Lečenje je nastavljeno postupnim smanjenjem doze kortikosteroida (peroralno) i ciklofosfamidom, prvo mesečnim (5 meseci pulsna doza ciklofosfamida od 15 mg/kg), a zatim tromesečnim dozama (šest doza), do ukupno 12 g. **Zaključak.** Terapija pulsanim dozama metilprednizolona, uz pulsne doze ciklofosfamida, pokazala se veoma efikasnom kod bolesnika sa kompleksnim kliničkim manifestacijama Behčetove bolesti i dovela je do povlačenja kako gastrointestinalnih, tako i očnih i orogenitalnih simptoma.

Ključne reči:

behčetov sindrom; creva, perforacija; kolon; lečenje; hirurgija, operativne procedure; ciklofosfamid; metilprednizolon.

Abstract

Introduction. Behcet's disease is multisystemic vasculitis which affects vein and artery blood vessels. Intestinal perforation rarely occurs as clinic manifestation in as little as 1% of patients. The transverse colon is the most infrequent site of perforation. We presented a patient diagnosed with Behcet's disease who underwent both surgical and conservative treatment due to perforation of the colon. **Case report.** A 34-year-old patient was admitted to the hospital with fever, aphthous ulcerations on oral mucosa and genitals and bilateral uveitis. On the basis of clinical symptoms and the International Criteria developed in 1990 Behcet's disease was diagnosed. During the next few days the patient developed erythema nodosum, diarrhetic syndrome and acute abdominal symptoms due to perforation of the transverse colon. An emergent laparotomy was undertaken involving resection of a perforated segment of the colon, and bipolar colostomy on the left side of abdomen. Following the surgery the patient was treated except for antibiotics with three successive pulse doses of methylprednisolone (500 mg/daily) and cyclophosphamide (15 mg/kg). The treatment was continued by gradual decrease in the dose of the corticosteroid (perorally) and by cyclophosphamide first with monthly doses (5 monthly pulse doses of 15 mg/kg cyclophosphamide), and then with 3-month doses (totally 6 doses) up to totally 12 g. **Conclusion.** The therapy with pulse doses of methylprednisolone combined with pulse doses of cyclophosphamide was very effective in the reported case with the complex clinical manifestations leading to resolution of gastrointestinal, ocular and orogenital lesions.

Key words:

behcet syndrome; intestinal perforation; colon; therapeutics; surgical procedures, operative; cyclophosphamide; methylprednisolone.

Uvod

Behčetova bolest je vaskulitis koji može zahvatiti i venske i arterijske krvne sudove, što ima za posledicu hronični

inflamatorni multisistemska poremećaj¹. Bolest se ispoljava rekurentnim mukokutanim lezijama i multiorganskim promenama (očne lezije, artritis, zahvatanje centralnog nervnog sistema i gastrointestinalnog trakta)^{2,3}. Etiologija oboljenja

još uvek je nejasna i uključuje uticaj imunogenetskih, neuroendokrinoloških i infektivnih faktora⁴.

U ovom radu prikazan je bolesnik sa dijagnostikovanim Behčetrovom bolešću i veoma retkim gastrointestinalnim manifestacijama i perforacijom transversalnog dela kolona.

Prikaz bolesnika

Bolesnik, star 34 godine, primljen je na kliničko ispitivanje zbog visoke temperature, gušobolje i aftoznih ulceracija sluznice ždrele i genitalnih organa. Tegobe su počele 20 dana ranije i tada je lekar ordinirao antibiotsku terapiju. Posle nekoliko dana pojavila se intenzivna fotofobija, zamagljen vid, periorbitalni bol i izražena hiperemija konjunktiva i ustanovljen je bilateralni prednji uveitis.

Bolesnik je tokom prethodne godine u tri-četiri navrata zapažao aftozne promene na sluznici usne šupljine i genitalija koje su spontano prolazile, ali se nije javljao lekaru. Negirao je bolesti od hereditarnog značaja. Tri dana pre ispoljavanja tegoba, kćerka prikazanog bolesnika dobila je varicelu.

Bolesnik je bio očuvanog stanja svesti, visokofebrilan, normalnog turgora kože. Sluznica usne šupljine bila je hiperemična, sa mnogobrojnim bolnim aftoznim ulcerativnim promenama prekrivenim fibrinskim naslagama, a na nepcu je bio vidljiv enantem. Regionalne limfne žlezde bile su uvećane do veličine lešnika, bolno osetljive na palpaciju. Na koži genitalnih organa bilo je više eritematoznih polja posutih sitnim pustulama, a na koži skrotuma eritem i erozije. Nalaz na plućima, srcu i abdomenu bio je normalan. Meningealni znaci bili su negativni. Test uboda iglom (patergije) bio je negativan. U daljem toku bolesti došlo je do ispoljavanja nodoznog eritema na koži donjih ekstremiteta, a kasnije i do razvoja dijarejalnog sindroma sa više tečnih stolica, bez vidljive krvi i sluzi.

Laboratorijske analize ukazivale su na pozitivan biohumoralni zapaljenski sindrom (SE 69, CRP 82,2 mg/L, fibrinogen 6,4 g/L); u krvnoj slici leukocitoza ($15,5 \times 10^9/L$), sa povećanjem apsolutnog broja neutrofila i monocita (Ne $12,6 \times 10^9/L$, Mo $1,7 \times 10^9/L$). Vrednosti klirensa kreatinina bile su 89,4 mL/min, proteinurija 0,7 g dnevno, uz normalne serumске vrednosti ureje i kreatinina i ostale biohemijske analize. Uzete kulture, kao i bris uretre na hlamidiju i ureaplazmu bili su sterilni. Virusološke analize (HBV, HCV, HIV i EBV-IgM) bile su negativne, a imunološke analize (ANA, ANCA, Latex RF negativni, IgA, IgG, IgM i imuni kompleksi, C3 i C4) u granicama referentnih vrednosti. HLA tipizacijom tkiva utvrđen je HLA B5+ serotip.

Na radiografskom snimku pluća i srca nije bilo patoloških promena. Otorinolaringološkim pregledom nađen je aftozni stomatitis. Rendgenskim snimkom paranazalnih šupljina nisu nađene patološke promene. Oftalmološkim pregledom utvrđen je bilateralni prednji uveitis. U daljem toku došlo je do progresije promena ka panuveitisu i pojave eksudata uz gornju temporalnu arkadu retine desnog oka, sa početnom hemoragijom.

S obzirom na to da se kod bolesnika radilo o febrilnom stanju neinfektivne etiologije, sa izraženim oralnim i genitalnim ulceracijama i nodoznim eritemom, kao i obostranim

uveitisom, ispunjeni su Internacionalni kriterijumi za dijagnozu Behčetrove bolesti (1990)². Uključena je imunosupresivna terapija metilprednizolonom 1 mg/kg telesne mase, nakon čega se povišena temperatura normalizovala.

Međutim, već nakon nekoliko dana došlo je do intenzivnih bolova u abdomenu. Objektivnim pregledom ustanovljena je difuzna bolna osetljivost abdomena, uz izraženu distenziju trbušnog zida, perkutorno naglašen meteorizam i blaga peritonealnu reakciju. Nativna radiografija abdomena pokazala je obostrani pneumoperitoneum i veći broj nivoa u tankim crevima u levoj polovini abdomena. Obavljena je hitna laparatomija i uočene su multiple inflamatorne ulcerativne lezije u svim segmentima kolona, sa perforacijom transversalnog dela kolona i posledičnim difuznim sterokoralnim peritonitisom. Učinjena je resekcija perforisanog dela kolona, uz izvođenje bipolarne kolostomije sa leve strane (*Colostomia bipolaris lateris sinistri*, *Transversostomia bipolaris*). Neposredno nakon operativnog zahvata, uz antibiotsku terapiju, uključene su i tri uzastopne pulsne doze metilprednizolona u dozi od 500 mg dnevno, a zatim i ciklofosamid u dozi od 15 mg/kg telesne mase. U nastavku lečenja bolesnik je pored sukcesivno smanjenih doza kortikosteroida *per os* primio još pet mesečnih pulsni doza ciklofosamida (15 mg/kg), a zatim još šest doza u razmaku od po tri meseca, do ukupne doze od 12 g. Nakon primljene terapije došlo je do povlačenja orogenitalnih, očnih i gastrointestinalnih simptoma. Nije bilo ponovne intestinalne perforacije. Kolostoma je zatvorena godinu dana nakon prvog operativnog zahvata, što je proteklo bez komplikacija u postoperativnom periodu. Tri godine nakon opisanog događaja bolesnik je i dalje u remisiji.

Diskusija

Prema Internacionalnim kriterijumima za dijagnozu Behčetrove bolesti iz 1990. godine, neophodno je prisustvo recidivirajućih oralnih ulceracija i još dva od sledećih kriterijuma: genitalne ulceracije, očne lezije, kožne lezije i pozitivan test uboda iglom². Ovaj test je pozitivan kod 56–84% bolesnika sa Behčetrovom bolešću, u poređenju sa lažno pozitivnim rezultatom koji se javlja kod 3% zdrave populacije³. Naš bolesnik ispoljio je kompletnu kliničku sliku koja je karakteristična za Behčetrovu bolest, uključujući oralne i genitalne ulceracije, očne lezije tipa obostranog uveitisa, i kožne promene tipa nodoznog eritema, kao i multiple inflamatorne ulcerativne lezije u sluznici kolona sa posledičnom perforacijom.

Simptomi Behčetrove bolesti često se ne javljaju istovremeno, što otežava postavljanje dijagnoze. Vreme neophodno za dijagnozu, počevši od prvih simptoma do konačnog prepoznavanja oboljenja, iznosi prosečno 35 meseci i značajno je duže od vremena koje je neophodno za ispoljavanje kompletne kliničke slike (15,5 meseci)⁵. Interesantno je da je tok bolesti kod prikazanog bolesnika bio veoma ubrzan, sa ranim ispoljavanjem ozbiljnih multisistemskih manifestacija, uključujući i zahvatanje gastrointestinalnog sistema, kao i bilateralni uveitis. Gastrointestinalne manifestacije obično nastupaju znatno kasnije u toku bolesti, nakon 4,5–6 godina

od pojave prvih oralnih lezija⁶. Kod 80% bolesnika očne lezije nastaju, takođe, tek 3–4 godine nakon prvih orogenitalnih manifestacija⁵.

Prikazani bolesnik bio je muškog pola, a imunofenotipizacijom tkiva ustanovljeno je da je HLA B5 pozitivan. To je u skladu sa podacima iz literature po kojima osobe muškog pola, naročito HLA B5 pozitivne, češće ispoljavaju klinički ozbiljnije manifestacije, sa ranim razvojem kompletne kliničke slike i lošijom prognozom⁵.

Ozbiljne manifestacije bolesti razvijaju se kod oko 25% bolesnika i to ireverzibilni vaskulitis krvnih sudova retine kod 15%, tromboembolijske komplikacije na velikim krvnim sudovima kod 8,5%, zahvatanje centralnog nervnog sistema kod 3,2–8%, gastrointestinalne manifestacije kod 2,8–7,6%, perforacija creva kod 1% i letalan ishod bolesti kod 2% bolesnika^{4–8}. Većina opisanih slučajeva sa gastrointestinalnim manifestacijama je iz zemalja istočnog Mediterana i iz Japana gde je i prevalencija Behčetove bolesti najveća^{3,4}. Poznato je da intestinalne ulcerativne promene najčešće zahvataju terminalni ileum, ileocekalnu regiju i ascendentni deo kolona, dok je njihova učestalost u ostalim delovima kolona veoma retka^{3,9–12}. Perforacija kolona, kao jedna od retkih kliničkih manifestacija ovog oboljenja, javlja se na mestima najčešćih ulcerativnih lezija u proksimalnom delu kolona³. Prema podacima iz literature, perforacija transversalnog i sigmoidnog dela kolona registrovane su do sada kod svega dva bolesnika, dok je perforacija descendentnog dela kolona registrovana kod samo jednog bolesnika^{8,10–13}.

Podaci iz literature ukazuju i na to da kod bolesnika sa istovremenim ispoljavanjem oralnih i genitalnih ulcerativnih lezija, kao što je prikazani bolesnik, postoji velika verovatnoća razvoja gastrointestinalnih perforacija³.

U medicini zasnovanoj na dokazima nema dovoljno jasno definisanih preporuka za lečenje gastrointestinalnih manifestacija Behčetove bolesti⁹. Preporuke EULAR, koje se odnose na terapiju vaskularnih bolesti, neuroloških i gastrointestinalnih manifestacija, zasnovane su uglavnom na mišljenjima eksperata ili na nekontrolisanim studijama, te zahtevaju dalja, dobro planirana kontrolisana klinička ispitivanja^{9,14–16}. Kao terapijske mogućnosti, preporuke navode kortikosteroide, sulfosalazin, azatioprim, talidomid i TNF α antagoniste, koji se mogu koristiti za lečenje intestinalnih ulcerativnih lezija pre hirurške intervencije, izuzev u hitnim

situacijama⁹. Međutim, kod bolesnika sa intestinalnom perforacijom koja zahteva hitnu hiruršku intervenciju nema jasno definisane terapijske strategije. Navodi se da pulsne doze ciklofosfamida i kortikosteroida povoljno utiču na ozbiljne sistemske manifestacije vaskulitisa i akutna stanja u Behčetovoj bolesti, kao što je perforacija kolona^{15,16}.

Kod bolesnika koji imaju intestinalnu perforaciju kao posledicu Behčetove bolesti, pored hirurške intervencije neophodno je provesti intenzivnu antiinflamatornu i imunosupresivnu terapiju. Međutim, istovremeno postoji povećan rizik od postoperativnih komplikacija nastalih kao posledica infekcije i otežanog zarastanja rana, kao i visoke učestalosti re-perforacija. Postoje podaci koji ukazuju na to da primena kortikosteroidne terapije može u nekim slučajevima dovesti do prolongiranog zarastanja rana i provocirati nastanak novih perforacija i pankreatitisa¹⁷.

Kod prikazanog bolesnika sa kompleksnim i akutnim kliničkim manifestacijama, u terapijskom protokolu u fazi indukcije primenjene su pulsne doze metilprednizolona (500 mg prva tri dana) i ciklofosfamida (15 mg/kg), uz nastavak terapije pulsним dozama ciklofosfamida u fazi održavanja. U daljem toku bolesti nije došlo do postoperativnih komplikacija, niti re-perforacija kolona. Primenjena terapijska procedura omogućila je povlačenje gastrointestinalnih manifestacija, kao i rezoluciju promena na očima, uz postizanje kompletne remisije u sledeće tri godine.

Zaključak

Najozbiljnija gastrointestinalna manifestacija Behčetove bolesti je intestinalna perforacija koja obično zahvata terminalni ileum, ileocekalnu regiju i ascendentni deo kolona, dok je učestalost perforacije u distalnim delovima kolona veoma niska. Kod bolesnika koji imaju istovremeno ispoljene oralne i genitalne ulcerativne lezije postoji velika verovatnoća za razvoj gastrointestinalnih perforacija koje zahtevaju hirurško lečenje. Terapija pulsним dozama metil prednizolona, uz pulsne doze ciklofosfamida, pokazala se veoma efikasnom kod bolesnika sa ovako kompleksnim kliničkim manifestacijama, uključujući perforaciju kolona i panuveitis, i omogućila povlačenje gastrointestinalnih manifestacija, kao i rezoluciju promena na očima.

L I T E R A T U R A

1. Koç Y, Güllü I, Akpek G, Akpolat T, Kansu E, Kiraz S, et al. Vascular involvement in Behçet's disease. *J Rheumatol* 1992; 19(3): 402–10.
2. International Study Group for Behçet's Disease. Criteria for diagnosis of Behçet's disease. *Lancet* 1990; 335(8697): 1078–80.
3. Chou SJ, Chen VT, Jan HC, Lou MA, Liu YM. Intestinal perforations in Behçet's disease. *J Gastrointest Surg* 2007; 11(4): 508–14.
4. O'Duffy JD. Behçet's syndrome. *N Engl J Med* 1990; 322(5): 326–8.
5. Zouboulis CC, Köster I, Djavari D, Kirch W, Kohl PK, Oelsendorf FR, et al. Epidemiological features of Adamantiades-Behçet's disease in Germany and in Europe. *Yonsei Med J* 1997; 38(6): 411–22.
6. Gürler A, Boyvat A, Türsen U. Clinical manifestations of Behçet's disease: an analysis of 2147 patients. *Yonsei Med J* 1997; 38(6): 423–7.
7. Shabram F, Nadjji A, Jamsbidi AR, Chams H, Chams C, Shafaie N, et al. Behçet's disease in Iran, analysis of 5059 cases. *Arch Iranian Med* 2004; 7: 9–14.
8. Dowling CM, Hill AD, Malone C, Sheehan JJ, Tormey S, Sheehan K, et al. Colonic perforation in Behçet's syndrome. *World J Gastroenterol* 2008; 14(42): 6578–80.
9. Hatemi G, Silman A, Bang D, Bodaghi B, Chamberlain AM, Gal A, et al. EULAR Expert Committee. EULAR recommendations for the management of Behçet disease. *Ann Rheum Dis* 2008; 67(12): 1656–62.

10. *Arhan M, Ibiş M, Köklü S, Özün Y, Oymac E.* Behçet's disease complicated with descending colon perforation. *Dig Surg* 2005; 22(5): 381–3.
11. *Turan M, Şen M, Koyuncu A, Aydın C, Arıcı S.* Sigmoid colon perforation as an unusual complication of Behçet's syndrome: report of a case. *Surg Today* 2003; 35(5): 383–6.
12. *Karakaya K, Comert M, Numanoglu G.* Multiple perforations along the transverse colon as a rare presentation of intestinal Behçet's disease: a case report. *Clinics (Sao Paulo)* 2009; 64(12): 1231–3.
13. *Pirildar T, Keser G, Tunç E, Alkanat M, Tunçyürek M, Doğanayargil E.* An unusual presentation of Behçet's disease: intestinal perforation. *Clin Rheumatol* 2001; 20(1): 61–2.
14. *Fresko I, Yazıcı H.* Treatment strategies for Behçet's disease. *Expert Opin Pharmacother* 2008; 9(18): 3211–9.
15. *Evereklioglu C.* Managing the symptoms of Behçet's disease. *Expert Opin Pharmacother* 2004; 5(2): 317–28.
16. *Kaklamani VG, Kaklamani PG.* Treatment of Behçet's disease – an update. *Semin Arthritis Rheum* 2001; 30(5): 299–312.
17. *Toda K, Shiratori Y, Yasuda M, Enya M, Uematsu T, Shimazaki M, et al.* Therapeutic effect of intraarterial prednisolone injection in severe intestinal Behçet's disease. *J Gastroenterol* 2002; 37(10): 844–8.

Primljen 19. IV 2010.

Revidiran 25. V 2010.

Prihvaćen 28. V 2010.



VOJNOSANITETSKI PREGLED

VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA

Crnotravska 17, 11040 Beograd, Srbija

Tel/faks: +381 11 2669689

vsp@vma.mod.gov.rs

vmavsp@hotmail.com

Poziv na reklamiranje u 2011. godini

U prilici smo da vam ponudimo mogućnost oglašavanja i reklamiranja proizvoda i usluga u časopisu „Vojnosanitetski pregled“ (VSP). To je sigurno najbolji vid i najzastupljeniji način upoznavanja eventualnih korisnika sa vašim uslugama i proizvodima.

Časopis „Vojnosanitetski pregled“, zvanični organ lekara i farmaceuta Vojske Srbije, naučno-stručnog je karaktera i objavljuje radove iz svih oblasti medicine, stomatologije i farmacije. Radove ravnopravno objavljuju stručnjaci iz vojnih i civilnih ustanova i iz inostranstva. Štampa se na srpskom i engleskom jeziku. Časopis izlazi neprekidno od 1944. godine do sada. Jedini je časopis u zemlji koji izlazi mesečno (12 brojeva), na oko 100 strana A4 formata, a povremeno se objavljuju i tematski dodaci (suplementi). Putem razmene ili pretplate VSP se šalje u 23 zemlje sveta. Radove objavljene u VSP-u indeksiraju: *Science Citation Index Expanded (SCIE)*, *Journal Citation Reports/Science Edition*, *Index Medicus (Medline)*, *Excerpta Medica (EMBASE)*, *EBSCO* (preko ove baze VSP je *on line* dostupan od 2002. godine u *pdf* formatu) i *Biomedicina Serbica*.

Cene reklama i oglasa u časopisu „Vojnosanitetski pregled“ u 2009. godini su:

1.	Oglas u crno-beljoj tehnici A4 formata za jedan broj	20 000,00 dinara
2.	Oglas u c/b tehnici A4 formata za celu godinu (11-12 brojeva)	200 000,00 dinara
3.	Oglas u boji A4 formata za jedan broj	35 000,00 dinara
4.	Oglas u boji A4 formata za celu godinu (11-12 brojeva)	330 000,00 dinara
5.	Oglas u boji na koricama K3 za jedan broj	50 000,00 dinara
6.	Oglas u boji na koricama K3 za celu godinu (11-12 brojeva)	455 000,00 dinara
7.	Oglas u boji na koricama K2 i K4 za jedan broj	55 000,00 dinara
8.	Oglas u boji na koricama K2 i K4 za celu godinu (11-12 brojeva)	530 000,00 dinara

Za sva objašnjenja, uputstva i ponude zainteresovani kontaktiraju redakciju časopisa „Vojnosanitetski pregled“. Sredstva se uplaćuju na žiro račun kod Uprave javnih plaćanja u Beogradu broj: 840-941621-02 **VMA (za Vojnosanitetski pregled ili za VSP), PIB 102116082**. Uplatnicu (dokaz o uplati) dostaviti lično ili poštom (pismom, faksom, *e-mail*-om) na adresu: Vojnosanitetski pregled, Crnotravska 17, 11000 Beograd; tel/faks: 011 2669 689, e-mail: vsp@vma.mod.gov.rs ili vmavsp@hotmail.com



Razvoj zdravstvene kulture u Srbiji u prvoj polovini 19. veka Vojnosanit Pregl 2011; 68(8): 716–9. (komentar o članku i odgovor autora)

Development of health culture in Serbia in the first half of the 19th century
(A comment on the paper and the author's reply)

Komentar

Poštovana,

Autorima gore navedenog rada, a po svoj prilici i recenzentima, kao da nije poznat nešto obimniji rad V. Mihailovića: Borba protiv kuge u Srbiji pre sto godina. Beograd: Bibl. Centralnog Higijenskog zavoda; 1937, u kome je opisana uspešna borba ondašnje Srbije protiv kuge, na zaprepaštenje cele Evrope.

„Međutim“, pišu autori, „i pored sprovedenih mera, epidemija kuge je, zahvaljujući namaru turskih vlasti, u leto 1837. godine uspela da zahvati delove Srbije“ (str. 718). Ova rečenica je skroz netačna. Turci nisu držali karantine i sastanke, već Srbi, niti je turska vlast na čitavoj svojoj teritoriji uopšte imala nameru da se bori protiv kuge. Štaviše, beogradski paša podozrevao je da knez Miloš sprema bunu, jer u pograničnim varošima otvara karantine, a čitavu granicu opasuje kordonskom stražom (a ne šančevima!), pa je u jednom trenu čak naperio topove rešen da bombarduje Beograd, u čemu su ga na jedvite jade sprečili strani konzuli!

Prodor, pak, kuge u Srbiju zbio se preko Aleksinačkog karantina, u kome je umro jedan od turskih vojnika poslatih kao redovna smena turskom garnizonu u Beograd. Stvar je u tome što dr Majnert, koji je tada bio lekar u tom karantinu, nije prepoznao znake kuge na tom umrlom, pa su turski nizami spokojno nastavili put ka Beogradu, šireći usput

zarazu. Netačno je i to da se kuga iz Jagodine proširila (čak!) na Valjevo. Kuga je došla u Valjevo nezavisno od prethodnog događaja. Jedan Arnautin prodao je fes jednom momku iz okoline Valjeva, koji ga je poklonio svojoj sestri, te je ova umrla od kuge posle nekoliko dana. A potom, lančano još nekoliko porodica. Ipak su oba žarišta i na Carigradskom putu (od Aleksinca ka Beogradu) i ono u Valjevu (i Osečini) energičnim merama neutralisana, pa je, uprkos oba ova incidenta, Srbija ostala pošteđena od te smrtonosne zaraze.

Naposletku, ne manje važno, rastel niti je srpska reč niti je u ono doba bila u upotrebi, već sastanak, pa tu reč ne treba stavljati pod znake navoda. A, evo, šta su bili sastanci: Sastanak se zvalo pogranično mesto određeno da se narod dve susedne zemlje može sastajati, dogovarati, među sobom trgovati, ali samo pod strogim nadzorom (čuvara, koji se stara da ne dođe do međusobnog kontakta sagovornika). Na sastancima – u parlatoriji (mestu određenom za razgovore) – mogu se i međusobni ugovori od jedne i druge strane činiti. Od prilepčivih stvari, dopušta se, da se samo pisma na sastanku primaju; no i ta pisma moraju biti mala i bez ikakvih priloga. Pisma s priložima i paketi, upućuju se u karantin“ (str. 63).

prof. dr Brana Dimitrijević

Medicinska akademija

Srpskog lekarskog društva

E-mail: brana.dimitrijevic@gmail.com

Odgovor autora:

Poštovana,

Prof. Dimitrijević je na nekoliko mesta istakao „greške“ koje je pronašao u radu Ristić S. i sar. Razvoj zdravstvene kulture u Srbiji u prvoj polovini 19. veka. Vojnosanit Pregl 2011; 68(8): 716–9. Jedna od prvih primedbi odnosi se na

stav turskih vlasti prema epidemijama. Prof. Dimitrijević piše da „Turci nisu držali karantin i sastanke, već Srbi, niti je turska vlast na čitavoj svojoj teritoriji imala nameru da se bori protiv kuge“. Međutim, treba znati da je svaka država u 19. veku, pa samim tim i Otomanska carevina (današnja Turska), veoma ozbiljno shvatala opasnosti koje su pretile od zaraznih bolesti. Turska država je u prvoj polovini 19. veka često bila

na udaru kolere i kuge, koje su u pojedinim oblastima prosto desetkovale stanovništvo. Da bi se kako-tako odbranile od te pošasti, Visoka Porta (turska vlada), i upravitelji vilajeta i elajata (pokrajina) činili su mnogo toga kako bi sprečili širenje zaraznih bolesti, ukoliko bi do njih došlo. Kada je 1840. godine izbila velika epidemija kuge na području današnje jugoistočne Srbije, severozapadne Bugarske i Kosova i Metohije, skopski upravitelj Hamzi-paša po naređenju sultana stavio je nekoliko gradova (Prizren, Sofiju) u karantin, kako bi sprečio širenje epidemije. Detaljniji podaci o tome mogu se naći u dokumentima koji se nalaze u fondovima Ministarstva inostranih dela – Vnutreno odeljenje i Ministarstvo unutrašnjih odeljenja – Policajno odeljenje. Ovi fondovi nalaze se u Arhivu Srbije u Beogradu. Detaljnije informacije o organizaciji sanitarne mreže u Turskoj nalaze se u monografijama: Jozef Von Hamer, *Historija turskog (Osmanskog carstva) 1–3*, Zagreb 1979, kao i Rober Mantran, *Istorija Osmanskog carstva*, Beograd 2002.

Jedna od primedbi odnosi se na to da srpska granica prema Turskoj nije bila opasana šančevima. Narvano da nije. Šančevi su bili iskopani i utvđeni samo u onim sektorima iz kojih je, prema proceni srpskih sanitarnih vlasti, mogla da krene epidemija. Dodatne informacije o tome mogu se naći u izvanrednom istraživačkom radu akademika Vladimira Stojančevića: *Knez Miloš i zaštita srpske granice za vreme epidemije kuge u Turskoj 1836–1838. godine*, Istorijski Glasnik br. 4, Beograd 1952.

Sledeća primedba odnosi se na upotrebu reči rastel, za koju je napisano da „nije srpska i da u to vreme nije bila u upotrebi“. Međutim, reč rastel je u to vreme i te kako bila u upotrebi, što se lako može proveriti ukoliko se pogleda službena dokumentacija koju su pogranične sanitarne vlasti, sas-tanci (ili đumruci, kako su ih još nazivali) slale nadležnim ministarstvima (tada popečateljstvima).

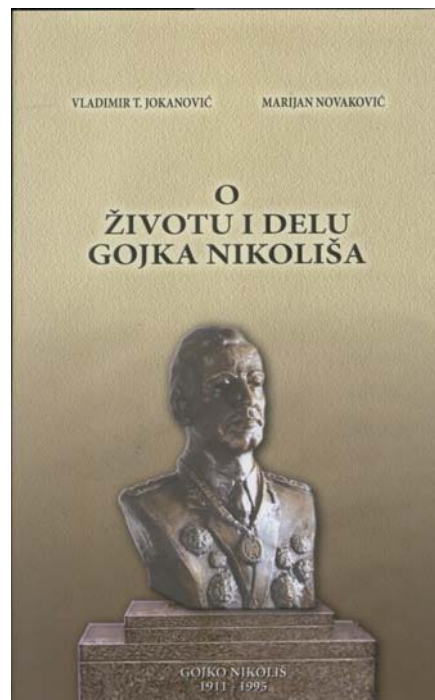
Poslednja primedba odnosi se na nekorišćenje teksta Vojislava V. Mihailovića: *Borba protiv kuge u Srbije pre 100 godina*, Beograd, 1937. Ako se detaljno pogledaju napomene i literatura, navedeni u našem radu, može se приметiti da je prilikom pisanja rada korišćen rad pomenutog autora: „Iz saniteta u obnovljenoj Srbiji od 1804. do 1860.“, koji je 1951. godine štampala Srpska akademija nauka i umetnosti. Tome treba dodati i ostale autore čija su dela korišćena prilikom pisanja rada, što je po našem mišljenju sasvim dovoljno za jednu temu koja problem epidemija koje su pogadale Kneževinu Srbiju, stavlja u jedan opšti okvir. Svemu ovome treba dodati i nekoliko novih izdanja o Srbiji kneza Miloša, koja su pisana na osnovu detaljnih istraživanja u našim i inostranim arhivima. Ovom prilikom preporučujemo radove i monografije prof. dr Radoša Ljušića.

prof. dr Slavica Ristić
Medicinski fakultet Univerziteta u Istočnom Sarajevu,
Foča, BiH
E-mail: slavica_ristic@live.com



O životu i delu Gojka Nikoliša

Autori: Vladimir T. Jokanović i Marijan Novaković
Izdavač: Akademija medicinskih nauka – SLD
Mesto i godina izdanja: Novi Sad, 2011
Štampa: Štamparija „Verzal“, Novi Sad
Tiraž: 250



Monografija „O životu i delu Gojka Nikoliša“ napisana je na 97 stranica, bogato je ilustrovana i sadrži sledeća poglavlja: Uvod, Predgovor, Poreklo i mladost Gojka Nikoliša, Gojko Nikoliš u Španskom građanskom ratu, U Narodnooslobodilačkoj borbi 1941–1945, Osvrt na književno delo Gojka Nikoliša, Gojko Nikoliš u Srpskoj akademiji nauka i umetnosti, Mesto i uloga Gojka Nikoliša u razvoju sanitetske službe, Bibliografija Gojka Nikoliša i Literatura.

Monografija je izdata povodom 100-godišnjice rođenja akademika, dr Gojka Nikoliša, jedne od najznačajnijih ličnosti vojnog saniteta na ovim prostorima i 30-godišnjice rada Vojnomedicinske akademije (VMA), čiji je idejni tvorac bio dr Nikoliš, u prelepom zdanju na Banjičkom visu u Beogradu.

U ovoj monografiji autori opisuju uzbudljivu biografiju i značajan rad akademika Gojka Nikoliša.

U prvom poglavlju – „Poreklo i mladost Gojka Nikoliša“ – opisan je, sa toplim emocijama, Kordun – zavičaj, detinjstvo i školovanje Nikoliša, sve do diplomiranja na Medicinskom fakultetu u Beogradu i stažiranja u Niškoj vojnoj bolnici. U poglavlju je navedeno nekoliko citata iz memoara Nikoliša.

U drugom poglavlju – „Gojko Nikoliš u Španskom građanskom ratu“ – ističe se da, iako je mnogo španskih boraca pisalo o Španskom građanskom ratu, ipak Nikoliš je bio taj koji je sveobuhvatno, studiozno i dokumentovano dao sliku tadašnjih događaja u Španiji. Tamo je on sticao prva, dragocena iskustva kao lekar, posebno iz ratne hirurgije i sanitetske taktike. Tamo je, takođe, stekao nadimak *Companjero Medico*, koji će ga pratiti celog života.

Iako treće, najobimnije poglavlje nosi naziv „U Narodnooslobodilačkoj borbi 1941–1945“, u njemu se opisuje celokupni život i rad Gojka Nikoliša u ratnom i posleratnom periodu, sve do njegove smrti. Ovo poglavlje počinje opisom bega od ustaša iz rodnog mesta u Beograd, i opisom odlaska u Kraljevački partizanski odred. Tu odmah deluje kao lekar, pri čemu mu je iskustvo iz Španije bilo dragoceno, a zatim postaje referent saniteta Vrhovnog štaba. Mnogobrojnim citatima iz memoara Gojka Nikoliša daje se slika njegovog rada, verovanja i sumnji (v. deo poglavlja, pod podnaslovom „Pitanje opozicije“), požrtvovanja i grešaka, ubedenja i razočarenja tokom ratnog i posleratnog rada u sanitetu. Dramatični događaji kroz koje je prolazio sanitet tokom čitavog rata

svakako su inspirisali Nikoliša da čitavog radnog veka radi na unapređenju vojnog saniteta, na čijem je čelu bio godina-ma. Dokumentovano je prikazan i stalno rastući ratni i posle-ratni ugled koji stiže isključivo na osnovu svog rada, a čija su dostignuća na polju nauke i zdravstva mnogobrojna. Napo-menuću samo neke: osnivanje naučnog časopisa „Vojnosani-tetski pregled“ koji će kasnije postati vrlo cenjen, ne samo kod nas, već i u međunarodnim okvirima, osnivanje VMA kao ustanove koja integriše tri važne funkcije vojnog sanite-ta: lečenje, naučnoistraživački rad i nastavu (mislim da ovde treba reći da u monografiji izdatoj 1980, povodom 30-godišnjice ove ugledne ustanove, ime Gojka Nikoliša nije ni pomenuto!), mnogobrojna priznanja, članstvo u SANU i JA-ZU....

U četvrtom poglavlju autori se osvrću na književni opus ovog svestranog čoveka. Odaje mu se priznanje za original-nost, bogat rečnik, tople emocije kojima je obogatio našu memoarsku literaturu svojim kapitalnim delom „Korijen, stablo, pavetina“. Nikoliš je knjigom o svom zemljaku Savi Mrkalju uspeo da ispravi nepravdu nanесenu ovoj zanimlji-voj ličnosti i borcu za narodni jezik, savremeniku Vuka Ka-radžića. Treća knjiga, „Zapisi pod pritiskom“, zanimljiva je zbog veoma ličnog, iskrenog pristupa različitoj tematici u vremenu od nekoliko decenija. Autori su na ovom mestu preneli u celini pristupnu besedu „O smrti“ prilikom izbora u Društvo književnika Srbije.

U petom poglavlju koje nosi naziv „Gojko Nikoliš u Srpskoj akademiji nauka i umetnosti“ navedeni su samo da-tumi prijema u članstvo SANU, a najveći deo zauzima pris-tupna beseda pri izboru za redovnog člana SANU. Ovo zbog toga što autori monografije smatraju da ova beseda legitimise Gojka Nikoliše kao mislećeg lekara, filozofa i sociologa me-dicinske nauke. Na ovom mestu su, kako se čini bez oprav-danog razloga, doneti fragmenti njegovog govora na Skup-

štini Udruženja španskih boraca 1984. godine u Sarajevu. Političke posledice ovog govora dovele su do još jednog go-vora saopštenog 1989. godine u Beogradu, u kome se jasno sagledava situacija u tadašnjoj Jugoslaviji pre konačnog ras-pleta.

Poslednje poglavlje pod nazivom „Mesto i uloga Gojka Nikoliša u razvoju sanitetske službe“ počinje rano stečenim, na ratištu u Španiji, ubeđenjem da taktika i organizacija ratne službe moraju biti sastavni deo ratne taktike, a da je pri tom obrazovanje sanitetskog kadra od presudne važnosti. Zato, već početkom rata, kao sanitetski referent Vrhovnog štaba, Nikoliš saziva Prvi kongres partizanskih lekara, a kao rezul-tat ovog uspelog sastanka, izrađuje Statut sanitetske službe. Do penzionisanja bio je na rukovodećim mestima, što mu je omogućilo velike poduhvate: već pomenuto pokretanje nau-čnostručnog časopisa „Vojnosanitetski pregled“, osnivanje Sanitetske oficirske škole, uvođenje predmeta ratna hirurgija na sve medicinske fakultete u zemlji, osnivanje VMA u sa-dašnjem organizacijskom obliku

Na kraju monografije navedena je obimna bibliografija Gojka Nikoliša.

Iako u predgovoru autori naglašavaju da je „O njemu (G.N.) napisan veliki broj eseja, kritika, polemika, moglo bi se reći da nije ostalo ništa što se već ne zna“, oni objašnja-vaju da im je cilj „...da na popularan način mladim genera-cijama lekara predložimo lik i delo jednog od najpoznatijih Hipokratovih sledbenika u Srbiji u drugoj polovini XX ve-ka“

Mislim da će se čitaoci ove monografije složiti da su autori postigli svoj cilj.

Naučni savetnik,
dr Ljiljana Vučković-Dekić



**prof. dr
MARIJAN BERVAR**
pukovnik u penziji
(1918–2010)

Dana 3. novembra 2011. godine navršava se godinu dana kako je, u svojoj kući u Mariboru preminuo Marjan Bervar, pukovnik JNA u penziji, redovni profesor hirurgije Vojnomedicinske akademije.



Marjan Josipa Bervar, rođen je 10. VII 1918. godine u Vinkovcima. Gimnaziju je završio 1936. godine u Mariboru, a Medicinski fakultet 1941. godine u Beogradu. Specijalistički staž iz opšte hirurgije obavio je na Prvoj hirurškoj klinici u Beogradu, a specijalistički ispit položio 1947. godine.

U NOB je stupio septembra 1944. godine kao šef hirurške ekipe XXII udarne divizije, a zatim kao vodnik Operaci-

ono-previjališnog voda II proleterske divizije. Po završetku rata radio je u Hirurškom odeljenju Vojne bolnice u Skoplju. Do 1953. godine bio je načelnik Hirurškog odeljenja bolnice odreda na slobodnoj teritoriji Trsta. Od tada pa do 1960. godine radio je kao hirurg u Vojnoj bolnici u Ljubljani, a od 1960. godine bio je stalno na službi u Klinici za hirurške bolesti VMA, prvo kao hirurg, a zatim, od 1967. godine kao načelnik Odeljenja za opštu hirurgiju.

Bio je dugogodišnji predsednik lekarske komisije Gorskog službe spasavanja.

Zvanje doktora medicinskih nauka sa doktorskim radom „Pilonidalna bolest kao vojnomedicinski problem“, u kome je etiopatogenezu i terapiju ove bolesti rešio na originalan način, stekao je 1969. godine. U zvanje vanrednog profesora izabran je 1970. godine, a 1975. godine u zvanje redovnog profesora za predmet Opšta hirurgija.

U naučnoistraživačkom radu posebno je značajan njegov originalni doprinos razvoju ratne sanitetske opreme: komplet operacionog stola, komplet za pranje ruku, modifikovana Thomas-ova udlaga i dao je predlog za novi tip hemostatske poveske.

Objavio je preko 210 stručnih i naučnih radova i aktivno je učestvovao na mnogobrojnim stručnim sastancima i kongresima hirurgije u zemlji i inostranstvu. Imao je zapažene priloge u drugom i trećem izdanju udžbenika „Ratna hirurgija“. Bio je redovan član gastroenterološke sekcije SLD-a, Endokrinološke sekcije SLD-a, Hirurške sekcije SLD-a, Gastroenterološkog društva Jugoslavije i Udruženja hirurga Jugoslavije. Od 1969. godine bio je član Britanskog hirurškog društva, redovan član Naučne akademije Srpskog lekarskog društva od 1979. godine, i član internacionalnih udruženja: *Collegim Internationale Chirurgiae Digestive*, *Societe Internationale de Chirurgiae*, *The Royal Society of Medicine*, *International Society of Proctology*.

Profesor dr Bervar bio je hirurg velikog iskustva, virtuozne hirurške tehnike i najreprezentativnija ličnost opšte hi-

urgije u VMA. Vrstan kliničar, uzorne hirurške veštine, bio je zastupnik čiste i atraumatske tehnike operisanja.

Kao tipičan predstavnik moderne hirurgije, efikasan i sa osećanjem za bitno, smeonih zamisli, bio je prvi promoter mnogih hirurških metoda u bivšoj Jugoslaviji, posebno u anorektalnoj regiji, hirurgiji kolona, žučnih puteva i jetre, pankreasa, štitne i paratireoidne žlezde i drugo. Bio je vrstan predavač i nastavnik, nesebičan u prenosu znanja i veština. Njegovo predavanje izazivalo je živo interesovanje na svim akademskim nivoima. Uvažavan od svih lekara, neumoran radnik zadivljujuće energije, strpljiv, inspirisao je mnoge vojne i civilne hirurge da se bave savremenom hirurgijom. Bio je neobično pozovit i sugestivan. Održavao je stalnu vezu sa mnogim hirurškim odeljenjima u zemlji, posebno posle penzionisanja, pružajući im neprekidnu pomoć u hirurškom radu i obrazovanju (Trebinje, Zrenjanin, Subotica, Čačak, Paraćin, Sombor i drugi). Sa istom ozbiljnošću i važnošću prilazio je „maloj“ i „velikoj“ hirurgiji. Napisao je više radova za potrebe trupnog saniteta i potrebe praktičnog leka-

ra. Poliglota (nemački, engleski, italijanski, albanski), pored hirurgije, bio je veliki zaljubljenik u prirodu, alpinista i planinar (55 puta osvojio je vrh Triglava), bavio se slikarstvom, a pokazivao je i interesovanje za druge ljudske delatnosti. Svojim celokupnim delom značajno je doprineo ugledu opšte hirurgije VMA u bivšoj Jugoslaviji.

Od studentskih dana do raspada Jugoslavije (preko 55 godina) živeo je u Srbiji koja mu je ostala duboko u srcu.

Pridružimo se rečima jednog hirurga na Internetu, učenika prof. Bervara, da je „doktor Marjan Bervar bio jedan od najvećih hirurga koje je Srbija i VMA ikada imala...“

Neka je večna slava i hvala pukovniku u penziji prof. dr Marjanu Bervaru!

**puk. prof. dr Nebojša Stanković,
načelnik Klinike za opštu hirurgiju
Vojnomedicinske akademije, Beograd**

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 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. **Od januara 2011. godine primaće se samo radovi napisani na engleskom jeziku.**

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

U VSP-u se objavljuju **uvodnici, originalni članci, prethodna ili kratka saopštenja**, revijski radovi tipa **opšteg pregleda** (uz uslov da autori navođenjem najmanje 5 autocitata potvrde da su eksperti u oblasti o kojoj pišu), **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 prilozima. Radovi tipa originalnih članaka, prethodnih ili kratkih saopštenja, metaanalize i kazuistike objavljuju se uz apstrakte na srpskom i engleskom jeziku.

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 priložima); aktuelne teme – osam, kazuistika – šest, prethodna saopštenja – pet, a pisma uredniku, izveštaji sa skupova i prikazi knjiga – dve stranice.

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

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

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

Prpriprema 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 po-

datke 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 ili na sajtu:
www.vma.mod.gov.rs/vsp/download/uputstvo_za_autore.pdf

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. Original articles, short communications, meta-analyses and case reports are published with abstracts in both English and Serbian.

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

a) The title should be concise but informative. Subheadings should be avoided;

b) full name of each author;

c) name and place of department(s) and institution(s) of affiliation, clearly marked by standard footnote signs.

2. Abstract and key words

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

3. Text

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

In the **Introduction** repeat the title of the article, excluding the names of authors. State the purpose of the article and summarize the rationale for the study or observation. Give only strictly pertinent references and do not include data or conclusions from the work being 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: Ahy NS, Flood K, Paranjothi S, editors. *The Washington Manual of Medical Therapeutics*, 30th edition. Boston: Lippincot, Williams and Wilkins; 2001. p. 413–28.

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.

Detailed Instructions are available at the web site: www.vma.mod.gov.rs/vsp/download/instructions_to_authors.pdf.



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

Časopis „Vojnosanitetski pregled“ izlazi godišnje u 12 brojeva. Godišnja pretplata za 2011. 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**. Uplatnicu (dokaz o uplati) dostaviti lično ili poštom (pismom, faksom, *e-mail*-om). Za zaposlene u MO i Vojsci Srbije moguća je i pretplata u 12 mesečnih rata putem trajnog naloga, tj. „odbijanjem od plate“. Popunjen obrazac poslati na adresu VSP-a.

PRIJAVA ZA PRETPLATU NA ČASOPIS „VOJNOSANITETSKI PREGLED“

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



VOJNOSANITETSKI PREGLED
VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA
Crnotravska 17, 11040 Beograd, Srbija
Tel/Fax: +381 11 2669689
vmaini1@EUnetr.rs
vmavsp@hotmail.com

Časopis „Vojnosanitetski pregled“ izlazi godišnje u 12 brojeva. Godišnja pretplata za 2011. 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**. Uplatnicu (dokaz o uplati) dostaviti lično ili poštom (pismom, faksom, *e-mail*-om). Za zaposlene u MO i Vojsci Srbije moguća je i pretplata u 12 mesečnih rata putem trajnog naloga, tj. „odbijanjem od plate“. Popunjen obrazac poslati na adresu VSP-a.

PRIJAVA ZA PRETPLATU NA ČASOPIS „VOJNOSANITETSKI PREGLED“

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

