

YU ISSN 0042-8450

ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

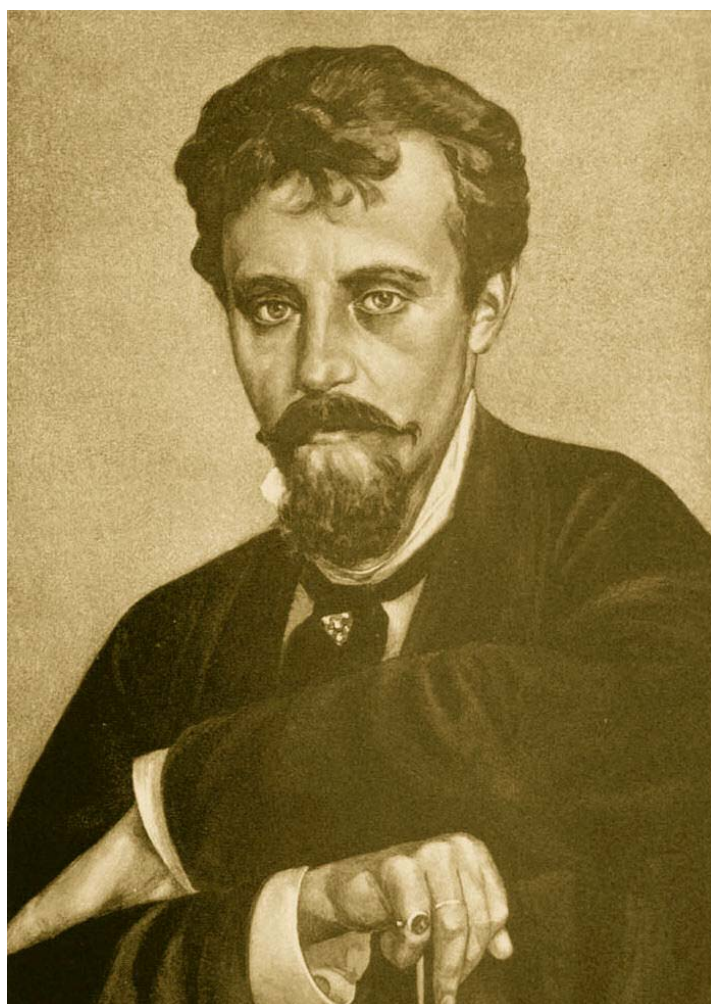
Часопис лекара и фармацеутика Војске Србије

Military Medical and Pharmaceutical Journal of Serbia



Vojnosanitetski pregled

Vojnosanit Pregl 2011; December Vol. 68 (No. 12): p. 1007-1118.



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**, potpukovnik
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
Lt. Col. 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 €.

Poštovani autori, urednici, recenzenti, saradnici i poštovaoci „Vojnosanitetskog pregleda“,

Opraštajući se od godine u kojoj je naš časopis, dobivši svoj prvi impakt faktor ostvario, do sada, verovatno, svoj najveći uspeh, zahvaljujem svima vama na izvanrednoj saradnji uz želje da nam nastupajuća 2012. godina donese još više uspeha i radosti!

SREĆNA NOVA GODINA!

Srdačno,
prof. dr Silva Dobrić
glavi i odgovorni urednik



Dear Authors, Editors, Reviewers, Colleborators and Admirers of the *Vojnosanitetski Pregled*,

Saying farewell to 2011, in which our Journal achieved its greatest success till now – the first impact factor, I express my deep gratitude to your extraordinary cooperation along with wishes that the coming year 2012 bring us more success and gladness!

MARRY CHRISTAMS AND A HAPPY NEW YEAR!

Cordially,
Prof. Dr. Silva Dobrić
Editor-in-Chief



SADRŽAJ / CONTENTS

OBAVEŠTENJE / NOTICE	1012
ORIGINALNI ČLANCI / ORIGINAL ARTICLES	
<i>Mirko Teofilovski, Biljana Parapid, Miodrag Rakić, Nikola Popović, Gordana Teofilovski-Parapid</i> Specifičnosti protetičkoortotičke rehabilitacije bolesnika sa amputacijom i kranio cerebralnom povredom Specificities of prosthetic and orthotic rehabilitation in amputees with head injury.....	1013
<i>Marija Igić, Dragan Mihailović, Ljiljana Kesić, Mirjana Apostolović, Ljil-jana Kostadinović, Olivera Tričković Janjić, Jelena Milašin</i> Efikasnost hijaluronske kiseline u terapiji hroničnog gingivitisa kod dece Efficacy of hyaluronic acid in the treatment of chronic gingivitis in children	1021
<i>Dragana Stamatović, Bela Balint, Ljiljana Tukić, Marija Elez, Olivera Tarabar, Milena Todorović, Gordana Ostojić, Zeljka Tatomirović, Marika Ljubenov, Slobodan Marjanović, Milomir Malešević</i> Impact of stem cell source on allogeneic stem cell transplantation outcome in hematological malignancies Uticaj izvora matičnih ćelija hematopoeze na ishod alogene transplantacije u lečenju hematoloških maligniteta.....	1026
<i>Biljana Antonijević, Miloš P. Stojiljković, Dubravko Bokonjić, Slavica Vučinić</i> Antidotski efekat kombinacija obidoksim/HI-6 i memantina kod miševa trovanih somanom, dihlorvosom ili heptenofosom Antidotal effect of combinations obidoxime/HI-6 and memantine in mice poisoned with soman, dichlorvos or heptenophos.....	1033
<i>Miodrag Jocić, Miroljub Trkuljić, Dragana Jovičić, Nemanja Borovčanin, Milena Todorović, Bela Balint</i> Mirasol PRT System inactivation efficacy evaluated in platelet concentrates by bacteria-contamination model Ocena efikasnosti inaktivacije bakterija pomoću Mirasol PRT sistema u koncentrovanim trombocitima primenom modela bakterijske kontaminacije.....	1041
<i>Yoshihiko Sakurai, Takaji Matsutani, Takeshi Yoshioka, Tomohiro Takeda, Akira Yoshioka, Midori Shima</i> Alterations of T cell receptor Vβ repertoire of CD8 T lymphocytes in immune tolerance induction in two hemophilia A patients with inhibitors Promene V β repertoara T ćelijskog receptora CD8 T-limfocita tokom indukcije imunološke tolerancije kod dva obolela od hemofilije A sa inhibitorima	1047
OPŠTI PREGLED / GENERAL REVIEW	
<i>Ana Mitrović-Jovanović, Branko Stanimirović, Branka Nikolić, Milena Zamurović, Živko Perišić, Snežana Pantić-Aksentijević</i> Cervical, vaginal and vulvar intraepithelial neoplasms Intraepitelijalne neoplazme grlića materice, vagine i vulve	1051
AKTUELNE TEME / CURRENT TOPICS	
<i>Radomir Matunović, Janko Samardžić, Željko Špirić, Dejan Marinković, Ognjen Gudelj, Dragan Obradović, Zdravko Mijailović, Sašo Rafajlovski</i> Farmakološko lečenje hipertenzije indukovane stresom – preporuke i dileme Pharmacological treatment of stress-induced hypertension – guidelines and dilemmas.....	1057

Milena Djurić, Ružica Kravljanc

Značaj i uloga EEG nalaza u dijagnostici i lečenju febrilnih napada

Significance and the role of EEG in the diagnosis and treatment of febrile seizures..... 1063

KAZUISTIKA / CASE REPORTS

Dragica Pešut, Ruža Stević, Jelica Milosavljević, Spasoje Popević, Tijana Cvok

Mounier-Kuhnov sindrom

Mounier-Kuhn syndrome 1068

Maja Djordjević, Predrag Minić, Adrijan Sarajlija, Slaviša M. Djuričić, Dragomir Djokić, Obren Marković

Pulmonary involvement in siblings with Gaucher disease type III

Plućne manifestacije kod srodnika sa Goševom bolesti tip III..... 1071

Dragana Čukić

Iskrvarenje zbog krvarenja u meka tkiva kao uzrok smrti kod pretučenog, zlostavljanog djeteta

Bleeding to death because of hemorrhage into soft tissues as a cause of death in a beaten battered child . 1075

Branko Prstojević, Mirko Mićović, Ivan Vukašinović, Mirjana Nagulić

Transvenous embolization of dural carotid cavernous fistula through the facial and ophthalmic vein

Duralna fistula kavernoznog sinusa: embolizacija transvenskim pristupom kroz facijalnu i gornju oftalmičku venu..... 1079

ISTORIJA MEDICINE / HYSTORY OF MEDICINE

Aleksandar S. Nedok

Potpukovnik dr Laza Lazarević – lekar, književnik, ratnik (1851–1890)

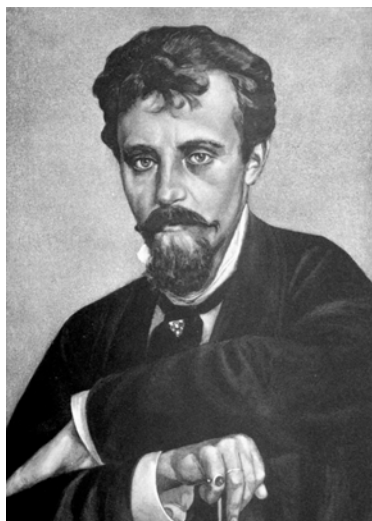
Leutenant-Colonel Dr. Laza Lazarević – a physician, writer, warrior (1851–1890)..... 1084

PISMO UREDNIKU / LETTER TO THE EDITOR 1089

PRIKAZ KNJIGE / BOOK REVIEW 1091

UPUTSTVO AUTORIMA / INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS 1093

TEHNIČKO UPUTSTVO ZA KORIŠĆENJE SISTEMA e-Ur/ TECHNICAL INSTRUCTIONS FOR USING THE SYSTEM e-Ur..... 1105



Dr Laza Lazarević (1. maj 1851, Šabac, Srbija – 29. decembar 1890, Beograd, Srbija), jedan je od najistaknutijih srpskih književnika i lekara 19. veka. U svom kratkom životu ostvario je značajne uspehe na polju medicine, prvenstveno u neurologiji i psihijatriji. Ove godine, nizom svečanosti, obeleženo je 160 godina od rođenja ovog velikana srpske književnosti i medicine (vidi str. 1084–7).

Dr. Laza Lazarević (May 1, 1851, Šabac, Serbia – December 29, 1890, Belgrade, Serbia) was one of the most eminent Serbian writers and physicians in the 19th Century. In his short life he realized attained the success in the field of medicine, particularly in neurology and psychiatry. This year, in a lot of ceremonies, 160th anniversary of the birth of this great man of Serbian literature and medicine has been celebrating (see p. 1084–7).

OBAVEŠTENJE

Od 1. januara 2012. godine *Vojnosanitetski pregled* prelazi na e-Ur: Elektronsko uređivanje časopisa.

Svi korisnici sistema: autori, recezenti i urednici moraju biti registrovani jednoznačnom e-mail adresom. Registraciju je moguće izvršiti na adresi :

<http://scindeks-eur.ceon.rs/index.php/vsp>

U prilogu ovog broja nalaze se dva uputstva koja se mogu preuzeti u elektronskom obliku sa web adrese *Vojnosanitetskog pregleda*:

<http://www.vma.mod.gov.rs/vsp>:

1. Uputstvo za pisanje radova za *Vojnosanitetski pregled*

http://www.vma.mod.gov.rs/vsp/download/uputstvo_za_autore.pdf

2. Tehničko uputstvo za korišćenje sistema e-Ur: Elektronsko uređivanje časopisa

http://www.vma.mod.gov.rs/vsp/download/tehnicko_uputstvo_vsp.pdf

NOTICE

From January 1, 2012 the *Vojnosanitetski pregled* is going to be edited using the service e-Ur: Electronic Journal Editing.

All users of the system: authors, editors and reviewers have to be registered users with only one e-mail address. Registration should be made on the web-address:

<http://scindeks-eur.ceon.rs/index.php/vsp>

Instructions for the authors are available for downloading at the web-site of the *Vojnosanitetski pregled*:

http://www.vma.mod.gov.rs/vsp/download/instructions_to_authors.pdf



Specifičnosti protetičkoortotičke rehabilitacije bolesnika sa amputacijom i kranioocerebralnom povredom

Specificities of prosthetic and orthotic rehabilitation in amputees with head injury

Mirko Teofilovski*, Biljana Parapid†, Miodrag Rakić‡, Nikola Popović*,
Gordana Teofilovski-Parapid§

*Specijalna bolnica za rehabilitaciju i ortopedsku protetiku „Beograd“, Beograd, Srbija,
Klinički centar Srbije, †Institut za kardiovaskularne bolesti, ‡Institut za neurohirurgiju,
Beograd, Srbija; §Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za anatomiju,
Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Protetičkoortotička rehabilitacija (POR) osoba sa amputiranim ekstremitetom sa kranioocerebralnom povredom (KCP) u sklopu politraume predstavlja poseban entitet. Sa porastom saobraćajnog traumatizma, ali i oružanih sukoba niskog intenziteta, rehabilitacija postaje sve aktuelnija. Cilj rada bio je utvrđivanje značaja komplikacija za tok i ishod POR kod politraumatizovanih bolesnika sa amputiranim ekstremitetom sa KCP. **Metode.** Istraživanje je obuhvatilo 70 bolesnika muškog pola, odgovarajućeg životnog doba, sa jednosranom transfemoralnom amputacijom, posledicom ratne traume, koji su bili podeljeni u dve grupe po 35 ispitanika. Eksperimentalnu grupu činili su ispitanici sa KCP. Korišćene su standardne kliničke tehnike i postupci i posebne tehnike evaluacije funkcionalne onesposobljenosti. **Rezultati.** Politraumatizovani bolesnici sa amputiranim ekstremitetom sa KCP započinjali su POR sa većim brojem komplikacija (prosečno 7,29 *vs* 5,11 po ispitaniku; $W = 928,000$; $Z = -3,730$; $p = 0,000$). Povezanost ovog broja sa vrednostima promene Bartel skora bila je pozitivna i visokoznačajna ($F_x, H,$

$p < 0,01$), a sa vrednostima testa funkcionalne osposobljenosti za proteze negativna i značajna ($F_x, H, p < 0,05$). Vrednosti broja komplikacija na prijemu za ocenu 4 ishoda rehabilitacije bile su značajno veće nego za ocene 2 i 3 ($H = 8,948$; $df = 2$; $p = 0,011$); visokoznačajno češće razvijali su komplikacije tokom rehabilitacije ($X^2 = 1,061$; $df = 1$; $p < 0,01$). Proporcija ispitanika sa komplikacijama tokom rehabilitacije i ocenom 4 bila je značajno veća nego sa ocenom 2 ($F_p = 3,406$; $df_1 = 2$; $df_2 = 67$; $p = 0,038$) i trajala je visokoznačajno duže (prosečno 259,09 *vs* 183,63 dana; $W = 923,500$; $Z = -3,748$; $p = 0,000$). **Zaključak.** Politraumatizovani bolesnici sa amputiranim ekstremitetom sa KCP započinjali su POR sa većim brojem protetičkih komplikacija i lošijim psihičkim statusom, zbog kojih je ona trajala duže, a ishod je bio lošiji. Kod ispitanika sa komplikacijama tokom rehabilitacije može se češće očekivati ocena 4 za uspeh rehabilitacije.

Ključne reči:
amputacija, traumatska; kraniocerebralne povrede;
povrede, multiple; rehabilitacija; lečenje, ishod.

Abstract

Background/Aim. The prosthetic-orthotic rehabilitation (POR) of amputees with head injury within the polytrauma presents a specific entity. The number of traumas caused by the traffic and the low-intensity war conflicts, increases constantly. The aim of our study was to examine the influence of complications on the POR duration and outcome in polytrauma amputees with head injury (PTAHI) recording complications at the beginning and during the POR. **Methods.** The study was carried out on the patients divided into two groups of 35 polytrauma male patients each of corresponding age with unilateral transfemoral amputation caused by the war injury. The experimental group consisted

of the amputees with head injury. Standard clinical techniques and procedures, as well as special functional evaluation techniques were used. **Results.** The PATHI started POR with a greater number of complications (average rate 7.29 *vs* 5.11 per patient; $W = 928.000$; $Z = 3.730$; $p = 0.000$). There was a highly significant positive correlation between this number and the Barthel Score value change ($F_x, H, p < 0.01$), and negative significant correlation considering prosthetic use and functional capacity test values ($F_x, H, p < 0.05$). On admission, the amount of complications defined for the value 4 of POR outcome was significantly higher than values 2 and 3, respectively ($H = 8.948$; $df = 2$; $p = 0.011$). The PATHI developed significantly more frequently complications during rehabilitation ($X^2 = 1.061$;

$df = 1; p < 0.01$). The proportion of the examinees with the value 4 who developed complications during rehabilitations was significantly higher than those with value 2 ($F_p = 3.406$; $df_1 = 2$; $df_2 = 67$; $p = 0.038$). The rehabilitation of the PTAHI lasted significantly longer (average 259.09 vs 183.63 days; $W = 923.500$; $Z = -3.748$; $p = 0.000$). **Conclusion.** The PTAHI including head injuries started prosthetic-orthotic rehabilitation with more prosthetic complications and their psychological status was worse, resulting in the

longer duration of rehabilitation whereas the outcome itself was poor. The value 4 of the prosthetic-orthotic rehabilitation outcome can be expected more often in patients developing complications during rehabilitation.

Key words:
amputation, traumatic; craniocerebral trauma; multiple trauma; rehabilitation; treatment outcome.

Uvod

Pojam savremenog traumatizma uz etiološku raznolikost, definiše više karakteristika. Poseban entitet predstavlja traumatizam izazvan borbenim dejstvima pri kojim se koriste agensi koje karakteriše polimorfizam i često udruženo delovanje, uz jedan zajednički imenitelj, a to je sila velike razorne moći. Izrazito veliki nesklad veličine i razorne moći dejstvjuće sile sa jedne strane, i limitiranih potencijala njenog prihvatanja i kompenzatornih mogućnosti ljudskog organizma sa druge, imaju za posledicu opsežne traume i porast incidencije politraumatizovanih bolesnika u okviru masovnog povređivanja¹⁻⁵. Sve ređe je izolovano dejstvo jednog agensa, a češće je združeno dejstvo više njih.

S napretkom mikrohirurgije i organizacijom interdisciplinarnog lečenja urgentnih stanja, zbog smanjivanja njihovog mortaliteta raste i problematika njihove rehabilitacije⁶⁻¹⁶. Sa porastom saobraćajnog traumatizma poslednjih godina i u mirnodopskim prilikama pojavljuje se amputacija, kao jedna od posledica politraume sa kraniocerebralnom povredom (KCP)¹⁷⁻²¹. Protetska i ortotska rehabilitacija (POR) ove grupe osoba sa amputiranim ekstremitetom i sprečavanje njihove polivalentne invalidizacije imaju izuzetan naučni interes, ali i sociomedicinski i društveni značaj. Ovaj tip rehabilitacije zahteva i poznavanje složenosti dijagnostike i lečenje KCP²²⁻²⁸, ali, takođe, i posttraumatskog stres sindroma, depresije i anksioznosti^{8, 29, 30-36}.

Cilj rada bio je da se utvrdi značaj komplikacija kod bolesnika sa amputiranim ekstremitetom za tok i ishod POR. Kriterijumi za definisanje i odabir vrsta komplikacija bili su isključivo protetički asocirani.

Metode

Randomizirano kliničko istraživanje sprovedeno je u Specijalnoj bolnici za rehabilitaciju i ortopedsku protetiku „Beograd“, u dve grupe politraumatizovanih bolesnika sa transfemoralnom amputacijom kao posledicom ratne traume. Eksperimentalna grupa (grupa A) sastojala se od bolesnika sa amputacijom i politraumom sa KCP, a kontrolna (grupa B) sa amputacijom i politraumom. Uzorak obe grupe svojom veličinom obezbeđivao je validno zaključivanje.

U grupi A (tabela 1) nalazilo se 35 bolesnika muškog pola, starosti 17–57 godina (prosečno 34,71 godina), povređenih tokom eksplozije granate (26 bolesnika), dejstva protivpešadijskih mina (5 bolesnika), ručne bombe (3 bolesnika) i projektila iz pešadijskog oružja (1 bolesnik). Svi bolesnici

imali su transfemoralne amputacije, 21 levu i 14 desnu. Nivo amputacije bio je sledeći: 15 amputacija na nivou gornje trećine, 15 na nivou srednje trećine i 5 na nivou donje trećine natkolenice. Amputacije su urađene zbog konkvasacije (20), gangrene (14) i traumatske amputacije (1). Vremenski interval od povređivanja do amputacije iznosio je 0–408 dana (prosečno 5,51 dan). U sklopu politraume, 17 bolesnika ove grupe imalo je *commotio cerebri*, 8 bolesnika *contusio cerebri*, a 10 povredu glave sa oštećenjem koštanih struktura. Vreme od povređivanja do prijema u Specijalnu bolnicu iznosilo je 24–519 dana (prosečno 138,8 dana). Dužina hirurškog lečenja iznosila je od 11–342 dana (prosečno 103,17 dana). Vreme od završetka hirurškog lečenja do prijema u Specijalnu bolnicu kretalo se od 0 do 138 dana (prosečno 27,97 dana). U tom vremenskom intervalu bolesnici su boravili prosečno 15,57 dana u drugim rehabilitacionim centrima (0–99 dana) i kod kuće, prosečno 12,94 dana (0–112 dana). Bolesnici su na POR boravili prosečno 259,09 dana (151–494 dana). Vreme od povređivanja do završetka POR iznosilo je prosečno 390,23 dana (187–671 dana).

U grupi B, tj. kontrolnoj grupi, (tabela 2) nalazilo se 35 bolesnika muškog pola, starosti 17–55 godina (prosečno 30,11 godina) koji su stradali od eksplozije granate (17 bolesnika), dejstva protivpešadijskih mina (13 bolesnika), ručne bombe (1 bolesnik) i projektila iz pešadijskog oružja (4 bolesnika). Svi bolesnici imali su transfemoralne amputacije i to 18 bolesnika levo i 17 desno. Nivo amputacije bio je sledeći: 5 amputacija na nivou gornje trećine, 11 na nivou srednje trećine i 3 na nivou donje trećine natkolenice. Amputacije su urađene zbog konkvasacije (16), gangrene (17) i traumatske amputacije (2). Vremenski interval od povređivanja do amputacije trajao je prosečno 7,26 dana (0–396 dana). Vreme od povređivanja do prijema u Specijalnu bolnicu iznosilo je 17–389 dana (prosečno 101,63 dana). Dužina hirurškog lečenja kretala se od 17–162 dana (prosečno 66,83 dana). Vreme od završetka hirurškog lečenja do prijema u Specijalnu bolnicu iznosilo je 0–182 dana (prosečno 32,91 dana). U ovom vremenskom intervalu bolesnici su boravili prosečno 23,34 dana u drugim rehabilitacionim centrima (0–120 dana) i kod kuće, prosečno 13,89 dana (0–140 dana). Bolesnici su boravili na POR prosečno 183,63 dana (116–352 dana). Vreme od povređivanja do završetka POR iznosilo je u proseku 283,37 dana (174–491 dana).

Pre nesreće koja je izazivala amputaciju svi bolesnici bili su zdravi i pokretni. Na prijemu u našu Specijalnu bolnicu nijedan bolesnik nije koristio protezu. Proces POR odvijao se u 4 faze – preprotetička priprema, vreme privremene

Tabela 1

Karakteristike bolesnika eksperimentalne grupe (grupa A) sa amputiranim ekstremitetom i politraumom sa kranioocerebralnom povredom

Inicijali	Bolesnici		Amputacija		
	Životno doba (godine)	Uzrok povrede	Uzrok	Strana tela	Nivo
BD	30	eksplozija granate	konkvasacija		L
BS	46	ručna bomba	gangrena	L	GTN
BZ	22	eksplozija granate	konkvasacija	L	DTN
DM	39	eksplozija granate	konkvasacija	L	GTN
DR	30	eksplozija granate	konkvasacija	L	DTN
GD	37	PP mina	gangrena	D	STN
JG	42	eksplozija granate	gangrena	D	STN
JN	27	eksplozija granate	gangrena	D	GTN
KJ	26	eksplozija granate	gangrena	L	GTN
KM	24	eksplozija granate	konkvasacija	D	DTN
MB	24	eksplozija granate	konkvasacija	D	STN
MM	29	ručna bomba	gangrena	L	GTN
MN	48	eksplozija granate	konkvasacija	L	DTN
MP	33	eksplozija granate	konkvasacija	D	GTN
MR	44	eksplozija granate	konkvasacija	D	STN
MS	47	ručna bomba	gangrena	D	STN
NS	33	puščani metak	gangrena	L	GTN
OŽ	38	eksplozija granate	gangrena	L	GTN
PA	17	eksplozija granate	konkvasacija	L	STN
PP	33	eksplozija granate	konkvasacija	L	STN
PS	36	eksplozija granate	konkvasacija	L	GTN
RD	20	eksplozija granate	konkvasacija	D	STN
SM	33	eksplozija granate	konkvasacija	D	STN
SR	26	PP mina	gangrena	D	STN
TM	41	PP mina	gangrena	L	GTN
VZ	31	eksplozija granate	konkvasacija	L	STN
VĐ	37	eksplozija granate	konkvasacija	L	GTN
VČ	33	eksplozija granate	konkvasacija	D	GTN
ZN	36	eksplozija granate	konkvasacija	D	STN
ŠD	38	PP mina	gangrena	L	GTN
ĐD	36	eksplozija granate	konkvasacija	L	GTN
ČLj	57	eksplozija granate	gangrena	L	GTN
ČD	50	eksplozija granate	konkvasacija	L	STN
NR	33	PP mina	gangrena	L	STN
SĐ	39	eksplozija granate	traumatska amputacija	D	STN

L – leva, D – desna, GTN – gornja trećina natkoljenice, STN – srednja trećina natkoljenice, DTN – donja trećina natkoljenice

proteze, vreme definitivne proteze i vreme škole hoda. Uticaj trajanja pojedinih faza na trajanje celokupne POR bio je jednak u obe ispitivane grupe. Svim bolesnicima stavljane su natkolene endoskeletne proteze sa plastičnim četvrtastim ležištem i pelvičnom suspenzijom. Kolene jedinice sa kočnicom češće su primenjivane kod bolesnika grupe A (16 bolesnika vs 4 bolesnika), a slobodne kolene jedinice, tj. četvorooosovinska kolena kod bolesnika grupe B (31 bolesnik vs 19 bolesnika). Razlika je bila visokoznačajna ($\chi^2 = 10,080$; $df = 1$; $p = 0,0001$; $p < 0,01$). U obe grupe primenjeno je po 32 Sach stopala i po tri sa pokretnim zglobovom. Ova visokoznačajna razlika u koncepciji proteza bila je posledica većeg potencijala prihvatanja bolesnika grupe B.

U radu su korišćene standardne kliničke tehnike i postupci za procenu opšteg zdravstvenog statusa, neurološkog i psihičkog statusa i posebne tehnike procene funkcionalne onesposobljenosti (ADL-s test sa Barthel indeksom, PULSES Profile test) i tehnike namenjene proceni lokalnog statusa ekstremiteta (mišićni test, test obima pokretljivosti zglobova) i lokomotornog sistema (test funkcionalne ospo-

sobljenosti za proteze donjih ekstremiteta). Uspeh rehabilitacije ocenjivan je testom osposobljenosti za proteze donjih ekstremiteta (TFO) kao i promenom Barthel skora (BS) i PULSES skora (PS) i ocenom uspeha rehabilitacije³⁷. Testovi opšteg tipa za procenu onesposobljenosti bolesnika (Barthel indeks i PULSES Profile test), korišćeni su za procenu procesa rehabilitacije i rađeni su na početku i na kraju rehabilitacije. Pored standardne gradacije ovih testova, korišćene su i posebne gradacije za razliku početnog i završnog testiranja – promena BS i promena PS. Test funkcionalne osposobljenosti za proteze za donje ekstremitete, kao specifičan test, rađen je na kraju procesa protetičke rehabilitacije kao direktni indikator funkcionalne osposobljenosti za bolesnike sa amputacijom i ugrađenom protezom. Oцена uspeha rehabilitacije, sa opšte prihvaćenim kriterijumima u našem sistemu zdravstvenog osiguranja, rađena je po završetku protetičke rehabilitacije. Ova ocena je korišćena sa namerom da se da procena objedinjenog uspeha medicinske, socijalne i profesionalne rehabilitacije za osobe sa amputiranim ekstremitetima ovih kategorija.

Tabela 2

Karakteristike bolesnika kontrolne grupe (grupa B) sa amputacijom i politraumom

Inicijali	Bolesnici		Amputacija		
	Životno doba (godine)	Uzrok povrede	Uzrok	Strana tela	Nivo
BLj	34	eksplozija granate	gangrena	D	GTN
DD	28	PP mina	konkvasacija	D	STN
DR	26	pešadijsko oružje	traumatska amputacija	L	STN
GB	29	PP mina	konkvasacija	L	STN
GM	33	eksplozija granate	konkvasacija	D	DTN
GV	19	eksplozija granate	konkvasacija	D	STN
HM	32	PP mina	traumatska amputacija	D	STN
HS	20	PP mina	konkvasacija	D	STN
IM	31	PP mina	konkvasacija	D	STN
JJ	32	PP mina	konkvasacija	D	STN
KR	28	eksplozija granate	konkvasacija	D	STN
LjM	40	eksplozija granate	gangrena	D	STN
LS	20	eksplozija granate	gangrena	L	DTN
LV	33	eksplozija granate	konkvasacija	L	GTN
MŽ	19	PP mina	konkvasacija	L	STN
MB	17	eksplozija granate	gangrena	L	STN
ND	38	eksplozija granate	konkvasacija	L	DTN
NR	20	eksplozija granate	konkvasacija	D	STN
NZ	39	PP mina	gangrena	D	GTN
OO	44	eksplozija granate	konkvasacija	L	STN
PŽ	26	PP mina	gangrena	L	STN
PD	31	PP mina	konkvasacija	L	STN
PS	30	eksplozija granate	gangrena	L	STN
RM	24	eksplozija granate	gangrena	L	GTN
RS	29	ručna bomba	gangrena	L	STN
SR	23	eksplozija granate	konkvasacija	L	STN
SS	19	PP mina	konkvasacija	D	DTN
ST	32	pešadijsko oružje	gangrena	D	STN
SZ	36	eksplozija granate	konkvasacija	D	STN
VM	29	eksplozija granate	gangrena	L	DTN
VR	38	PP mina	gangrena	D	STN
ZN	20	pešadijsko oružje	gangrena	L	STN
ŠD	42	PP mina	gangrena	L	STN
ĐM	38	pešadijsko oružje	gangrena	L	STN
ČLj	55	eksplozija granate	gangrena	L	STN

L – leva, D – desna, GTN – gornja trećina natkolenice, STN – srednja trećina natkolenice, DTN – donja trećina natkolenice

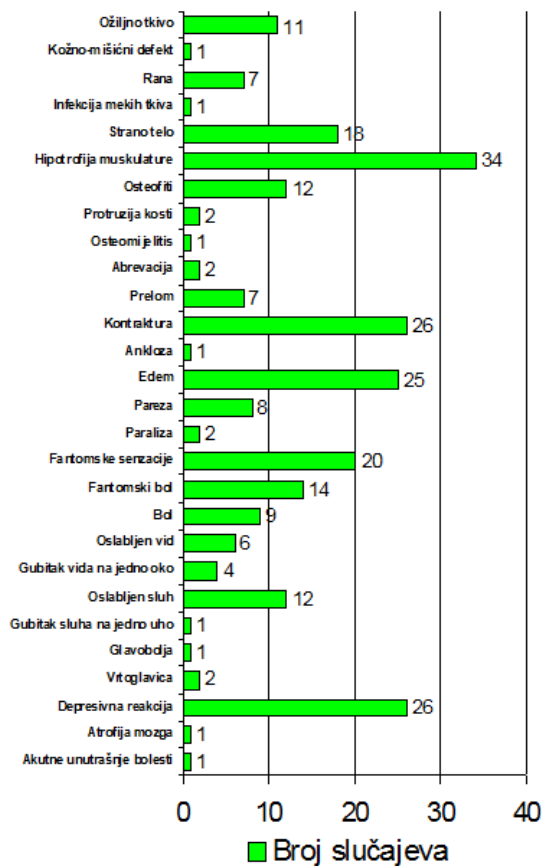
Za obradu prikupljenih podataka korišćene su metode deskriptivne i analitičke statistike (Studentov t -test za vezan i nevezan uzorak – t , test sume rangova – W , Z , hi kvadrat test – χ^2 , jednofaktorska parametarska analiza varijanse – F_x , jednofaktorska neparametarska analiza varijanse prema Kruskal-Wallis – H , jednofaktorska analiza varijanse za proporcije – F_p) i parametarske i neparametarske metode za procenu povezanosti (jednostruka linearna korelacija – r , neparametarska korelacija po Spearmanu).

Za ocenu toka i ishoda procesa rehabilitacije formirana je baza podataka. Za njenu izradu korišćen je softverski paket Q&A v4.06⁸. Kasnije je baza podataka implementirana u savremenijem softverskom paketu File Maker Pro v4.0. Za oba softverska paketa karakteristična je fleksibilnost u brzom izradi prototipa, efikasna tehnika pretraživanja po slobodnom tekstu i to da se polja za unos podataka automatski proširuju, što je posebno značajno za akviziciju medicinskih podataka. Ovakav model kliničkog softvera realizuje koncept procene zdravstvenog statusa bolesnika, a funkcionalnost mu je usmerena na predviđanje ishoda. Tipovi varijabli u bazi podataka su nominalni i numerički.

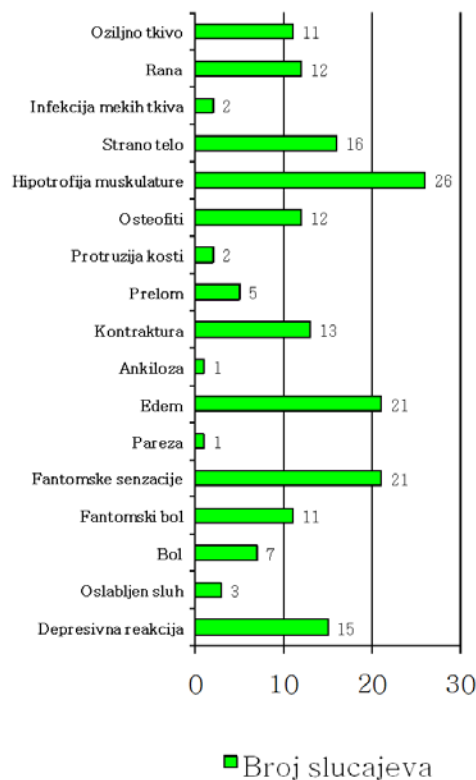
Rezultati

Kod bolesnika sa politraumom i KCP (eksperimentalna grupa A) na prijemu u našu Specijalnu bolnicu verifikovano je 255 komplikacija (prosečno 7,29 po bolesniku) (slika 1). Kod bolesnika sa politraumom, ali bez KCP (kontrolna grupa B), na prijemu verifikovano je 179 komplikacija (prosečno 5,11 komplikacija po bolesniku) (slika 2). Razlika između grupa bila je visokoznačajna ($W = 928,000$; $Z = -3,730$; $p = 0,000$).

Povezanost vrednosti broja komplikacija na prijemu sa vrednostima promene PS nije bila značajna (F_x , H , $p > 0,05$), sa vrednostima promene BS bila je pozitivna i visokoznačajna (F_x , H , $p < 0,01$), a sa vrednostima TFO negativna i značajna (F_x , H , $p < 0,05$). Vrednosti broja komplikacija na prijemu značajno su se razlikovale po gradacijama faktora ocena uspeha rehabilitacije. Vrednosti broja komplikacija na prijemu za ocenu 4 bile su značajno veće nego za ocene 2 i 3, dok se ove vrednosti nisu razlikovale značajno kod ocena 2 i 3 ($H = 8,948$; $df = 2$; $p = 0,011$).

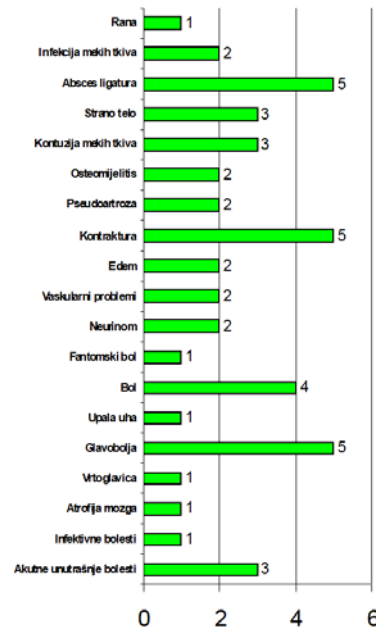


Sl. 1 – Komplikacije na prijemu kod bolesnika sa politraumom i kranio cerebralnom povredom (grupa A)



Sl. 2 – Komplikacije na prijemu kod bolesnika sa politraumom bez kranio cerebralne povrede (kontrolna grupa B)

Tokom POR 26 bolesnika grupe A razvilo je ukupno 46 komplikacija (prosečno 1,31 po bolesniku) (slika 3); u grupi B, 22 bolesnika razvila su ukupno 36 komplikacija (prosečno 1,02 po bolesniku) (slika 4). Broj bolesnika grupe A koji su razvili komplikacije tokom rehabilitacije bio je značajno veći nego u grupi B ($X^2 = 1,061$; $df = 1$; $p < 0,01$). Značajnost razlike u broju komplikacija između grupa nije bila konstatovana ($W = 525,500$; $Z = -0,312$; $p = 0,755$).



Sl. 3 – Komplikacije tokom rehabilitacije kod bolesnika sa politraumom i kranio cerebralnom povredom (grupa A)



Sl. 4 – Komplikacije tokom rehabilitacije kod bolesnika sa politraumom bez kranio cerebralne povrede (grupa B)

Vrednosti broja komplikacija tokom POR nisu se značajno razlikovale po kategorijama promena BS, PS i TFO ($d = 2,76$; $W = 519,500$; $Z = 0,768$; $p > 0,05$). Vrednosti broja komplikacija tokom POR nisu se značajno razlikovala po faktoru ocena uspeha rehabilitacije ($\Sigma_n = 48$; $H = 0,747$; $df = 2$; $p = 0,688$). Proporcije ispitanika sa komplikacijama tokom POR nisu se značajno razlikovala po faktoru ocena uspeha. Proporcija ispitanika sa komplikacijama tokom rehabilitacije i ocenom 4 bila je značajno veća nego sa ocenom 2 ($F_p = 3,406$; $df_1 = 2$; $df_2 = 67$; $p = 0,038$), dok se ni jedna ni druga proporcija nisu značajno razlikovale od proporcije sa ocenom 3.

Rehabilitacija bolesnika sa amputiranim ekstremitetom eksperimentalne grupe u Specijalnoj bolnici trajala je prosečno 259,09 dana (151–494 dana). Rehabilitacija bolesnika kontrolne grupe, trajala je prosečno 183,63 dana (116–352 dana). Razlika u dužini POR bolesnika posmatranih grupa bila je statistički visokoznačajna ($W = 923,500$; $Z = -3,748$; $p = 0,000$).

Diskusija

Našim istraživanjima bili su obuhvaćeni mladi muškarci, jer su oni najčešće žrtve u ratnim dejstvima^{3, 8, 10}.

Kriterijumi za određivanje komplikacija bili su primarno protetički. Prikupljeni podaci ukazuju na bazičnu povezanost težine povreda i njima prouzrokovanog stepena onesposobljenosti kod politraume sa KCP sa kompleksnošću problematike integralnog tretmana POR.

Politraumatizovani bolesnici sa amputacijom i KCP započinjali su POR sa statistički visokoznačajno većim brojem komplikacija (7,29 vs 5,11 komplikacija po bolesniku), što se negativno odražavalo na njen tok i ishod. Najčešće komplikacije bile su hipotrofija miškulature, kontrakture, edem, strana tela i ožiljno tkivo, dok posebno mesto zauzimaju fantomske senzacije i fantomski bol, kao i depresivna reakcija. U kontrolnoj grupi, fantomske senzacije i fantomski bol bili su manje izraženi, a depresivna reakcija čak statistički visokoznačajno niža nego kod bolesnika i sa KCP.

Tokom POR bolesnici sa amputiranim ekstremitetom sa KCP razvili su statički neznačajno veći broj komplikacija (1,31 vs 1,02 komplikacija po bolesniku), ali su one ređe rešavane operativno i bez reamputacija. To su najčešće bile apsces ligatura, kontraktura, strano telo, infekcije mekih tkiva, osteomijelitis, pseudoartroza i dr, dok posebno mesto zauzima glavobolja, bol, vrtoglavica i atrofija mozga. U kontrolnoj grupi, posebno mesto zauzimaju akutne unutrašnje bolesti, verovatno kao pozna posledica traume abdomena i kao komplikacija najčešće rešavana operativnim putem.

Kontrakture i infekcije mekih tkiva opisuju se danas kao najčešće komplikacije na prijemu u institucije za POR kod traumatskih amputacija različite etiologije^{4, 7, 17, 18, 20}. Prisustvo stranih tela i protruzija kosti, kao veoma učestale komplikacije na prijemu u Specijalnu bolnicu u našim grupama, verovatno su posledica činjenice da su svi bolesnici bili povređeni u ratnim dejstvima, jer se kod amputacija ove etiologije, pored ranije navedenih komplikacija, i ove

često opisuju^{1, 5}. Posebno mesto u paleti psihopatološke simptomatologije osoba sa amputiranim ekstremitetom zauzima depresivna reakcija. Nju Kashani i sar.⁶ registruju kod 25–42% bolesnika sa amputacijom, Cansever i sar.¹¹ kod 34,7% bolesnika sa traumatskom amputacijom i 51,4% bolesnika sa hirurškom amputacijom, Singh i sar.¹⁴ kod 26,7% i Hawamdeh i sar.¹⁶ kod 20% bolesnika sa amputacijom donjeg ekstremiteta, što je sve nesumljivo više od incidencije depresije kod tzv. opšte populacije (4,3%)²⁹. Depresivna reakcija se ne može pripisati samo gubitku ekstremiteta već i smanjenoj mogućnosti za zaposlenje i socijalnoj interakciji, a povećanoj zavisnosti^{6, 9, 11, 15, 16}. Znatno višu frekvenciju depresivnih bolesnika među našim politraumatizovanim bolesnicima sa amputiranim ekstremitetom sa KCP možemo objasniti prethodno navedenim faktorima, ali i zapažanjem da je hronicitet oboljenja, posebno onih vezanih za dugotrajni bol, u pozitivnoj korelaciji sa razvojem depresije³⁰. Naši nalazi možda najsveobuhvatnije odgovaraju posttraumatskom stres sindromu američkih autora i njegovoj subakutnoj i hroničnoj fazi sa čestom udruženošću depresije i posttraumatskog stresnog poremećaja savremenih autora^{31–36}.

Bolesnici sa amputacijom ekstremiteta i sa KCP proveli su visoko značajno više vremena na POR (259,09 vs. 183,53 dana). Uticaj trajanja pojedinih faza na trajanje celokupne POR u principu je bio jednak, ali je svaka od tih faza visokoznačajno duže trajala kod bolesnika sa amputiranim ekstremitetom i sa KCP. Ovako značajna razlika u trajanju POR sigurno je uslovljena i njihovim nižim funkcionalnim statusom na početku POR – skoro polovina bolesnika sa amputiranim ekstremitetom i sa KCP bila je na nivou na kom se koriste invalidska kolica, a jedan manji broj bio je nesposoban za bilo kakav transfer izvan kreveta. Za razliku od njih, najveći broj bolesnika grupe B na prijemu bio je osposobljen za hod uz pomoć štaka, manji broj bio je na nivou na kom su koristili invalidska kolica, dok apsolutno nepokretnih bolesnika (na nivou kreveta) nije bilo.

Veliki uticaj na dužinu POR bolesnika sa amputiranim ekstremitetom i sa KCP imale su komplikacije na prijemu. One su bile brojnije i teže, njihovo opšte zdravstveno stanje i kondicija bili su slabiji, a protetički program obimniji i kompleksniji, uz duže primenjivanje fizikalnih procedura. Komplikacije tokom POR nisu pokazale značajnu razliku između grupa čime je njihov uticaj na trajanje POR bio minimiziran. Inače, opisano je da komplikacije produžuju POR i kod potkolenih amputacija¹⁰. Takođe, ne sme se izgubiti iz vida ni činjenica da bolesnici sa lakšom povredom glave, i kada nisu sa amputiranim ekstremitetom, ostaju u značajnom broju sa neurološkim deficitom, poremećajem ponašanja i smanjenom intelektualnom funkcijom^{13, 22, 25, 28}. Kod takvih bolesnika često su prisutni devijantno ponašanje, teška glavobolja, vrtoglavica i kognitivni poremećaji^{23, 24, 27}. Naša istraživanja pokazala su da se i kod politraumatizovanih sa amputacijom i KCP uočavaju slični poremećaji koji imaju negativan uticaj na tok, dužinu i ishod POR.

Značaj obavljenih istraživanja leži u činjenici da ona ukazuju na uticaj funkcionalnog statusa bolesnika sa amputiranim ekstremitetom i sa KCP na početku POR, odnos-

no uticaj komplikacija sa kojima započinje POR, kao i uticaj komplikacija koje se razvijaju tokom POR na njen ishod. Rezultati obavljenih istraživanja omogućavaju izbor protetskih sredstava i njegovih komponenti optimalnih kod bolesnika sa amputiranim ekstremitetom i sa KCP u ovom trenutku, ali ostavljaju mogućnost da u budućnosti budu zamenjena savremenijim sredstvima te vrste, ukoliko zadovoljavaju kriterijume definisane ovim istraživanjem. Konačno, delimo mišljenje kolega¹² koji iskustva stečena sa rehabilitacijom povređenih u ratu vide kao veliki doprinos razvoju fizikalne medicine i rehabilitacije, ali i kao sredstvo za uspešniji razvoj zdravstvene zaštite pogodene zemlje.

Zaključak

Bolesnici sa transfemoralnom amputacijom kao posledicom politraume sa KCP započinjali su POR sa statistički značajno većim brojem protetskih komplikacija koje su imale uticaja na njeno trajanje i uspeh, proveli su statistički značajno duže vreme na POR, a njen ishod je bio i statistički značajno slabiji. Uticaj broja komplikacije tokom POR na uspeh te rehabilitacije ne može se proučavati na osnovu promene BS, PS i TFO, a može na osnovu ocene uspeha rehabilitacije. Kod ispitanika sa komplikacijama tokom POR može se češće očekivati ocena 4 za uspeh rehabilitacije.

L I T E R A T U R A

1. Herndon JH, Tolo VT, Buchman RJ, La Noue AM. Unrecognized vascular lesions in war-injured amputees. *J Trauma* 1973; 13(8): 672–7.
2. Antunović V, Djordjević Ž, Djurović B, Grujić D. Craniocerebral injuries in trauma. *Acta Traumatol Serb* 1991; 8: 26–8. (Serbian)
3. Teofilovski M. Hallmark features of prosthetic-orthotic rehabilitation of the polytrauma patients with craniocerebral injury [dissertation]. Belgrade: School of Medicine; 2000. (Serbian)
4. Eremić S, Teofilovski M, Dimitrijević I, Devčević G, Marković Z, Blagojević T, et al. The stump characteristics that unfavourably affect the course and outcome of prosthetic rehabilitation. *Int J Rehabil Res* 2004, 27(Suppl. 1):174.
5. Starnes BW, Beekley AC, Sebasta JA, Andersen CA, Rush RM Jr. Extremity vascular injuries on the battlefield: tips for surgeons deploying to war. *J Trauma* 2006; 60(2): 432–42.
6. Kashani JH, Frank RG, Kashani SR, Wonderlich SA, Reid JC. Depression among amputees. *J Clin Psychiatry* 1983; 44(7): 256–8.
7. Stone LR, Keenan MA, Shin DY. Acquired limb loss in patients with traumatic brain injury. *Am J Phys Med Rehabil* 1990; 69(3): 135–9.
8. Teofilovski M. Prosthetic-orthotic evaluation of the polytrauma patients during rehabilitation – integral treatment [thesis]. Belgrade: School of Medicine; 1996. (Serbian)
9. Pernot HF, Winnubst GM, Cluitmans JJ, De Witte LP. Amputees in Limburg: incidence, morbidity and mortality, prosthetic supply, care utilisation and functional level after one year. *Prosthet Orthot Int* 2000; 24(2): 90–6.
10. Jandrić S, Topić B. Effect of primary and secondary below-knee amputation of war injuries on the length of hospitalization and rehabilitation. *Vojnosanit Pregl* 2002; 59(3): 261–4. (Serbian)
11. Cansaver A, Uzun O, Yildiz C, Ates A, Atesalp AS. Depression in men with traumatic lower part amputation: a comparison to men with surgical lower part amputation. *Mil Med* 2003; 168(2): 106–9.
12. Eldar R, Jelić M. The association of rehabilitation and war. *Disabil Rehabil* 2003; 25(18): 1019–23.
13. Petchprapai N, Winkelmann C. Mild traumatic brain injury: determinants and subsequent quality of life. A review of the literature. *J Neurosci Nurs* 2007; 39(5): 260–72.
14. Singh R, Hunter J, Philip A. The rapid resolution of depression and anxiety symptoms after lower limb amputation. *Clin Rehabil* 2007; 21(8): 754–9.
15. Asano M, Rushton P, Miller WC, Deathe BA. Predictors of quality of life among individuals who have a lower limb amputation. *Prosthet Orthot Int* 2008; 32(2): 231–43.
16. Hawamdeh ZM, Othman YS, Ibrahim AI. Assessment of anxiety and depression after lower limb amputation in Jordanian patients. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2008; 4(3): 627–33.
17. Cope DN, Hall K. Head injury rehabilitation: Benefit of early intervention. *Arch Phys Med Rehabil* 1982; 63(9): 433–7.
18. Kauzlaric N, Sekelj-Kauzlaric K, Jelic M. Experience in prosthetic supply of patients with lower limb amputations in Croatia. *Prosthet Orthot Int* 2002; 26(2): 93–100.
19. Pires L, Rodrigues JM, Romero M, Silva Nunes J, Cunha E Sá D, Dinis da Gama A. Traumatic vasculo-orthopedic combined lesions: 18-years retrospective evaluation of epidemiology and risks factors for amputation. *Rev Port Cir Cardiorac Vasc* 2005; 12(4): 239–42. (Portuguese)
20. Rotter K, Sanhueza R, Robles K, Godoy M. A descriptive study of traumatic lower limb amputees from the Hospital Hel Trabajador: clinical evolution from the accident until rehabilitation discharge. *Prosthet Orthot Int* 2006; 30(1): 81–6.
21. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Injuries resulting from car surfing-United States, 1990-2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2008; 57(41): 1121–4.
22. Gronwall D, Wrightson P. Delayed recovery of intellectual function after minor head injury. *Lancet* 1974; 2(7881): 605–9.
23. Rimel RW, Giordani B, Barth JT, Boll TJ, Jane JA. Disability caused by minor head injury. *Neurosurgery* 1981; 9(3): 221–8.
24. Wrightson P, Gronwall D. Mild head injury in New Zealand: incidence of injury and persisting symptoms. *N Z Med J* 1998; 111(1062): 99–101.
25. Mittenberg W, Strauman S. Diagnosis of mild head injury and the postconcussion syndrome. *J Head Trauma Rehabil* 2000; 15(2): 783–91.
26. De Kruijk JR, Twijnstra A, Leffers P. Diagnostic criteria and differential diagnosis of mild traumatic brain injury. *Brain Inj* 2001; 15(2): 99–106.
27. Killam C, Cantin RL, Santucci AC. Assessing the enduring residual neuropsychological effects of head trauma in college athletes who participate in contact sports. *Arch Clin Neuropsychol* 2005; 20(5): 599–611.
28. Tan CW, Wang ZZ, Xu JY, Sun ZL, Wang L, Chai B. Study of mental disorder due to brain damage. *Fa Yi Xue Za Zhi* 2008; 24(5): 339–41. (Chinese)
29. Klerman GL, Weissmann MM. Interpersonal psychotherapy (IPT) and drugs in the treatment of depression. *Pharmacopsychiatry* 1987; 20(1): 3–7.
30. Frank RG, Beck NC, Parker JC, Kashani JH, Elliott TR, Haut AE, et al. Depression in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1988; 15(6): 920–5.
31. Gersons BP, Carlier IV. Post-traumatic stress disorder: the history of a recent concept. *Br J Psychiatry* 1992; 161: 742–8.
32. Kamenchenko PV, Vorob'ev VYu. Mental disorders after amputation of the extremities. *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova* 1992; 92(2): 74–8. (Russian)

33. Reynolds M, Brewin CR. Intrusive cognitions, coping strategies and emotional responses in depression, post-traumatic stress disorder and a non-clinical population. *Behav Res Ther* 1998; 36(2): 135–47.
34. Briere J, Spinazzola J. Phenomenology and psychological assessment of complex posttraumatic states. *J Trauma Stress* 2005; 18(5): 401–12.
35. Lindauer RJ, Boojj J, Habraken JB, van Meijel EP, Uylings HB, Olf M, et al. Effects of psychotherapy on regional cerebral blood flow during trauma imagery in patients with post-traumatic stress disorder: a randomized clinical trial. *Psychol Med* 2008; 38(4): 543–54.
36. Simonović M, Grbeša G, Milenković T, Radisavljević M. Assessment of clinical depression comorbid with posttraumatic stress disorder. *Vojnosanit Pregl* 2008; 65(3): 199–204. (Serbian)
37. Braddom RL. *Physical Medicine and Rehabilitation*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 2000.
- Primljen 03. III 2009.
Prihvaćen 20. XII 2009.



Efikasnost hijaluronske kiseline u terapiji hroničnog gingivitisa kod dece

Efficacy of hyaluronic acid in the treatment of chronic gingivitis in children

Marija Igić*, Dragan Mihailović†, Ljiljana Kesić*, Mirjana Apostolović*,
Ljiljana Kostadinović*, Olivera Tričković Janjić*, Jelena Milašin‡

*Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu, Klinika za stomatologiju, †Institut za patologiju, Niš, Srbija; ‡Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu, Institut za biologiju i humanu genetiku, Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Gingivitis je česta pojava kod dece i može se smatrati faktorom rizika od nastanka i progresije oboljenja ostalih parodontalnih tkiva. Zato je potrebno blagovremeno i adekvatno reagovati kako ne bi došlo do progresije bolesti i nastanka parodontopatije. Cilj rada bio je da se utvrdi efikasnost primene hijaluronske kiseline u terapiji hroničnih gingivitisa kod dece. **Metode.** Ispitivanjem je bilo obuhvaćeno 130 dece sa stalnom denticijom. Svi ispitanici bili su podeljeni u tri grupe: grupa I – 50 ispitanika sa hroničnim gingivitisom kod kojih je primenjena samo bazična terapija; grupa II – 50 ispitanika sa hroničnim gingivitisom, kod kojih je uz bazičnu terapiju primenjena i terapija hijaluronskom kiselinom; grupa III – 30 ispitanika sa zdravom gingivom (kontrolna grupa). Procena stanja oralne higijene, stanja zdravlja gingive i parodonticijuma vršena je uz pomoć odgovarajućih indeksa pre i posle terapije. Inflamacija gingive praćena je citomorfometrijskim ispitivanjima. **Rezultati.** Pre terapije, vrednosti indeksa plaka (PI) bile su visoke: u grupi I 1,94, a u grupi II 1,68. Nakon terapije u obe grupe vrednosti PI iznosile su 0. U grupi III vrednost PI bila je 0,17. Indeks krvarenja (IKR) u grupi I pre terapije bio je 2,02, a posle terapije 0,32; u grupi II IKR pre terapije bio je 1,74, a posle terapije 0,16. U grupi III IKR bio je 0. U grupi I, pre terapije, *Community Periodontal Index of Treatment Needs* (CPITN) bio je 1,66, a posle terapije 0,32; u grupi II pre terapije CPITN bio je 1,5, a posle terapije 0,24. U grupi III CPITN indeks bio je 0. Kod ispitanika grupe I nakon terapije citomorfometrijskim ispitivanjem utvrđeno je da je došlo do smanjenja veličine jedara pločasto slojevitog epitela gingive, ali ne u tolikoj meri kao kod ispitanika grupe II. **Zaključak.** Bazičnom terapijom može se uspešno sanirati hronični gingivitis kod dece. Primena hijaluronske kiseline uz bazičnu terapiju može bitno poboljšati ovaj efekat.

Ključne reči: gingivitis; hijaluronska kiselina; deca.

Abstract

Introduction/Aim. Gingivitis is a common occurrence in children and may well be thought as a risk factor for the appearance and progression of the diseases of parodontal tissues. It is thus necessary to react in a timely and adequate fashion to prevent the disease to become serious and produce parodontopathy. The aim of the study was to establish the efficacy of hyaluronic acid in the treatment of chronic gingivitis in children. **Methods.** The study enrolled 130 children with permanent dentition. All of the examinees were divided into three groups: group I – 50 patients with chronic gingivitis in which only the basic treatment was applied; group II – 50 patients with chronic gingivitis in which hyaluronic acid was applied in addition to basic treatment; group III – 30 examinees with healthy gingiva (control group). Assessment of oral hygiene and status of the gingiva and parodontium was done using the appropriate indexes before and after the treatment. Inflammation of the gingiva was monitored by way of cytomorphometric studies. **Results.** The pretreatment values of the plaque index (PI) were high: in the group I PI was 1.94; in the group II PI was 1.68. After the treatment, the PI value was reduced to null in both groups (PI = 0). In the group III PI was 0.17. The bleeding index (BI) in the group I was 2.02 before and 0.32 after the treatment; the BI value in the group II was 1.74 before and 0.16 after the treatment. In the group III BI was 0. In the group I, the Community Periodontal Index of Treatment Needs (CPITN) was 1.66 before and 0.32 after the treatment; in the group II, the CPITN value was 1.5 before and 0.24 after the treatment. In the group III, the CPITN value was 0. In the group I, the size of the nuclei of the stratified squamous epithelium of the gingiva was reduced, although not so much as the nuclear size in the group II of examinees. **Conclusion.** Basic treatment is able to successfully treat chronic gingivitis in children. The use of hyaluronic acid together with the basic treatment can markedly improve the treatment effect.

Key words: gingivitis; hyaluronic acid; child.

Uvod

Gingivitis su najčešća oboljenja oralne sluzokože kod dece. Nastaju kao posledica reakcije gingivalnog tkiva na oštećenja i nadražaje izazvane lokalnim agensima (mikroorganizmima i njihovim produktima poreklom iz oralnog biofilma). Akumulacija oralnog biofilma rezultat je loše oralne higijene, i najefikasnija metoda lečenja inflamacije je njegovo uklanjanje¹. Kliničko poboljšanje direktno je povezano sa redukcijom oralnog biofilma^{2,3}. Profesionalno uklanjanje oralnog biofilma u kombinaciji sa pravilnim održavanjem oralne higijene u većini slučajeva dovodi do sanacije gingivitisa. Pored bazične terapije u lečenju gingivitisa pozitivne efekte ispoljava lokalna primena hijaluronske kiseline⁴. Ona deluje antiinflamatorno tako što inaktivira bakterijski enzim hijaluronidazu koji olakšava prodiranje bakterija. Deluje antiinfektivno i time što uravnotežuje ćelijsku propustljivost i smanjuje povećanu propustljivost kapilara, te na taj način sprečava prodor bakterija u dublja tkiva. Takođe, zahvaljujući izrazito visokom kapacitetu vezivanja vode, ima izraženo antiedematozno dejstvo. Konačno, dokazano je da hijaluronska kiselina ubrzava zarastanje rana, odnosno poseduje regeneracijski potencijal^{5,6,7}.

Cilj rada bio je da se utvrdi efikasnost hijaluronske kiseline u terapiji hroničnog gingivitisa kod dece.

Metode

Ispitivanjem je bilo obuhvaćeno 130 dece uzrasta od 13 do 17 godina, podjednake polne zastupljenosti. Ispitanici su podeljeni u tri grupe: grupu I činila su deca sa inflamiranom gingivom (*gingivitis catarrhalis*), kod koje je primenjena bazična terapija (50 ispitanika); grupu II činila su deca sa inflamiranom gingivom (*gingivitis catarrhalis*), kod koje je posle bazične terapije primenjena terapija aplikovanjem hijaluronske kiseline (50 ispitanika); grupu III činila su deca sa zdravom gingivom (kontrolna grupa – 30 ispitanika). Deci iz grupe I profesionalno su uklonjene meke naslage pomoću paste i rotirajućih četkica posle postavljene dijagnoze. Čvrste naslage (zubni kamenac i konkrementi) uklanjane su srpastim instrumentom.

Deci iz grupe II, posle postavljene dijagnoze i sprovedene bazične terapije, aplikovana je hijaluronska kiselina u tkivo gingive laganim utrljavanjem gela. Terapija je primenjivana svakodnevno tokom nedelju dana.

Procena stanja oralne higijene, gingive i parodontijuma vršena je uz pomoć odgovarajućih indeksa. Svakom detetu pre i posle terapije mereni su sledeći indeksi: indeks plaka prema Greene-Vermillionu (PI), indeks krvarenja po Muhlemannu (IKR) i zajednički parodontalni indeks neophodnog tretmana (*Community Periodontal Index of Treatment Needs – CPITN*).

Svakom detetu pre i posle terapije uzimani su uzorci (brisevi) sa gingive i pravljen je direktni razmaz na pločici. Za morfometrijsku analizu korišćen je program *Image J*, na mikroskopu NU2 (Carl Zeiss, Jena, Germany), objektiv $\times 63$ (NA = 0,8). Na citološkom materijalu, morfometrijskom analizom praćene su sledeće varijable: areal jedra, optička gustina, standardna devijacija optičke gustine, modna vrednost optičke gustine, minimalna vrednost optičke gustine, maksimalna vrednost optičke gustine, obim jedra, cirkularnost jedra, Feretov prečnik i integrisana optička gustina (IOD).

Statistička analiza vršena je primenom Studentovog *t*-testa.

Dijagnostičke i terapijske postupke obavio je jedan istraživač u Klinici za stomatologiju u Nišu. Za celokupno istraživanje i uzimanje briseva sa gingive dobijena je saglasnost Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Nišu.

Rezultati

Korišćeni indeksi za procenu oralne higijene i zdravlja gingive i parodontijuma ukazali su na znatno poboljšanje stanja gingive i bitno smanjenje procesa inflamacije u obe grupe ispitanika sa gingivitisom (tabela 1). Studentovim *t*-testom dobijene su statistički značajne razlike ($p < 0,001$) za vrednosti ispitivanih indeksa pre i posle terapije.

Terapija hijaluronskom kiselinom bitno je doprinela uspehu lečenja, što je i potvrđeno citomorfometrijskom analizom (tabele 2–4).

Rezultati ispitivanih morfometrijskih varijabli grupa I i III posle terapije prikazani su u tabeli 2. Primenom *t*-testa, dobijene su statistički visokoznačajne razlike ($p < 0,001$) između grupe I i III posle terapije za sve ispitivane varijable, osim za cirkularnost jedra. Takođe, dobijena je statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u cirkularnosti jedra.

Rezultati poređenja ispitivanih morfometrijskih varijabli grupa II i III posle terapije dati su u tabeli 3. Studentovim *t*-testom dobijene su statistički visokoznačajne razlike ($p < 0,001$) za areal jedra, standardnu devijaciju optičke gustine,

Tabela 1
Srednje vrednosti indeksa plaka (PI), indeksa krvarenja (IKR) i zajedničkog parodontalnog indeksa neophodnog tretmana (CPITN) pre i posle terapije

Grupa ispitanika	Indeksi	Pre terapije			Posle terapije		
		\bar{x}	SD	Kv	\bar{x}	SD	Kv
Bazična (I)	PI	1,94	0,62	31,95	0,00	0,00	–
Hijaluronska (II)		1,68	0,47	28,05	0,00	0,00	–
Kontrolna (III)		0,17	0,38	227,43	–	–	–
Bazična (I)	IKR	2,02	0,68	33,90	0,32	0,47	147,25
Hijaluronska (II)		1,74	0,44	25,46	0,16	0,37	231,46
Kontrolna (III)		0,00	0,00	–	–	–	–
Bazična (I)	CPITN	1,66	0,56	33,57	0,32	0,47	147,25
Hijaluronska (II)		1,50	0,51	33,67	0,24	0,43	179,76
Kontrolna (III)		0,00	0,00	–	–	–	–

\bar{x} – srednja vrednost, SD – standardna devijacija, Kv – koeficijent varijacije

Tabela 2

Poređenje rezultata grupe I i grupe III posle terapije

Citomorfolometrijska analiza (varijable)	I grupa	III grupa	<i>t</i>	<i>p</i>
Areal jedra (μm^2)	60,42	38,57	-7,32	0,000
Optička gustina (au)	0,32	0,37	4,64	0,000
Standardna devijacija optičke gustine (au)	0,03	0,02	-3,90	0,000
Modna vrednost optičke gustine (au)	0,33	0,37	3,24	0,001
Minimalna vrednost optičke gustine (au)	0,23	0,29	9,25	0,000
Maksimalna vrednost optičke gustine (au)	0,39	0,43	2,72	0,007
Obim jedra (μm)	29,55	24,02	-7,53	0,000
Cirkularnost jedra	0,85	0,82	-1,92	0,057
Feretov prečnik (μm)	10,42	8,30	-7,55	0,000
Integrisana optička gustina (μm)	19,37	13,87	-5,37	0,000

Tabela 3

Poređenje rezultata grupa II i III posle terapije

Citomorfolometrijska analiza (varijable)	I grupa	III grupa	<i>t</i>	<i>p</i>
Areal jedra (μm^2)	49,12	38,57	-3,35	0,001
Optička gustina (au)	0,31	0,37	5,64	0,000
Standardna devijacija optičke gustine (au)	0,02	0,02	0,45	0,65
Modna vrednost optičke gustine (au)	0,31	0,37	5,28	0,000
Minimalna vrednost optičke gustine (au)	0,24	0,29	6,33	0,000
Maksimalna vrednost optičke gustine (au)	0,38	0,44	3,96	0,000
Obim jedra (μm)	26,43	24,02	-2,83	0,005
Cirkularnost jedra	0,85	0,82	-2,49	0,013
Feretov prečnik (μm)	9,25	8,30	-2,97	0,003
Integrisana optička gustina (μm)	15,04	13,87	-1,17	0,242

modnu vrednost optičke gustine, minimalnu i maksimalnu vrednost optičke gustine između grupa II i III posle terapije. Takođe, dobijene su i statistički značajne razlike ($p < 0,05$) za obim jedra, cirkularnost jedra i Feretov prečnik između grupa II i III posle terapije.

Rezultati poređenja ispitivanih varijabli grupa I i II posle terapije prikazani su u tabeli 4. Primenom *t*-testa dobijene su statistički visokoznačajne razlike ($p < 0,001$) za areal jedra, standardnu devijaciju optičke gustine, obim jedra, Feretov prečnik i integrisanu optičku gustinu između

Tabela 4

Poređenje rezultata grupa I i II posle terapije

Citomorfolometrijska analiza (varijable)	I grupa	II grupa	<i>t</i>	<i>p</i>
Areal jedra (μm^2)	60,42	49,12	3,31	0,001
Optička gustina (au)	0,32	0,31	1,65	0,100
Standardna devijacija optičke gustine (au)	0,03	0,02	4,71	0,000
Modna vrednost optičke gustine (au)	0,33	0,31	2,70	0,007
Minimalna vrednost optičke gustine (au)	0,23	0,24	-2,35	0,020
Maksimalna vrednost optičke gustine (au)	0,39	0,38	1,56	0,119
Obim jedra (μm)	29,55	26,43	3,69	0,000
Cirkularnost jedra	0,85	0,85	-0,55	0,580
Feretov prečnik (μm)	10,42	9,25	3,71	0,000
Integrisana optička gustina (μm)	19,37	15,04	3,83	0,000

grupa I i II, nakon terapije. Takođe, dobijene su i statistički značajne razlike ($p < 0,05$) u modnoj vrednosti optičke gustine i minimalnoj vrednosti optičke gustine između grupa I i II posle terapije.

Rezultati poređenja ispitivanih varijabli grupe I pre i posle terapije prikazani su u tabeli 5. Primenom t -testa dobijene su statistički visokoznačajne razlike ($p < 0,001$) za areal jedra, obim jedra, Feretov prečnik i integrisanu optičku gustinu između ispitivanih varijabli grupe I pre i posle terapije.

Rezultati poređenja ispitivanih varijabli grupe II pre i posle terapije prikazani su u tabeli 6. Primenom t -testa dobijene su statistički visokoznačajne razlike ($p < 0,001$) za areal jedra, obim jedra, Feretov prečnik i integrisanu optičku gustinu između ispitivanih varijabli grupe II pre i posle terapije.

promene ireverzibilne⁹. Sve parodontopatije počinju sa gingivitisima, ali ne moraju svi gingivitisi da pređu u parodontopatiju.

Složena etiopatogeneza oboljenja tkiva parodonticijuma koja se razvijaju u kompleksnom anatomskom supstratu otežava njihovo praćenje. Patološki procesi koji zahvataju tkivo parodonticijuma započinju bez spoljašnje manifestacije, a početne reakcije su bez mogućnosti detekcije.

Uznapredovalost oboljenja je od presudnog značaja kada je reč o potrebnom tretmanu i prognozi samog oboljenja. Iz tih razloga je potrebno svaki gingivitis terapijski tretirati, kako ne bi došlo do progresije bolesti u dublja tkiva parodonticijuma i nastanka ireverzibilnih promena.

Tabela 5

Poređenje rezultata grupe I pre i posle terapije

Citomorfolometrijska analiza (varijable)	Pre terapije	Posle terapije	t	p
Areal jedra (μm^2)	77,80	60,42	4,978	0,0000
Optička gustina (au)	0,33	0,32	0,82	0,4137
Standardna devijacija optičke gustine (au)	0,02	0,03	-1,86	0,0649
Modna vrednost optičke gustine (au)	0,33	0,33	0,19	0,8481
Minimalna vrednost optičke gustine (au)	0,24	0,23	2,14	0,0339
Maksimalna vrednost optičke gustine (au)	0,41	0,39	1,18	0,2403
Obim jedra (μm)	33,63	29,55	5,20	0,0000
Cirkularnost jedra	0,85	0,85	0,20	0,8430
Feretov prečnik (μm)	11,79	10,42	4,68	0,000
Integrisana optička gustina (μm)	24,95	19,37	5,04	0,000

Tabela 6

Poređenje rezultata grupe II pre i posle terapije

Citomorfolometrijska analiza (varijable)	Pre terapije	Posle terapije	t	p
Areal jedra (μm^2)	82,32	49,12	7,75	0,0000
Optička gustina (au)	0,30	0,31	-0,34	0,7199
Standardna devijacija optičke gustine (au)	0,02	0,02	1,04	0,3018
Modna vrednost optičke gustine (au)	0,31	0,31	-0,30	0,7644
Minimalna vrednost optičke gustine (au)	0,23	0,24	-1,17	0,0783
Maksimalna vrednost optičke gustine (au)	0,38	0,38	0,12	0,9004
Obim jedra (μm)	34,06	26,43	8,02	0,0000
Cirkularnost jedra	-0,86	0,85	1,29	0,1990
Feretov prečnik (μm)	11,89	9,29	7,58	0,0000
Integrisana optička gustina (μm)	24,33	15,04	7,66	0,0000

Diskusija

Oboljenja parodontalnih tkiva su među najučestalijim oboljenjima mekih oralnih tkiva kod dece i adolescenata⁸. Rana dijagnoza i terapija su važne, jer oboljenje parodonticijuma koje je u početnoj fazi, ukoliko se ne leči, vremenom može progredirati. Hronični gingivitis se znatno razlikuje od parodontopatije kod koje su patološke

Gingivitis je izlečiva bolest, a njegova terapija mora biti usmerena ka smanjenju etioloških faktora (bakterije, meke i čvrste naslage), kako bi se smanjila ili eliminisala upala i tako omogućilo tkivu gingive da zaraste^{10,11}.

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da je nakon uklanjanja oralnog biofilma kod prve grupe ispitanika došlo do značajnog poboljšanja stanja gingive, što je potvrđeno odgovarajućim indeksima (PI, IKR, CPITN). Istraživanja drugih

autora, takođe, potvrđuju da je sanacija gingivitis u direktnoj vezi sa redukcijom oralnog biofilma².

Kod grupe II ispitanika u terapiji hroničnog gingivitis pored bazične terapije na tkivo gingive aplikovana je i hijaluronska kiselina. Dobijene vrednosti za PI, IKR i CPITN nakon terapije pokazuju da hijaluronska kiselina, zahvaljujući svom antiinflamatornom, antiinfektivnom, antiedematoznom i regenerativnom dejstvu pomaže u sanaciji hroničnog gingivitis kod dece.

Hijaluronska kiselina je prirodna biološka supstanca koja se nalazi u vezivnom tkivu gingive^{12, 13}. Kod hroničnih gingivitis, pod dejstvom bakterijskih enzima (hijaluronidaze) dolazi do razlaganja hijaluronske kiseline. Usled toga, gubi se struktura gingivalnog tkiva, omogućava se intenzivnija razmena tečnosti između tkiva i vaskularnog sistema, a sve to rezultuje pojavom edema. Povećana propustljivost kapilara omogućava bakterijama i njihovim toksinima da lakše prodru u tkivo, što intenzivira zapaljenje. Aplikovana na tkivo inflamirane gingive hijaluronska kiselina ispoljava antinflamatorni, antiedematozni i antiproliferativni efekat^{4, 14}.

Rezultati ove studije podudaraju se sa istraživanjima drugih koja su pokazala da lokalna primena hijaluronske kiseline na tkivo gingive, u vidu spreja ili gela, smanjuje krvarenje i inflamaciju gingive^{4, 15}. Značajno kliničko poboljšanje nakon tretmana gingivitis hijaluronskom kiselinom, koje se između ostalog manifestuje i smanjenjem gingivalnog krvarenja, nalaze i drugi autori^{16, 17}.

Inflamacija gingive česta je kod dece. Epitelne ćelije tada, nezavisno od stepena diferencijacije, pokazuju odstupanja u veličini i obliku.

Višeslojni pločasti epitel usne duplje podvrgnut je neprestanom procesu deskvamacije. Ovaj proces zavisi od mitotičke aktivnosti bazalnog sloja epitelnih ćelija, od enzimskih procesa u epitelnim ćelijama i od delovanja mehaničkih iritacija¹⁸.

Poznato je da tokom zapaljenskih reakcija dolazi do uvećanja jedara ćelija pločastoslojevitog epitela. Rezultati koje smo dobili pokazuju razliku u veličini jedara inflamirane i zdrave gingive. Kod grupe I ispitanika, kod kojih je kao terapija za kataralni gingivitis korišćena samo bazična terapija, došlo je do smanjenja veličine jedara nakon terapije, ali ne u tolikoj meri kao kod ispitanika grupe II kod kojih je u terapiji za kataralni gingivitis pored bazične terapije lokalno aplikovana hijaluronska kiselina. Ovo ukazuje na značajan efekat hijaluronske kiseline u terapiji za hronični gingivitis kod dece. Kako u literaturi ne postoje studije eksfolijativne citologije gingive kod dece, trenutno je nemoguće porediti dobijene rezultate, koji predstavljaju pionirski pokušaj da se prikažu promene unutar ćelija gingive koje nastaju nakon terapije za hronični kataralni gingivitis kod dece.

Zaključak

Bazičnom terapijom može se uspešno sanirati hronični gingivitis kod dece. Dodatna primena hijaluronske kiseline doprinosi poboljšanju efekata bazične terapije.

L I T E R A T U R A

1. Grundemann LJ, Timmerman MF, Ijzerman Z, van der Weijden GA. Stain plaque and gingivitis reduction by combining chlorhexidine and peroxyborate. *J Clin Periodontol* 2000; 27(1): 9–15.
2. Feres M, Haffajee AD, Allard K, Som S, Socransky SS. Change in subgingival microbial profiles in adult periodontitis subjects receiving either systemically-administered amoxicillin or metronidazole. *J Clin Periodontol* 2001; 28(7): 597–609.
3. Rams TE, Listgarten MA, Slots J. Utility of 5 major putative periodontal pathogens and selected clinical parameters to predict periodontal breakdown in patients on maintenance care. *J Clin Periodontol* 1996; 23(4): 346–54.
4. Jentsch H, Pomonski R, Kundt G, Göcke R. Treatment of gingivitis with hyaluronan. *J Clin Periodontol* 2003; 30(2):159–64.
5. Oksala O, Salo T, Tammi R, Häkkinen L, Jalkanen M, Inki P, Larjava H. Expression of proteoglycans and hyaluronan during wound healing. *J Histochem Cytochem* 1995; 43(2): 125–35.
6. Irwin CR, Schor SL, Ferguson MW. Effects of cytokines on gingival fibroblasts in vitro are modulated by the extracellular matrix. *J Periodontol Res* 1994; 29(5): 309–17.
7. Bartold PM. Platelet-derived growth factor stimulates hyaluronate but not proteoglycan synthesis by human gingival fibroblasts in vitro. *J Dent Res* 1993; 72(11): 1473–80.
8. Ob TJ, Eber R, Wang HL. Periodontal diseases in the child and adolescent. *J Clin Periodontol* 2002; 29(5): 400–10.
9. Dibart S. Children, adolescents and periodontal diseases. *J Dent* 1997; 25(2): 79–89.
10. Modéer T, Wondimu B. Periodontal diseases in children and adolescents. *Dent Clin N Am* 2000; 44(3): 633–59.
11. Ob TJ, Eber R, Wang HL. Periodontal diseases in the child and adolescent. *J Clin Periodontol* 2002; 29(5): 400–10.
12. Moseley R, Waddington RJ, Embery G. Hyaluronan and its potential role in periodontal healing. *Dent Update* 2002; 29(3): 144–8.
13. Giannobile WV, Riviere GR, Gorski JP, Tira DE, Cobb CM. Glycosaminoglycans and periodontal disease: analysis of GCF by safranin O. *J Periodontol* 1993; 64(3): 186–90.
14. Mesa FL, Aneiros J, Cabrera A, Bravo M, Caballero T, Revelles F, del Moral RG, O'Valle F. Antiproliferative effect of topic hyaluronic acid gel. Study in gingival biopsies of patients with periodontal disease. *Histol Histopathol* 2002; 17(3): 747–53.
15. Pistorius A, Rockmann P, Martin M, Willershausen B. The clinical application of hyaluronic acid in gingivitis therapy. *Quintessence Int* 2005; 36(7–8): 531–8.
16. Pagnacco O, Vangelisti R, Erra C, Poma A. Double-blind clinical trial vs. Placebo of a new sodium-hyaluronate-based gingival gel. *Transl Attualita` Terapeutica Int* 1997; 4: 1–12.
17. Vangelisti R, Pagnacco O, Erra C. Hyaluronic acid in the topical treatment of gingival inflammations: preliminary clinical trial. *Transl Attualita` Terapeutica Int* 1997; 3: 1–7.
18. Anuradha A, Sivapathasundharam B. Image analysis of normal exfoliated gingival cells. *Indian J Dent Res* 2007; 18(2): 63–6.

Primljen 3. III 2010.
Revidiran 12. V 2010.
Prihvaćen 27. V 2010.



Impact of stem cell source on allogeneic stem cell transplantation outcome in hematological malignancies

Uticaj izvora matičnih ćelija hematopoeze na ishod alogene transplantacije u lečenju hematoloških maligniteta

Dragana Stamatović*, Bela Balint†, Ljiljana Tukić*, Marija Elez*,
Olivera Tarabar*, Milena Todorović‡, Gordana Ostojčić†, Zeljka Tatomirović§,
Marika Ljubenov†, Slobodan Marjanović*, Milomir Malešević*

Military Medical Academy, *Clinic of Hematology, †Institute of Transfusiology, §Institute of Pathology, Belgrade, Serbia; ‡Clinical Center of Serbia, Clinic of Hematology, Belgrade, Serbia

Abstract

Background/Aim. Peripheral blood (PB) is used more frequently as a source of stem cells (SCs) for allogeneic transplantation. However, the influence of cell source on the clinical outcome of SC transplantation is not yet well established. The aim of this study was to compare the results of PBSC transplantation (PBSCT) with bone marrow transplantation (BMT) on the basis of engraftment, frequency and severity of immediate (mucositis, acute Graft *versus* Host Disease – aGvHD) and delayed (chronic GvHD – cGvHD) complications, as well as transplant-related mortality (TRM), transfusion needs, relapses and overall survival (OS). **Methods.** We analyzed 158 patients, women/men ratio 64/94 median age 29 (range 9–57), who underwent allogeneic SC transplantation between 1989 and 2009. All included patients had diseases as follows: acute myeloid leukemia (AML) – 39, acute lymphoblastic leukemia (ALL) – 47, chronic myeloid leukemia (CML) – 32, myelodysplastic syndrome (MDS) – 10, Hodgkin's lymphoma (HL) – 2, multiple myeloma (MM) – 3, granulocytic sarcoma (GrSa) – 3, severe aplastic anemia (sAA) – 22. The patients underwent transplantations were divided into two groups: BMT group (74 patients) and PBSCT group (84 patients). Each recipient had HLA identical sibling donor. SCs from bone marrow were collected by multiple aspirations of iliac bone and from PB by one "Large Volume Leukapheresis" (after recombinant human granulocyte colony stimulating factor, rHuG-CSF) application (5–12 µg/kgbm, 5 days). Conditioning regimens were applied according to primary disease, GvHD prophylaxis consisted of

combination of a cyclosporine A and methotrexate. **Results.** Engraftment, according to the count of polymorphonuclear and platelets, were significantly ($p < 0.001$) faster in the PBSCT *vs* BMT group. The needs for transfusion support were significantly ($p < 0.01$) higher in the BMT group. Those patients had more frequently oropharyngeal mucositis grade 3/4 (33.3% *vs* 10.0%, $p < 0.05$). There were no significant differences in the incidence of aGvHD and cGvHD between the two groups. The patients who underwent PBSCT had more frequently extensive cGvHD in comparison with the BMT group (29.1% *vs* 11.29%, $p < 0.05$). SC source (SCS) had no significant influence on the TRM (21.62% *vs* 23.8%, $p = 0.64$) and the incidence of relapses (21.6% *vs* 29.7%, $p = 0.32$). Finally, the patients treated by BMT had a significantly better OS (logrank 2.33, $p < 0.05$). **Conclusion.** SCs harvesting from PB resulted in improved cell yield, faster engraftment, as well as in a decrease of immediate transplantation related complications with a reduced treatment cost. Allogeneic PBSCT were associated with more frequent extensive cGvHD, while the influence of SCS in TRM and relapses was not observed. Finally, the long-term OS was better in the patients treated by BMT. To verify impact of SC source on transplantation (PBSCT *vs* BMT) overall efficacy, more larger randomized clinical studies are needed.

Key words:

hematologic neoplasms; therapeutics; transplantation, homologous; hematopoietic stem cell transplantation; bone marrow; blood; treatment outcome.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Periferna krv (PK) se sve češće koristi kao izvor matičnih ćelija (MC) hematopoeze za alogenu transplantaciju. Uprkos višegodišnjem iskustvu, uticaj izvora MC na is-

hod transplantacije u lečenju hematoloških maligniteta nije jasno definisan. Cilj rada bio je da se uporede rezultati alogene transplantacije MČ iz PK (TPMČ) i transplantacija koštane srži (TKS) prema dinamici prihvatanja kalema, učestalosti i jačini ranih (mukozitis, akutna bolest „kalem protiv

domaćina“), (*graft-versus-host disease* – aGvHD) i odloženih (hronični GvHD – hGvHD) komplikacija procedure, mortalitetu uzrokovanom transplantacijom (TRM), potrebi za transfuzijama, relapsima i ukupnom preživljavanju (OS). **Metode.** Analizirano je 158 bolesnika, 64 ženskog, 94 muškog pola, prosečne starosti 29 godina (9–57), sa oboljenjima: akutna mijeloidna leukemija (AML) – 39, akutna limfoblastna leukemija (ALL) – 47, hronična mijeloidna leukemija (CML) – 32, mijelodisplastični sindrom (MDS) – 10, Hodgkinova bolest (MH) – 2, multipli mijelom (MM) – 3, granulocitni sarkom (GrSa) – 3, teška aplatična anemija (sAA) – 22, kod kojih je u periodu 1989–2009. urađena alogena transplantacija MĆ. Bolesnici su prema izvoru transplantiranih MĆ bili podeljeni u dve grupe: prva grupa sa TKS – 74 i druga sa TPMĆ – 84 bolesnika. Kod svih bolesnika davalac je bio HLA podudarni srodnik. Matične ćelije iz koštane srži prikupljene su multiplim aspiracijama bedrene kosti, a iz periferne krvi jednom „aferezom velikog volumena“ posle primene rekombinantnog faktora koji stimuliše ljudske kolonije (rHuG-CSF, 5–12 µg/kgtm, 5 dana). Svi bolesnici primili su neselektovanu suspenziju MĆ. Kondicioni režimi bili su prilagođeni bolestima, a prevencija GvHD bila je kombinacija ciklosporina A i metotreksata. **Rezultati.** Prihvatanje kalema, prema broju polimorfonukleara i trombo-

cita bilo je značajno brže ($p < 0,001$) u grupi bolesnika sa TPMĆ, nego u grupi sa TKS. Potrebe za transfuzijama bile su značajno veće u grupi bolesnika sa TKS ($p < 0,01$). Ovi bolesnici imali su češće orofaringealni mukozitis stepena 3/4 (33,3% vs 10,0%, $p < 0,05$). Nije bilo značajne razlike u učestalosti aGvHD i hGvHD među grupama. Bolesnici sa TPMĆ imali su značajno češći hGvHD ekstenzivne forme (29,1% vs 11,29%, $p < 0,05$). Izvor MĆ nije bitnije uticao na TRM (21,62% vs 23,8%, $I = 0,64$) i relapse (21,6% vs 29,7%, $p = 0,32$). Bolesnici sa TKS imali su značajno bolje OS (*logrank* 2,33; $p < 0,05$). **Zaključak.** Periferna krv kao izvor obezbedila je veći prinos ćelija i brže prihvatanje kalema, sa ređim ranim komplikacijama transplantacije, što je uticalo na ekonomski aspekt lečenja. Alogene TPMĆ bile su praćene češćom pojavom ekstenzivne forme hGvHD, dok uticaj izvora MĆ na TRM i relaps bolesti nije utvrđen. Ukupno preživljavanje bilo je bolje kod bolesnika lečenih primenom TKS, ali za definitivno zaključivanje potrebno je randomizirano ispitivanje većeg broja ispitanika.

Ključne reči:

hematološke neoplazme; lečenje; transplantacija, homologna; transplantacija hematopoeznih matičnih ćelija; kostna srž; krv; lečenje, ishod.

Introduction

Allogeneic type of stem cell (SC) transplantation is the best therapeutic option for the treatment of inherited, and some acquired diseases of hematopoietic system and various hematological malignancies. Hematopoietic SC could be collected either from the bone marrow (BM) which is their natural residence or from the peripheral blood (PB) after chemotherapy and/or recombinant hematopoietic growth factors, as well as from the umbilical blood. Since 1995, PB has been almost a unique SC source (SCS) within autologous setting. Knowledge that PB has significantly higher number of immunocompetent cells, basically T lymphocytes, that could cause strong „Graft versus Leukemia“ effect and the fact that the use of recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rHuG-CSF) is harmless for donor¹, has led to more frequent use of this particular SCS in transplant procedures. According to the European Group for Bone Marrow and Blood Transplantation (EBMT), from a total number of allogeneic SCT in 2007, even 75% represents those with the SCS from the peripheral blood². The results of allogeneic PB SC transplantation (PBSCT) were compared with the allogeneic BM transplantation (BMT) for the treatment of hematologic malignancies. Allogeneic PBSCT is followed with faster engraftment as compared with BMT and therefore with a reduced amount of early complications related to the period of iatrogenic myelosuppression, such as mucositis and some types of infections^{3–8}. There are two different types of graft *versus* host disease (GVHD); acute GVHD (aGVHD) and chronic GVHD (cGVHD). The majority of authors^{5,6} have cited that PBSCT is followed with higher risk of appearance of cGVHD^{5,6}, while reports on the impact of SCSs on the frequency and severity of aGVHD are controversial^{7,9–11}.

Until nowadays, there has been no consensus between investigators on the influence of SC source on the disease relapse, transplant related mortality (TRM) and overall survival (OS). According to the majority of them, there is no significant impact of SCS on relapses, TRM and OS^{6,12}. There are some study groups that emphasize that allogeneic PBSCT in adults, especially in the cases of advanced stages of leukemia, has less TRM and better OS in comparison with allogeneic BMT^{7,8,13–15}.

The aim of this retrospective study was to compare PBSCT with BMT considering the engraftment, frequency and severity of immediate (mucositis, aGvHD) and delayed (cGvHD) complications, relapses TRM, and OS.

Methods

We analyzed the data on 158 patients, 64 women, 94 men median age 29 years (range 9–57), with different hematological diseases: acute myeloid leukemia (AML) – 39, acute lymphoblastic leukemia (ALL) – 47, chronic myeloid leukemia (CML) – 32, myelodysplastic syndrome (MDS) – 10, Hodgkin's lymphoma (HL) – 2, multiple myeloma (MM) – 3, granulocytic sarcoma (GrSa) – 3, severe aplastic anemia (SAA) – 22 who underwent allogeneic SC transplantation in our center from 1989 till 2009 (20 years of follow up) (Table 1).

The patients were divided into two groups according to SC source: in the first group (BMT) the SC source was BM – 74 patients (AML – 17, ALL – 13, CML – 20, MDS – 2, MM – 1, GrSa – 1, SAA – 20) and in the second group (PBSCT) SCs which originate in PB – 84 patients (AML – 22, ALL – 34, CML – 12, MDS – 8, HL – 2, MM – 2, GrSa – 2, SAA – 2) (Table 2).

Table 1

Clinical characteristics of the patients before the stem cell transplantation (n = 158)

Parameter	Values
Average age (age range), (years)	29 (9–57)
Women/men ratio (n)	64/94
Diagnosis (n)	
severe aplastic anemia	22
chronic myeloid leukemia	32
chronic phase	27
acceleration/ blast crisis	3/2
Acute myeloid leukemia (n)	39
CR1*	36
CR2**	3
Acute lymphoblastic leukemia (n)	47
CR1	28
CR2	11
resistant disease	8
Myelodysplastic syndrome (n)	10
Hodgkin lymphoma (n)	2
Multiple myeloma (n)	3
Granulocytic sarcoma (n)	3
Type of donor (n)	
syngeneic	5
HLA identical sibling	146
HLA mismatched	5
haploidentical	2
Sources of stem cell (n)	
bone marrow	74
peripheral blood	84
Conditioning regimen (n)	
busulfan and cyclophosphamide	114
cyclophosphamide + antitibymocyte globulin	22
other	22
Graft versus host disease prophylaxis (n)	
cyclosporine A + metotrexate	130
other	28

*CR1 – first complete remission; **CR2 – second complete remission

Table 2

Clinical characteristics of 158 patients according to the stem cell source

Parameter	Group of patients	
	BMT (n = 74)	PBSCT (n = 84)
Average age (age range), (years)	26 (9–52)	28 (13–57)
Diagnosis (n)		
severe aplastic anemia	20	2
chronic myeloid leukemia	20	12
acute myeloid leukemia	17	22
acute lymphoblastic leukemia	13	34
myelodysplastic syndrome	2	8
hodgkin lymphoma	0	2
multiple myeloma	1	2
granulocytic sarcoma	1	2

BMT – bone marrow transplantation; PBSCT – peripheral blood stem cell transplantation

Each patient had a HLA sibling donor. Five of them were syngeneic SC transplanted, 146 fully matched, 5 HLA mismatched and 2 were haploidentical. SCs from the BM were collected in the standard way, in the conditions of total anesthesia, by multiple needle aspiration from the donor iliac crest up to 15 mL/kgbm. SCs from the PB were usually collected, after an with apheresis of “large volume” that followed previous mobilization rHuG-CSF, 5–12 µg/kgbm for 5 consecutive days. All the patients received unselected suspension of SCs and in the cases of recipient–donor ABO in-

compatibility, adequate pre-and peritransplant preparation were performed.

Conditioning regimens were adjusted to the primary diseases. In the cases of acute leukemias, CML and GrSa combination of busulfan and cyclophosphamide 2 (Bu–Cy2) with or without addition of idarubicine (IDA) was given, whilst in MM Bu–Cy2+Melphalane was given. Conditioning in SAA was consisted of cyclophosphamide and antithymocyte globulin (Cy+ATG). Most of the used prevention of GvHD included combination of cyclosporine A and metho-

trexate (CsA+MTX) – “short” Seattle regimen¹⁶. In the posttransplant period, the patients received antimicrobial prophylaxis against possible infections (viral, fungal, bacterial, *Pneumocystis jiroveci*) along with the applications of intravenous immunoglobulins until the reconstitution of the immune system. All blood products were irradiated and filtered. Engraftment is defined as the recovery of polymorphonuclears (PMNs) above $0.5 \times 10^9/L$ and platelets (Plt) over $20 \times 10^9/L$ in three consecutive days. BM analyses were done on the days +14 and +28 after SC transplantation and chimerism was estimated with the available methods (sex chromosome, cytogenetic marker of disease, red blood cells phenotype, DNA isolation) starting from day +40 and afterwards in three months following SC transplantation. Grading of aGvHD was according to the approved “consensus” criteria¹⁷. All the patients who were alive at least 90 days after SC transplantation with adequate engraftment were enrolled in the analysis for cGvHD. TRM is defined as death after SC transplantation, while relapse is not included as a possible cause.

For comparison of the existence of some variables between the groups the χ^2 test was used. The analysis with the OS were evaluated with Kaplan–Meier method and Mann, Whitney test, were evaluated. The differences were considered as statistically significant at *p* values less than 0.05.

Results

The patients with PBSCT received much better specimen (sample) of mononuclear cells (MNC) ($10.07 \pm 7.31 \times 10^8$ vs $2.33 \pm 0.79 \times 10^8$, *p* < 0.001) in comparison with BMT. Engraftment, according to the number of PMN ($> 0.5 \times 10^9/L$) and Plt ($> 20 \times 10^9/L$) were significantly faster (*p* < 0.001) in the group of the patients treated with PBSCT for 6 days (Table 3). Needs for transfusion support of blood products (red blood cells – RBC, and Plt) were significantly higher in the BMT group (*p* < 0.01). The patients with BMT had more frequently oropharyngeal mucositis grade 3–4 (33.33% vs 9.5%, *p* < 0.05) in comparison with the other group (Table 3). There were no significant difference between the two groups according to the incidence of

aGvHD (47.3% vs 45.2%, *p* = 0.92). The patients with PBSCT had more often advanced form of aGvHD (3–4) but not at a significant level (4.05% vs 14.2%, *p* = 0.055). Although between the compared groups (BMT vs PBSCT) there were no differences in the incidence of cGvHD (37.1% vs 49.1%, *p* = 0.16), extensive form of cGvHD was significantly more frequent in the group with SCs originated from PB (11.29% vs 29.16%, *p* < 0.05). We did not notice significant differences in the incidence of relapses (21.6% vs 29.7%, *p* = 0.32) and TRM (21.62% vs 23.8%, *p* = 0.64) between the two groups of patients (Table 3).

The patients with BMT had significantly better OS in comparison with the other group (log–rank 2.33, *p* < 0.05, with median survival (X) 50.72 ± 65.79 months, *p* < 0.05) (Figure 1).

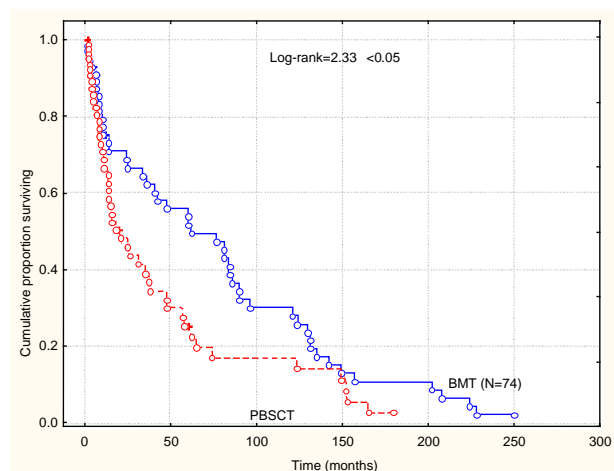


Fig. 1 – Overall survival in the 158 patients regarding the stem cell source
 BMT – bone marrow transplantation; PBSCT – peripheral blood stem cell transplantation

Furthermore, among the isolated, homogenous groups of patients concerning primary disease (AML – totally 39, BMT– 17, PBSCT – 22), the results were similar (Table 4).

Table 3
Results of stem cell transplantation in all patients according to the number of mononuclear cells (MNC), polymorphonuclears (PMN), platelet (Plt), needs for red blood cells (RBC) transfusions acute and chronic graft-versus-host disease (GvHD) and mucositis occurrence, transplant-related mortality (TRM) and relapses

Parameter	Group of patients		<i>p</i>
	BMT (n = 74)	PBSCT (n = 84)	
MNC × 10 ⁸ /kg bm	2.33 ± 0.79	10.07 ± 7.31	< 0.001
PMN > 0.5 × 10 ⁹ /L (days)	17.19 ± 5.65	11.06 ± 1.92	< 0.001
Plt > 20 × 10 ⁹ /L (days)	21.31 ± 5.46	15.35 ± 2.44	< 0.001
RBC transfusions (n)	4.0 (2–16)	2.0 (1–23)	< 0.01
Plt transfusions (n)	3.0 (1–8)	1.0 (0–16)	< 0.01
Mucositis grade 3–4 (%)	33.33	9.5	< 0.05
Acute GvHD (%)	47.32	45.26	≅ 0.92
grade 3–4	4.05	14.29	< 0.05
Chronic GvHD (%)	37.16	49.16	≅ 0.16
limited	25.87	20.00	≅ 0.92
extensive	11.29	29.16	< 0.05
TRM (%)	21.62	23.8	≅ 0.69
Relapses (%)	21.6	29.7	≅ 0.32

BMT – bone marrow transplantation; PBSCT – peripheral blood stem cell transplantation

Table 4
Results of stem cell transplantation in the homogenous group of 39 patients with acute myeloid leukemia

Parameter	Group of patients		p
	BMT (n = 17)	PBSCT (n = 22)	
Acute GvHD (%)	41.17	40.90	≅ 0.75
grade 3–4	11.76	27.2	≅ 0.43
Chronic GvHD (%)	25	50	≅ 0.23
limited	18.78	10	≅ 0.38
extensive	6.22	40	< 0.05
TRM (%)	17.6	13.6	≅ 0.91
Relapses (%)	17.6	9.1	≅ 0.75

BMT – bone marrow transplantation; PBSCT – peripheral blood stem cell transplantation; GvHD – graft versus host disease; TRM – transplant-related mortality

The compared groups (BMT vs. PBSCT) were not different in the incidence of aGvHD (41.17% vs 40.9%, $p = 0.75$) and aGvHD grade 3–4 (11.76% vs 27.21%, $p = 0.43$). Also, there was no significant difference in the incidence of cGvHD (25% vs 50%, $p = 0.23$). Extensive form of cGvHD was more frequent in the group of patients treated with PBSCT (6.2% vs 40.0%, $p < 0.05$). According to TRM and relapses, there were no significant differences between those two groups of patients (17.6% vs 13.6%, $p = 0.91$), (17.6% vs 9.1%, $p = 0.75$), respectively. The patients who underwent BMT had the better OS than those in the PBSCT group (log-rank 3.4, $p < 0.01$) (Figure 2).

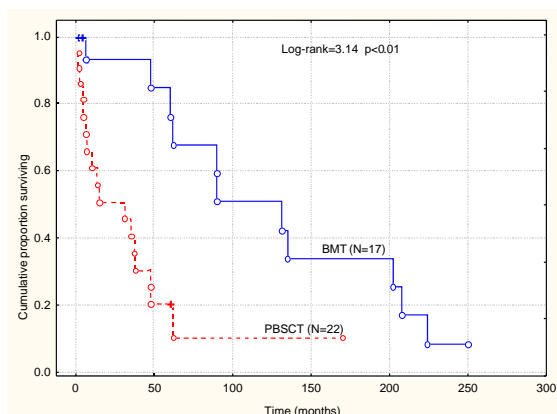


Fig. 2 – Overall survival in the 39 patients with acute myeloid leukemia regarding the stem cell source
 BMT – bone marrow transplantation; PBSCT – peripheral blood stem cell transplantation

Discussion

Hematopoietic SC, used for the reconstitution of lymphohematopoiesis after the myeloablative chemo- or radiotherapy, could be received from four different sources: BM, PB, umbilical blood and rarely from the fetal liver. SCSs, among other, differ in their reconstitution and immunological characteristics which are determined by their cell structure. In “steady state” conditions in the circulation there is around 0.06% CD34+ cells, while their number is 18 times higher in the BM (1.1%)^{18,19}. After the use of recombinant hematopoietic growth factors (predominantly rHuG-CSF), SCs from the extravascular compartment of BM are migrating to the circulation. Such knowledge is a basis for the use of PB as a SCS in transplant hematology. A cell structure of un-

lected suspension of SCs from PB and BM is significantly different¹⁹. Following mobilization with addition of rHuG-CSF allograft that originates from PB consists of 2 to 4 times higher number of CD34+ cells, even 10 times higher number of T lymphocytes, monocytes and natural killer (NK) cells than allograft from BM^{19,20}. Concerning such findings, it is clear that investigations of many study groups^{3–6}, the same as ours, consider that PBSCT is followed with a significantly faster engraftment as compared with BMT. Faster engraftment influences on shortening of duration of iatrogenic BM aplasia and thus in the case of PBSCT, there is a significantly less need for transfusion support (RBC, Plt) and immediate complications of procedure are very rare (oropharyngeal mucositis). From this point of view, our results are compatible with the mentioned facts.

As concerning the frequency and severity of aGvHD in BMT and PBSCT, reports are rather controversial. Initially, such as the EBMT analysis published, significantly much frequent appearance of aGvHD in the cases of PBSCT were registered⁶, which is due to the activity of a large number of allogeneic immunocompetent cells that are infused through this particular procedure. That was showed in addition in the course of two other meta-analyses^{9,15}. Such findings were not approved in other studies with no significant difference in the incidence of aGvHD between those two groups^{5,11}. Application of rHuG-CSF within the mobilization process, results in immunomodulatory effect among cells in the allograft suspension, with the majority of suppressive Th2 cytokines and consecutively reduction of aGvHD frequency, despite a large number of infused T lymphocytes⁹.

In our clinical study, similarly to the previous reports, we noticed no difference in the frequency of aGvHD between the two compared groups, although the patients with PBSCT had more commonly advanced forms of aGvHD, but without a statistical significance.

Considering impact of SCS on the frequency of cGvHD, the majority of reports emphasized that PBSCT is followed with higher risk for the development of cGvHD, especially an extensive form^{5,6,9,11,15,21} and we came to the same conclusion within our group of patients. But, there are some opposite attitudes, according to which SCS does not have any significant influence on the severity and frequency of cGvHD²². A complete difference in those two findings could be caused by various factors, such as: insufficiency of statistical methods, small number of tested patients, the pres-

ence of unhomogeneous groups of patients considering primary disease, follow-up in less than 100 days after transplant, *in vivo* immunomodulatory effect of posttransplant use rHuG-CSF, etc.²³. Also, it should be kept in mind the fact that usually there is no consensus on the exact diagnosis and grading of cGvHD.

Recent studies are not unified in defining impact of SCSs on the incidence of relapses, OS and TRM. The presence of cGvHD could be, according to theoretical knowledge, followed with potential graft *versus* leukemia effect with better control of minimal residual disease and thus fewer rates of relapses and also better OS. Also, the existence of extensive form of cGvHD is followed with higher risk for TRM. Despite the relevant theoretical knowledge, most studies approved no significant difference in the incidence of relapses, TRM and OS between PBSCT and BMT^{6, 12, 15, 24}. Some reports emphasize that PBSCT is useful in advanced stages of CML (acceleration and blast crisis) and acute leukemias, with lower relapses and better OS^{7, 13, 14, 25}. In our investigation, we noticed no significant difference in the incidence of relapses and TRM considering SCS, neither in the whole group of patients (N = 158), nor in the homogenous group with AML. Nevertheless, the patients who underwent BMT (the whole group and the homogenous group with AML) had significantly better OS as compared to the patients who received PBSCT. The fact that the patients with PBSCT had more frequently, potentially fatal, extensive form of cGvHD could be the reason for such finding.

The results of this retrospective analysis are in accordance with findings from other studies. PB, as a source of

SC, gives larger harvest of MNC and thus higher number of hematopoietic progenitor cells that lead to faster engraftment. Faster engraftment is followed by less immediate complications of the transplant procedure (infection, mucositis) and in that way, economic aspect is better (lower need for transfusion support and antibiotics, shorter hospitalization). The patients who underwent PBSCT more frequently had extensive, potentially fatal, form of cGvHD having bad impact on their quality of life. There was no difference in the frequency of aGvHD, incidence of relapses and TRM between the two groups concerning SCS. OS was better in the group with BMT due to a potentially fatal outcome of the cGvHD in PBSCT setting.

Conclusion

The data obtained in this clinical study show that the cell yield is higher in PB harvest, that engraftment is faster, with decreased immediate transplantation-related complications in PBSCT setting. For the advanced stage of acute leukemias and accelerated CML or CML with blast crisis, as well as in the ABO incompatible transplantations or a significant difference in donor *vs* recipient body mass, PB is a more sufficient SCS. However, allogeneic PBSCT is associated with more frequent extensive cGvHD, but without influence on the TRM and relapses. On the contrary, BM is superior for SAA and chronic phase of CML. To confirm the influence of SCS on the overall treatment efficacy (PBSCT *vs* BMT), more larger randomized clinical studies are needed.

R E F E R E N C E S

1. *Cavallaro AM, Lilleby K, Majolino I, Storb R, Appelbaum FR, Rowley SD, et al.* Three to six year follow-up of normal donors who received recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25(1): 85–9.
2. *Gratwohl A, Baldomero H, Schwendener A, Rocha U, Apperley J, Frauendorfer K, et al.* The EBMT activity survey 2007 with focus on allogeneic HSCT for AML and novel cellular therapies. *Bone Marrow Transplant* 2009; 43(4): 275–91.
3. *Bensinger WI, Clift R, Martin P, Appelbaum FR, Demirer T, Gooley T, et al.* Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in patients with advanced hematologic malignancies: a retrospective comparison with marrow transplantation. *Blood* 1996; 88(7): 2794–800.
4. *Przepiorka D, Anderlini P, Ippoliti C, Khouri I, Fietz T, Thall P, et al.* Allogeneic blood stem cell transplantation in advanced hematologic cancers. *Bone Marrow Transplant* 1997; 19(5): 455–60.
5. *Vigorito AC, Azevedo WM, Marques JF, Azevedo AM, Eid KA, Aranba FJ, et al.* A randomised, prospective comparison of allogeneic bone marrow and peripheral blood progenitor cell transplantation in the treatment of haematological malignancies. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22(12): 1145–51.
6. *Schmitz N, Beksaç M, Hasenclever D, Bacigalupo A, Runtz T, Nagler A, et al.* Transplantation of mobilized peripheral blood cells to HLA-identical siblings with standard-risk leukemia. *Blood* 2002; 100(3): 761–7.
7. *Stem Cell Trialists' Collaborative Group.* Allogeneic peripheral blood stem-cell compared with bone marrow transplantation in the management of hematologic malignancies: an individual patient data meta-analysis of nine randomized trials. *J Clin Oncol* 2005; 23(22): 5074–87.
8. *Champlin RE, Schmitz N, Horowitz MM, Chapuis B, Chopra R, Cornelissen JJ, et al.* Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. IBMTR Histocompatibility and Stem Cell Sources Working Committee and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Blood* 2000; 95(12): 3702–9.
9. *Cutler C, Giri S, Jayapalan S, Paniagua D, Viswanathan A, Antin JH.* Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral-blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis. *J Clin Oncol* 2001; 19(16): 3685–91.
10. *Koca E, Champlin RE.* Peripheral blood progenitor cell or bone marrow transplantation: controversy remains. *Curr Opin Oncol* 2008; 20(2): 220–6.
11. *Schmitz N, Eapen M, Horowitz MM, Zhang MJ, Klein JP, Rizzotto D, et al.* Long-term outcome of patients given transplants of mobilized blood of bone marrow: a report from the International Bone Marrow Transplant Registry and the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood* 2006; 108(13): 4288–90.
12. *Ringden O, Labopin M, Bacigalupo A, Arcese W, Schaefer UW, Willemze R, et al.* Transplantation of peripheral blood stem cells as compared with bone marrow from HLA-identical siblings in adult patients with acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2002; 20(24): 4655–64.

13. *Couban S, Simpson DR, Barnett MJ, Bredeson C, Hubsch L, Howson-Jan K, et al.* A randomized multicenter comparison of bone marrow and peripheral blood in recipients of matched sibling allogeneic transplants for myeloid malignancies. *Blood* 2002; 100(5): 1525–31.
14. *Guardiola P, Runde V, Bacigalupo A, Runtu T, Locatelli F, Boogaerts MA, et al.* Retrospective comparison of bone marrow and granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells for allogeneic stem cell transplantation using HLA identical sibling donors in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2002; 99(12): 4370–8.
15. *Gallardo P, de la Camara R, Nieto JB, Espigado I, Iriando A, Jimenez-Velasco A, et al.* Is mobilized peripheral blood comparable with bone marrow as source of hematopoietic stem cells for allogeneic transplantation from HLA-identical sibling donors? A case-control study. *Haematologica* 2009; 94(9): 1282–8.
16. *Storb R, Deeg HJ, Whitehead J, Appelbaum F, Beatty P, Bensinger W, et al.* Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukemia. *N Engl J Med* 1986; 314(12): 729–35.
17. *Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, Klingemann HG, Beatty P, Hovs J, et al.* 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15(6): 825–8.
18. *Körbling M, Anderlini P.* Peripheral blood stem cell versus bone marrow allotransplantation: does the source of hematopoietic stem cell matter? *Blood* 2001; 98(10): 2900–8.
19. *Körbling M, Hub YO, Durett A, Mirza N, Miller P, Engel H, et al.* Allogeneic blood stem cell transplantation: peripheralization and yield of donor-derived primitive hematopoietic progenitor cells (CD34+ Thy-1dim) and lymphoid subsets, and possible predictors of engraftment and graft-versus-host disease. *Blood* 1995; 86(7): 2842–8.
20. *Lane TA, Ho AD, Bashey A, Peterson S, Young D, Law P.* Mobilization of blood-derived stem and progenitor cells in normal subjects by granulocyte-macrophage- and granulocyte-colony-stimulating factors. *Transfusion* 1999; 39(1): 39–47.
21. *Solano C, Martinez C, Brunet S, Tomás JF, Urbano-Ispizua A, Zuzu J, et al.* Chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral blood progenitor cell or bone marrow transplantation from matched related donors. A case-control study. Spanish Group of Allo-PBT. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22(12): 1129–35.
22. *Powles R, Mehta J, Kulkarni S, Treleaven J, Millar B, Marsden J, et al.* Allogeneic blood and bone-marrow stem-cell transplantation in haematological malignant diseases: a randomised trial. *Lancet* 2000; 355(9211): 1231–7.
23. *Bensinger WT, Martin PJ, Storer B, Clift R, Forman SJ, Negrin R, et al.* Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers. *N Engl J Med* 2001; 344(3): 175–81.
24. *Eapen M.* Peripheral blood stem cell s versus bone marrow for ablative transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13 (Suppl 1): 76–7.
25. *Pidala J, Anasetti C, Kharfan-Dabaja MA, Cutler C, Sheldon A, Djulbegovic B.* Decision analysis of peripheral blood versus bone marrow hematopoietic stem cell for alogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15(11): 1415–21.

Received on March 3, 2010.
Accepted on March 31, 2010.



Antidotski efekat kombinacija obidoksim/HI-6 i memantina kod miševa trovanih somanom, dihlorvosom ili heptenofosom

Antidotal effect of combinations obidoxime/HI-6 and memantine in mice poisoned with soman, dichlorvos or heptenophos

Biljana Antonijević*, Miloš P. Stojiljković†, Dubravko Bokonjić‡,
Slavica Vučinić‡

*Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za toksikologiju, „Akademik Danilo Soldatović“, Beograd, Srbija; †Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Medicinski fakultet, Institut za farmakologiju i toksikologiju, Foča, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina; ‡Vojnomedicinska akademija, Centar za kontrolu trovanja, Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Poseban problem pri trovanju organofosforinim jedinjenjima predstavljaju mišićne fascikulacije i konvulzije, koje se ne mogu u potpunosti antagonizovati primenom atropina i oksima. Cilj ovog rada bio je ispitivanje antidotskog efekta kombinacije memantina i oksima HI-6 kod trovanja somanom, kao i kombinacije memantina sa obidoksimom kod trovanja dihlorvosom i heptenofosom. **Metode.** Albino miševima, mužjacima, u repnu venu date su rastuće doze oksima i/ili memantina (10 mg/kg) u različitim vremenskim intervalima pre intravenskog (*iv*) davanja 1,3 LD-50 somana, dihlorvosa ili heptenofosa. Praćenjem stepena preživljanja, izračunate su srednje efektivne doze i poluvreme efikasnosti. U odvojenom eksperimentu praćena je cerebralna ekstrasvazacija boje Evans plavo (40 mg/kg *iv*) nakon primene memantina (10 mg/kg *iv*), midazolama (2,5 mg/kg intraoperitonealno – *ip*) i ketamina (20 mg/kg *ip*) 5 min pre davanja somana (1 LD-50 supkutano – *sc*). **Rezultati.** Primenom kombinacija sa memantinom srednje efektivne doze u nul-tom vremenu i HI-6 (7,96 *vs* 1,79 $\mu\text{mol/kg}$ kod trovanja somanom) i obidoksima (16,80 *vs* 2,75 $\mu\text{mol/kg}$ kod trovanja dihlorvosom; 21,56 *vs* 6,63 $\mu\text{mol/kg}$ kod trovanja heptenofosom) bile su višestruko niže u odnosu na dozu samog oksima. Memantin i midazolam uspešno su suprimirali prokonvulzivni efekat somana. **Zaključak.** Rezultati ove studije pokazuju da primena memantina u kombinaciji sa oksimima obezbeđuje bolji zaštitni efekat nego sam oksim, a u osnovi ovog efekta verovatno leži i njegov antikonvulzivni potencijal.

Ključne reči:

organofosforna jedinjenja; trovanje; antidoti; oksimi; memantin; obidoksim hlorid; antikonvulzivi.

Abstract

Introduction/Aim. In acute organophosphate poisoning the issue of special concern is the appearance of muscle fasciculations and convulsions that cannot be adequately antagonised by the use of atropine and oxime therapy. The aim of this study was to examine antidotal effect of obidoxime or HI-6 combinations with memantine in mice poisoned with soman, dichlorvos or heptenophos. **Methods.** Male Albino mice were pretreated intravenously (*iv*) with increasing doses of oximes and/or memantine (10 mg/kg) at various times before poisoning with 1.3 LD-50 of soman, dichlorvos or heptenophos, in order to determine the median effective dose and the efficacy half-time. In a separate experiment, cerebral extravasation of Evans blue dye (40 mg/kg *iv*) was examined after application of memantine (10 mg/kg *iv*), midazolam (2.5 mg/kg intraperitoneally – *ip*) and ketamine (20 mg/kg *ip*) 5 minutes before soman (1 LD-50 subcutaneously – *sc*). **Results.** Coadministration of memantine induced a significant decrease in median effective dose in null time of both HI-6 (7.96 *vs* 1.79 $\mu\text{mol/kg}$ in soman poisoning) and obidoxime (16.80 *vs* 2.75 $\mu\text{mol/kg}$ in dichlorvos poisoning; 21.56 *vs* 6.63 $\mu\text{mol/kg}$ in heptenophos poisoning). Memantine and midazolam succeeded to counteract the soman-induced proconvulsive activity. **Conclusion.** Memantine potentiated the antidotal effect of HI-6 against a lethal dose of soman, as well as the ability of obidoxime to antagonize the toxic effects of dichlorvos and heptenophos probably partly due to its anticonvulsive properties.

Key words:

organophosphorus compounds; poisoning; antidotes; oximes; memantine; obidoxime chloride; anticonvulsants.

Uvod

Uvođenjem Schraderovih organofosfornih jedinjenja (OFJ) nije samo unapređena borba protiv biljnih nametnika, već se uvećao i asortiman komercijalno dostupnih hemikalija kojima može da bude ugroženo zdravlje ljudi i domaćih životinja.

Organofosforna jedinjenja inhibiraju sve enzime tipa esteraza, a specifični su inhibitori acetilholinesteraze (AChE, prava holinesteraza, EC 3.1.1.7.) i butirilholinesteraze (ChE, pseudoholinesteraza, EC 3.1.1.8.)¹. Takođe, poznato je da organofosforna jedinjenja imaju i direktne holinergičke efekte, da remete metabolizam i drugih neurotransmitera, da deluju na različite enzimске sisteme i direktno na ćelijske strukture².

Specifična terapija trovanja organofosfornim jedinjenjima podrazumeva primenu atropina kao antagoniste muskarinskih receptora i oksima kao reaktivatora inhibirane holinesteraze. Međutim, pokazano je da oksimi poseduju nejednaku efikasnost pri trovanju organofosfatima različite hemijske strukture³. Poseban problem pri trovanju organofosfornim jedinjenjima predstavljaju mišićne fascikulacije i konvulzije, koje se ne mogu u potpunosti antagonizovati primenom atropina i oksima^{4,5}. Mc Donough i sar.⁶ i Shih⁷ pokazali su da je centralna holinergička hiperstimulacija, pre svega supkortikalnih struktura (amigdalostrijatni kompleks), primarni i kritično važan činilac za nastajanje konvulzija u ranoj fazi akutnog trovanja organofosfornim jedinjenjima. Naknadni poremećaji ostalih neurotransmiterskih sistema (serotonin, kateholamini, γ -aminobuterna kiselina – GABA, ekscitatorne amino kiseline i tzv. „sekundarni glasnici“ – ciklični guanozin-monofosfat), u velikoj meri odgovorni su za održavanje i propagaciju konvulzivne aktivnosti u centralnom nervnom sistemu (CNS-u)⁸⁻¹⁰, pa otuda i nije moguće u potpunosti kupirati takvu patološku aktivnost samo antiholinergicima. Benzodiazepini predstavljaju grupu antikonvulzivnih lekova koji se koriste u konvencionalnoj terapiji trovanja organofosfornim jedinjenjima¹¹⁻¹³. Naime, benzodiazepini povećavaju afinitet i vezivanje γ -aminobuterne kiseline za GABA receptore, aktivacijom kojih dolazi do povećanja frekvencije otvaranja kanala za hloridni jon, što dalje ima za posledicu hiperpolarizaciju ćelijske membrane, odnosno inhibiciju postsinaptičke membrane¹⁴⁻¹⁶.

Drugi, takođe, važan neholinergički sistem, vezan za konvulzivnu aktivnost je sistem ekscitotoksičnih amino kiselina, glutamata i aspartata. Najviše ispitivana jedinjenja koja poseduju antagonistički efekat na N-metil-D-aspartat (NMDA) receptore su dizocilpin (MK-801), gaciklidin (GK-11) i ketamin^{5, 16-18}.

Memantin-hidrohlorid (1-amino-3,5-dimetilaminoadamantan, Mem) je adamantanski derivat, koji je pod zaštitnim imenom Akatinol[®], najpre u Nemačkoj, ušao u kliničku praksu kao lek protiv neurogenih motornih oboljenja i nekih drugih cerebralnih poremećaja¹⁹. Memantin deluje kao antagonist NMDA receptora²⁰⁻²², čime je objašnjeno njegovo citoprotektivno delovanje u nizu eksperimentalnih modela, vezanih za ekscitotoksične aminokiseline^{23, 24}. Memantin, dat u dozi od 18 mg/kg supkutano (*sc*) profilaktički zajedno

sa atropinom (16 mg/kg *sc*), sprečava konvulzije, nekrozu skeletnih mišića i smrt pacova trovanih tabunom, sarinom, somanom, VX otrovom ili DFP-om²⁵. Tom prilikom saopšteno je i da predtretman memantinom smanjuje stepen inhibicije AChE raznih regija mozga i nekih skeletnih mišića kod pacova trovanih somanom. Od strane istih istraživača, usledila su ubrzo i ispitivanja profilaktičkog i terapijskog efekta memantina i atropina kod većeg broja antiholinesteraznih supstanci²⁶⁻³⁴.

Dosadašnja ispitivanja pokazala su da memantin, dat profilaktički, pojačava zaštitni efekat atropina pri trovanju karbamatima (aldikarb, karbofuran), nervnim bojnim otrovima i metil-parationom. Shodno tome, cilj ovog rada bio je ispitivanje antidotskog efekta kombinacije memantina i oksima HI-6 kod trovanja somanom, i kombinacije memantina sa obidoksimom kod trovanja dihlorvosom i heptenofosom.

Metode

Organofosfati i antidoti. Soman (1,2,2-trimetilpropilmetilfosfonofluoridat) 98,5% sintetisan je u Odeljenju za hemijsku zaštitu Vojnotehničkog instituta, Beograd. Organofosforni insekticidi dobijeni su kao tehnički koncentрати: dihlorvos (DDVP), O,O-dimetil-O-(2,2-dihlorvinil)-fosfat 94,0%, ICN Galenika; heptenofos, 7-hlorebiciklo (3,2,0) hepta-2,6-dien-6-il-dimetil fosfat, 92,0%, Zorka, Šabac. Obidoksim (LüH-6), bis-(4-hidroksiiminometil-piridinijum)-1-metiletar dihlorid i HI-6, 1 - (2-hidroksiiminometil-piridinijum)-1-(4-karboksiamido-piridinijum)-dimetiletar dihlorid dobijeni su iz Vojnomedicinske akademije (VMA), Beograd. Čistoća korišćenih oksima analizirana je metodom HPLC/UV i iznosila je > 99%. Memantin, 1-amino-3,5-dimetil adamantan dobijen je kao poklon, zahvaljujući razumevanju dr Guentera Quacka, Merz+Co, GmbH & Co., Frankfurt/M, SR Nemačka. Sve ostale supstance bile su odgovarajućeg stepena čistoće i nabavljene su iz komercijalnih izvora.

Eksperimentalna procedura. U eksperimentima korišćeni su Albino miševi, mužjaci, telesne mase 18–24 g, dobijeni sa farme VMA, Beograd. Životinje su tokom eksperimenta držane pod standardnim laboratorijskim uslovima, sa slobodnim pristupom hrani i vodi. Protokol ispitivanja odobrio je Etički komitet VMA, studija br. 282-12[®], u skladu sa *Revised Geeide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Guide, volume 25, No 28, 1996)*. Sve ispitivane supstance davane su u repnu venu miševa u zapremini od 0,1 mL/20 g telesne mase. Organofosfati su primenjeni u dozi koja predstavlja minimalnu apsolutnu smrtnu dozu, (1,3 LD-50), a oksimi u dozama ne većim od polovine njihovih srednjih smrtnih doza (LD-50). U eksperimentima u kojima su oksimi primenjeni u kombinaciji sa memantinom, doza adamantana iznosila je 10 mg/kg.

U cilju određivanja LD-50/ED-50, eksperimentalnim životinjama (n = 5 u grupi) davane su rastuće doze (najmanje četiri doze) ispitivanih supstanci. Srednje efektivne doze (ED-50) određene su u vremenskim intervalima (1–60 min) nakon primene OFJ (1,3 LD-50). Životinje su brzo uginjavale, najduže za 5 min, a posle tog vremena do 24 sata nije

bilo novih uginjavanja. Na osnovu broja uginulih životinja u svakoj grupi i primenjenih doza, po metodi Litchfielda i Wilcoxon³⁵, izračunate su LD-50 i ED-50, sa 95% granicama pouzdanosti.

Pad ED-50 u funkciji vremena matematički je definisan eksponencijalnom funkcijom. Logaritmovanjem eksperimentalno dobijenih ED-50_t dobijena je linearna funkcija iz koje je bilo moguće izračunati odgovarajuću srednju efektivnu dozu u nultom vremenu (ED-50₀, t = 0), odnosno dozu oksima koja bi obezbedila preživljavanje 50% eksperimentalnih životinja pri istovremenoj primeni otrova i antidota. Logaritmovanjem procentualno izraženih ED-50_t vrednosti u funkciji vremena dobijena je linearna zavisnost na bazi koje je izračunato poluvreme efikasnosti, t_{1/2} eff. = 0,693/a.

U delu eksperimenta u kome je ispitivan uticaj memantina na propustljivost hematoencefalne barijere pri trovanju somanom, korišćena je boja Evansovo plavo, u dozi od 40 mg/kg *iv*, za brzu vizuelizaciju cerebrovaskularne propustljivi-

gova akutna intravenska toksičnost bila manja od toksičnosti obidoksima.

Memantin je bio oko 2–3,6 puta toksičniji od oksima. Primenjen u dozi od 10 mg/kg u kombinacijama sa oksimima, memantin je potencirao njihovu toksičnost. Srednja smrtna doza HI-6 primenjenog u kombinaciji sa memantinom bila je 2,6 puta manja, nego kada je primenjivan sam. Srednja letalna doza kombinacije memantina sa obidoksimom bila je manja za 26,3% u odnosu na sam oksim. Erdmann⁴⁵ je za intravensku akutnu toksičnost obidoksima kod ženki miševa dobio LD-50 od 70 mg/kg (194,87 μmol/kg). Sličnu vrednost od 70 do 112 mg/kg (194,87–311,80 μmol/kg) objavio je i Wills⁴⁶. Podatak koji se odnosio na intravensku akutnu toksičnost oksima HI-6 kod miševa mužjaka i iznosio 178 mg/kg (495,52 μmol/kg) nalazimo u radu Clementa⁴⁷. U poređenju sa citiranim podacima, oksimi korišćeni u našem eksperimentu (tabela 1) bili su manje toksični, verovatno zbog veće čistoće primenjenih supstanci.

Tabela 1
Srednje intravenske smrtne doze (LD-50) oksima i/ili memantina (Mem)

Preparat	LD-50 (95% granice pouzdanosti), μmol/kg	
	–	Oksim + Mem (10 mg/kg)
LüH-6	277,41 (211,46–363,91)	204,59 (168,95–245,57)
HI-6	496,80 (420,02–587,61)	189,86 (165,77–217,47)
Mem	135,99 (93,49–197,73)	–

vosti^{36–39}. Boja je ubrizgavana 5 min pre supkutane primene 1 LD-50 doze somana (130 μg/kg). Grupama eksperimental-

Podaci o akutnoj intravenskoj toksičnosti primenjenih organofosfornih jedinjenja prikazani su u tabeli 2. U literatu-

Tabela 2
Srednje intravenske smrtne doze (LD-50) organofosfornih jedinjenja

Organofosfat	LD-50 (95 % granice pouzdanosti), μmol/kg
Soman	0,27 (0,25–0,29)
Dihlorvos	22,17 (16,24–30,22)
Heptenofos	196,68 (163,72–208,41)

nih životinja (n = 10) 10 min pre somana intraperitonealno (*ip*) dat je midazolam 2,5 mg/kg¹³ ili ketamin 20 mg/kg^{40–44}, dok je memantin 10 mg/kg davan intravenski 5 min pre somana. Životinje su žrtvovane dekapitovanjem 30 min po ubrizgavanju somana, a izvađeni celi mozgovi čuvani su u 5% puferovanom formaldehidu do vizuelizacije intenziteta obojenosti mozgova.

Statistička obrada podataka. Relativni potencijal ispitivanih supstanci ili njihovih kombinacija izračunavan je putem 2 × 2 eseja (PHARM – *Pharmacologic Calculation System*, ver. 4.0, 1986 Springer-Verlag, New York, SAD). Za procenu značajnosti korišćena je jednofaktorska analiza varijanse koja je završavana Tukey-evim testom. Celokupna analiza rađena je pomoću komercijalnog statističkog paketa *Statistica 7.0*, StatSoft, Tulsa, Oklahoma, US.

Rezultati

Akutna intravenska toksičnost oksima, memantina i njihovih kombinacija prikazana je u tabeli 1. Oksim HI-6 poznat je po niskoj toksičnosti, pa je i u ovom eksperimentu nje-

ri nalazimo podatak za intravensku srednju smrtnu dozu somana kod miševa, koja iznosi 35 μg/kg (0,19 μmol/kg)⁴⁸. Jedini podatak o intravenskoj toksičnosti dihlorvosa kod miševa dali su Holmstedt i sar.⁴⁹. Srednja letalna doza u navedenom radu iznosila je 8–10 mg/kg (36,10–45,25 μmol/kg). U dostupnoj literaturi nema podataka o LD-50 dozi heptenofosa kod miševa nakon intrevenske primene.

Zaštitni efekti oksima i/ili memantina

Kod trovanja minimalnom apsolutnom smrtnom dozom somana (tabela 3), zaštitni efekat bilo je moguće postići primenom HI-6 samo do 60 min pre otrova, sa poluvremenom efikasnosti od 16,24 min i srednjom efektivnom dozom u nultom vremenu od 7,96 μmol/kg. Memantin, primenjen sam, štitio je miševe od 1,3 LD-50 somana kada se primeni najkasnije do 20 min pre otrova. U kombinaciji sa memantinom, HI-6 je štitio eksperimentalne životinje od trovanja somanom, ako se primeni do 40 min pre somana. Primenom kombinacije oksima HI-6 i memantina poluvreme efikasnosti bilo je kraće, ali je zato srednja efektivna doza u nultom vremenu bila skoro četverostruko niža u odnosu na vrednost samog HI-6.

Tabela 3
Zaštitni efekat HI-6 i/ili memantina ((Mem), 10 mg/kg iv) kod miševa trovanih somanom (1,3 LD-50 iv)

t (min)	ED-50 _t (95 % granice pouzdanosti), µmol/kg		
	HI-6	HI-6 + Mem	Mem
5	8,63 (7,68–9,69)	2,56 (0,86–4,52)	45,47 (35,97–57,33)
12,5			52,05 (45,98–58,91)
20	21,44 (19,10–24,05)	26,22 (17,84–38,44)	64,84 (51,96–100,76)
40	48,30 (40,59–57,46)	150,99 (99,88–228,27)	
60	93,45 (81,17–107,62)		
	ED-50 ₀ (µmol/kg)		
	7,96	1,79	39,98
		t _{1/2} eff. (min)	
	16,24	6,02	28,88

Zaštitni efekat obidoksima bilo je moguće ostvariti samo ako se primeni do 27,5 min pre dihlorvososa, dok je memantin štitio životinje od trovanja, ako se primeni najkasnije do 5 min pre otrova (tabela 4). Primenom memantina sa obidoksimom znatno je poboljšan zaštitni efekat oksima pri trovanju dihlorvosom, a srednja efektivna doza u nultom vremenu bila je višestruko manja.

Uticaj memantina na propustljivost hematoencefalne barijere

Antiholinesterazne supstance povećavaju propustljivost hematoencefalne barijere, a primena supstanci koje sprečavaju nastajanje i razvoj konvulzija smanjuje propustljivost barijere^{38, 50, 51}. Step en obojenosti mozgov a procenjivan je

Tabela 4
Zaštitni efekti obidoksima i/ili memantina ((Mem), 10 mg/kg iv) kod miševa trovanih dihlorvosom (1,3 LD-50 iv)

t (min)	ED-50 _t (95 % granice pouzdanosti), µmol/kg		
	LüH-6	LüH-6 + Mem	Mem
5	23,08 (18,85–28,26)	4,06 (2,39–6,88)	52,47 (36,57–76,23)
12,5	34,58 (27,12–44,10)		
20	74,55 (59,88–92,84)	11,75 (6,68–24,27)	
27,5	89,84 (66,22–127,61)		
40		53,39 (30,29–94,21)	
	ED-50 ₀ (µmol/kg)		
	16,80	2,75	–
		t _{1/2} eff. (min)	
	10,72	9,38	–

Doza LüH-6 koja je potrebna za zaštitu 50% životinja pri istovremenoj primeni oksima i heptenofosa iznosila je 21,56 µmol/kg, sa poluvremenom efikasnosti od 10,56 min (tabela 5). Uključenjem i memantina značajno je poboljšan

vizuelizacijom: 0 (neobojen), 1+ (slabo plava boja), 2+ (plava boja), 3+ (jako plava boja). Po ubrizgavanju boje Evansovo plavo u kontrolnoj grupi nije se mogla uočiti prebojenost posmatranih sagitalnih preseka mozgov a (tabela 6).

Tabela 5
Zaštitni efekti LüH-6 i/ili memantina (Mem, 10 mg/kg iv) kod miševa trovanih heptenofosom (1,3 LD-50 iv)

t (min)	ED-50 _t (95 % granice pouzdanosti), µmol/kg		
	LüH-6	LüH-6 + Mem	Mem
5	37,39 (21,16–66,06)	7,27 (3,40–15,51)	40,79 (29,66–55,81)
12,5	46,85 (30,68–71,57)		
20	54,54 (36,50–81,43)	33,16 (24,02–45,74)	
27,5	184,93 (158,65–215,56)		
40		65,50 (39,53–108,46)	
	ED-50 ₀ (µmol/kg)		
	21,56	6,63	–
		t _{1/2} eff. (min)	
	10,56	11,31	–

zaštitni efekat oksima, a doza obidoksima koja je potrebna za zaštitu 50% životinja pri istovremenoj primeni oksima i heptenofosa bila je oko tri puta niža. Memantin je štitio eksperimentalne životinje, samo kada je bio primenjen do 5 min pre trovanja. Kada je davana kombinacija sa oksimom LüH-6, bilo je moguće ostvariti zaštitu životinja do 40 min predtretmana.

Nekoliko minuta po ubrizgavanju samo somana, uočena je pojava hipersalivacije, a 5–10 minuta po primeni somana i pojava tremora, istezanja ekstremiteta i pojave tzv. „Straubovog repa“. U grupi koja je tretirana somanom, šest od 10 životinja imalo je kliničke manifestacije konvulzija, dok u ostalim grupama nisu uočeni jasni znaci konvulzija. Uprkos tome, ekstravazacija boje uočena je u grupi koja je primila

Tabela 6
Uticaj memantina (10 mg/kg iv), midazolama (2,5 mg/kg ip) i ketamina (20 mg/kg ip)
na propustljivost hematoencefalne barijere miševa trovanih somanom (1 LD-50 sc)

Grupe	Intenzitet obojenosti mozgova			
	0	1+	2+	3+
Kontrola	10	0	0	0
Soman	0	1	3	6
Soman + midazolam*	4	4	2	0
Soman + ketamin [‡]	2	4	4	0
Soman + memantin [†]	7	3	0	0

Podaci u tabeli predstavljaju broj eksperimentalnih životinja

* $p < 0,05$; [†] $p < 0,01$ u odnosu na grupu kojoj je dat samo soman;

[‡] $p < 0,01$ u odnosu na kontrolnu grupu

ketamin, nešto slabija u grupi tretiranoj midazolamom, a u grupi kojoj je ubrizgavan memantin samo je kod tri životinje uočena prebojenost veoma slabog intenziteta. Pri tom stepen prebojenosti sagitalnih preseka mozgova grupa koje su primile memantin ili midazolam statistički se značajno razlikovao od grupe koja je primila samo soman, ali ne i od kontrolne grupe, tj. grupe kojoj je data samo Evansovo plavo. Rezultati su pokazali da soman u značajnoj meri narušava integritet hematoencefalne barijere, a da se njena funkcija održava kada se memantin ili midazolam primene pet, odnosno deset minuta pre somana.

Diskusija

Dosadašnja ispitivanja pokazala su da je HI-6 oksim izbora kod trovanja somanom, bez obzira na kom specijesu su vršena ispitivanja i koji eksperimentalni dizajn je sproveden, kao i da su trimedoksim i obidoksim efikasni kod većeg broja OF insekticida^{3, 52-58}. Međutim, reaktivacija AChE mozga je izostajala ili je bila minimalna, te nije bilo moguće korelirati je sa zaštitnim efektom oksima^{3, 57}.

U cilju poboljšanja centralnih efekata oksima i efikasnijeg antagonizovanja prokonvulzivne aktivnosti OFJ vršena su ispitivanja i supstanci koje su NMDA antagonisti, uključujući memantin. U ovom radu, ED-50₀ HI-6 datog sa memantinom kod trovanja somanom bila je nekoliko puta manja u odnosu na sam HI-6. Naši raniji nalazi pokazali su da je primena kombinacije memantina i oksima pri trovanju somanom značajno poboljšala i zaštitni efekat pralidoksima, trimedoksima i obidoksima, ili višestrukim smanjenjem srednje efektivne doze u nultom vremenu (pralidoksim i obidoksim), ili značajnim povećanjem poluvremena efikasnosti (trimedoksim)^{59, 60}.

Memantin je primenjen i pri trovanju dihlorvosom i heptenofosom, ali u kombinaciji sa obidoksimom za koji je pokazano da je efikasan kod ovih insekticida^{61, 62}. Kao i kod somana, pri trovanju dihlorvosom, odnosno heptenofosom, primenom memantina značajno je poboljšan zaštitni efekat oksima, dok je zaštitni efekat samog memantina bio relativno slab. Slični nalazi otvorili su pitanje mehanizama kojima bi se mogao objasniti mogući mehanizam dejstva memantina. Pretpostavljeno je da memantin štiti i/ili reaktivira AChE kako u perifernim tkivima, tako i u mozgu, odnosno da zaštitom karboksilesteraza dovodi do povećanja biodegradacije, a time i bioeliminacije otrova^{28-31, 34}. U citiranim eksperimentima primenjene su subletalne doze OFJ, međutim, kada se

primene apsolutno smrtno doze OFJ, primena memantina nema uticaja na reaktivatorski potencijal oksima^{60, 63, 64}.

Iako je kod pacova otrovanih somanom zaštitni indeks kombinacije atropina i HI-6 uvećan sa 2,14 na 4,70, a kombinacije atropin, HI-6 i diazepam sa 2,69 na 5,05, terapija oksimom HI-6 kod pacova predtretiranih memantinom nije dovela do značajnih promena aktivnosti AChE u mozgu, eritrocitima i dijafragmi u odnosu na efekte postignute kod životinja kojima je davan samo HI-6⁶⁵. Istovremeno, navodimo da je u *in vitro* uslovima pokazano da su memantin kao i neki drugi derivati adamantana veoma slabi inhibitori i reaktivatori AChE eritrocita čoveka, inhibirane sarinom, somanom, tabunom i VX-om⁶⁶. Stoga, verovatno je da se pri letalnom trovanju OF značajno bolji zaštitni efekat kombinacije ne može bazirati samo na reaktivaciji AChE, već da su za efekte memantina odgovorni i neki drugi mehanizmi delovanja. Zato je u ovom radu, u drugom delu eksperimenta, ispitivan efekat memantina na propustljivost hematoencefalne barijere pri trovanju somanom koji je modelna supstanca za izazivanje konvulzija. Organofosforna jedinjenja narušavaju integritet hematoencefalne barijere zbog činjenice da cerebrovaskularni endotel sadrži holinesteraze, te da povećani nivoi acetilholina indukuju promene na ćelijskim membranama^{50, 67}. Ove promene, kao i samo otvaranje barijere zavise od intenziteta konvulzija, a smatra se da je u ovim uslovima subcelularni mehanizam prolaza kroz barijeru vezikularni transport, a ne raskidanje čvrstih veza između endotelnih ćelija^{38, 68}. Stoga je u našem eksperimentu, indirektno, preko ekstravazacije boje, semikvantitativno ispitivan antikonvulzivni potencijal memantina i upoređen sa istim efektom midazolama i ketamina. Iako su i memantin i ketamin nekompetitivni antagonisti NMDA receptora, za razliku od memantina, ketamin je bio neefikasan^{43, 69}. Midazolam je bio gotovo podjednako efikasan kao i memantin. Poznato je da su benzodiazepini efikasni antikonvulzivi, ali samo ako se primene najkasnije 5–10 min po nastanku konvulzija^{43, 70-72}. Prema nekim ispitivanjima, hidrosolubilni midazolam čak je efikasniji od diazepama u zaštiti eksperimentalnih životinja od trovanja OF^{13, 73-75}.

U studiji Deshpande i sar.⁷⁶ memantin (18 mg/kg sc) primenjen 1 h pre 0,9 LD-50 somana značajno je redukovao konvulzije, povećao preživljavanje pacova i zaštitio hipokampalne i kortikalne neurone u kulturi tkiva od ekscitotoksičnosti glutamata i aspartata. Primenjen profilaktički, memantin je u potpunosti antagonizovao pojavu tremora, mišićnih fascikulacija i konvulzija, ali nije štitiio od toksičnih mu-

skarinskih efekata pri trovanju aldikarbom, karbofuranom, metilparationom ili malationom^{27-31, 34}.

Zaključak

Rezultati ovog rada upućuju na zaključak da primena memantina u kombinaciji sa oksimima značajno snižava dozu oksima kojom se obezbeđuje zaštita pri trovanju apsolutno smrtnom dozom OF. Činjenica da memantin utiče na očuvanje integriteta hematoencefalne barijere ukazuje da, u osnovi ovog

efekta, verovatno, pored ostalog, leži i njegov antikonvulzivni potencijal. Međutim, profilisanje fenomena između oksima i memantina podrazumeva dalje opsežne mehanističke studije, kao i kvantitativno definisanje dobijenih efekata.

Zahvalnica

Ovaj rad je finansiralo Ministarstvo za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije (projekat TR 20212A i III 46009).

L I T E R A T U R A

1. *Sultatos LG*. Interactions of organophosphorus and carbamate compounds with cholinesterases. In: *Gupta CR*, editor. Toxicology of organophosphate and carbamate compounds. New York: Elsevier; 2006; pp. 209–18.
2. *Ballantyne B, Marrs TC*. Overview of the biological and clinical aspects of organophosphates and carbamates. In: *Ballantyne B, Marrs TC*, editors. Clinical and experimental toxicology of organophosphates and carbamates. Oxford: Butterworth-Heinemann, Ltd; 1992. p. 3–14.
3. *Antonijević B, Stojiljković MP*. Unequal efficacy of pyridinium oximes in acute organophosphate poisoning. *Clin Med Res* 2007; 5(1): 71–82.
4. *Sellström A*. Anticonvulsants in anticholinesterase poisoning. In: *Ballantyne B, Marrs TC*, editors. Clinical and experimental toxicology of organophosphates and carbamates. Oxford: Butterworth-Heinemann, Ltd; 1992. p. 578–86.
5. *Weissman BA, Raveh L*. Therapy against organophosphate poisoning: The importance of anticholinergic drugs with antiglutamatergic properties. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 232(2): 351–8.
6. *Mc Donough JH Jr, McLeod CG Jr, Nipwoda MT*. Direct microinjection of soman or VX into the amygdala produces repetitive limbic convulsions and neuropathology. *Brain Res* 1987; 435(1–2): 123–37.
7. *Shih TM*. Anticonvulsant effect of diazepam and MK-801 in soman poisoning. *Epilepsy Res* 1990; 7(2): 105–16.
8. *Capacio BR, Shih TM*. Anticonvulsant action of anticholinergic drugs in soman poisoning. *Epilepsia* 1991; 32(5): 604–15.
9. *Shih TM, McDonough JH Jr*. Neurochemical mechanisms in soman-induced seizures. *J Appl Toxicol* 1997; 17(4): 255–64.
10. *Jacobson SO, Cassel GE, Karlsson BM, Sellstrom A, Persson SA*. Release of dopamine, GABA and EAA in rats during intrastriatal perfusion with kainic acid, NMDA and soman: a comparative microdialysis study. *Arch Toxicol* 1997; 71(12): 756–65.
11. *Gall D*. The use of the therapeutic mixtures in the treatment of cholinesterase inhibition. *Fundam Appl Toxicol* 1981; 1(2): 214–6.
12. *Inns RH, Leadbeater L*. The efficacy of bispyridinium derivatives in the treatment of organophosphate poisoning in guinea-pig. *J Pharm Pharmacol* 1983; 35(7): 427–33.
13. *Bokonić D, Rosić N*. Anticonvulsive and protective effects of diazepam and midazolam in rats poisoned by highly toxic organophosphorus compounds. *Arh Hig Rada Toksikol* 1991; 42(4): 359–65.
14. *Braestrup C, Squires RF*. Specific benzodiazepine receptors in the rat brain characterized by high affinity (3H) diazepam binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74(9): 3805–9.
15. *Costa E, Guidotti A*. Molecular mechanisms in the receptor action of benzodiazepines. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1979; 19: 531–45.
16. *Mc Donough JH Jr, Shih TM*. Pharmacological modulation of soman-induced seizures. *Neurosci Biobehav Rev* 1993; 17(2): 203–15.
17. *Lallement G, Baubichon D, Clarencon D, Galonnier M, Peoc'h M, Carpentier P*. Review of the value of gacyclidine (GK-11) as adjuvant medication to conventional treatments of organophosphate poisoning: primate experiments mimicking various scenarios of military or terrorist attack by soman. *Neurotoxicology* 1999; 20(4): 675–84.
18. *Patocka J, Jun D, Bajgar J, Kuca K*. Prophylaxis against nerve agent intoxications. *Def Sci J* 2006; 56(5): 775–84.
19. *Wesemann W, Sontag KH, Maj J*. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of memantine. *Arzneimittelforschung* 1983; 33(8): 1122–34. (German)
20. *Bormann J*. Memantine is a potent blocker of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor channels. *Eur J Pharmacol* 1989; 166(3): 591–2.
21. *Kornhuber J, Bormann J, Retz W, Hübers M, Riederer P*. Memantine displaces (3H)MK-801 at therapeutic concentrations in post-mortem human frontal cortex. *Eur J Pharmacol* 1989; 166(3): 589–90.
22. *Kornhuber J, Bormann J, Hübers M, Rusche K, Riederer P*. Effects of 1-amino-adamantanes at the MK-801-binding site of the NMDA-receptor-gated ion channel: a human postmortem brain study. *Eur J Pharmacol* 1991; 206(4): 297–300.
23. *Seif el Nasr M, Peruche B, Rossberg C, Mennel H-D, Kriegelstein J*. Neuroprotective effect of memantine demonstrated in vivo and in vitro. *Eur J Pharmacol* 1990; 185(1): 19–24.
24. *Erdő SL, Schäfer M*. Memantine is highly potent in protecting cortical cultures against excitotoxic cell death evoked by glutamate and N-methyl-D-aspartate. *Eur J Pharmacol* 1991; 198(2–3): 215–7.
25. *Gupta RC, McLean MJ, Dettbarn W-D*. Protection against nerve-agent induced central and peripheral toxicity. In: Proceedings of the Sixth Medical Chemical Defense Bioscience Review; 1987 Aug 4–6; Washington (DC): Aberdeen Proving Ground (MD): United States Army Medical Research Institute of Chemical Defense; 1987. p. 473–6.
26. *Gupta RC, McLean MJ, Dettbarn WD*. Prophylaxis and treatment against the toxicity of organophosphates (OP) compounds in rat by memantine and atropine. *Toxicologist* 1987; 7: 1103..
27. *Gupta RC, Kadel WL*. Prevention and antagonism of acute carbofuran intoxication by memantine and atropine. *J Toxicol Environ Health* 1989; 28(1): 111–22.
28. *Gupta RC, Kadel WL*. Methyl parathion acute toxicity: prophylaxis and therapy with memantine and atropine. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1990; 305(1–2): 208–21.
29. *Gupta RC, Kadel WL*. Novel effects of memantine in antagonizing acute aldicarb toxicity: Mechanistic and applied consideration. *Drug Dev Res* 1991; 24(4): 329–41.

30. Gupta RC, Kadel WL. Subacute toxicity of aldicarb: Prevention and treatment with memantine and atropine. *Drug Dev Res* 1991; 24(4): 343–53.
31. Gupta RC, Detham WD. Potential of memantine D-tubocurarine, and atropine in preventing acute toxic myopathy induced by organophosphate nerve agents: soman, sarin, tabun and VX. *Neurotoxicology* 1992; 13(3): 649–61.
32. Gupta RC, Goad JT, Kadel WL. Protection and reversal by memantine and atropine of carbofuran-induced changes in biomarkers. *Drug Dev Res* 1993; 28(2): 153–60.
33. Gupta RC. Carbofuran toxicity. *J Toxicol Environ Health* 1994; 43(4): 383–418.
34. Gupta RC, Goad JT. Role of high-energy phosphates and their metabolites in protection of carbofuran-induced biochemical changes in diaphragm muscle by memantine. *Arch Toxicol* 2000; 74(1): 13–20.
35. Litchfield JT, Wilcoxon F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmacol Exp Ther* 1949; 96(2): 99–113.
36. Fredericks WR, Rapoport SI. Reversible osmotic opening of the blood-brain barrier in mice. *Stroke* 1988; 19(2): 226–8.
37. Wiranowska M, Wilson TC, Bencze KS, Prockop LD. A mouse model for the study of blood-brain permeability. *J Neurosci Methods* 1988; 26(2): 105–9.
38. Petrali JP, Maxwell DM, Lenç DE, Mills KR. Effect of an anticholinesterase compound on the ultrastructure and function of the rat blood-brain barrier: a review and experiment. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1991; 23(2): 331–8.
39. Moos T, Møllgaard K. Cerebrovascular permeability to azo dyes and plasma proteins in rodents of different ages. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1993; 19(2): 120–7.
40. Cohen ML, Trevor AJ. On the cerebral accumulation of ketamine and the relationship between metabolism of the drug and its pharmacological effects. *J Pharmacol Exp Ther* 1974; 189(2): 351–8.
41. Palmer GC, Harris EW, Ray R, Stagnitto ML, Schmiesing RJ. Classification of compounds for prevention of NMDLA-induced seizures/mortality, or maximal electroshock and pentylenetetrazol seizures in mice antagonism of MK801 binding in vitro. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1992; 317: 16–34.
42. Mealing GA, Lanthorn TH, Murray CL, Small DL, Morley P. Differences in degree of trapping of low-affinity uncompetitive N-methyl-D-aspartic acid receptor antagonists with similar kinetics of block. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 288(1): 204–10.
43. Shih T, Mc Donogh JH Jr, Koplavitz I. Anticonvulsants for soman-induced seizure activity. *J Biomed Sci* 1999; 6(2): 86–96.
44. Dorandeu F, Carpentier P, Baubichon D, Four E, Bernabe D, Burckhart MF et al. Efficacy of the ketamine atropine combination in the delayed treatment of soman-induced status epilepticus. *Brain Res* 2005; 1051(1–2): 164–75.
45. Erdmann WD. A new antidote principle for the treatment of alkylphosphate poisoning. *Naunyn Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmacol* 1969; 263(1): 61–72. (German)
46. Wills JH. Recent studies on organic phosphate poisoning. *Fed Proc* 1959; 18: 1020–5.
47. Clement JG. Effect of fasting on the acute toxicity of HI-6 and its efficacy in soman poisoned mice. *Fund Appl Toxicol* 1982; 2(2): 88–9.
48. Brezenoff HE, McGee J, Knight V. The hypertensive response to soman and its relation to brain acetylcholinesterase inhibition. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 1984; 55(4): 270–7.
49. Holmstedt B, Nordgren I, Sandoz M, Sundvall A. Metrifonate. Summary of toxicological and pharmacological information available. *Arch Toxicol* 1978; 41(1): 3–29.
50. Ashani Y, Catravas GN. Seizure-induced changes in the permeability of the blood-brain barrier following administration of anticholinesterase drugs to rats. *Biochem Pharmacol* 1981; 30(18): 2593–601.
51. Carpentier P, Delamanche IS, Le Bert M, Blanchet G, Bouchaud C. Seizure-related opening of the blood-brain barrier induced by soman; Possible correlation with the acute neuropathology observed in poisoned rats. *Neurotoxicology* 1990; 11(18): 493–508.
52. Bošković B. The treatment of soman poisoning and its perspectives. *Fund Appl Toxicol* 1981; 1(2): 203–13.
53. Rousseaux CG, Dna AK. Pharmacology of HI-6, an H-series oxime. *Can J Physiol Pharmacol* 1989; 67(10): 1183–9.
54. Dawson RM. Review of oximes available for treatment of nerve agent poisoning. *J Appl Toxicol* 1994; 14(5): 317–31.
55. Kassa J. A comparison of the efficacy of new asymmetric bispyridinium oxime BI-6 with other oximes (obidoxime, HI-6) against soman in rats. *Hum Exp Toxicol* 1998; 17(6): 331–5.
56. Antonijević B, Bokunjić D, Stojiljković MP, Kilibarda V, Milovanović ZA, Nedeljković M, et al. Efficacy of trimedoxime in mice poisoned with dichlorvos, heptenophos or monocrotophos. *Basis Clin Pharmacol Toxicol* 2005; 96(2): 111–7.
57. Jokanović M, Stojiljković MP. Current understanding of the application of pyridinium oximes as cholinesterase reactivators in treatment of organophosphate poisoning. *Eur J Pharmacol* 2006; 553(1–3): 10–7.
58. Jokanović M. Medical treatment of acute poisoning with organophosphorus and carbamate pesticides. *Toxicol Lett* 2009; 190(2): 107–15.
59. Antonijević B, Stojiljković MP, Maksimović M, Nedeljković M, Đukić M. Adamantane derivatives and oxime HI-6 in mice poisoned with soman. *Arch Toxicol Kinet Xenobiot Metab* 1998; 6(4): 747–50.
60. Antonijević B, Maksimović M, Kilibarda V, Stojiljković MP, Nedeljković M, Milovanović Z, et al. Potential beneficial action of adamantanes in mice poisoned with soman. *Arch Toxicol Kinet Xenobiot Metab* 2001; 9(1–2): 13–20.
61. Jokanović M, Maksimović M. A comparison of trimedoxime, obidoxime, pralidoxime and HI-6 in the treatment of oral organophosphorus insecticide poisoning in the rat. *Arch Toxicol* 1995; 70(2): 119–23.
62. Antonijević B, Maksimović M, Nedeljković M, Đukić M. Efficacy of obidoxime against organophosphorus insecticides in mice. XXXVII European Congress of Toxicology – EUROTOX '99; 1999 June 27–30; Norway, Oslo: *Toxicol Lett*; 1999; 1(109): 104.
63. Antonijević B, Maksimović M, Stojiljković MP, Nedeljković M, Đukić M. Protective effects of pyridinium oximes and memantine in mice poisoned with heptenophos. *Arch Toxicol Kinet Xenobiot Metab* 1998; 6(3): 307–8.
64. Antonijević B, Maksimović M, Stojiljković PM, Nedeljković M, Đukić M. Protective effects of memantine and pyridinium oximes in mice poisoned with dichlorvos. *Arch Toxicol Kinet Xenobiot Metab*; 2000; 8(3): 216–7.
65. Stojiljković MP. Memantine or its metabolite 1-amino-3-hydroxymethyl-5-methyl adamantane (Mrz 2/373) afford better prophylaxis than physostigmine or pyridostigmine in soman-intoxicated rats. *Arch Toxicol Kinet Xenobiot Metab* 1997; 5(1): 35–9.
66. Bregovec I, Maksimović M, Kilibarda V, Binenfeld Z. Adamantane derivatives as potential reactivators of acetylcholinesterase inhibited by organophosphorus compounds. *Acta Pharmaceutica* 1992; 42(3): 251–3.
67. Fauvelle F, Dorandeu F, Carpentier P, Foquin A, Rabeson H, Graveron-Demilly D, et al. Changes in mouse brain metabolism following a convulsive dose of soman: A proton HRMAS NMR study. *Toxicology* 2010; 267(1–3): 99–111.
68. Grange Messent V, Bouchaud C, Jamme M, Lallement G, Foquin A, Carpentier P. Seizure-related opening of the blood-brain barrier produced by the anticholinesterase compound, soman: new ultrastructural observations. *Cell Mol Biol Noisy le grand*. 1999; 45(1): 1–14.

69. *Dorandeu F, Baille V, Mikler J, Testylier G, Lallement G, Sawyer T*, et al. Protective effects of S(+) ketamine and atropine against lethality and brain damage during soman-induced status epilepticus in guinea-pigs. *Toxicology* 2007; 234(3): 185–93.
70. *Clement JG, Broxup B*. Efficacy of diazepam and avizafone against soman-induced neuropathology in brain of rats. *Neurotoxicology* 1993; 14(4): 485–504.
71. *Anderson DR, Harris LW, Chang FC, Baze WB, Capacio BR, Byers SL*, et al. Antagonism of soman-induced convulsions by midazolam, diazepam and scopolamine. *Drug Chem Toxicol* 1997; 20(3): 115–31.
72. *McDonough JH Jr, Zoefel LD, McMonagle J, Copeland TL, Smith CD, Shih TM*. Anticonvulsant treatment of nerve agent seizures: anticholinergics versus diazepam in soman-intoxicated guinea pigs. *Epilepsy Res* 2000; 38(1): 1–14.
73. *Krutak-Krol H, Domino EF*. Comparative effects of diazepam and midazolam on paraoxon toxicity in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985; 81(3 Pt 1): 545–50.
74. *Domino EF*. Comparative seizure inducing properties of various cholinesterase inhibitors: Antagonism by diazepam and midazolam. *Neurotoxicology* 1987; 8(1): 113–22.
75. *McDonough JH Jr, McMonagle J, Copeland TL, Zoefel LD, Shih TM*. Comparative evaluation of benzodiazepines for control of soman-induced seizures. *Arch Toxicol* 1999; 73(8–9): 473–8.
76. *Deshpande SS, Smith CD, Filbert MG*. Assessment of primary neuronal culture as a model for soman-induced neurotoxicity and effectiveness of memantine as a neuroprotective drug. *Arch Toxicol* 1995; 69(6): 384–90.

Primljen 5. III 2010.
Prihvaćen 24. III 2010.



Mirasol PRT System inactivation efficacy evaluated in platelet concentrates by bacteria-contamination model

Ocena efikasnosti inaktivacije bakterija pomoću Mirasol PRT sistema u koncentrovanim trombocitima primenom modela bakterijske kontaminacije

Miodrag Jocić*, Miroljub Trkuljić*, Dragana Jovičić*, Nemanja Borovčanin*,
Milena Todorović†, Bela Balint*‡

*Military Medical Academy, Institute of Transfusiology, Belgrade, Serbia; †Clinical Center of Serbia, Clinic for Hematology, Belgrade, Serbia; University of Belgrade, ‡Institute for Medical Research, Belgrade, Serbia

Abstract

Background/Aim. Bacterial contamination of blood components, primarily platelet concentrates (PCs), has been identified as one of the most frequent infectious complications in transfusion practice. PC units have a high risk for bacterial growth/multiplication due to their storage at ambient temperature ($20 \pm 2^\circ\text{C}$). Consequences of blood contamination could be effectively prevented or reduced by pathogen inactivation systems. The aim of this study was to determine the Mirasol pathogen reduction technology (PRT) system efficacy in PCs using an artificial bacteria-contamination model. **Methods.** According to the ABO blood groups, PC units ($n = 216$) were pooled into 54 pools (PC-Ps). PC-Ps were divided into three equal groups, with 18 units in each, designed for an artificial bacteria-contamination. Briefly, PC-Ps were contaminated by *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* or *Escherichia coli* in concentrations 10^2 to 10^7 colony forming units (CFU) per unit. Afterward, PC-Ps were underwent to inactivation by Mirasol PRT system, using UV ($\lambda = 265\text{--}370$ nm) activated riboflavin (RB). All PC-Ps were assayed by BacT/Alert Microbial Detection System for CFU quantifica-

tion before and after the Mirasol treatment. Samples from non-inactivated PC-P units were tested after preparation and immediately following bacterial contamination. Samples from Mirasol treated units were quantified for CFUs one hour, 3 days and 5 days after inactivation. **Results.** A complete inactivation of all bacteria species was obtained at CFU concentrations of 10^2 and 10^3 per PC-P unit through storage/investigation period. The most effective inactivation (10^5 CFU per PC-P unit) was obtained in *Escherichia coli* setting. Contrary, inactivation of all the three tested bacteria species was unworkable in concentrations of $\geq 10^6$ CFU per PC-P unit. **Conclusion.** Efficient inactivation of investigated bacteria types with a significant CFU depletion in PC-P units was obtained – 3 Log for all three tested species, and 5 Log for *Escherichia coli*. The safety of blood component therapy, primarily the clinical use of PCs can be improved using the Mirasol PRT system.

Key words: blood platelets; platelet transfusion; bacterial infections; treatment outcome; riboflavin; ultraviolet rays.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Bakterijska kontaminacija hemoprodukata, prvenstveno koncentrovanih trombocita (KT), jedna je od najčešćih infektivnih komplikacija u transfuzijskoj praksi. Zbog skladištenja na sobnoj temperaturi ($20 \pm 2^\circ\text{C}$), KT predstavljaju veliki rizik od umnožavanja bakterija. Posledice bakterijske kontaminacije mogu biti efikasno sprečene ili smanjene upotrebom sistema za inaktivaciju patogena u različitim hemoproduktima. Cilj ovog rada bio je procena efikasnosti Mirasol sistema za redukciju patogena (PRT) u KT korišćenjem modela arteficalne bakterijske kontaminacije.

Metode. U skladu sa krvnim grupama ABO, jedinice KT ($n = 216$) spojene su u 54 pula (P-KT) koji su bili podeljeni u tri jednake grupe, u svakoj po 18 jedinica, namenjenih za arteficalnu bakterijsku kontaminaciju. Jedinice P-KT bile su kontaminirane bakterijama *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* u koncentracijama od 10^2 do 10^7 CFU po jedinici. Potom su P-KT bili podvrgnuti inaktivaciji sistemom Mirasol PRT, korišćenjem riboflavina aktiviranog UV zracima ($\lambda = 265\text{--}370$ nm). Svi P-KT su testirani sistemom *BacT/Alert Microbial Detection* na prisustvo CFU pre i posle postupka Mirasol. Uzorci iz neaktivisanih jedinica PKT testirani su posle pripremanja i neposredno

posle kontaminacije bakterijama. Uzorci iz jedinica tretiranih Mirasolom ispitivani su na prisustvo CFU jedan sat, odnosno 3 i 5 dana nakon inaktivacije. **Rezultati.** Tokom perioda čuvanja/istraživanja postignuta je kompletna inaktivacija bakterija svih vrsta u koncentracijama od 10^2 i 10^3 CFU po P-KT. Najefikasnija inaktivacija (10^5 CFU po P-KT) postignuta je pri ispitivanju bakterije *Escherichia coli*. Nasuprot tome, inaktivacija kod sve tri vrste bakterija nije bila efikasna u koncentracijama bakterija $\geq 10^6$ CFU po P-KT. **Zaključak.** Efikasna inaktivacija ispitivanih bakterija sa bitnim smanje-

njem CFU u P-KT – 3 Log postignuta je za sve tri vrste bakterija i 5 Log za bakteriju *Escherichia coli*. Bezbednost terapije krvnim komponentama, prvenstveno klinička primena KT, može biti unapređena korišćenjem sistema Mirasol PRT.

Ključne reči:
trombociti; transfuzija trombocita; infekcija, bakterijska; lečenje, ishod; vitamin b2; ultravioletni zraci.

Introduction

The use of various inactivation techniques clearly reduces pathogen occurrence in collected blood. The Mirasol pathogen reduction technology (PRT) system is based on the treatment by ultraviolet (UV) illuminated/activated riboflavin (RB), resulting in inactivation of white blood cells (WBC) and pathogens at the molecular level due to irreversible photochemically induced damage of nucleic acids. These photochemical mechanisms inhibit nucleic acid replication and decrease incidence of potential transfusion side effects or complications¹⁻⁵.

Generally, the risk of transfusion-associated infections – applying bacteria contaminated platelet concentrates (PCs) is about 1,000 times greater than the hazard of transfusion-related HIV, hepatitis C or B virus and human T-lymphotropic virus transmission^{6, 7}. The most important sources of bacterial contamination of collected blood are the donor skin⁸⁻¹¹ or asymptomatic donors – low-level or transient bacteremia in chronic bacterial infections, as well as a recovery from a disease¹²⁻¹⁵. Seldom, the source of bacteria can be a nonsterile equipment for collection or devices for processing of harvested blood units¹⁶⁻¹⁸. The prevalence of bacterial contamination is relatively high in PCs – from 0.14% to 1.41% – since their storage temperature ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) favors bacteria growth/multiplication^{6, 19}. Consequently, PCs are the most common cause of transfusion-associated bacterial morbidity and mortality. However, the rate of blood contamination is higher than the incidence of bacterial infections because their clinical manifestation depends on numerous factors, such as patient's general condition, antibiotic therapy, quantity and type of bacteria, etc²⁰⁻²².

Strategies to reduce the risk of transfusion-associated bacterial infections include superior donor selection²³, improved preparation and disinfecting of venepuncture field²⁴⁻²⁷, redirecting the initial blood stream into satellite bag at the start of collection^{25, 26}, improved processing procedure safety and reduced storage time^{28, 29}, reevaluation/optimization of thresholds and criteria for transfusion supportive treatment^{30, 31}, as well as the use of different pathogen inactivation systems^{1, 5-7, 32}.

The aim of this study was to evaluate the Mirasol PRT system efficacy in artificial bacteria-contamination model and to predict the importance of its application in prevention of potential infectious complications of PC clinical use.

Methods

The study included 216 units of buffy coat derived PCs; the volume was 62.4 ± 8 mL in average. The units of PC were separated from whole blood collected by a CPD/SAGM quadruple bag system (Macopharma, France) within 6 hours after donation, using a T-ACE II blood processor (Terumo, Japan). According to the ABO blood groups, PC units were pooled into 54 pools (PC-Ps; four PCs per PC-P unit). After that PC-Ps were divided into three equal groups, with 18 PC-P units in each (mean PC-P volume was 256.6 ± 14 mL). PC-Ps were stored at ambient temperature ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) for 2 hours and then were filtered using an Imugard III-PL (Terumo, Japan).

The PC-P units were artificially contaminated by three different bacteria species. In brief, into the units of the first PC-P group *Staphylococcus epidermidis* (isolated from the skin), in the second group *Staphylococcus aureus* (ATCC# 25923), and in the units of the third group *Escherichia coli* (ATCC# 25922) were inoculated. The initial bacteria concentration for all the three species was 0.5 McF (1.5×10^8 CFU / mL). Initial suspensions were diluted (six different dilutions were applied) and inoculated into the units of PC-P groups regarding all the three species in the same way. Therefore, the final counts of inoculated CFUs were 102 to 107 per PC-P unit.

Before bacterial contamination, samples were taken (1st sample; sterility control) from the PC-P units and investigated by a BacT/Alert Microbial Detection System (Biomérieux, France). After contamination, from PC-P units samples were taken also to confirm contamination success (2nd sample; contamination checking). All PC-P units underwent inactivation by the Mirasol PRT system (CaridianBCT, USA) – that is using UV ($\lambda = 265 - 370$ nm) activated RB according to the manufacturer's instructions. Concisely, a sterile solution contains RB (500 $\mu\text{mol} / \text{L}$) in a 0.9% sodium chloride solution (pH range: 4.0–5.0). A volume of 35 ± 5 mL of this solution is added to PC-P units to produce a final concentration 57–60 $\mu\text{mol} / \text{L}$. The illuminator delivers the required UV light dose (6.24 J / mL) to the contents of an illumination bag (Mirasol Platelet Illumination/Storage set), based on product volume and measured flux rate³.

The units are then returned to platelets shaker up to the moment of the investigations that followed. Finally, the samples from the inactivated units one hour, 3 days and 5 days

after the Mirasol inactivation and storage at $20 \pm 2^\circ\text{C}$ (3rd, 4th and 5th samples) were investigated for CFU units.

Results

The results of the PC-P testing before and after the contamination with bacteria *Staphylococcus epidermidis* (six different concentrations), and after inactivation of pathogens using the Mirasol PRT system, are presented in Table 1.

Testing relating to contamination of PC-Ps with bacteria *Staphylococcus aureus* and bacteria *Escherichia coli* in different concentrations is shown in Tables 2 and 3, respectively.

In the samples from PC-Ps contaminated with *Staphylococcus aureus* in the concentration of 10^4 CFU per PC-Ps, we proved the presence of the said bacteria after the storage period of three and five days (4th and 5th samples, respectively), despite the negative results of the

Table 1
Inactivation efficiency of the Mirasol PRT after platelet concentrates contamination with *Staphylococcus epidermidis*

PC-P number	CFU per PC-P unit	Bacteria presence in the sample				
		initial*	contaminated**	inactivated-1 [†]	inactivated-2 ^{††}	inactivated-3 ^{†††}
J1004 1000001		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000002	10 ²	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000003		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000004		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000005	10 ³	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000006		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000007		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000008	10 ⁴	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000009		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000010		Ø	+	+	+	+
J1004 1000011	10 ⁵	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000012		Ø	+	+	+	+
J1004 1000013		Ø	+	+	+	+
J1004 1000014	10 ⁶	Ø	+	+	+	+
J1004 1000015		Ø	+	+	+	+
J1004 1000016		Ø	+	+	+	+
J1004 1000017	10 ⁷	Ø	+	+	+	+
J1004 1000018		Ø	+	+	+	+

*1st sample – before bacterial contamination; **2nd sample – immediately after bacterial contamination; †3rd sample – one hour after inactivation; ††4th sample – day 3 after inactivation; †††5th sample – day 5 after inactivation.

Table 2
Inactivation efficiency of the Mirasol PRT after platelet concentrations contamination with *Staphylococcus aureus*

PC-P number	CFU per PC-P unit	Bacteria presence in the sample				
		initial*	contaminated**	inactivated-1 [†]	inactivated-2 ^{††}	inactivated-3 ^{†††}
J1004 1000019		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000020	10 ²	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000021		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000022		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000023	10 ³	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000024		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000025		Ø	+	Ø	+	+
J1004 1000026	10 ⁴	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000027		Ø	+	Ø	Ø	+
J1004 1000028		Ø	+	+	+	+
J1004 1000029	10 ⁵	Ø	+	+	+	+
J1004 1000030		Ø	+	Ø	+	+
J1004 1000031		Ø	+	+	+	+
J1004 1000032	10 ⁶	Ø	+	+	+	+
J1004 1000033		Ø	+	+	+	+
J1004 1000034		Ø	+	+	+	+
J1004 1000035	10 ⁷	Ø	+	+	+	+
J1004 1000036		Ø	+	+	+	+

*1st sample – before bacterial contamination; **2nd sample – immediately after bacterial contamination; †3rd sample – one hour after inactivation; ††4th sample – day 3 after inactivation; †††5th sample – day 5 after inactivation.

The samples of contaminated PC-Ps with *Staphylococcus epidermidis* in the concentration of 10^4 CFU per PC-P were also sterile after the Mirasol PRT inactivation process and during a storage period, while in bacterial concentration of 10^5 CFU per PC-P, only one PC-P was sterile.

first sample taken one hour after the Mirasol PRT inactivation.

The highest degree of pathogen reduction has been made in PC-Ps contaminated by *Escherichia coli* inoculation. In concentrations of bacteria $\leq 10^5$ CFU per PC-Ps, the sam-

Table 3

Inactivation efficiency of the Mirasol PRT after platelet concentrate contamination with *Escherichia coli*

PC-P number	CFU per PC-P unit	Bacteria presence in the sample				
		initial*	contaminated**	inactivated-1 [†]	inactivated-2 ^{††}	inactivated-3 ^{†††}
J1004 1000037		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000038	10 ²	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000039		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000040		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000041	10 ³	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000042		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000043		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000044	10 ⁴	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000045		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000046		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000047	10 ⁵	Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000048		Ø	+	Ø	Ø	Ø
J1004 1000049		Ø	+	+	+	+
J1004 1000050	10 ⁶	Ø	+	+	+	+
J1004 1000051		Ø	+	+	+	+
J1004 1000052		Ø	+	+	+	+
J1004 1000053	10 ⁷	Ø	+	+	+	+
J1004 1000054		Ø	+	+	+	+

*1st sample – before bacterial contamination; **2nd sample – immediately after bacterial contamination; †3rd sample – one hour after inactivation; ††4th sample – day 3 after inactivation; †††5th sample – day 5 after inactivation.

plates were sterile during the whole storage period. However, pathogen inactivation was not successful with bacterial concentrations $\geq 10^6$ CFU per PC-Ps.

The results show that all PC-P units (n = 54) were sterile before testing (1st sample), as well as that the contamination of units by all the three bacteria species in all concentrations – from 10^2 to 10^7 – was confirmed (2nd sample). There was a complete inactivation of bacteria in concentrations of 10^2 and 10^3 CFU per PC-P (the degree of reduction was 2 and 3 Log) during the storage period (3rd, 4th and 5th samples) for all the three types of bacteria.

Summarily, in our study using the Mirasol PRT system bacterial depletion rank was 3–5 Log for all the three of bacteria species.

Discussion

The bacteria presence in PCs is often the result of their inadequate removal from the skin of donors (venepuncture field), not diagnosed donor's bacteremia and possible blood contamination during collection and processing^{33–36}. Bacterial contamination of PCs, associated with adverse transfusion reactions showed that most commonly isolated Gram-positive bacteria from donor's skin (*Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*) were found in more than 70% of published cases of sepsis associated with PC transfusion^{6, 35, 37}. Contrary to this, some published data showed that Gram-negative bacterias, such as *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* and *Serratia marcescens* are most commonly isolated pathogens in transfusion associated sepsis. Fatal outcome was the result of infection with Gram-negative bacterias in 63% of cases in comparison with 37% of fatal outcome after infections with Gram-positive bacterias^{6, 35, 37}.

To assess the efficacy of bacterial reduction by the Mirasol PRT system, two types of experiments known as “high

spike bacterial titer” and “low spike bacterial titer” tests were performed¹. Both methods involve inoculation of the known number of bacteria before inactivation of pathogens, and subsequently prove the presence or quantification of remaining bacteria (CFU) and calculate degree of their reduction. The aim of the experiments with high-titer bacteria inoculation was to determine the full potential of the Mirasol PRT system in the terms of reduction of a large number of bacteria in PCs. Contrary, in studies with inoculation of low, but clinically significant titer of bacteria, after the Mirasol inactivation of pathogens (0.5–2 Log CFU per mL), evaluation of PCs usefulness for transfusion was performed using standard systems to detect contamination during the whole storage period^{1, 38}.

Based on these facts, our pathogen inactivation model examined the Mirasol treatment efficacy in PCs, previously contaminated with different bacterial species most frequently associated with bacterial adverse transfusion complications – *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Inoculation prepared with a various bacterial concentrations (range: 10^2 to 10^7 CFU per PC-P unit). Checking the maximum capacity of the Mirasol PRT system for the degree of pathogen inactivation was testing by inoculation of high bacterial concentrations in the PCs. Evaluation of the Mirasol efficacy in the prevention of potential infectious complications after transfusion of contaminated PC units was performed due to inoculation of lower bacteria's concentrations – mimicking the conditions regularly seen in clinical practice.

For the period of storage bacteria can growth/multiply quickly, as in our study with PC-Ps contaminated with *Staphylococcus aureus* species in the concentration of 10^4 CFU per PC-P in two PC-Ps. Despite the reduction of bacteria's number after the Mirasol PRT system inactivation to undetectable degree (negative result in the 3rd sample), there was a multiplication of the remaining viable bacteria to

detectable levels (confirmed in two PC-P units at 3rd and/or 5th days).

Concerning the literature data, fresh PCs are contaminated with less than 100 bacteria *per* product^{1,20}. The number of inoculated bacteria can vary from low concentrations (100–1,000 times higher than clinically relevant concentrations) to high, when their number is approximately 10,000–100,000 times bigger than in typical clinical conditions. In our model, we achieved the degree of pathogen reduction from 3–5 Log which represents an additional high-level safety for patients receiving PCs. Impossibility to complete inactivation of viable bacteria number in concentrations $\geq 10^6$ CFU *per* PC-P unit has no importance, because in clinical practice we do not regularly see such a large number of bacteria in fresh blood products. Finally, the obtained degree of pathogen reduction/inactivation in our research model was in accordance with the studies of other authors^{1,4,38}, as well as the manufacturer's instructions.

The advantage of the Mirasol PRT system, unlike other systems developed to inactivate pathogens in blood products, is in the fact that after illumination of product with UV light during 6–10 minutes (6.24 J / mL), these products are immediately ready for clinical use. Therefore, there is no need for subsequently removing RB and its metabolites from blood products, since it is a vitamin, already present in the body of the recipient.

Conclusion

In this study efficient pathogen inactivation (CFU depletion) was obtained in investigated PC-P units – 3 Log for all the three tested bacteria species and 5 Log for *Escherichia coli*. Thus, the safety of blood component therapy – predominantly the clinical use of PCs – can be significantly improved (lower morbidity/mortality rate) by using the Mirasol PRT system.

R E F E R E N C E S

1. Goodrich RP, Edrich RA, Li J, Seghatchian J. The Mirasol PRT system for pathogen reduction of platelets and plasma: an overview of current status and future trends. *Transfus Apher Sci* 2006; 35(1): 5–17.
2. Goodrich RP, Doane S, Reddy HL. Design and development of a method for the reduction of infectious pathogen load and inactivation of white blood cells in whole blood products. *Biologicals* 2010; 38(1): 20–30.
3. Reddy HL, Dayan AD, Cavagnaro J, Gad S, Li J, Goodrich RP. Toxicity testing of a novel riboflavin-based technology for pathogen reduction and white blood cell inactivation. *Transfus Med Rev* 2008; 22(2): 133–53.
4. Goodrich P, Gilmour D, Hovenga N, Keil SD. A laboratory comparison of pathogen reduction technology treatment and culture of platelet products for addressing bacterial contamination concerns. *Transfusion* 2009; 49(6): 1205–16.
5. Solheim BG. Pathogen reduction of blood components. *Transfus Apher Sci* 2008; 39(1): 75–82.
6. Blajichman MA. Incidence and significance of the bacterial contamination of blood components. *Dev Biol (Basel)* 2002; 108: 59–67.
7. Brecher ME, Hay SN. Improving platelet safety: bacterial contamination of platelets. *Curr Hematol Rep* 2004; 3(2): 121–7.
8. Bueno JL. Skin disinfection and bacterial contamination of blood components: be simple. *Transfusion* 2010; 50(1): 5–8.
9. Goldman M, Roy G, Fréchet N, Déary F, Massicotte L, Delage G. Evaluation of donor skin disinfection methods. *Transfusion* 1997; 37(3): 309–12.
10. Lee CK, Ho PL, Chan NK, Mak A, Hong J, Lin CK. Impact of donor arm skin disinfection on the bacterial contamination rate of platelet concentrates. *Vox Sang* 2002; 83(3): 204–8.
11. McDonald CP, Lowe P, Roy A, Robbins S, Hartley S, Harrison JF, et al. Evaluation of donor arm disinfection techniques. *Vox Sang* 2001; 80(3): 135–41.
12. Tipple MA, Bland A, Murphy JJ, Arduino MJ, Panlilio AL, Farmer JJ 3rd, et al. Sepsis associated with transfusion of red cells contaminated with *Yersinia enterocolitica*. *Transfusion* 1990; 30(3): 207–13.
13. Benavides S, Nicol K, Koranyi K, Nahata MC. *Yersinia* septic shock following an autologous transfusion in a pediatric patient. *Transfus Apher Sci* 2003; 28(1): 19–23.
14. Stainsby D, Jones H, Asher D, Atterbury C, Boncinelli A, Brant L, et al. Serious hazards of transfusion: a decade of hemovigilance in the UK. *Transfus Med Rev* 2006; 20(4): 273–82.
15. Jafari M, Forsberg J, Gilcher RO, Smith JW, Crutcher JM, McDermott M, et al. Salmonella sepsis caused by a platelet transfusion from a donor with a pet snake. *N Engl J Med* 2002; 347(14): 1075–8.
16. Heltberg O, Skov F, Gerner-Smidt P, Kolmos HJ, Dybkjaer E, Gutschik E, et al. Nosocomial epidemic of *Serratia marcescens* septicemia ascribed to contaminated blood transfusion bags. *Transfusion* 1993; 33(3): 221–7.
17. Högman CF, Fritz H, Sandberg L. Posttransfusion *Serratia marcescens* septicemia. *Transfusion* 1993; 33(3): 189–91.
18. AuBuchon JP, Pickard C, Herschel L. Sterility of plastic tubing welds in components stored at room temperature. *Transfusion* 1995; 35(4): 303–7.
19. Loukemas L, Houmane N, Mskine M, Mdaghri N, Benbachir M, Benchemsi N. Prevalence of bacterial contamination of standard platelet units: prospective study. *Transfus Clin Biol* 2000; 7(2): 171–6.
20. Brecher ME, Holland PV, Pineda AA, Tegtmeyer GE, Yomtovian R. Growth of bacteria in inoculated platelets: implications for bacteria detection and the extension of platelet storage. *Transfusion* 2000; 40(11): 1308–12.
21. McDonald CP, Roy A, Lowe P, Robbins S, Hartley S, Barbara JA. Evaluation of the BacT/Alert automated blood culture system for detecting bacteria and measuring their growth kinetics in leucodepleted and non-leucodepleted platelet concentrates. *Vox Sang* 2001; 81(3): 154–60.
22. Wagner SJ, Moroff G, Katz AJ, Friedman LI. Comparison of bacteria growth in single and pooled platelet concentrates after deliberate inoculation and storage. *Transfusion* 1995; 35(4): 298–302.
23. Germain M, Goldman M. Blood donor selection and screening: strategies to reduce recipient risk. *Am J Ther* 2002; 9(5): 406–10.
24. de Korte D, Marcelis JH, Soeterboek AM. Determination of the degree of bacterial contamination of whole-blood collections using an automated microbe-detection system. *Transfusion* 2001; 41(6): 815–8.
25. de Korte D, Marcelis JH, Verhoeven AJ, Soeterboek AM. Diversion of first blood volume results in a reduction of bacterial contamination for whole-blood collections. *Vox Sang* 2002; 83(1): 13–6.

26. McDonald CP, Roy A, Mahajan P, Smith R, Charlett A, Barbara JA. Relative values of the interventions of diversion and improved donor-arm disinfection to reduce the bacterial risk from blood transfusion. *Vox Sang* 2004; 86(3): 178–82.
27. McDonald C, McGuane S, Thomas J, Hartley S, Robbins S, Roy A, et al. A novel rapid and effective donor arm disinfection method. *Transfusion* 2010; 50(1): 53–8.
28. Pietersz RN, de Korte D, Reesink HW, Dekker WJ, van den Ende A, Loos JA. Storage of whole blood for up to 24 hours at ambient temperature prior to component preparation. *Vox Sang* 1989; 56(3): 145–50.
29. Wagner SJ, Robinette D, Nazario M, Moroff G. Bacteria levels in components prepared from deliberately inoculated whole blood held for 8 or 24 hours at 20 to 24 degrees C. *Transfusion* 1995; 35(11): 911–6.
30. Balint B, Stamatovic D. Clinical indications of transfusion therapy in internal medicine. In: *Walterova L, Kretschmer V, Bogdanovic G, Rossi U*, editors. The contribution of clinical medicine to blood safety. Proceedings of the European School of Transfusional Medicine ESTM Residential Course Milano: ESTM; 2003. p. 51–60.
31. Lozano M, Cid J. Consensus and controversies in platelet transfusion: trigger for indication, and platelet dose. *Transfus Clin Biol* 2007; 14(6): 504–8.
32. Pelletier JP, Transue S, Snyder EL. Pathogen inactivation techniques. *Best Pract Res Clin Haematol* 2006; 19(1): 205–42.
33. Blajchman MA. Bacterial contamination of cellular blood components: risks, sources and control. *Vox Sang* 2004; 87(Suppl 1): 98–103.
34. Brecher ME, Hay SN. Bacterial contamination of blood components. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18(1): 195–204.
35. Ness P, Braine H, King K, Barrasso C, Kickler T, Fuller A, et al. Single-donor platelets reduce the risk of septic platelet transfusion reactions. *Transfusion* 2001; 41(7): 857–61.
36. Rentas F, Harman R, Gomez C, Salata J, Childs J, Silva T, et al. Inactivation of *Orientia tsutsugamushi* in red blood cells, plasma, and platelets with riboflavin and light, as demonstrated in an animal model. *Transfusion* 2007; 47(2): 240–7.
37. Engelfried CP, Reesink HW, Blajchman MA, Muylle L, Kjeldsen-Kragh J, Kekomaki R, et al. Bacterial contamination of blood components. *Vox Sang* 2000; 78(1): 59–67.
38. Ruane P, Edrich R, Gampp D, Keil S, Leonard L, Goodrich R. Photochemical inactivation of selected viruses and bacteria in platelet concentrates using riboflavin and light. *Transfusion* 2004; 44(6): 877–85.

Received on May 12, 2010.

Accepted on June 22, 2010.



Alterations of T cell receptor V β repertoire of CD8 T lymphocytes in immune tolerance induction in two hemophilia A patients with inhibitors

Promene V β repertoara T-ćelijskog receptora CD8 T-limfocita tokom indukcije imunološke tolerancije kod dva obolela od hemofilije A sa inhibitorima

Yoshihiko Sakurai*, Takaji Matsutani^{†,‡}, Takeshi Yoshioka[†],
Tomohiro Takeda*, Akira Yoshioka*, Midori Shima*

*Nara Medical University School of Medicine, Department of Pediatrics, Kashihara, Japan;

[†]Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Discovery Research Laboratories, Department of Medical Science, Osaka, Japan; [‡]Tohoku University School of Medicine, Department of Cell Biology, Division of Immunology and Embryology, Sendai, Japan

Abstract

Background/Aim. Hemophilia A patients with inhibitors are treated effectively with immune tolerance induction (ITI) therapy. Although anti-idiotypic antibodies may play a certain role in the underlying mechanism, the detailed mechanism by which ITI produces a curative effect remains unknown. The aim of this study was to clarify the immunological aspect of ITI. **Methods.** Longitudinal T-cell receptor (TCR) analysis was performed during ITI. TCR variable region α -chain and β -chain repertoires were serially analyzed for peripheral blood mononuclear cells (PBMCs), CD4 T cells, and CD8 T cells from 2 hemophilia inhibitor patients treated with ITI (Patients 1 and 2). Furthermore, to see whether skewing observed in TCR analysis resulted from clonality alterations, T-cell clonality was investigated using complementarity-determining region 3 (CDR3) size spectratyping. **Results.** In the patient 1, inhibitor titer remained to be 19.6 BU/mL for 596 days after ITI commencement, and ITI was unsuccessful. In the patient 2, inhibitor titer disappeared 434 days after ITI commencement, and ITI was successful. In both cases, skewing of TCR variable region α/β -chain repertoires was observed in CD8 T cell subset, whereas not in CD4 T cell subset. **Conclusion.** Alteration of TCR repertoires, especially TCR variable region β -chain repertoire of CD8 T cells, was distinct between successful and unsuccessful cases, suggesting that immunological response in the early phase affected the ITI outcomes.

Key words:

hemophilia a; receptors, antigen, t cell, alpha-beta; factor VIII; immune tolerance.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Oboleli od hemofilije A sa prisutnim inhibitorim antitelima uspešno se leče terapijom zasnovanom na indukciji imunološke tolerancije (ITI). Iako, antiidiotipska antitela mogu imati određenu ulogu u osnovnom mehanizmu ovog procesa, detaljni mehanizmi kojim ITI ostvaruje terapijski efekat su i dalje nepoznati. Cilj ove studije bio je da se razjasne imunološki aspekti ITI terapije. **Metode.** Longitudinalna analiza repertoara T-ćelijskog receptora (TCR) izvršena je tokom ITI terapije. Repertoari promenljivog regiona α - i β -lanca TCR-a analizirani su serijski u populaciji mononuklearnih ćelija periferne krvi, CD4 T-ćelija i CD8 T-ćelija kod dva bolesnika sa hemofilijom A i prisutnim inhibitorima, koji su lečeni primenom ITI terapije (bolesnici 1 i 2). Takođe, ispitivana je klonalnost T-limfocita korišćenjem metode tipiziranja spektra fragmenata regiona 3 koji određuje komplementarnost (CDR3) sa ciljem da se utvrdi da li je skretanje u TCR repertoaru posledica promene klona. **Rezultati.** Kod bolesnika 1 titar inhibitornih antitela zadržao je vrednost od 19,6 BU/mL tokom 596 dana od započinjanja ITI terapije, na osnovu čega je zaključeno da je ITI terapija bila bezuspešna. Kod bolesnika 2 ITI terapija je bila uspešna jer je titar inhibitornih antitela iščezao posle 434 dana od početka terapije. Kod oba bolesnika skretanje TCR repertoara promenljivog regiona α - i β -lanca TCR-a uočen je u podgrupi CD8 T-ćelija, ali ne i u podgrupi CD4 T-ćelija. **Zaključak.** Promena repertoara TCR-a, posebno promenljivog regiona β -lanca TCR-a u CD8 T-ćelija bila je različita kod uspešno i neuspešno lečenih bolesnika, što ukazuje da je imunološki odgovor u ranoj fazi uticao na ishod ITI terapije.

Ključne reči:

hemofilija a; receptori, antigen t ćelija, alfa-beta; faktor VIII; imunotolerancija.

Introduction

Approximately 25%–30% of severe type hemophilia A patients develop inhibitor antibodies that reduce or completely negate the benefits of replacement therapy¹. As a method of reducing inhibitor concentrations in patients with hemophilia A, immune tolerance induction to FVIII therapy (ITI)² is effective with the overall successful rate to 60%–80%^{3–5}. Although several mechanisms by which ITI exerts its therapeutic effect have been proposed, the precise immunological mechanism remains to be elucidated.

We had performed a cross-sectional T cell receptor (TCR) repertoire analysis in hemophilia patients with or without inhibitor⁶, and had shown that replacement therapy with plasma-derived factor VIII concentrates induced skew in T-cell receptor usage and clonal expansion of CD8 T cells in HIV-seronegative hemophilia patients. Recently, we had a chance to treat two inhibitor hemophilia A patients with ITI and perform longitudinal T cell receptor (TCR) analysis during early period of ITI. We present the alteration of TCR repertoire in this report.

Methods

Patient profiles

Two hemophilia A patients (patients 1 and 2) with inhibitors underwent ITI at Nara Medical University Hospital. The patient 1 and the patient 2 were diagnosed as hemophilia A at 5 months and 10 months old in our laboratory, respectively. Both patients were treated with recombinant factor VIII replacement after diagnosis. Inhibitor developed at 7 months old in the patient 1 and at 11 months old in the patient 2. Historical peak titer was 80 BU/mL in the patient 1 and 67 BU/mL in the patient 2. Then, ITI with recombinant FVIII concentrates (50 U/kg i.v., 3 times a week) started at 1 year 11 months old in the patient 1 and at 2 years 9 months old in the patient 2. Inhibitor titer immediately before ITI was 4.1 BU/mL in the patient 1 and 4.5 BU/mL in the patient 2. Peak inhibitor titer was 205 BU/mL in the patient 1 on day 15 after ITI started and 390 BU/mL in the patient 2 on day 28 after ITI started. Both patients were HIV-seronegative.

Leukocyte preparations

Cell separations were performed using the MACS beads technology as previously described⁶. Briefly, the peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were purified by the Ficoll-Paque method from the patients. CD4 T cells and CD8 T cells were separated from whole PBMC with CD4 Microbeads and CD8 Microbeads (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany), respectively. PBMCs were stained FITC-conjugated anti-CD4 antibody, FITC-conjugated anti-CD3 antibody, and PE-conjugated anti-CD8 antibody (BD Biosciences, San Jose, CA). Cell fluorescence was measured with a 2-laser FAC-Scalibur (BD Biosciences). The purity of isolated T cells was more than 95%. RNA was extracted from whole PBMCs, and CD4 and CD8 T cell fractions as previously described⁶. PBMCs, and CD4 and CD8 T cells were also obtained from 20 healthy donors (median age: 27 years, range: 14–51 years)

in the same manner, and RNA was extracted. They were used as normal controls⁶. All samples used in the present study were collected after written informed consent had been obtained. This study was approved by the Nara Medical University Internal Review Board.

Adaptor ligation-mediated PCR and biotinylation of PCR products

The methods of isolating RNA from PBMCs and adaptor ligation-mediated polymerase chain reaction (PCR) were previously reported^{7,8}.

Microplate hybridization assay

TCR α -chain variable region (TCRAV) and TCR β -chain variable region (TCRBV) repertoires were analyzed by the microplate hybridization assay (MHA) as previously reported^{7,8}.

Delta score

The delta score was used as an indicator to evaluate the extent of skewing of TCR repertoires⁷. The delta score indicates the sum of absolute differences between the frequency of respective V segments in individual patients and the mean frequency in 20 healthy donors. A low delta score indicates similarity between patients and healthy donors, whereas a high score indicates dissimilarity.

CDR3 size spectratyping

PCR for CDR3 size spectratyping was performed as described previously⁷.

Results

Outcome of ITI

In the patient 1, inhibitor titer remained to be 19.6 BU/mL for 596 days after ITI commencement, and ITI was unsuccessful. In the patient 2, inhibitor titer disappeared 434 days after ITI commencement, and ITI was successful.

TCR repertoire analysis

The usage of TCRAV and TCRBV was different between CD4 and CD8 T cells (data not shown). However, it remained less obvious whether TCR repertoire altered after ITI started.

Delta score

Figure 1 shows the fluctuation of the delta score. Before ITI was started, delta score was not elevated; i.e., marked skewing was not observed in either TCRAV or TCRBV repertoires of CD4 T cells in TCR repertoire analysis. On the other hand, increase of delta score was observed in CD8 T cells before ITI. Furthermore, the delta scores of both TCRAV and TCRBV of CD8 T cells were significantly higher than those of CD4 T cells in both patients during ITI. The delta score reached a peak around days 8 and 16 and gradually declined. In the patient 1, the delta score in CD8 T cells was high before ITI and gradually decreased in the course of ITI, nevertheless the delta score formed a peak at day 8. Furthermore, the delta scores in

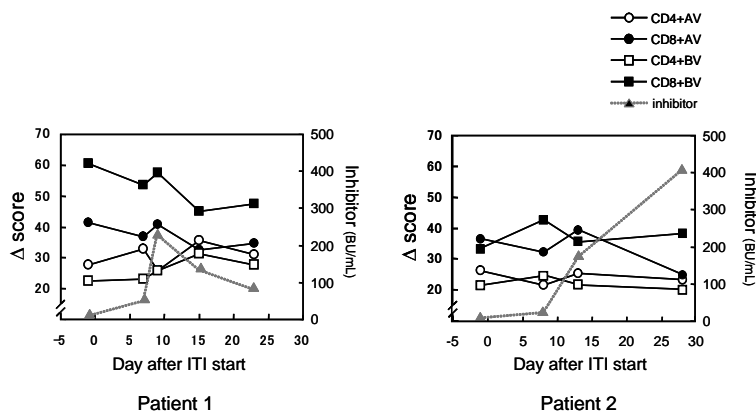


Fig. 1 – Alteration of the delta scores before and after the immune tolerance induction therapy (ITI) commencement in the patient 1 (left) and patient 2 (right). The skew in Tcell receptor (TCR) repertoire from baseline (before ITI) was larger as the score was higher.

CD8 T cells of TCRAV were higher than those of TCRBV in both the patients, especially in the patient 1.

CDR3 size spectratyping

T-cell clonality was analyzed by CDR3 size spectratyping with primers specific for the 40 AV and 37 BV segments. CD4 T cells showed a polyclonal pattern in any variable chains before and during ITI. On the other hand, the spectratyping pattern in CD8 T cells altered during ITI. Clonal peaks appeared in several TCRBVs (BV021, BV052, BV061, BV082 and BV151 in the patient 1, and BV062 and BV064 in the patient 2), or contrariwise skewing was reduced (BV091, BV181 and BV201 in the patient 1, and BV082 and BV091 in the patient 2) (Figure 2).

from patients by MHA. The different usage of TCRAV and TCRBV between CD4 and CD8 T cells suggested that TCR analysis of PBMCs had little meaning because the result of PBMCs could have been the sum of the results of CD4 and CD8. Therefore, interpretation of results of CD4 and CD8 T cells would provide significant information. Hereinafter, we focused on the difference in TCR repertoire between CD4 and CD8 T cells of the patients.

CD4 T cell helper activity is essential for B cell production of IgG antibodies with high affinity for antigens. Since neutralizing antibodies against FVIII (inhibitors) raised by FVIII replacement therapy belong to IgG-subclass antibodies, CD4 T cells that respond to FVIII will play an important role in the production of inhibitors.

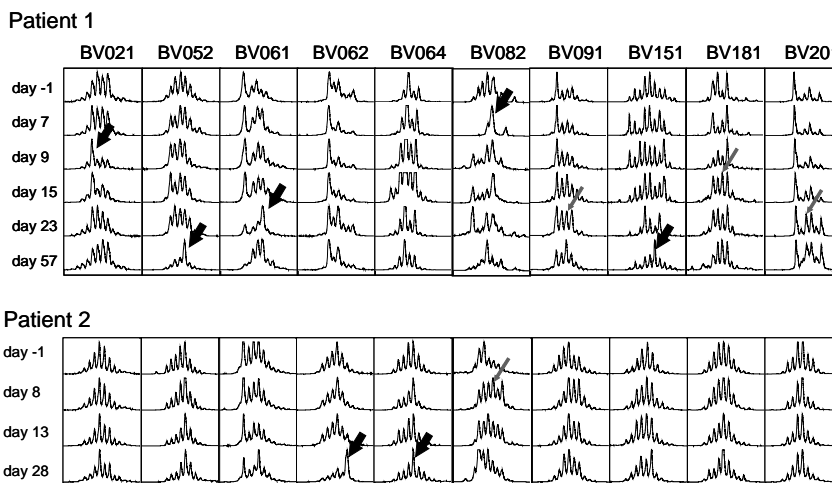


Fig. 2 – Alteration of T cell receptor β -chain variable region (TCRBV) CDR3 size spectratyping profiles during the immune tolerance induction therapy ITI in CD8 T cells from patient 1 (top) and patient 2 (bottom). The peak patterns obtained with each primer specific for BV segments are displayed in boxes. T cell clonality was examined in each T cell fraction by the CDR3 size spectratyping method. Thick arrow indicates the changes from a normal peak pattern to a few/single-clonal peak pattern. Thin arrow indicates the changes from a few/single-clonal peak pattern to a normal peak pattern.

Discussion

In this study, we firstly performed TCR repertoire analysis to investigate whether the usage of TCRAV and TCRBV was altered by ITI. TCRAV and TCRBV repertoires were analyzed in whole PBMCs, and CD4 and CD8 T cells

Our previous study using whole PBMCs had demonstrated that there was no association between the presence of inhibitor and clonal T cell proliferation⁶. When CD4 TCR repertoire is perturbed in hemophilia A patients with inhibitors⁹, one of the reasons for no association between the presence of inhibitor and clonal T cell proliferation might be that

expanded clonal CD8 T cells masked the alteration of CD4 T cell repertoire associated with a large amount of exogenous protein FVIII exposure. Therefore, PBMCs were separated into CD4 T and CD8 T cells in this study. MHA revealed that little alteration of TCR repertoire was observed in CD4 T cells. Furthermore, TCRBV that had shown high frequent usage before ITI was started remained to be high levels and showed skewed repertoire.

We evaluated the skew in the usage of TCR repertoires by the delta scores (the sum of the differences in AV/BV frequencies) as an indicator⁷. The higher delta score in CD8 T cells than in CD4 T cells before ITI suggested that TCR repertoire skewed much more in CD8 T cells than in CD4 T cells, confirming the results of MHA. The delta score achieved a peak around 1 or 2 weeks after ITI was started. Since the skew in TCR repertoire from baseline (before ITI) was larger as the score was higher, TCR repertoires were considered to have altered at that time.

The delta scores suggested that CD8 TCRBV repertoire was highly skewed in hemophilia patients treated with ITI. Although the delta score of TCRBV was high before ITI in the patient 1, the analysis of CD8 TCRBV repertoires might be worth considering as the delta score of TCRBV was still high during ITI.

Furthermore, we tried to determine whether the skew in the usage of TCR repertoires was due to clonal T-cell expansion during ITI. T-cell clonality was analyzed by CDR3 size spectratyping. A polyclonal pattern in any variable chains before and during ITI suggested that there was diversified range of CD4 T cells without clonal proliferation. ITI would not affect the spectratyping pattern of CD4 T cells. However, unexpectedly, the spectratyping pattern in CD8 T cells altered during ITI, and clonal peaks were evident in several

TCRBV or skewing was reduced to the contrary. The usage of TCRBV repertoires was different between a successful case and unsuccessful one.

Recently, an association of CD8 T cells with induction of immune tolerance has been revealed. It was found that human CD8CXCR3 T cells have the same function as murine CD8CD122 regulatory T cells¹⁰ that can induce immune tolerance with suppression of activated T cells through IL-10 production¹¹. In addition, CD8 cytotoxic cells are known to mediate the programmed cell death of T cells that leads to peripheral tolerance¹². Therefore, an antigen-specific bias of CD8 cytotoxic cells might result in the peripheral tolerance of the antigen-specific T cells. Our finding that the usage of CD8 TCR V β repertoire in a successful case was different from that in unsuccessful one might reflect the difference of peripheral tolerance mediated by CD8 cytotoxic cells.

We are aware of limitations of our study in the small sample size and the short duration for following alterations of TCR V β repertoire. Nevertheless, our findings of the difference of immune response in an early phase of ITI might provide us with a clue to the factor predicting the outcomes of ITI. Further studies will elucidate whether the skew in the usage of CD8 TCR repertoires play a role as an immunomodulatory factor and determine success of ITI.

Conclusion

Alteration of TCR repertoires, especially TCR variable region β -chain repertoire of CD8 T cells, was distinct between successful and unsuccessful cases, suggesting that immunological response in the early phase affected the ITI outcomes.

REFERENCES

1. Hoyer LW. The incidence of factor VIII inhibitors in patients with severe hemophilia A. *Adv Exp Med Biol* 1995; 386: 35–45.
2. Brackmann HH, Gormsen J. Massive factor-VIII infusion in haemophiliac with factor-VIII inhibitor, high responder. *Lancet* 1977; 2(8044): 933.
3. Freiburghaus C, Berntorp E, Ekman M, Gunnarsson M, Kjellberg BM, Nilsson IM. Tolerance induction using the Malmo treatment model 1982-1995. *Haemophilia* 1999; 5(1): 32–9.
4. Mauser-Bunschoten EP, Nienwenhuis HK, Roosendaal G, van den Berg HM. Low-dose immune tolerance induction in hemophilia A patients with inhibitors. *Blood* 1995; 86(3): 983–8.
5. Oldenburg J, Schwaab R, Brackmann HH. Induction of immune tolerance in haemophilia A inhibitor patients by the 'Bonn Protocol': predictive parameter for therapy duration and outcome. *Vox Sang* 1999; 77(Suppl 1): 49–54.
6. Matsutani T, Sakurai Y, Yoshioka T, Tsuruta Y, Suzuki R, Shima M, et al. Replacement therapy with plasma-derived factor VIII concentrates induces skew in T-cell receptor usage and clonal expansion of CD8+ T-cell in HIV-seronegative hemophilia patients. *Thromb Haemost* 2003; 90(2): 279–92.
7. Matsutani T, Yoshioka T, Tsuruta Y, Iwagami S, Suzuki R. Analysis of TCRAV and TCRBV repertoires in healthy individuals by microplate hybridization assay. *Hum Immunol* 1997; 56(1–2): 57–69.
8. Matsutani T, Yoshioka T, Tsuruta Y, Iwagami S, Toyosaki-Maeda T, Horiuchi T, et al. Restricted usage of T-cell receptor alpha-chain variable region (TCRAV) and T-cell receptor beta-chain variable region (TCRBV) repertoires after human allogeneic haematopoietic transplantation. *Br J Haematol* 2000; 109(4): 759–69.
9. Misra N, Bayry J, Pashov A, Kaveri SV, D'Oiron R, Stieljes N, et al. Restricted BV gene usage by factor VIII-reactive CD4+ T cells in inhibitor-positive patients with severe hemophilia A. *Thromb Haemost* 2003; 90(5): 813–22.
10. Shi Z, Okuno Y, Rifa'i M, Endharti AT, Akane K, Isobe K, et al. Human CD8+CXCR3+ T cells have the same function as murine CD8+CD122+ Treg. *Eur J Immunol* 2009; 39(8): 2106–19.
11. Endharti AT, Rifa'i M, Shi Z, Fukuoka Y, Nakahara Y, Kawamoto Y, et al. Cutting edge: CD8+CD122+ regulatory T cells produce IL-10 to suppress IFN-gamma production and proliferation of CD8+ T cells. *J Immunol* 2005; 175(11): 7093–7.
12. Herndon JM, Stuart PM, Ferguson TA. Peripheral deletion of antigen-specific T cells leads to long-term tolerance mediated by CD8+ cytotoxic cells. *J Immunol* 2005; 174(7): 4098–104.

Received on December 16, 2010.

Accepted on March 28, 2011.



Cervical, vaginal and vulvar intraepithelial neoplasms

Intraepitelijalne neoplazme grlića materice, vagine i vulve

Ana Mitrović-Jovanović*, Branko Stanimirović*, Branka Nikolić*, Milena Zamurović*, Živko Perišić*, Snežana Pantić-Aksentijević†

*University Clinic of Gynecology and Obstetrics “Narodni front”, Belgrade, Serbia;

†The Ministry of Health of the Republic of Serbia, Belgrade, Serbia

Key words:

cervical intraepithelial neoplasia; vaginal neoplasms; risk factors; diagnostic techniques and procedures; therapeutics; vaccination; prognosis.

Ključne reči:

grlić materice, neoplazme; vagina, neoplazme; faktori rizika; dijagnostičke tehnike i procedure; lečenje; vakcinacija; prognoza.

Intraepithelial neoplasms of the uterine cervix

Cervical intraepithelial neoplasms

The cervical intraepithelial neoplasms (CINs) are abnormalities of the squamous ectocervical epithelium. The first group consists of squamous intraepithelial lesions of low histological stage (LSIL) and includes flat condyloma and CIN I, while the second group consists of squamous intraepithelial lesions of high histological stage (HSIL) including CIN II and CIN III.

Epidemiological data

Epidemiological data on the frequency of the incidence and detection of these changes are scarce and varying, so they cannot be accepted with certainty. It is only confirmed that these changes are being increasingly detected and what is more, in the younger age groups. This is explained by new knowledge of the etiologic factors of these changes, which makes them classified in the group of sexually transmitted diseases, as well as by altered behavior regarding to sexual sphere¹⁻⁵.

Risk factors

Human papilloma viruses (HPV) play a significant role in the development of cervical neoplasms^{2,6,7}. The most important issues are a promiscuous behavior of both women and men, early sexual activities, poor sexual hygiene with frequent infections of the genital organs, failure to use barrier methods of contraception, etc.⁸. There are other risk factors contributing to initiation and development of pathological event. They are designated as cocarcinogens and such as impair immunity, smoking, genital infections caused by other agents (genital herpes virus, HIV, cytomegalovirus, *chla-*

mydia trachomatis) as well as some medications (cytostatics, immunosuppressants)^{6,8-11}.

Molecular biology examinations verified the presence of specific viral DNA sequences (E6 and E7) integrated into the genome of the atypical cervical epithelial cells. It is possible to document it in over 80% of intraepithelial neoplasms and in over 98% of cervical cancers⁷. Presently, it is known that less than 2% of cervical cancers are negative to HPV DNA, provided that they were caused by, at that time, undetected types of viruses, or HPV genetic material was lost in the process of oncogenesis¹¹. Pathogenetic mechanism of malignant cell transformation has been elucidated, as well. Viral genome has circular shape and as such enters the host cell through the skin or mucosal membrane microabrasions; or, in case of the uterine cervix, through the cells of basal or parabasal layer within the transformation zone. There is a continuous mitotic activity in these layers, and these are the target cells for HPV infection of the cervix. Virus entry into the cell is the initial event, which may, upon a series of other intracellular events, result in development of neoplasia. Viral DNA, immediately upon the entry of viral particle in the host cell, is being freed from capsid and travelling to the cell nucleus. Herein, the circular viral genome will be placed episomally, not inducing any cytopathogenetic effect. It will be a latent infection and it may remain as such. It has been proved that about 10% of female population has latent HPV cervical infection, and no signs of disease. However, if so far undefined factors designated as cocarcinogens, caused breakage of the viral genome ring, its sequences would be freed and the process of mutagenesis would be initiated. The sequences E1 and E2 of the viral genome lose control over the sequences E6 and E7, which are then integrated into the host cell genome. These sequences bind to tumor suppressor

genes of host cells p53 and pRB, thus breaking the normal control mechanisms of the cell growth. The result of these events is the alteration of the host cell structure, which acquires proliferative properties, characteristic for oncogenesis. The lesion developed in this way is, as a rule, monoclonal, meaning that it originated from a single cell in which the process originally started.

Infections with HPV 16 and 18 and other oncogenic types are more likely to persist than infections with low-risk HPV types. In women 15–25 years of age, ~80% of HPV infections are transient. In older women, cervical HPV infections are more likely to persist. Persistent oncogenic HPV infection is a precursor to invasive cervical cancer. The risk starts from sexual debut and continues through out life. Incident infection of oncogenic types is estimated to be 5.3% (range: 5%–10%) in women 25–55 years of age. Immune function declines with aging resulting in a decreased capacity to respond to both new and previously encountered infections. Up to 80% of sexually active women are infected with HPV at some point of their lifetime. Prior HPV infection may not always induce sufficient immunity to prevent subsequent infection. Knowing this, vaccination against HPV 16/18 is very important^{11–13}.

It is also known that the process of oncogenesis is relatively slow and develops principally as a biological continuum, from the initial intraepithelial neoplasm to the invasive cancer. It usually lasts several years, but there have been some described cases with a 6-month period of genesis. A progressive course of the disease is mostly caused by high oncogenic potential viral infection, although it may be significantly affected by cocarcinogens, particularly the immune status of a patient. According to different and numerous results of studies, a significant number of HPV infections regresses spontaneously or persists in a latent stage, while lesser number leads to cervical neoplasms. Already developed cervical intraepithelial neoplasm may also regress spontaneously, but the possibility for this to happen would be lesser if the neoplasm stage was higher. For instance, the cancer *in situ* will progress into invasive cancer in about 70% of cases^{14–17}.

Symptomatology

Symptoms of CINs are practically absent, so they are referred to as asymptomatic stage of disease.

Diagnostics

The diagnosis of CIN is based on the methods of HPV testing, cytology, colposcopy and histopathological examination of the bioptic tissue specimen. Due to its simplicity and cost-effectiveness, cytology is the most often used diagnostic method, representing the basis of screening program in many countries worldwide. It must be pointed out that its sensitivity in discovering the intraepithelial stages of disease is limited. In histologically verified CIN, the percentage of false negative results of cytodiagnosics is considerable. This percentage is higher if the stage of the intraepithelial neoplasm is lower, therefore, the normal cytological finding may be seen in the majority of the initial and even mid-severe in-

traepithelial lesions⁷. Other than cytodiagnosics, colposcopy is another basic method for detection of the cervical neoplasms, characterized by considerably higher sensitivity of detecting the lowest stages of disease¹⁸.

The baseline of colposcopy is in recognition of pathological changes of the cervical epithelium pathognomonic for CIN, which are based on significant protein increase in dysplastic cells and considerable loss of glycogen, as well as on the changes of the stromal vascular net regarding the number, appearance and capillary arrangement. Upon the application of 3% acetic acid and Lugol's solution on the cervix, these changes are, under colposcope, presented with specific colposcopic images.

CIN undergoing a colposcopic examination are manifested as characteristic pathological pictures of acetowhite epithelium, mosaic, punctations, leukoplakes, negative epithelium iodine or atypical blood vessels. Qualitative extent of a change and their associated manifestations are proportional to stage of the intraepithelial neoplasm. They are a sign of the pathological events in the epithelium and need to be histologically explained¹⁹.

Besides classical colposcopy, recently the method of microcolpohysteroscopy has been used for CIN diagnostics.

For verification and determination of a pathological change extent detected by HPV testing, colposcopy and/or cytological examination, it would be necessary to perform biopsy of the exocervix and endocervical curettage if the change extended to cervical channel. The biopsy is targeted, colposcopy-assisted, and a specimen obtained from the most evident epithelial changes. It is not rare that multiple biopsies are required, so the pathologist will be supplied with most representative bioptic tissue specimens for histological analysis. A resulting finding will make the final diagnosis of a pathological change and represent the basic parameter for decision-making on the future treatment according to current protocols¹⁹.

Cervical glandular intraepithelial neoplasm

Intraepithelial neoplasm in the cervical channel originates from cylindric epithelium. In recent decades, it has been detected more frequently, probably due to better diagnostic procedures, including the endocervical smear, HPV testing and the utilization of microcolpohysteroscopy. In comparison to CIN, cervical glandular intraepithelial neoplasm (CGIN) is being detected relatively late, not uncommonly in the invasive disease stage. HPV is a major etiological factor.

Prognosis

Considering the prognosis of these pathological changes, it is worthwhile mentioning that their biological behavior is unpredictable. The presence of HPV oncogenic types in the cells of intraepithelial change multiplies the possibility of its progressive development to invasive disease. The principle of preventive actions should be respected, not allowing for already diagnosed intraepithelial change to develop into invasive cancer²⁰.

Treatment

In LSIL pathological changes, only cytological and HPV typing will be sufficient. If the change persisted, it would be treated by some of destructive techniques, with previous endocervical curettage. If the oncogenic HPV types were detected in a LSIL pathological change, the typing would be repeated in 6 months, and if the infection was still persistent, the change would be treated by some of destructive techniques. If histological examination of a bioptic specimen reveals pathological HSIL change, the treatment will include excision techniques. Histological examination of excised tissue confirms the excision effect and depending upon the outcome, regular follow-up or additional excision treatment will be the options¹².

Treatment of LSIL presently involves several techniques, which, on one hand, should enable a complete cure, and on the other, preserve, to the largest extent possible, the function of the uterine cervix for future conception and birth since very young women are often in question. The techniques currently available for their treatment are described as destructive techniques, such as: laser vaporization, cryotherapy, cold coagulation and electrocauterization. They may be carried out in hospitals or on outpatient basis, under general or local anesthesia²¹.

Laser vaporization

Laser vaporization is performed by means of CO₂ laser, which emits a beam of 10.6 μm wave length. The output temperature at the laser beam and tissue contact is over 100 °C, resulting in vaporization of the extra- and intracellular fluid and carbonization of the cell structures and intracellularly located virus particles. Postoperative complications as infection or hemorrhage are extremely uncommon, and the effect of cure after just one treatment is very high, accounting for 96%–98%^{20,22}.

This method is advantageous over other techniques by extremely good postoperative regeneration of vaporized tissue, what significantly contributes to rapid restoration of anatomic and functional integrity of the cervix.

Cryotherapy

The method of cryotherapy is based on cervical tissue freezing by liquid nitrogen, which pressurized passes through special tubes leaning against the cervical tissue. The best destructive effect of pathological change is achieved by “freezing-defrosting-freezing” technique²².

Cold coagulation

A special Semm coagulator is used for performance of this technique. It achieves tissue destruction by heat, which is transferred via a thermic tube to the uterine cervix. Upon positioning a tube on the cervix, the device is being activated and the temperature of 120 °C on the top of the tube will be reached in 15–20 seconds. For destruction of pathological change in the uterine cervix, it is enough to keep on leaning the tube against the cervical tissue for two minutes²².

Electrocauterization

This method is designated as electrodiamey as well, and based on the effect of electrical power on pathological cervical tissue. The power of 40W–50 W is used, which is transferred to the tissue by means of special tubes in the shape of a needle or small ball. The procedure is painful, so it is performed in general anesthesia, which together with some other limitations, reduces its broad utilization.

Cervical HSIL changes, involving CINs of stages II and III (CIN II and CIN III), call for treatment using these methods, which will enable a partial cervical removal or extirpation of the whole uterus and its postoperative histological analysis. These are so-called excision methods, including the following: scalpel conization, laser conization, “loop” excision and hysterectomy²².

Scalpel conization – It is a classical excision technique, where a part of the cervix is excised by scalpel in the shape of cone or cylinder, depending upon the localization of a pathological change. Surgery is carried out in general anesthesia, with different modes of hemostasis, while the suture technique is completed by Sturmdorf. The effectiveness of surgery, i.e. elimination of the pathological HSIL as a whole, varies, while the percentage of the incomplete removal has been reported in 1% to 13% what may be verified by additional histopathological examination of the removed cone²².

Laser conization – Comparing to classical techniques, it differs in that cervical incision is made by a 30 W–60 W laser beam. As in scalpel excision, the cervical tissue is excised in the shape of the cone or cylinder, depending upon the localization of a pathological change.

With intracervical application of vasoconstrictors, the surgery is performed without bleeding, what excludes the need for hemostatic sutures. This is the core of the absence of subsequent scarred deformities of the cervical remnant and preservation of its functional integrity. It is especially valuable in operations of young women, whose fertile ability should be spared. Apart from the above-mentioned, laser conization has other advantages over classical methods. It may be carried out on outpatient basis, under local anesthesia, and the proportion of the intraoperative and postoperative complications is lesser as compared to other techniques²².

“Loop” excision – This technique requires a generator, a power source and a series of thin wire loops, circular or rectangular in shape. By its holder, the loop is passed through the tissue of the uterine cervix, while the electric power running through the loop is being warmed up, thus accomplishing the effect of tissue cutting. The hemorrhage is stopped by means of the ball electrode.

The method is simple to perform, and its application is restricted by pathological process localized high up in the cervical channel, as well as by immensely spread ectocervical changes, which cannot be excised by a single cut.

In so far described excision techniques of management of cervical HSIL, it is necessary to point out the need for curettage of the cervical channel residue and histological verification of the respective bioptic tissue specimen²².

Postoperative controls

In addition, it is important to emphasize the need for postoperative controls, due to low but always present risk of residual or recurrent disease.

If the excised cervical tissue histological examination show that a pathological change had been removed *in toto*, it is followed by a cytologic 6-month follow-up and HPV testing subsequently, once a year. If the lesion has not been removed completely, that is, it involves the resection margin of the cone as well, it is possible to opt for cytological and colposcopic (histological) monitoring for 4–6 months, with HPV-typing in 6 months. Moreover, repeated conization would be another option, and if not feasible or HSIL change recurred, the hysterectomy should be done^{12, 20–27}.

Vaginal intraepithelial neoplasms

Intraepithelial neoplasms (VAINs) of the vagina are less frequent than those of the cervix, accounting for 0.4%–0.5% of all intraepithelial neoplasms of the female lower genital tract. In relation to epithelial involvement by atypical cells, they are classified in a similar way as CIN, i.e. to VAIN I – with changes in the lower third of the epithelium, VAIN II – pathological change involves lower two-thirds of the epithelium and VAIN III – atypical cells involved the full epithelial thickness. The risk and etiological factors of the VAIN etiology are the same as for CIN, with predominant role of the human papilloma virus infection. For this reason, VAIN is most commonly discovered in patients treated for CIN or cervical cancer. The association with cervical neoplasms is the reason for its presentation in the upper third of the vagina. In further course, VAIN may tend to regress spontaneously, persist in the same stage for a long period of time or progress into cancer. Such progression is less frequent than in CIN, and sometimes it may manifest as spread of neoplastic process from cervix to vaginal fornix. The diagnostics of VAIN, which is typically asymptomatic disease, is based on cytological examination, colposcopy and histological verification of a bioptic tissue specimen. The treatment of VAIN may be completed by the laser technique, cryotherapy or electrocauterization. Given that VAIN frequently localized in the vaginal fornices is very difficult to access, laser technique, which appeared to yield good results, is preferential. If VAIN was present together with cervical neoplasm, its treatment would include partial vaginectomy, in the same surgical act applied for cervical malignancy. Therapeutical treatment of VAIN will be followed by regular controls in 6 months as it was in CIN case^{28, 29}.

Vulvar intraepithelial neoplasms

Vulvar neoplasms (VINs) may appear in the squamous epithelium designated as VIN as well as intraepithelial neoplasms not originating from squamous epithelium.

This disorder is classified into two main groups: 1) VIN, usual type, which encompasses the former subcategories of VIN, warty type; VIN, basaloid type, and VIN, mixed

/ warty, basaloid / type; 2) VIN, differentiated type, which encompasses the former category simplex type.

Rare cases that do not fit into these categories are termed “unclassified type”.

The term VIN is limited to histologically high-grade squamous lesions for which treatment is indicated to prevent progression to cancer.

VIN is most commonly seen in immunocompromised and postmenopausal women, but the incidence is increasing among healthy patients in younger age groups. Risk factors are similar to those observed for CIN. It is estimated that HPV infection is the major factor here, and it appears to be particularly often with the type 16. The commonest VIN localization is in the region of clitoris and lower third of the labia major and minor. It is often not manifested by symptoms, but some women may experience sense of discomfort, itching or burning sensation. Its evolution is very slow, and therefore, it is detected only a few years after the manifestation of symptoms. Clinically, i.e. vulvoscopically, VIN may be presented as a flat, elevated or papillary change, whitish, brown or red color with absent or present blood vessels, which may have atypical appearance. It is often multifocal or associated with VAIN or CIN. In addition, it may be associated with condylomatous growths, especially the bowenoid VIN type, which is more often presented in younger women. Basaloid VIN is more common in elderly women, has higher malignant potential and is not manifested concurrently with condylomata¹⁷.

The change may vary, to a large extent, in surface, color and focality. Vulvoscopic examination are used to determine the exact location of the change for as adequate as possible biopsy. Histopathological examination of biopsy tissue is the only method to confirm the VIN diagnosis, considering the great similarity with many other skin diseases. Biopsies must often be multifocal and best performed by a special key excision instrument. The scalpel excision biopsy can also be done under local anesthesia.

The treatment of VIN involves different modalities including topical chemotherapy, imiquimod, CO₂ laser ablation, surgical excision, cryotherapy, loop electrosurgical excision procedure (LEEP), cavitron ultrasonic aspiration (CUSA) and interferon injections³⁰.

Imiquimod, an immune response modifier, has been successful in the treatment of external genital and perianal warts caused by low risk HPV, usually types 6 or 11. The drug antiviral and antitumor properties are thought to be due to its induction of cytokines, which stimulate a T-helper 1 or cell-mediated immune response. Recently, it has been shown that imiquimod may be potentially effective in the treatment of genital intraepithelial neoplasia caused by high-grade HPV³⁰.

Aldara Cream activates immune system to help body fight certain skin diseases, including actinic keratosis, superficial basal cell carcinoma and external warts. The most common side effects associated with using Aldara Cream involve skin reaction in the application area.

Given very long VIN evolution, lasting for years and even decades, as well as spontaneous regression of VIN has

been described (but not in high percentage – mainly seen in young women and is often related to pregnancy), give us opportunity to take the expectational standpoint and control the changes on regular basis only. In so far the signs of progression are noted during a follow-up (aneuploidy, presence of oncogenic HPV types), or in older patients, or in immunocompromised patients, radical methods of treatment should be considered. These include wide local scalpel or laser excision (for nonhairy vulvar regions), simple vulvectomy or vulvectomy with grafting, in case of changes found on a broad surface in younger patients. VIN management has also included some medicaments (5-FU, dinitro chloride-benzene, interferon), but without any encouraging results. Upon completion therapy, the regular control are necessary, not only of the vulva but also the entire lower genital tract, taking into account the identical features of the intraepithelial neoplasms which may manifest concurrently on these localizations. The patients with a previous history of cervical cancer also showed identical viral integration sites between their vaginal

and/or vulvar lesions and their previous cervical tumors. Perhaps a large majority of high-grade lesions in the female genital tract emerge as monoclonal cell populations derived from the cervical transformation zone. Owing to this fact, we must consider vaccine efficacy in preventing cervical lesions in our estimate of how vaginal and vulvar epidemiology may change^{23, 24, 27, 30, 31}.

Out of VIN, not originating from the squamous epithelium, worth-mentioning are Paget's disease and melanoma *in situ*.

Conclusion

Great importance is ascribed to prevent and detect and well-timed treatment of these asymptomatic lesions because it is the most efficient way of fighting against the malignant diseases of the uterine cervix, vagina and vulva. It is best achievable by vaccination and systemic screening of female population.

R E F E R E N C E S

1. Vaccarella S, Franceschi S, Snijders PJ, Herrero R, Meijer CJ, Plummer M. Concurrent infection with multiple human papillomavirus types: pooled analysis of the IARC HPV Prevalence Surveys. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19(2): 503–10.
2. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348(6): 518–27.
3. Brown DR, Shew ML, Qadadri B, Neptune N, Vargas M, Tu W, et al. A longitudinal study of genital human papillomavirus infection in a cohort of closely followed adolescent women. *J Infect Dis* 2005; 191(2): 182–92.
4. Dunne EF, Unger ER, Sternberg M, McQuillan G, Swan DC, Patel SS, et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *JAMA* 2007; 297(8): 813–9.
5. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998; 338(7): 423–8.
6. Castellsagué X, Díaz M, de Sanjose S, Muñoz N, Herrero R, Franceschi S, et al. Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and preventions. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98(5): 303–15.
7. Smith JS, Lindsay L, Hoots B, Keys J, Franceschi S, Winer R, et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: A meta – analysis update. *Int J Cancer* 2007; 121(3): 621–32.
8. Gavillon N, Vervaet H, Derniaux E, Terrosi P, Graesslin O, Quereux C. How did I contract human papillomavirus (HPV)? *Gynecol Obstet Fertil* 2010; 38(3): 199–204. (French)
9. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55(4): 244–65.
10. Smith HO, Tiffany MF, Qualls CR, Key CR. The rising incidence of adenocarcinoma relative to squamous cell carcinoma of the uterine cervix in the United States – a 24-year population-based study. *Gynecol Oncol* 2000; 78(2): 97–105.
11. Stanimirović B, Antić N, Kuljić-Kapulica N, Vasiljević M, Marković A, Stanimirović V. Effect of certain aspects of female sexual behavior on the development of cervical intraepithelial neoplasia. *Srp Arh Celok Lek* 2000; 128(11–12): 374–8. (Serbian)
12. Illades-Aguilar B, Alarcón-Romero Ldel C, Antonio-Véjar V, Zamudio-López N, Sales-Linares N, Flores-Affaro E, et al. Prevalence and distribution of human papillomavirus types in cervical cancer, squamous intraepithelial lesions, and with no intraepithelial lesions in women from Southern Mexico. *Gynecol Oncol* 2010; 117(2): 291–6.
13. Su JH, Wu A, Scotney E, Ma B, Monie A, Hung CF, et al. Immunotherapy for cervical cancer: research status and clinical potential. *Bio Drugs* 2010; 24(2):109–29.
14. Stojanović J, Magić Z, Milačić M, Nenadić D, Stanimirović B, Vukicević D. Distribution of high-risk HPV types in Yugoslav women with cervical neoplasia. *J BUON* 2002; 7(3): 251–6.
15. Ikenberg H, Teufel G, Schmitt B, Kommos F, Stanimirović B, Pfeleiderer A. Human papillomavirus DNA in distant metastases of cervical cancer. *Gynecol Oncol* 1993; 48(1): 56–60.
16. Constandinou-Williams C, Collins SI, Roberts S, Young LS, Woodman CB, Murray PG. Is human papillomavirus viral load a clinically useful predictive marker? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19(3): 832–7.
17. Rodríguez AC, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, et al. Longitudinal study of human papillomavirus persistence and cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3: critical role of duration of infection. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102(5): 315–24.
18. Stanimirović B, Kovacević Z. The national program for the early detection and treatment of premalignant and malignant diseases of the lower genital system in women. *Srp Arh Celok Lek* 1997; 125(5–6): 181–4. (Serbian)
19. Stanimirović B, Kuljić-Kapulica N, Popović-Lazić J, Stanimirović V, Vasiljević M. Detection of human papillomaviruses in cervical intraepithelial neoplasms. *Srp Arh Celok Lek* 2000; 128(11–12): 370–3. (Serbian)
20. Stanimirović B, Grob R, Rüdinger R. Carcinoma of the cervix uteri and risk factors. *Eur J Gynaecol Oncol* 1990; 11(1): 51–6.
21. Krajinović M, Lazić J, Stanimirović B, Diklič V, Savić A. The E2 region of HPV 16 in relation to different types of cervical lesions. *J Med Virol* 1993; 41(1): 1–5.

22. *World Health Organisation*. Human Papillomavirus and HPV vaccines: technical information for policy-makers and health professionals. Initiative for Vaccine Research. Switzerland, Geneva: WHO; 2007.
23. *Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P*. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*. 2005; 55(2): 74–108.
24. *World Health Organisation*. Cervical cancer, human papillomavirus (HPV) and HPV vaccines Key points for policy-makers and health professionals. Switzerland, Geneva: WHO; 2007.
25. Republic Expert Committee on the Preparation and Implementation of Guidelines for Primary Health Care Physicians. Prevention of malignant diseases. Belgrade: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Srpsko lekarsko društvo; 2005; 11: 27–44.
26. *Franco EL, Harper DM*. Vaccination against human papillomavirus infection: a new paradigm in cervical cancer control. *Vaccinae* 2005; 23(17–18): 2388–94.
27. *Huang CF, Monie A, Weng WH, Wu T*. DNA vaccines for cervical cancer. *Am J Transl Res* 2010; 2(1): 75–87.
28. *Logani S, Lu D, Quint W, Ellenson L, Pirog EC*. Low grade vulvar and vaginal intraepithelial neoplasia: correlation of histologic features with Human Papillomavirus DNA detection and MIB-1 immunostaining. *Mod Pathol* 2003; 16(8): 735–41.
29. *Hellman K, Silfverswärd C, Nilsson B, Hellström AC, Frankendal B, Pettersson F*. Primary carcinoma of the vagina: factors influencing the age at diagnosis. The radiumhemmet series 1956-96. *Int J Gynecol Cancer* 2004; 14(3): 491–501.
30. *van Seters M, van Beurden M, ten Kate FJ, Beckmann I, Ewing PC, Eijkemans MJ*, et al. Treatment of vulvar intraepithelial neoplasia with topical imiquimod. *N Engl J Med* 2008; 358(14): 1465–73.
31. *Ordi J, Alejo M, Fuste V, Lloveras B, Del Pino M, Alonso I*, et al. HPV-negative vulvar intraepithelial neoplasia (VIN) with basaloid histologic pattern: an unrecognized variant of simplex (differentiated) VIN. *Am J Surg Pathol* 2009; 33(11): 1659–65.

Received on October 18, 2010.
Accepted on December 7, 2010.



Farmakološko lečenje hipertenzije indukovane stresom – preporuke i dileme

Pharmacological treatment of stress-induced hypertension – guidelines and dilemmas

Radomir Matunović*, Janko Samardžić†, Željko Špirić‡, Dejan Marinković*,
Ognjen Gudelj*, Dragan Obradović†, Zdravko Mijailović*, Sašo Rafajlovski§

Vojnomedicinska akademija, *Klinika za kardiologiju, †Klinika za psihijatriju, §Klinika za
urgentnu internu medicinu, Beograd, Srbija; ‡Medicinski fakultet Beograd, Institut za
farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju, Beograd, Srbija

Cljučne reči:
hipertenzija; stres, psihički; komorbiditet; lečenje
lekovima.

Key words:
hypertension; stress, psychological; comorbidity; drug
therapy.

Uvod

Kardiovaskularne bolesti (KVB) su vodeća grupa bolesti, naročito u razvijenom svetu sa više od milijardu obolelih i preko 40% svih uzroka smrti radno aktivnog stanovništva. U toj grupi arterijska hipertenzija (HTA) zauzima prvo mesto kao najmasovnija nezarazna bolest čovečanstva (*World Hypertension League*)¹⁻². Arterijska hipertenzija jedno je od najopasnijih masovnih oboljenja modernog doba, sa značajnim mortalitetom i invaliditetom i nemerljivim socijalnim posledicama u svetu i kod nas. U populaciji iznad 20 godina starosti ona je zastupljena čak kod 10–20% slučajeva. Često HTA protiče decenijama asimptomatski, neotkrivena klinički („tihi ubica“) koju demaskira neka od često fatalnih komplikacija: moždani udar, infarkt miokarda, akutna srčana insuficijencija, iznenadna smrt itd.³

Veliki je broj etioloških faktora koji utiču na pojavu esencijalne arterijske hipertenzije. U savremenom dobu nezaobilazni pratilac svih tokova razvoja civilizacije je stres i on postaje sve bitniji faktor uticaja na zdravstveno stanje stanovništva. Teško je proceniti koliki je stepen uticaja stresa pre svega zbog njegove kvantitativne, ali i kvalitativne nemerljivosti. Međutim, mnoge nedoumice na početku 21. veka možda će izbaciti pitanje uticaja stresa i pitanje njegove kontrole u prvi plan.

Esencijalna HTA definitivno je kompleksan metaboličko-hipertenzivnoarteriosklerotski sindrom sa visokim intraarterijskim pritiskom kao osnovnom karakteristikom. U njemu se prepliću razni metabolički poremećaji, a udruženi sa

određenim strukturnim promenama rezultiraju ubrzanom aterosklerozom i disfunkcijom ciljnih organa⁴.

Evropske (*European Society of Hypertension* – ESH i *European Society of Cardiology* – ESC) i američke preporuke (*Joint National Committee* – JNC VII) razlikuju se u vezi definicije i klasifikacije hipertenzije (tabele 1 i 2).

Stres se može opisati kao fizička i psihička reakcija organizma na svaki potencijalno štetan faktor. Stres je stanje dugotrajne napetosti usled koje se javljaju fiziološke, psihosomske reakcije čija je posledica pogoršavanje zdravstvenog stanja, osećaj frustracije, mentalna i fizička iscrpljenost⁵.

Reakcija stresa je opšta, nespecifična, stereotipna i odvija se preko hipotalamohipofiznoadrenalne osovine sa porastom kortikosteroida u plazmi i kao takav stres je celovit biopsihosocijalni odgovor organizma na ugrožavanje i narušavanje njegove homeostaze⁶.

Na osnovu ukrštanja navedenih patofizioloških mehanizama nastanka hipertenzije i stresa nije teško zaključiti da između ova dva stanja postoji izvesna uzročno-posledična veza. Shodno navedenom, u poslednje vreme sve češće se u anglosaksonskoj medicini srećemo sa hipertenzijom uzrokovanom stresom (*stress induced hypertension*) kao posebnim kliničkim entitetom.

Značaj arterijske hipertenzije i uloga stresa za morbiditet savremenog društva

Prema američkim epidemiološkim studijama (NHANES), više od 30% bolesnika sa povišenim vrednostima arterijskog

Tabela 1
Definicija i klasifikacija arterijske hipertenzije zavisno od visine arterijskog krvnog pritiska prema ESH/ESC iz 2007. godine

Vrsta krvnog pritiska	Krvni pritisak (mm Hg)	
	sistolni	dijastolni
Optimalni (najprihvatljiviji)	< 120	< 80
Normalni	< 130	< 85
Visokonormalni	130–139	85–89
I stepen hipertenzije (blaga)	140–159	90–99
II stepen hipertenzije (umerena)	160–179	100–109
III stepen hipertenzije (teška)	> 180	> 110
Izolovana sistolna hipertenzija	≥ 140	< 90

ESH – European Society of Hypertension; ESC – European Society of Cardiology

Tabela 2
Klasifikacija hipertenzije za odrasle starije od 18 godina (Joint National Committee VII)

Kategorija hipertenzije	Krvni pritisak (mm Hg)	
	sistolni	dijastolni
Normalni krvni pritisak	< 120	< 80
Prehipertenzija	120–139	80–89
I stepen hipertenzije	140–159	90–99
II stepen hipertenzije	> 160	> 100

pritiska nije svesno da je bolesno, svega oko 50% njih se leči, a oko 27% ima vrednosti manje od 140/90 mmHg. Tek 10% hipertoničara se uspešno leči i reguliše u najrazvijenijim svet-skim državama. Više od 20% stanovništva izloženo je povećanoj opasnosti od KVB zbog lošeg pristupa tom entitetu, pri čemu je stanje mnogo gore u nerazvijenim delovima sveta^{7,8}.

Sa istorijske distance od preko 100 godina svesti o hipertenziji i oko 50 godina primene efikasnih lekova, kardiološka medicina krajem 20. veka našla se u ćorsokaku priznajući, uz pomoć epidemiologa, da je u stanju da uspešno leči tek 10–30% bolesnika. Loša informisanost ljudi o hipertenziji, kasno otkrivanje, zasnivanje dijagnoze i terapije samo na vrednostima krvnog pritiska izmerenih u ambulanti, loša regulacija krvnog pritiska, neredovno lečenje i kontrola, zanemarivanje nefarmakološke terapije, stres kao sve češći faktor rizika, neke su činjenice koje ukazuju na alarmantnost situacije⁹.

Dok sekundarna hipertenzija ima jasnu etiologiju i patogenezu nastanka, mehanizam nastanka esencijalne hipertenzije jako je komplikovan ili potpuno nepoznat, zavisno od slučaja. Esencijalna hipertenzija nije posledica jednog ili nekog specifičnog uzroka, već postoji multifaktorijalna, „mozaična“ etiologija, samim tim i patogenezu njenog nastanka. Naime, ona nastaje kao rezultat dugotrajnog dejstva mnogih faktora koji dovode do zamaranja mehanizama za adaptaciju i na kraju do njihovog sloma⁷. Najčešći i najbitniji etiološki faktori su: genetski, starosni, pol, geografsko poreklo, fizička neaktivnost, gojaznost, prekomeran unos soli, alkohola, pušenje, hormonska supstituciona terapija, emocionalni stres, hiperkoagulabilnost (fibrinogen, lipoprotein, homocistein, C-reaktivni protein, mokraćna kiselina).

Postoje mnogobrojne studije^{10–20} čiji rezultati govore o značaju hipertenzije kao bolesti same za sebe i kao faktora rizika od drugih, mnogobrojnih patoloških stanja. Mnogo toga je napisano i objašnjeno o skoro svim etiološkim faktorima HTA. Međutim, kao da postoji praznina u relevantnim, naučnim putem dobijenim podacima o uticaju faktora koji je,

čini se, sve zastupljeniji i sve odgovorniji za nastanak HTA-emocionalnog stresa.

U studiji ispitivanja zdravstvenog stanja stanovnika Srbije, oko 10% osoba navelo je prisustvo stresa u mesecu koji je prethodio ispitivanju. Stresu su više bile izložene žene, osobe sa nižim obrazovanjem, osobe čija je materijalna situacija prema sopstvenoj proceni bila loša i stanovnici gradskog područja¹⁰. Savremeni način života pun je napetih i stresnih situacija za koje se pre nije ni znalo, sa mnogobrojnim spoljašnjim (loše vreme, loše vesti, loše društvo, pritisak da se ispune obaveze, nedostatak novca, čekanje prevoza) i unutrašnjim „stresovima“ (temperatura, bolesti, velika odgovornost, poremećeni međuljudski odnosi, hroničan strah da kažemo ono što mislimo, ono što jesmo).

Ipak, postoje studije i istraživanja koja su pokušavala da objasne koliki je značaj stresa u nastanku HTA i, uopšte, KVB, kakva je patogenezu tog uticaja i kako sprečiti posledice tog uticaja. Hans Selye je 1936. godine postavio teoriju prema kojoj do bolesti dolazi usled poremećaja ravnoteže u organizmu pod dejstvom raznih spoljašnjih i unutrašnjih stresora. Oni ispoljavaju agresivno – stresno dejstvo na organizam, a odgovor organizma naziva se stres reakcijom. Stres reakcija je neuroendokrino-karakter⁵.

Kadojić i sar.¹¹ su, istražujući dejstvo rizičnih faktora na razvoj KVB u situaciji izloženosti ratnim stresovima našli da osobe sa znacima postraumatskog stresnog poremećaja (PTSP) imaju značajno izraženiju HTA, hiperlipidemiju i gojaznost nego ljudi bez tog iskustva.

Stewart i Atlas¹² istraživali su ulogu depresije kao komorbidnog poremećaja kod kardiološkog sindroma X. Uočeno je da depresija pojačava patofiziološke uzorke endokrinog i kardiološkog oboljenja.

Bjorntorp i sar.¹³ smatraju da hronični psihički stresovi preko limbičkohipotalamičkih centara mogu uticati na regulaciju krvnog pritiska i endokrinometaboličkih funkcija. Dugotrajno, oni mogu uticati na razvoj hipertenzije i sindroma

insulinske rezistencije. Proučavanje karakteristika ova dva poremećaja ukazuje na značajnu ulogu psihosocijalnog stresa, socioekonomskih problema, psihičkih problema i nezdravih navika.

Raikkonen i sar.¹⁴ ispitivali su da li psihofizički faktori (depresivnost, anksioznost, napetost, tekući uočeni stres i bes) prethode metaboličkom sindromu (povišen krvni pritisak, gojaznost, trigliceridi, HDL, šećer) ili obrnuto. Tokom osam godina pratili su 425 žena u menopauzi. Žene koje su ispoljile veći nivo depresije, napetosti i besa pri prvom merenju imale su povišen rizik od razvoja metaboličkog sindroma.

Brunner i sar.¹⁵ su na grupi radnika izloženih hroničnom stresu ispitivali uticaj psihosocijalnih i bihevioralnih činitelaca na neuroendokrinološku adaptaciju, kada su dobijene povišene vrednosti metabolita kortikosteroida i kateholamina u urinu i znaci prevage simpatičkog nervnog sistema u eksperimentalnoj grupi.

Špirić¹⁶ u svojoj doktorskoj disertaciji zaključuje da osobe sa PTSP imaju izmenjeno funkcionisanje neuroendokrinog sistema sa prisustvom povišenog krvnog pritiska, gojaznosti i metaboličkih poremećaja. Te osobe imaju povišenu bazalnu kardiovaskularnu aktivnost kako u odnosu na osobe sa traumatskim iskustvom bez PTSP, tako i u odnosu na osobe bez traumatskog iskustva¹⁷⁻¹⁹.

Još uvek nije sasvim jasna veza između hroničnog stresa i nastanka HTA, ali i ostalih KVB. Rezultati psihoneurobioloških istraživanja u zadnje dve decenije pokazuju da psihički faktori, pre svega stres, utiču na biološki odgovor čineći organizam osetljivijim i sklonijim da razvije hormonske i metaboličke poremećaje, kardiovaskularna, infektivna i maligna oboljenja. Dugotrajna izloženost stresnim uslovima života i rada povećava osetljivost osobe na mnoge bolesti, pa i KVB. Ukoliko je takva osoba izložena drugim faktorima rizika, ona se može brže razboleti ili umreti nego osoba koja nije bila izložena stresu²⁰.

Problem: pitanja koja traže odgovor

Imajući u vidu neka slična klinička ispoljavanja, a pogotovu organske posledice koje mogu nastati kao posledica nelečenih stanja, postavili smo pitanje koje su to sponje koje mogu povezivati ove dve bolesti savremene civilizacije. Nesumnjivo da takozvana hipertenzija izazvana stresom može biti stanje koje je pogotovu interesantno za razotkrivanje tajni između njih.

Patofiziologija stresa i hipertenzije može se razvijati iz sasvim različitih etioloških faktora i može dovesti do određenih sličnih kliničkih ispoljavanja, ali je teško naći jasne dodirne tačke²¹. Imajući u vidu to da se kod bolesnika sa hipertenzijom izazvanom stresom, regulacijom stresa može dobro kontrolisati hipertenzivna bolest i obrnuto, sa kontrolom hipertenzivne bolesti moguće je kontrolisati biohumoralne reakcije organizma, postavili smo pitanje koliko primena izvesnih lekova za lečenje ove dve bolesti može imati uticaja na ovakvo stanje.

Ovakvi bolesnici, ako dođu kod interniste-kardiologa, po pravilu dobijaju antihipertenzivnu terapiju, a ako se jave

neuropsihijatru obično dobijaju samo antistresnu terapiju. Da li je uspešnije davati lekove protiv stresa, antihipertenzive ili kombinaciju ove dve vrste lekova? Ipak izvesni lekovi koje koristimo u lečenju ova dva stanja mogu delovati na zajedničke sisteme i organe i dovesti do željenih efekata. Koja su ta stanja koja nas navode da će neki od ovih lekova biti uspešniji, ili će eventualno kombinacija dve vrste leka imati pravi efekat?

Da bi dali adekvatne odgovore na ova pitanja, nakon što smo utvrdili šta lečimo, neophodno je da se na odgovarajući način osvrnemo na to kako lečimo i čime. Kada se radi o nefarmakološkoj terapiji, tu postoje jasne odrednice koje ovakva stanja kontolišu. Međutim, ako sumiramo farmakološku terapiju dolazimo do mnoštva mogućnosti počev od velikog broja antihipertenziva, preko anksiolitika i antidepresiva.

Šta nam danas nudi terapija hipertenzije indukovane stresom?

Terapijski pristup bolesnika sa HTA pre svega zavisi od komorbiditeta, životnog doba, ali i od prisutnih faktora rizika. Sva načela lečenja arterijske hipertenzije važe i u lečenju hipertenzije koja je možda dominantno uzrokovana stresom. Nefarmakološkim merama kao što je fizička aktivnost, dovoljno sna, pravilna ishrana, uzdržavanja od drugih vrsta rizičnog ponašanja, bogata i funkcionalna socijalna mreža podrške (postojanje bliskih osoba, prijatelja) može se smanjiti štetan uticaj stresa²². Često je bitno blagovremeno obraćanje stručnjacima za psihološku pomoć i primena nekih od psihoterapijskih metoda (metoda ovladavanja stresom, metoda pozitivnog mišljenja i vizualizacije, tehnike opuštanja, tehnike sugestije i uveravanja). Iako ljude treba obeshabriti u smislu kratkotrajnih, prostih strategija za redukciju anksioznosti, one mogu da deluju i da „zapuše rupe“ dok se ne nauče kognitivnobihevioralne strategije koje će delovati dugotrajnije i efikasnije.

Farmakološke mere podrazumevaju primenu jednog ili više antihipertenziva, po mogućstvu u fiksnoj kombinaciji, sa dužim delovanjem, uz dodatak 75 mg acetilsalicilne kiseline i statina ako je prisutan holesterol preko 6,1 mmol/L, ili bolesnik boluje od šećerne bolesti, ili su prisutna još dva nezavisna faktora rizika^{8,23}. Ako stres ima dominantnu etiološku ulogu otklanjanje njegovih direktnih posledica (tahikardija, uznemirenost, nesanica, depresija, akutna reakcija na stres itd.) je prioritet, što najčešće iziskuje primenu beta blokatora, visokopotentnih benzodiazepina (lorazepam, klonazepam, alprazolam) i/ili antidepresiva, ponekad hipnotika, stabilizatora raspoloženja, sedativnih neuroleptika^{24,25}.

Često izbor leka zavisi od dominantne prisutnosti simptoma anksioznosti ili depresivnosti.

Beta blokatori

Iako više nisu lek prvog izbora u hipertenziji zbog manje povoljnog učinka od drugih antihipertenziva, naročito kod starijih osoba, kao i zbog povećanja rizika od dijabetesa melitusa tipa II, njihova primena je opravdana kod mnogih bolesnika.

Velika je korist njihove primene kod osoba sa HTA, za koju se pretpostavlja da je dominantno uzrokovana stresom (kod mladih ljudi, žena generativnog doba, osoba sa znacima primarno pojačane simpatičke aktivnosti). Kod bolesnika sa HTA i anginom pektoris čiji se napadi dešavaju kao posledica telesnog napora ili psihičkog stresa, takođe, su veoma korisni. Kliničke studije ISIS-I i MIAMI dokazale su smanjenje smrtnosti i zone infarkta njihovom primenom u lečenju bolesnika sa akutnim infarktom miokarda (AIM) i HTA, kao i u sekundarnoj prevenciji nakon AIM. Studije CIBIS-II, MERIT-HF, Copernicus govore, pored ostalog, i o korisnosti beta blokatora u terapiji srčane insuficijencije udružene sa HTA (bisoprolol, metoprolol, karvedilol). Indikovana je njihova primena kod srčanih aritmija, naročito onih koje su posledovane kateholaminima²⁶.

Matunović²⁷ u svom radu definiše pojam adrenergijski zavisnih ventrikularnih ekstrasistola i ističe značaj primene beta blokatora u stabilizaciji ritma i arterijske hipertenzije kod bolesnika kod kojih je utvrđena povišena adrenergijska aktivnost izazvana fizičkim i psihičkim stresom.

Posebno treba istaći značaj liposolubilnih beta blokatora (propranolol i dr) kod stanja hipertenzije izazvane stresom, jer oni u većem stepenu prolaze hematoencefalnu barijeru i blokiraju beta receptore u strukturama centralnog nervnog sistema. Na taj način hiperfunkcija noradrenergičkog sistema biva suprimirana.

Anksiolitici

Anksiolitičko dejstvo opisuje se kao efekat sniženja reaktivnosti organizma na unutrašnje nadražaje, osećaj teskobe i uznemirenosti, dok je sedacija snižena reaktivnost organizma na spoljašnje nadražaje. Sedativno dejstvo umnogome maskira anksiolitički efekat u početku terapije, međutim, vremenom organizam razvija toleranciju na sedativni i ispoljava se pun anksiolitički efekat²⁸.

Najčešće upotrebljavani i jedini opšte prihvaćeni anksiolitici su benzodiazepini. Međusobno se razlikuju prema trajanju dejstva, posedovanju aktivnih metabolita i liposolubilnosti (brzine početka dejstva). Svi se izlučuju u obliku metabolita glukuronida. Skoro svi benzodiazepini imaju i sedativno i anksiolitičko dejstvo. Većina ima dodatna dejstva, na osnovu kojih se mogu podeliti na one sa dominantno anksiolitičkim dejstvom – lorazepam, oksazepam, alprazolam; dominantno hipnotičkim dejstvom – nitrazepam, flurazepam, midazolam; dominantno antikonvulzivnim dejstvom – diazepam, klonazepam.

Anksiolitičko dejstvo trebalo bi da se ostvari suzbijanjem psihičke napetosti uz malo ili nimalo sedacije i pospanosti. Za puno ispoljavanje takvog dejstva treba da prođe nekoliko nedelja. Benzodiazepini nisu lekovi koji se uzimaju po potrebi. Smirenje koji mnogi osećaju brzo posle uzimanja jedne tablete posledica je ili sedacije ili placebo efekta. Preparati benzodiazepina neopravdano se široko prepisuju kod svake simptomatologije koja je u vezi sa stresom²⁹. Lečenje ovim lekovima trebalo bi ograničiti na kratke periode od nekoliko nedelja do tri meseca. Ako ne postoje naročiti razlozi za duže lečenje trebalo bi izbegavati zbog opasnosti od raz-

voja zavisnosti (naročito kod lekova kratkog dejstva) i tolerancije na lek. Simptomi razvoja zavisnosti slični su simptomima zbog kojih je lek i uveden. Prekid terapije trebalo bi da bude postepen, jer bi nagli mogao da izazove konfuzna stanja, konvulzije i delirijum³⁰.

Smatra se da se anksioznost razvija usled neravnoteže između inhibitornih i ekscitatornih neurotransmitera, uz prevagu ovih drugih. Centralni inhibitorni sistem je gamaaminobuterna kiselina (GABA). Benzodiazepini su indirektni GABA agonisti. Naime, oni olakšavaju inhibitornu aktivnost koju kontroliše GABA. Glavni terapijski efekat benzodiazepina ostvaruje se preko benzodiazepinskih receptora u strukturama limbičkog sistema, posle čega se pojačava aktivnost GABA, koja preko svojih receptora deluje na okolne dopaminske, noradrenalinske, serotoninске, acetolinске i druge neurone³¹. Na ovaj način, smatra se, oni prekidaju stalnu komparaciju i anksioznost na nivou septohipokampalnog sistema, dozvoljavajući aktivirajuće ponašanje. U suprotnom, noradrenalinski (NA) nukleusi u moždanom stablu stimulišu paraventrikularne CRH (kortikotropni-rilizing hormon) neurone, ovi dalje septohipokampalni sistem (SHS), što konkretno vodi stalnom proveravanju okoline i kočenju ponašanja, tj. anksioznom stanju, i, možda, opsesivnokompulsivnom ponašanju. Smatra se da je tada potrebna interpolizacija opoida, endogenih ili egzogenih, u ovaj niz NA-CRH-SHS, radi ponovnog uspostavljanja ekvilibrijuma. Odsustvo opoidne kontraregulacije u hroničnom stresu dovodi do HTA^{16, 32}.

Antidepresivi

U slučaju hronične anksioznosti i psihosomatskog poremećaja trebalo bi razmotriti i primenu antidepresiva. U poslednje vreme sve više studija ukazuje na značajan uticaj serotoninergičkog sistema u regulaciji anksioznosti i povoljne efekte selektivnih inhibitora preuzimanja serotonina (SSRI) u terapiji psihosomatskog oboljenja, pa i hipertenzije indukovane stresom^{31, 32}.

Radi se o grupi lekova koji primarno poboljšavaju depresivno raspoloženje, ali i stimulišu vitalne dinamizme. Antidepresivi nisu psihostimulansi i ne prouzrokuju euforiju. Sveukupno gledano deluju inhibicijom enzima monoaminoosidaze, inhibicijom ponovnog preuzimanja monoamina iz sinaptičke pukotine, oslobađanjem monoamina iz presinaptičkih završetaka, blokiranjem presinaptičkih receptora ili stimulacijom postsinaptičkih receptora. Postoje triciklični, tetraciklični, biciklični, monociklični, atipični antidepresivi, grupa reverzibilnih inhibitora monoaminoosidaze i selektivnih serotoninergičnih antidepresiva. Iako sve brojniji, antidepresivi nisu zadovoljili terapeute. Njihova efikasnost je oko 65–75% u odnosu na čak 25–40% poboljšanja na placebo. Međutim, njihova primena u indikacijama izvan depresivnih sindroma sve je veća (od odvikavanja od pušenja, lečenja prevremene ejakulacije i dr. seksualnih disfunkcija, bolnih sindroma, menopauze, bolesti zavisnosti, nekih poremećaja spavanja, lečenja HTA). Ne treba zaboraviti i anksiolitički efekat antidepresiva. Ipak, neželjena dejstva antidepresiva mnogobrojna su, zbog čega njihovu upotrebu ne treba shva-

titi olako. Sasvim je sigurno da predstoji ozbiljna reevalvacija efikasnosti i bezbednosti njihove upotrebe³³. Može li jedan od češćih neželjenih faktora nekih antidepresiva (hipertenzija) postati prednost u lečenju HTA kod depresivnih?

Inhibitori konvertaze angiotenzina I

Inhibitori konvertaze angiotenzina (ACE inhibitori) I su mnogobrojna grupa lekova, čiji pripadnici blokiraju pretvaranja angiotenzina I u angiotenzin II inhibicijom konvertaze angiotenzina I (peptidil karboksipeptidaza) na nivou pluća, srca, bubrega, nadbubrežne žlezde, mozga i u krvi. Tim mehanizmom sprečava se stimulacija simpatičkog sistema, sekrecija aldosterona i vazokonstriktorni efekat angiotenzina II. Istim mehanizmom sprečavaju razgradnju bradikinina i omogućavaju njegov vazodilatatorni efekat. Konačno, smanjuju ukupni periferni otpor, pojačavaju izlučivanje natrijuma i vode preko bubrega, smanjuju kapilarni pritisak, srednji pritisak u desnoj pretkomori, povećavaju minutni volumen, toleranciju napora, bez promene ili ubrzanja srčane frekvence, preveniraju proliferaciju glatkomišićnih ćelija, smanjuju hipertrofiju leve komore i, konačno, dovode do arterijske i venske dilatacije i snižavanja i sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska. Smatra se da poboljšavaju cirkulaciju u predelu pankreasa, smanjuju jetreni klirens za insulin i tako poboljšavaju osetljivost na insulin i odlažu komplikacije dijabetesa. Kao takvi imaju vrlo značajno mesto ne samo u terapiji HTA, hipertenzivne krize, srčane insuficijencije, prevencije i stanja nakon akutnog infarkta miokarda, već i kod hipertenzije uzrokovane stresom. Najčešće korišćeni ACE inhibitori su kaptopril, enalapril, cilazapril, ramipril, lizinopril, kvinapril, perindopril, fosinopril, trandolapril i zofenopril^{34,35}.

Antagonisti angiotenzin II receptora – AT1 (sartani)

Sartani se najčešće primenjuju kao alternativa ACE inhibitorima kod njihovog nepodnošenja, suvog kašlja ili neefikasnosti zbog povećanja aktivnosti renina u plazmi. Najčešće primenjivani su valsartan i losartan, a mnogi su u fazi ispitivanja. Svi deluju preko AT1 receptora, blokirajući ih i tako onemogućavajući delovanje angiotenzina II³⁰.

Inhibitori kalcijumskih kanala

Postoji pet velikih grupa ovih lekova. Najvažniji su verapamil (fenilalkilamini), diltiazem (benzotiazepini), nifedipin, amlodipin, nimodipin, lerkandipin (dihidropiridini). Svoj efekat ostvaruju preko L-, ređe T-, N- ili P-kanala. Povoljno kardiovaskularno dejstvo ostvaruje se na nivou srčanih i glatkomišićnih ćelija. Ulazak ekstraćelijskog kalcijuma u srčane i glatkomišićne ćelije i njegova povećana koncentracija u njihovoj citoplazmi važna je za početak njihove kontrakcije. Svi blokatori kalcijumskih kanala relaksiraju glatke mišićne ćelije arterija, smanjuju periferni otpor, izazivaju vazodilataciju i snižavaju krvni pritisak, smanjujući koronarni vaskularni otpor i povećavajući koronarnu cirkulaciju, bez bitnijeg uticaja na venski krvotok i

volumno opterećenje srca. Neki smanjuju srčanu frekvencu, kontraktilnost miokarda, samim tim i potrebu miokarda za kiseonikom³⁰.

Diuretici

Radi se o lekovima koji povećavaju izlučivanje mokraće. Dele se prema jačini dejstva, mestu delovanja, mehanizmu dejstva i prema tome da li štede kalijum. Prema mestu delovanja u bubregu diuretici se dele na one sa dejstvom na nivou proksimalnih tubula (manitol), medularnog uzlaznog kraka Henleove petlje (furosemid, bumetanid, torasemid), kortikalnog dilucijskog segmenta Henleove petlje (indapamid, hidrohlortiazid, hlortalidon), distalnog tubula (amilorid, spironolakton, eplerenon, triamteren) i one koji deluju na nivou sabirnih kanalića. Oni koji deluju proksimalno u odnosu na distalni tubul dovode do gubitka kalijuma³⁰.

Blokatori alfa-adrenergičkih receptora

Radi se o lekovima koji su izgubili svoj raniji značaj u terapiji arterijske hipertenzije, mada imaju nesumnjivu vrednost kao dodatna terapija kod refraktarnih bolesnika sa HTA. Dele se na neselektivne alfa blokatore i specifične blokatore alfa1 receptora. Danas se još u nekim slučajevima arterijske hipertenzije koriste klonidin i metildopa (sa centralnim dejstvom), prazosin i doksazosin (sa perifernim), urapidil, ketanserin³⁰.

Zaključak

Esencijalna hipertenzija je najčešća bolest zapadne civilizacije i razlog najvećem broju odlazaka lekaru i najvećem broju propisanih recepata. Stres, naročito hronični sve češći je kouzročnik ili čak dominantni uzročnik HTA. Potreba za njegovom kontrolom i kontrolom posledica do kojih dovodi raste. Retko je izolovano etiološki prisutan, najčešće u sadejstvu sa drugim faktorima rizika, međutim njegovo neprepoznavanje i neuvažavanje zna umnogome da oteža lečenje. Kada se iscrpi nefarmakološke mere neophodno je uvesti lekove. Izbor leka dominantno će zavisi od komorbiteta, prethodnog farmakološkog iskustva, starosti bolesnika, prisutnosti drugih faktora rizika. U takvim situacijama često se nameće potreba za uvođenjem beta blokatora, anksiolitika i antidepresiva. Izbor leka, doze, dužina trajanja i način prekidanja terapije najčešće su tačke na kojima se greši (nekritično prepisivanje niskopotentnih benzodiazepina, neopravdano dugotrajne terapije ili primena visokih doza anksiolitika i razvoj zavisnosti, nepostupno ukidanje terapije). Mada se još pre 15 godina počeo razvijati holistički, interdisciplinarni pristup proučavanju stresa (psihoneuroendokrinokardiologija), jasne i precizne preporuke od strane stručnih i eminentnih medicinskih društava za ovakve situacije još uvek ne postoje. Da li će nove preporuke, američke ili evropske, doprijeti da se poveća uspešnost terapije hipertenzije? Neki odgovori će se dobiti brzo, ali za većinu odgovora na postavljena i nepostavljena pitanja treba strpljivo čekati.

L I T E R A T U R A

1. *Brokes L.* The Updated WHO/ISH Hipertension Guidelines. Medscape Cardiology [posted 2004 March 16]. Available from: <http://www.medscape2004>
2. *Nanette K, Wenger MD, Robert C, Hendel DS, Berman MF, Di Carli PA, et al.* Prevention of coronary atherosclerosis. In: *Hurst W*, editor. The Heart. 7th ed. New York: Mc Grow Hill. 1990. p. 893–4.
3. The Sixth report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of high Blood pressure. Arch Intern Med 1997; 157(21): 2413–46.
4. *National Institut for Health and Clinical Excellence.* Management of hypertension in adults in primary care. NICE clinical guideline. [cited 2011 August 24]. Available from: www.nice.org.uk/CG034
5. *Čazov EI, Slijepčević D, Stožinić S, Vujić S.* Stress and disease. Belgrade: Stručna knjiga; 1995. (Serbian)
6. *Chrousos GP.* Stress and disorders of the stress system. Nat Rev Endocrinol 2009; 5(7): 374–81.
7. *Jelaković B, Duraković Z.* Arterial hypertension and hypotension. In: *Vrhovac B*, editor. Internal Medicine Zagreb: Naklada Ljevak; 2008. p. 550–65. (Croatian)
8. *Rampal L, Rampal S, Azhar MZ, Rahman AR.* Prevalence, awareness, treatment and control of hypertension in Malaysia: a national study of 16,440 subjects. Public Health 2008; 122(1): 11–8.
9. *World Health Organization.* World Health. Report. 1998. Life in the 21st century. A vision for all. Report of the Director-General. Geneva: World Health Organization; 1998.
10. *Denić Lj.* Psychosocial factors-Stress. In: *Ostojić M*, editor. Prevention of ischemic heart disease. Belgrade: Grafika Jovšić 2002. 151–2. (Serbian)
11. *Kadojić D, Demarin V, Kadojić M, Mihaljević I, Barac B.* Influence of prolonged stress on risk factors for cerebrovascular disease. Coll Antropol 1999; 23(1): 213–9.
12. *Stewart TD, Atlas SA.* Syndroma X, depression, and chaos: relevance to medical practice. Conn Med 2000; 64(6): 343–5.
13. *Bjorntorp P, Holm G, Rosmand R, Folkow B.* Hypertension and the metabolic sindrom: closely related central origin? Blood Press 2000; 9(2–3): 71–82.
14. *Raikkonen K, Matthews KA, Kuller LH.* The relationship between psychological risk attributes and the metabolic syndrome in healthy women: antecedens or consequence? Metabolism 2002; 51(12): 1573–7.
15. *Bruner EJ, Hemingway H, Walker BR, Page M, Clarke P, Juneja M, et al.* Adrenocortical, autonomic and inflammatory causes of the metabolic syndrome: nested casecontrol study. Circulation 2002; 106(21): 2659–65.
16. *Špirić Ž.* Correlation of chronic osttraumatic stress-syndrome and insulin resistance syndrome [dissertation]. Belgrade: Military Medical Academy; 2003. (Serbian)
17. *Špirić Ž, Hajduković Z.* Insulin resistance in posttraumatic stress disorder. In: *Dorđević PB*, editor. Practical and basic problems of diabetology and metabolism diseases- Knowledge inovations XI. Belgrade: School of Medicine; 2005. p. 31–9. (Serbian)
18. *Pitman RK, Orr SP, Foa DF, deJong JB, Claiborn JM.* Psychophysiological assessment of posttraumatic stress disorder imagery in Vietnam combat veterans. Arch Gen Psychiatry 1987; 44(11): 970–5.
19. *McFall ME, Murburg MM.* Psychophysiological studies of combat-related PTSD: an integrated view. In: *Murburg MM*, editor. Catecholamine function in posttraumatic stress disorder: emerging concepts. Washington, DC: American Psychiatric Press; 1994: 161–73.
20. *Marmot MG, Shpley MJ, Goze G.* Inequalities in death – specific explanations of general pattern? Lancet 1984; 1: 1003–6.
21. *Nalivaiko E.* Animal models of psychogenic cardiovascular disorders: what we can learn from them and what we cannot. Clin Exp Pharmacol Physiol 2011; 38(2): 115–25.
22. *Chida Y, Steptoe A.* The association of anger and hostility with future coronary heart disease: a meta-analytic review of prospective evidence. J Am Coll Cardiol 2009; 53(11): 936–46.
23. *Shimbo D, Chaplin W, Kuruvilla S, Wasson LT, Abraham D, Burg MM.* Hostility and platelet reactivity in individuals without a history of cardiovascular disease events. Psychosom Med 2009; 71(7): 741–7.
24. *Roy-Byrne PP, Davidson KW, Kessler RC, Asmundson GJ, Goodwin RD, Kubzansky L, et al.* Anxiety disorders and comorbid medical illness. Gen Hosp Psychiatry 2008; 30(3): 208–25.
25. *Fisher NDL, Williams GH.* Hypertensive vascular disease. In: *Wiener C, Fauci A, Braunwald E, Kasper D, Hauser S, Jameson DL*, editors. Harrison's principles of internal medicine, 16th ed. New York: Mc-Graw-Hill; 2005. p. 14–63.
26. *López-Sendón J, Swedberg K, McMurray J, Tamargo J, Maggioni AP, Dargie H, et al.* Expert consensus document on beta-adrenergic receptor blockers. Eur Heart J 2004; 25(15): 1341–62.
27. *Matunović R.* Performance Beta-Blockers in adrenergic dependent suppression of ventricular arrhythmias [specialty work]. Belgrade: Military Medical Academy; 1999 (Serbian).
28. *Samardžić J.* Experimental models of anxiety [specialty work]. Belgrade: School of Medicine; 2008. (Serbian)
29. *Divac N, Veljković S, Nešić Z, Stojanović R, Bajčetić M, Vasiljević Z, et al.* Pattern of utilization of benzodiazepines in patients with hypertension: a pilot study. Vojnosanit Pregl 2006; 63(4): 370–5.
30. *Kažić T.* Pharmacology and clinical pharmacology. 5th ed. Belgrade: Integra; 2008 (Serbian)
31. *Marić J.* Clinical psychiatry. Belgrade: Megraf; 2005. (Serbian)
32. *Špirić Ž.* Psychoneurobiology of posttraumatic stress disorder. In: *Špirić Ž*, editor. War psychotrauma of serbian veterans. Society of combat veterans since 1990 Belgrade: Čigoja štampa; 2008. p. 181–200. (Serbian).
33. *Divac N, Todorović Z, Stojanović R, Nešić Z, Jašović-Gašić M, Lečić-Toševski D, et al.* Utilization of psychiatric drugs in Serbia. Vojnosanit Pregl 2009; 66(3): 233–7.
34. *Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al.* The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: The JNC 7 report. JAMA 2003; 289(19): 2560–72.
35. *Terzić B.* ACE Inhibitors and Acute Coronary Sindrom. Acta Clin 2006; 6(1): 262–71. (Serbian)

Primljen 8. III 2010.
Revidiran 8. IV 2011.
Prihvaćen 5. V 2011.



Značaj i uloga EEG nalaza u dijagnostici i lečenju febrilnih napada

Significance and the role of EEG in the diagnosis and treatment of febrile seizures

Milena Djurić, Ružica Kravljanac

Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“, Neurološko odeljenje, Beograd, Srbija

Ključne reči:

febrilni napadi; elektroencefalografija; deca; dijagnoza; prognoza.

Key words:

seizures, febrile; electroencephalography; child; diagnosis; prognosis.

Uvod

Febrilni napadi (FN) su najčešći konvulzivni poremećaji u detinjstvu, koji se sreću kod 2–5% dece pre pete godine života u evropskoj i američkoj, a kod 6–9% u japanskoj populaciji^{1,2}.

Prema definiciji koju je dala Internacionalna liga za borbu protiv epilepsije, FN je „epileptični napad koji se javlja u detinjstvu, posle prvog meseca života, udružen sa febrilnom bolešću koja ne zahvata centralni nervni sistem, bez prethodnih neonatalnih konvulzija ili neprovociranih napada i bez kriterijuma za druge akutne simptomatske napade“³. Prema Dijagnostičkoj šemi Klasifikacije epilepsija i epileptičnih sindroma iz 2001. godine, FN su kategorisani u stanja s epileptičnim napadima koja ne predstavljaju pravu epilepsiju. U Dijagnostičkoj šemi savetuje se da se termini „konvulzije“ i „konvulzivni“ više ne koriste jer se smatraju laičkim terminima i da se umesto njih koristi termin FN⁴.

Zbog različite prognoze, FN su prema kliničkoj slici podeljeni na jednostavne i kompleksne. Jednostavni FN su najčešće tonično-kloničnog tipa, traju manje od 15 minuta i ne ponavljaju se tokom 24 časa, niti tokom iste febrilne bolesti. Kompleksni FN traju duže ili se ponavljaju tokom iste febrilne epizode, imaju fokalne karakteristike ili se javljaju kod dece sa perinatalno stečenim psihomotornim deficitom^{5,6}.

Rizične činioce za recidive FN predstavljaju: pojava prvog FN u ranom uzrastu (prva godina života), kratkotrajna bolest sa nižom febrilnošću u vreme prvog napada, FN kod članova uže porodice i kompleksni karakter prvog FN⁷.

Velike epidemiološke studije otkrile su rizične činioce pojave epilepsije posle FN: a) abnormalni neurološki i razvojni status pre prvog FN, b) porodična anamneza za afebrilne napade i c) kompleksni karakter FN^{8,9}.

Dijagnoza FN postavlja se na osnovu anamneze i kliničke slike, a veoma je važno utvrditi koje osnovno oboljenje je izazvalo febrilnost. Važna je diferencijalna dijagnoza FN od akutnih konvulzivnih napada u toku meningitisa, encefalitisa, i napada kod dece sa cerebralnom paralizom.

Elektroencefalogram (EEG) i tehnike neuroslikanja (*neuroimaging*) ne doprinose dijagnozi FN⁵. Nijedna studija nije utvrdila da EEG, snimljen u vreme ili posle jednostavnog FN ili u toku nekoliko sledećih meseci, može biti prediktor budućih afebrilnih napada. Mada se incidencija abnormalnosti na EEG nalazu povećava tokom vremena posle prvog jednostavnog FN, ne postoje dokazi da su te abnormalnosti prediktivne za pojavu recidiva niti za razvoj epilepsije¹⁰.

Međutim, u našoj sredini, u svakodnevnoj kliničkoj praksi, zahtevi da se EEG uradi neposredno posle FN do nedavno su bili veoma česti. Zahvaljujući stalnoj edukaciji tokom poslednjih nekoliko godina, broj ovih zahteva se smanjuje, ali pritisak na EEG laboratorije i dalje postoji.

Istorijat

Decenijama izveštaji o EEG nalazima dece sa FN davali su različite podatke o incidenciji EEG abnormalnosti koja se kretala od 2–86% (tabela 1)¹¹. U tim radovima najčešće se nije navodio uzrast dece niti vreme proteklo od FN do EEG snimanja. Takođe, definicija EEG abnormalnosti nije bila jedinstvena, tako da su se i neki od fizioloških obrazaca razvrstavali kao abnormalnosti. Do 1968. godine kada su Frantzen i sar.¹² objavili studiju o longitudinalnom EEG praćenju kod dece posle FN, objavljeno je 36 radova. Tim radovima zajedničko je da je kod 50% dece koja su doživela FN utvrđeno usporenje osnovne aktivnosti iznad okcipitalnih regiona. Sugerisana je korelacija sa većim procentom recidiva i češćom poja-

Tabela 1
Incidencija paroksizmalnih pražnjenja u EEG nalazu (ppEEG)
kod dece sa febrilnim napadima (FN) ¹¹

Autor	Godina	Bolesnici sa paroksizmalnim EEG pražnjenjem	
		Ukupno dece sa FN	Broj dece sa ppEEG (%)
Laplane et al.	1947	8	3 (37)
Lennox, M.A.	1947	153	15 (10)
Neyroud	1947	70	2 (3)
Lennox, M.A.	1949	240	16 (7)
Lennox, M.A.	1949	77	26 (33)
Peterman	1950	88	76 (86)
Peterman	1952	180	133 (74)
Melin	1954	72	18 (25)
Pardeli, Ardito	1954	10	1 (10)
Fois, Malandrini	1957	82	14 (17)
Palesi	1957	101	7 (7)
Stevens	1957	50	19 (38)
Stevens	1957	23	9 (39)
Laplane et al.	1958	39	5 (12)
Radermecker	1958	50	17 (34)
Bamberger, Matthes	1959	305	13 (4)
Bamberger, Matthes	1959	109	2 (2)
Isch-Treussard, Rohmer	1959	50	10 (20)
Millichap et al.	1960	76	18 (24)
Cavazzuti, Lavagna	1961	80	19 (24)
Horstmann, Schinnerliog	1963	108	28 (26)
Laplane, Salbreux	1963	210	126 (60)
Lennox-Buchthal	1964	100	9 (9)
Ukupno		2281	586 25

vom afebrilnih napada bez statističke značajnosti. Paroksizmalne abnormalnosti bile su češće u toku praćenja posle pete godine života, kod dece sa dugotrajnim i fokalnim FN i kasnijim afebrilnim napadima. Vreme praćenja bilo je do tri godine, a broj ispitanika bio je nedovoljan za značajne zaključke ¹¹.

Posle objavljivanja rezultata studija longitudinalnog kliničkog i EEG praćenja dece sa FN postalo je jasno da će EEG nalazi biti različiti u zavisnosti od perioda razvoja. Nije se više moglo uopšteno govoriti o normalnom ili abnormalnom EEG nalazu kod dece sa FN bez stavljanja tog EEG nalaza u određenu razvojnu fazu i određivanja značaja utvrđenog nalaza.

Doose i sar. ¹³ 2003. godine prikazali su značajnu podelu EEG nalaza u odnosu na vreme posle FN i uzrast bolesnika. Prema ovoj klasifikaciji razlikuju se sledeći EEG nalazi: tokom FN, tzv. iktusni zapis; u ranom postiktusnom periodu koji obuhvata period do sedam dana posle FN; u kasnom postiktusnom periodu koji obuhvata period od dve do tri nedelje posle FN; u dojenačkom i predškolskom dobu do sedme godine života; u toku dugotrajnog praćenja.

Iktusni EEG

Iktusni EEG nalaz karakteriše se generalizovanim, lateralizovanim ili fokalnim epileptičkim pražnjenjima. Tonusna faza je kratka ili odsutna a dominira klonusna faza tokom koje se registruju grupe šiljaka.

Rana postiktusna faza

U ovoj fazi u EEG nalazu često je prisutno generalizovano ili okcipitalno usporenje osnovne aktivnosti. Posle fo-

kusnih ili unilateralnih FN, ali i naizgled obostranih FN, može se registrovati fokusno usporenje ¹³. U longitudinalnoj studiji Frantzena i sar. ¹² jedna trećina od 200 dece imala je na prvom EEG nalazu tokom prve nedelje posle FN okcipitalno ili asimetrično usporenje (delta talasi 1–3 Hz). Ovo usporenje iščezavalo je posle 10-tak dana, a javljalo se značajno češće kod dece sa telesnom temperaturom višom od 39° C u momentu FN, sa napadima dužim od 30 min, dužim prethodnim trajanjem bolesti (preko 36 h) i dece starije od dve godine. Posle praćenja od pet godina nije imalo prognostičkog značaja u odnosu na recidive FN ili pojavu afebrilnih napada.

Kasna postiktusna faza

U drugoj i trećoj nedelji posle FN navedeno usporenje osnovne EEG aktivnosti, registrovano tokom rane postiktusne faze, kompletno iščezava. EEG nalaz poprima individualne karakteristike odgovarajuće za uzrast, odnosno, osnovna EEG aktivnost je iregularna jer je razlika u frekvenciji talasa više od jednog opsega, najčešće teta – delta frekvencije ¹³.

Doba odojčeta i predškolsko doba

Dojenačko i predškolsko doba je uzrast kada se najčešće ispoljavaju EEG obrasci koji su karakteristični za genetsku predispoziciju prema napadima. Jedna trećina dece će imati parjetalnu teta aktivnost, a jedna polovina od njih kratkotrajne generalizovane šiljak-talas komplekse u toku spavanja. Kod dece sa ovakvim nalazom nešto je veći rizik od recidiva FN. Kada su se u toku praćenja pojavljivali u većem obimu i učestalosti, šiljak-talas kompleksi označavali su mo-

gućnost razvoja generalizovane epilepsije. Kod jedne četvrtine dece sa FN prisutan je na EEG nalazu abnormalni hipnagogni ritam, odnosno kratkotrajni generalizovani paroksizmi talasa od 3 do 4 Hz u trajanju od 2 do 4 s, kojima prethodi oštar talas ili brzi šiljak (slika 1). Ovaj obrazac smatra se znakom povećane moždane ekscitabilnosti koja je genetski određena i nema značaja za lečenje dece sa FN¹³.



Sl. 1 – Abnormalni hipnagogni ritam kod 3-godišnjeg dečaka sa tri febrilna napada

Okcipitalni delta ritam pri otvorenim očima koji se registruje kod neke dece sa FN nije u korelaciji sa povećanim rizikom od recidiva.

Fotoparoksizmalni odgovor javlja se kod 50% dece sa FN u uzrastu od pet do 15 godina i nije u korelaciji sa rizikom od recidiva. Izolovano ne predstavlja nepovoljan prognostički znak ukoliko nije udružen sa fotogenim napadima.

U toku ranog detinjstva sa latentnim periodom od oko dve godine posle FN, oko 10% dece na EEG nalazu ima fokusne oštre talase. U seriji od 128 dece sa FN koju su objavili Doose i sar.¹³ kod 50% dece na EEG nalazu registrovani su monofokalni oštri talasi, a kod ostalih promjenljive lokalizacije, uglavnom iznad okcipitalnog ili precentralnog regiona. Oni se smatraju specifičnom genetskom dispozicijom koja je doprinela pojavi prethodnih FN.

U studiji Frantzena i sar.¹² dvoje od 218 dece imalo je na prvom EEG snimku generalizovana paroksizmalna pražnjenja. U uzrastu od pete do 10. godine skoro 50% EEG nalaza pokazivalo je ova pražnjenja. Samo kod jednog deteta na prvom EEG nalazu posle FN registrovani su fokusni šiljci, dok su zabeleženi na 15% snimaka kod dece uzrasta od jedne do tri i po godine, a čak na 50% snimaka kod dece uzrasta od tri i po do šest i po godina. Recidivi FN javili su se kod 25% dece bez korelacije sa paroksizmalnim EEG promenama. Afebrilni napadi javili su se kod 2,5% dece (pet bolesnika), takođe bez korelacije sa EEG nalazom. U nekim slučajevima afebrilni napadi su prethodili EEG promenama¹².

Dugotrajno praćenje dece sa febrilnim napadima (od osme godine do odraslog doba)

Kod najvećeg broja dece sklonost ka FN prestaje posle pete godine života. Međutim, EEG snimak i dalje pokazuje

različite nalaze kao npr. fotoparoksizmalni odgovor koji je najizraženiji oko desete godine života. EEG nalaz može imati prognostički značaj kod malog broja bolesnika (2–4%) koji su razvili epilepsiju posle FN i koji je podeljen u tri kategorije^{8, 14, 15}.

1. Generalizovana epilepsija sa FN+ (GEFN+) spada u grupu idiopatskih epileptičkih sindroma i prema Internacionalnoj ligi za borbu protiv epilepsije to je sindrom u nastajanju¹⁶. Febrilni napadi + označavaju FN koji počinju ranije nego jednostavni FN (pre šest meseci), koji se ponavljaju i nastavljaju posle pete godine, a prestaju oko 11. godine života. Neka od te dece imaju posle šeste godine života afebrilne napade, odnosno GEFN+. U studiji devet porodica utvrđeno je da 63 člana imaju kliničku sliku GEFN+. Od ovog broja bolesnika 49% je imalo klasične FN, 29% FN+, a 13% FN sa drugim tipovima afebrilnih napada kao što su apsansi, mioklonusni i napadi temporalnog lobusa. Mioklonusno asatske napade imalo je 13% dece. Generalizovana epilepsija sa FN je genetski heterogeni sindrom i do sada su opisane mutacije na četiri genska lokusa u četiri gena¹⁷.

EEG nalaz je u korelaciji sa kliničkom slikom: normalan je kod dece koja su imala samo FN; pokazuje kratka generalizovana pražnjenja kod onih sa afebrilnim generalizovanim napadima, a fokusna pražnjenja registrovana su na EEG nalazu kod dece sa fokusnim napadima⁵. Neki autori smatraju da generalizovani šiljak talas kompleksi na EEG nalazu kod deteta sa FN mogu da upute na razvoj GEFN+¹³.

2. Idiopatska fokusna epilepsija retko se može javiti posle FN. Pojava fokusnih ili multifokusnih oštrih talasa nema prognostičku vrednost jer većina te dece uopšte ne razvija afebrilne napade u toku života¹³.

3. Epilepsija sa kompleksnim parcijalnim napadima u čijoj je osnovi mezijalna temporalna skleroza (MTS) veoma se retko javlja posle FN. Do danas traje kontroverza uzročno-posledičnih odnosa FN i MTS. U pionirskom radu Falconera¹⁸ od 100 operisane dece zbog refraktorne temporalne epilepsije kod 41 uzrok epilepsije je bila MTS. Iz ove grupe 30% je prethodno imalo produžene FN u odnosu na 6% u grupi sa drugom patologijom. Međutim, u prospektivnim epidemiološkim studijama rizik od pojave epilepsije temporalnog lobusa posle FN je mali i iznosi 1 : 75 000 dece. Pored toga, oko 30% osoba sa MTS ima tzv dvojnu patologiju, odnosno još neku malformaciju istog regiona¹⁹. Interesantno je da je u studijama o porodičnim MTS veoma retka anamneza o prethodnim FN²⁰. Kliničkom i EEG analizom prvih FN kod dece sa kasnijom epilepsijom temporalnog lobusa utvrđeno je da se radilo o serijama unilateralnih ili generalizovanih febrilnih epileptičkih statusa sa produženim poremećajem svesti, lateralizovanim EEG iktalnim pražnjenjima kao i Todd-ovom paralizom²¹. Kod takvih slučajeva EEG nalaz ukazivao je na postiktalno unilateralno usporenje, potom unilateralna fokalna pražnjenja i ritmičnu teta osnovnu aktivnost.

Doose¹³ smatra da bi čak i godišnje praćenje u tim situacijama u kliničkoj praksi dalo informacije od male praktične vrednosti. U toku je prospektivna multicentrična studija sa ciljem da odgovori na pitanje odnosa febrilnog epileptičnog statusa, kasnije nastale epilepsije temporalnog lobusa i MTS²².

Nema publikovanih studija koje bi pokazale da rani EEG nalaz posle prve epizode kompleksnih FN kod deteta sa normalnim neurološkim statusom predviđa pojavu afebrilnih napada. Studija dece sa normalnim neurološkim statusom, kod koje je EEG rađen tokom spavanja u prvoj nedelji od FN, nije pokazala abnormalne nalaze. Zaključeno je da sadašnja praksa da se EEG radi kod dece sa normalnim neurološkim nalazom i kompleksnim febrilnim konvulzijama nije bazirana na dokazima²³.

Karakteristična osobina EEG nalaza kod dece posle febrilnog epileptičnog statusa (FES) je fokalno usporenje osnovne aktivnosti. Ono je utvrđeno kod trećine dece u starijim radovima (Lennox 1948, Leriche-Koeclin 1958, Millichap 1960) i perzistiralo je 7–10 dana od napada²⁴. U studiji Frantzena i sar.¹² fokalno usporenje je registrovano na EEG nalazu kod 47% dece sa napadima dužim do 30 min, fokalnim početkom, unilateralnim napadima ili sa prolaznom hemiparezom. Značaj ovog nalaza koji je konzistentan tokom decenija, u nekoliko studija nije još razjašnjen. U jednoj studiji kod trećine bolesnika sa fokalnim usporenjem razvila se epilepsija, a u drugoj samo kod 13% svih bolesnika koji su imali FES. U nekim od ovih studija fokalno usporenje bilo je udruženo sa nastajanjem šiljaka na istoj strani²⁵. U prospektivnoj britanskoj epidemiološkoj studiji kod 21% dece koja su imala FES javila se epilepsija tokom perioda praćenja⁸. Rezultati objavljenih studija ne pokazuju da EEG nalaz, urađen neposredno posle FN ili kasnije u toku sledećih meseci, može poslužiti za predviđanje pojave afebrilnih napada. Iako se učestalost abnormalnih EEG nalaza posle prvog ataka FN vremenom povećava, ne postoje dokazi da takav nalaz predviđa recidiv FN ili razvoj epilepsije. Zbog toga je u preporuci Američ-

ke pedijatrijske Akademije za neurodijagnostičku procenu deteta sa prvim tipičnim FN naglašeno da, prema postojećoj literaturi i konsenzusu, EEG ne treba raditi za procenu deteta sa prvim tipičnim FN i normalnim neurološkim statusom¹⁰.

Kod dece sa kompleksnim FN i urednim neurološkim statusom nije dokazano da rani EEG ima prediktivan značaj za razvoj epilepsije. Čak i studije koje su uključile decu sa kompleksnim FN i preegzistirajućim neurološkim deficitom nisu pokazale da patološki EEG može da predvidi epilepsiju^{12, 13, 25}. Zbog toga, racionalan pristup EEG ispitivanju bilo bi njegovo razmatranje kod dece koja posle kompleksnih FN dobiju afebrilan napad, ili kada dete sa kompleksnim FN ima zastoje u psihomotornom razvoju, neurološke abnormalnosti, ili pozitivne podatke za epilepsiju u porodici²³.

Prognostički značaj EEG nalaza kod febrilnog epileptičnog statusa (FES) nije dokazana, a ispitivanje ima smisla radi procene bolesnika zbog neurološkog ili kognitivnog deficita ili bilo kojeg stepena zaostajanja u psihomotornom razvoju. Takođe, ovi bolesnici mogu se upućivati na EEG snimanje zbog ispitivanja mogućeg organskog uzroka FES^{26, 27}.

Zaključak

Različite EEG abnormalnosti mogu se registrovati kod dece koja su imala FN u zavisnosti od vremena proteklog od napada. Međutim, ovi nalazi ne doprinose informaciji o verovatnoći recidiva FN, niti kasnijeg razvoja epilepsije. Zbog tog nije racionalna rutinska primena EEG kod dece sa FN već samo pri sumnji na prethodni neurološki ili kognitivni deficit ili organski uzrok kod dece sa FES.

L I T E R A T U R A

1. Nelson KB, Ellenberg JH. Prognosis in children with febrile seizures. *Pediatrics* 1978; 61(5): 720–7.
2. Tsuboi T. Epidemiology of febrile and afebrile convulsions in children in Japan. *Neurology* 1984; 34(2): 175–81.
3. Commission on Epidemiology and Prognosis, International League Against Epilepsy. Guidelines for epidemiologic studies on epilepsy. *Epilepsia* 1993; 34(4): 592–6.
4. Engel J Jr; International League Against Epilepsy (ILAE). A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2001; 42(6): 796–803.
5. Panayiotopoulos CP. The Epilepsies: Seizures, Syndromes and Management. Oxfordshire (UK): Bladon Medical Publishing; 2005.
6. Marjanović B. Febrile convulsions. In: Marjanović B, editor. Problems in pediatrics in 1994. Belgrade: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 1995. p. 35–44. (Serbian)
7. Offringa M, Bossuyt PM, Lubsen J, Ellenberg JH, Nelson KB, Knudsen FU, et al. Risk factors for seizure recurrence in children with febrile seizures: a pooled analysis of individual patient data from five studies. *J Pediatr* 1994; 124(4): 574–84.
8. Verity CM, Golding J. Risk of epilepsy after febrile convulsions: a national cohort study. *BMJ* 1991; 303(6814): 1373–6.
9. Đurić M, Zamurović D, Kravljanić R, Vlabović G, Vučetić B. Epilepsy following febrile seizures. In: Zdravković D, editor. Problems in pediatrics in 2008; Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2009; 29: 195–206. (Serbian)
10. American Academy of Pediatrics. Provisional Committee on Quality Improvement, Subcommittee on Febrile Seizures. Practice parameter: the neurodiagnostic evaluation of the child with a first simple febrile seizure. *Pediatrics* 1996; 97(5): 769–72.
11. Millichap JG. Febrile convulsions. New York: Macmillan; 1968.
12. Frantzen E, Lennox-Buchthal M, Nygaard A. Longitudinal EEG and clinical study of children with febrile convulsions. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1968; 24(3): 197–212.
13. Doose H. EEG in childhood epilepsy. Initial presentation and long term follow up. Montrouge: John Libbey Eurotext; 2003.
14. Nelson KB, Ellenberg JH. Predictors of epilepsy in children who have experienced febrile seizures. *N Engl J Med* 1976; 295(19): 1029–33.
15. Annegers JF, Hauser WA, Shirts SB, Kurland LT. Factors prognostic of unprovoked seizures after febrile convulsions. *N Engl J Med* 1987; 316(9): 493.
16. Nordli DR Jr. Idiopathic generalized epilepsy recognized by the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 2005; 46(Suppl 9): 48–56.
17. Singh R, Scheffer IE, Crossland K, Berkovic SF. Generalized epilepsy with febrile seizures plus: a common childhood-onset genetic epilepsy syndrome. *Ann Neurol* 1999; 45(1): 75–81.
18. Falconer MA. Genetic and related aetiological factors in temporal lobe epilepsy. A review. *Epilepsia* 1971; 12(1): 13–31.
19. Camfield P, Camfield C, Kulermann G. Febrile seizures. In: Roger J, Bureau M, Dravet Ch, Genton P, Tassinari CA, Wolf P, editors. Epileptic syndromes in infancy childhood and adolescence. Eastleigh: John Libbey; 2005. p. 145–52.

20. Kobayashi E, Lopes-Cendes I, Guerreiro C, Sousa SC, Guerreiro MM, Cendes F. Seizure outcome and hippocampal atrophy in familial mesial temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2001; 56(2): 166–72.
21. Ohtsu M, Oguni H, Awaya Y, Osawa M. Clinical and EEG analysis of initial status epilepticus during infancy in patients with mesial temporal lobe epilepsy. *Brain Dev* 2002; 24(4): 231–8.
22. Shinnar S, Hesdorffer DC, Nordli DR Jr, Pellock JM, O'Dell C, Lewis DV, et al. Phenomenology of prolonged febrile seizures: results of the FEBSTAT study. *Neurology* 2008; 71(3): 170–6.
23. Maytal J, Steele R, Eviatar L, Novak G. The value of postictal EEG in children with complex febrile seizures. *Epilepsia* 2000; 41(2): 219–21.
24. Nordli DR, Mosb  SL, Shinnar S. The role of EEG in febrile status epilepticus (FSE). *Brain Dev* 2010; 32(1): 37–41.
25. Kuturec M, Emoto SE, Sofijanov N, Dukovski M, Duma F, Ellenberg JH, et al. Febrile seizures: is the EEG a useful predictor of recurrences? *Clin Pediatr (Phila)* 1997; 36(1): 31–6.
26. Maytal J, Shinnar S. Febrile status epilepticus. *Pediatrics* 1990; 86(4): 611–6.
27. Đurić M. Rational use of EEG in pediatrics. In: Zdravković D, editor. *Problems in pediatrics in 2007*; Belgrade: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2008; 27: 211–55. (Serbian)

Primljen 25. V 2010.
Prihvaćen 9. VII 2010.



Mounier-Kuhnov sindrom

Mounier-Kuhn syndrome

Dragica Pešut*[†], Ruža Stević*[†], Jelica Milosavljević[‡], Spasoje Popević[†], Tijana Cvok[†]

*Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd, Srbija; [†]Klinički centar Srbije, Klinika za pulmologiju, Beograd, Srbija; [‡]Opšta bolnica Jagodina, Odeljenje za kardiologiju, Jagodina, Srbija

Apstrakt

Uvod. Mounier-Kuhnov sindrom ili traheobronhomegalija retko se otkriva u kliničkoj praksi, a karakteriše se značajnom dilatacijom traheje i glavnih bronha, bronhiektazijama i ponavljanim infekcijama donjih disajnih puteva. Klinička slika može da bude raznovrsna, a katkad podseća na brojne druge bolesti i stanja. **Prikaz bolesnika.** Bolesnica stara 43 godine, nepušač, počela je povremeno da oseća blagu dispneju. Anamnezom su otkrivene ponavljane infekcije pluća i bronhija. Spirometrija i kardiološki nalaz bili su u granicama normalnog. Dijagnoza je postavljena kompjuterizovanom tomografijom, indikovano zbog sumnje na bronhiektazije. Transverzalni promer traheje bio je 2,8 cm što je bio kriterijum za postavljanje dijagnoze. U ovom sporadičnom slučaju bolesti nije nađena udruženost sa bilo kojim drugim oboljenjem ili stanjem koje ima za posledicu sekundarnu traheobronhomegaliju. **Zaključak.** Iako redak u kliničkoj praksi, Mounier-Kuhnov sindrom predstavlja značajan entitet za diferencijalnu dijagnozu brojnih kardiopulmoloških oboljenja i stanja zbog raznovrsnosti svoje kliničke slike. Savremene tehnike vizualizacije toraksa omogućavaju njegovo lako otkrivanje.

Ključne reči: traheobronhomegalija; dijagnoza; dijagnoza, diferencijalna.

Abstract

Background. Mounier-Kuhn syndrome or tracheobronchomegaly is a rare disorder characterized by marked dilatation of the trachea and main bronchi, bronchiectasis, and recurrent respiratory tract infections. Its clinical presentation may vary and mimic a variety of disorders. **Case report.** A 43-year-old female patient, non smoker, complained of intermittent mild dyspnea. Lung function tests and cardiologic findings were within normal limits. The diagnosis was established by computed tomography, which was undertaken due to recurrent lower respiratory tract infections suggestive of bronchiectasis. The transversal tracheal diameter was 2.8 cm that was the criteria for making the diagnosis. In this sporadic case, no association with other disease or condition known to cause secondary tracheobronchomegaly was established. **Conclusion.** Although rare in clinical practice, Mounier-Kuhn syndrome is an important differential diagnosis in cardio-pulmonary medicine due to a variety of its clinical manifestations. Nowadays, it is easy to diagnose it owing to advanced imaging techniques.

Key words: tracheobronchomegaly; diagnosis; diagnosis, differential.

Uvod

Traheobronhomegalija ili Mounier-Kuhnov sindrom je redak poremećaj koji se karakteriše značajnom dilatacijom traheje i glavnih bronha, bronhiektazijama i ponavljanim infekcijama respiratornog trakta. Etiologija nije pouzdano utvrđena, mada ima naznaka da je u osnovi ovog poremećaja nedostatak glatkih mišića i elastičnog vezivnog tkiva u traheji i glavnim bronhima, što vodi njihovim vrećastim proširenjima i nastanku divertikuluma između kartilaginarnih prstenova^{1,2}. Ovaj sindrom može da bude urođen, a bolesti kao što su sarkoidoza i brojna stanja koja izazivaju tešku fibrozu gornjih režnjeva pluća mogu da dovedu do tako velike trakcije traheje, čiji je rezultat

njeno proširenje². Takođe, i Marfanov sindrom, Ehlers-Danlos sindrom, Kenny-Caffey sindrom, *ataxia-telangiectasia*, bolesti vezivnog tkiva, Brachmann-de Lange sindrom, agamaglobulinemija tipa Bruton, ankilozirajući spondilitis i neke druge bolesti mogu da dovedu do sekundarnog uvećanja traheje. Najveći broj slučajeva je sporadičan i ne pokazuje udruženost sa sistemskim bolestima vezivnog tkiva¹.

Mounier-Kuhnov sindrom najčešće se ispoljava u trećoj deceniji života, ali su zabeleženi i slučajevi otkrivanja u kasnijim dekadama, pa i kod starih³. Klinička slika može veoma da varira i, katkad, čak podseća na bronhijalnu astmu ili hroničnu opstruktivnu bolest pluća^{4,5}. Dijagnoza se obično postavlja na osnovu nalaza kompjuterizovane tomografije⁶. Dijagnostički kri-

terijumi se vide u tabeli 1. U radu je prikazana bolesnica kod koje je postavljena dijagnoza Mounier-Kuhnovog sindroma.

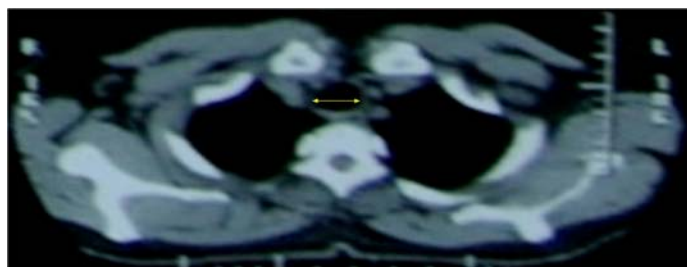
Prikaz bolesnika

Bolesnica stara 43 godine, vaspitačica, nepušač, pregledana je kardiološki zbog neodređenih tegoba u vidu povremeno lakšeg zamaranja, nelagodnosti iza grudne kosti i, katkad, lakog osećaja nedostatka vazduha. Nalaz, uključujući i ehokardiografski, bio je uredan, osim mestimično uočenih zadebljanja perikarda sa diskretnim raslojavanjem. Anamnezom otkrivene su

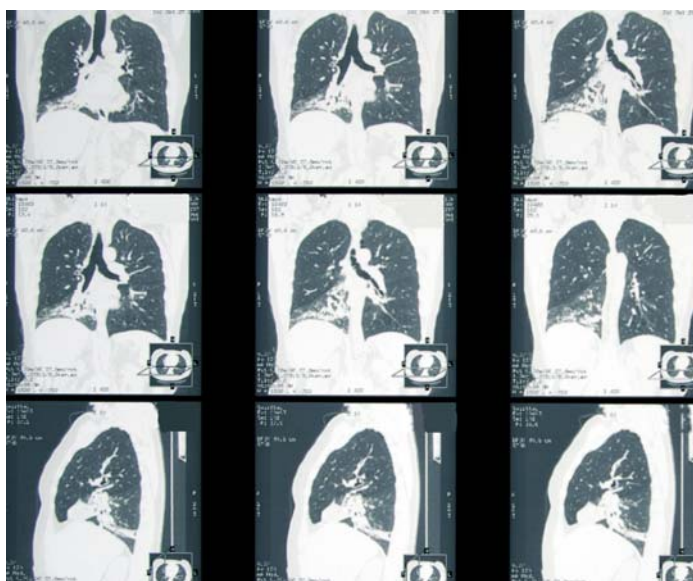
retke u detinjstvu, a poslednjih godina ponavljane epizode bronhitisa i pneumonije, posebno u poslednje dve godine. U međuvremenu bolesnica nije imala respiratornih tegoba. Porodična anamneza za bolesti disajnih organa bila je negativna. Osnovne laboratorijske analize periferne krvi, fizički pregled i spirometrijski nalaz nisu odstupali od normalnog. Na osnovu radiografskog nalaza grudnog koša – manjih zasenčenja parakardijalno suspektnih na pleuralne athezije i sačaste svetline – indicirana je kompjuterizovana tomografija zbog sumnje na bronhiektazije (slike 1–3). Nalaz ovog ispitivanja pokazao je proširenje traheje (transverzalni promer od 28 mm) i glavnih bronha sa obostranim



Sl. 1 – Standardni radiogram grudnog koša bolesnice sa Mounier-Kuhnovim sindromom u postero-anteriornoj (PA) projekciji



Sl. 2 – Kompjuterizovana tomografija grudnog koša bolesnice sa Mounier-Kuhnovim sindromom – transversalni presek: uočava se proširenje traheje (transverzalni promer od 2,8 cm) i glavnih bronha sa obostranim bronhiektazijama u donjim reznjevima pluća, izraženijim desno



Sl. 3 – Kompjuterizovana tomografija grudnog koša bolesnice sa Mounier-Kuhnovim sindromom

bronhiektazijama u donjim režnjevima pluća, izraženijim desno. Ovaj nalaz je ukazao na postojanje Mounier-Kuhnovog sindroma budući da su bili ispunjeni dijagnostički kriterijumi za ovo stanje (tabela 1). Endoskopski nije uočena kolapsibilnost ni dru-

Infekcije donjeg respiratornog trakta kod prikazane bolesnice javile su se u detinjstvu i ponovile u petoj deceniji života i uvek su povoljno reagovale na primenjenu terapiju antibioticima. Kada im se pridružio neodređeni osećaj nelagod-

Tabela 1
Dijagnostički kriterijumi za traheobronhomegaliju sa relativnim promerom disajnih cevi u milimetrima (mm) ⁶

Pol	Traheja (transvers/sagitalno) (mm)	Levi glavni bronh (mm)	Desni glavni bronh (mm)
Muškarci	25/27	18	21
Žene	21/23	17,4	19,8

ge promene velikih disajnih cevi. Bili su prisutni znaci hronične inflamacije bronhijalnog stabla obostrano. U bronhoaspiratu nije izolovana patogena flora.

Diskusija

Prikazana je bolesnica sa traheobronhomegalijom ili Mounier-Kuhnovim sindromom, koji predstavlja redak klinički i radiološki entitet. Mounier Kuhn ⁷ opisao ga je 1932. godine da bi se u drugoj polovini XX veka u medicinskoj literaturi pojavili prikazi slučajeva ovog sindroma iz Španije, Nemačke, Francuske, Rumunije i Čehoslovačke ⁸⁻¹². Prvi bolesnici iz naše zemlje koji su ispunjavali kriterijume za ovaj sindrom objavljeni su 1994. godine ¹³. Masovna dostupnost i primena novih unapređenih tehnika radiološke dijagnostike, kao što je kompjuterizovana tomografija, doprinele su sve češćem otkrivanju ovih bolesnika u poslednje vreme ^{1,2,14,15}.

Endoskopski nalaz kod prikazane bolesnice nije ukazivao na divertikulume između kartilagoznih prstenova traheje, niti je uočena kolapsibilnost velikih disajnih cevi. Nađeni su znaci hronične inflamacije bronhijalnog stabla.

nosti u grudima, bolesnica se obratila kardiologu. U odsustvu znakova srčanog oboljenja, zatraženo je pulmološko ispitivanje, koje je dovelo do dijagnoze. Bolesnica nikada nije imala intenzivnije gušenje niti epizode bolesti koje bi potsećale na napad bronhijalne astme ili bronhoopstruciju drugog uzroka ^{4,5}. Njena bolest se pojavila kao sporadična, a nisu utvrđene druge bolesti niti poremećaji koji bi bili uzrok sekundarne traheobronhomegalije. Stoga, ovaj slučaj može da predstavlja kongenitalno stanje. Iako se najveći broj slučajeva Mounier-Kuhnovog sindroma ispoljava u trećoj deceniji života, otkrivanje u petoj deceniji, kao kod prikazane bolesnice, nije izuzetak. Falconer i sar. ³ prikazali su ovaj sindrom kod još starijeg bolesnika.

Zaključak

Mounier-Kuhnov sindrom, bilo urođeni ili stečeni, može da bude uzrok ponavljanih infekcija traheobronhijalnog stabla i brojnih, raznolikih tegoba među kojima su nelagodnost iza grudne kosti i dispneja, odakle potiče njegov značaj u diferencijalnoj dijagnozi brojnih bolesti i stanja grudnog koša.

L I T E R A T U R A

- Ghanei M, Peyman M, Aslani J, Zamel N. Mounier-Kuhn syndrome: a rare cause of severe bronchial dilatation with normal pulmonary function test: a case report. *Respir Med* 2007; 101(8): 1836-9.
- Marom EM, Goodman PC, McAdams HP. Diffuse abnormalities of the trachea and main bronchi. *Am J Roentgenol* 2001; 176(3): 713-7.
- Falconer M, Collins DR, Feeney J, Torreggiani WC. Mounier-Kuhn syndrome in an older patient. *Age Ageing* 2008; 37(1): 115-6.
- Noori F, Abduljawad S, Suffin DM, Riar S, Pi J, Bennett-Venner A, et al. Mounier-Kuhn Syndrome: A Case Report. *Lung* 2010; 188(4): 353-4.
- Scheinfeld MH, Maniatis T, Gurell D. COPD? *Am J Med* 2006; 119(10): 839-42.
- Dahnert W. *Radiology Review Manual*. 2nd ed. New York, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 1993.
- Mounier-Kuhn P. Dilatation de la trachee: Constataions radio-graphiques et bronchoscopiques. *Lyon Medical* 1932; 150: 106-9.
- Doyle JA, Rellan LM, Brea MM. Congenital megatrachea and bronchiectasis (Mounier-Kuhn syndrome). *Rev Asoc Med Argent* 1954; 68(787-88): 579-80. (Spanish)
- Fischer E, Schaub R. Megatrachea. *Fortschr Geb Rontgenstr Nuklearmed* 1966; 104(5): 682-6. (German)
- Galy P, Mounier-Kuhn P, Brune J, Haguenaer JP. Congenital megatrachea with dyskinesia. *Ann Otolaryngol Chir Cervicofac* 1969; 86(9): 555-62. (French)
- Cucu P, Gheorghiu V. Megatrachea. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 1985; 89(1): 145-6. (Romanian)
- Věšin S. Congenital idiopathic megatrachea. *Cesk Radiol* 1987; 41(6): 378-82. (Czech)
- Aćimović S, Popović D, Mrđa V, Ninković M. Tracheobronchomegaly- Mounier-Kuhn syndrome. *Pneumon* 1994; 32(3-4): 173-82. (Serbian)
- Abdallah EG, Ashton RW. Mounier-Kuhn syndrome: overcoming a lack of recognition. *South Med J* 2008; 101(1): 14-5.
- Kachhava S, Meena ML, Jindal G, Jain B. Case report: Mounier-Kuhn syndrome. *Indian J Radiol Imaging* 2008; 18(4): 316-8.

Primljen 23. IV 2010.
Revidiran 7. VII 2010.
Prihvaćen 29. VII 2010.



Pulmonary involvement in siblings with Gaucher disease type III

Plućne manifestacije kod srodnika sa Gošeovom bolesti tip III

Maja Djordjević*, Predrag Minić†, Adrijan Sarajlija*, Slaviša M. Djuričić‡, Dragomir Djokić§, Obren Marković¶

Mother and Child Health Care Institute of Serbia „dr Vukan Čupić“, *Department of Metabolism and Clinical Genetics, †Department of Pulmonology, ‡Department of Clinical Pathology, §Department of Oncology, ¶Department of Radiology, Belgrade, Serbia

Abstract

Introduction. Pulmonary involvement has been described in all types of Gaucher disease (GD) but it is considered as relatively rare manifestation. There are reports suggesting that homozygosity for L444P mutation in GBA gene is associated with a substantial risk for developing primary pulmonary disease in GD. **Case report.** We reported sisters with pulmonary involvement in GD type III. Respiratory failure with fatal outcome at 3 years and 4 months of age occurred in K.K. due to pulmonary complications of GD. At the time enzyme replacement therapy (ERT) was not available in Serbia. J.K., homozygous for L444P mutation,

developed asymptomatic pulmonary involvement at the age of 6 after 2.5 years of ERT. Pulmonary disease in J.K. was verified by high resolution computerized tomography, cytology of bronchoalveolar lavage fluid and histopathology of transbronchial lung biopsy. **Conclusion.** Primary lung disease in children homoallelic for L444P mutation in GBA gene emerges as a significant clinical manifestation of GD with unclear response to ERT.

Key words:

gaucher disease; genetic diseases, inborn; mutation; lung diseases; treatment outcome.

Apstrakt

Uvod. Plućne manifestacije opisane su kod sva tri tipa Gošeove bolesti, ali se smatraju relativno retkom komplikacijom ove nasledne bolesti. Pojedine studije ukazuju da homozigotnost za mutaciju L444P u genu GBA predstavlja faktor rizika od razvijanja primarnog plućnog zahvatanja u sklopu Gošeove bolesti. **Prikaz slučaja.** Prikazali smo sestre sa plućnim komplikacijama Gošeove bolesti. Respiratorna insuficijencija i smrtni ishod u uzrastu od tri godine i četiri meseca kod devojčice K.K. objašnjeni su plućnim komplikacijama Gošeove bolesti. U to vreme enzimska supstitucionna terapija nije bila dostupna u Srbiji. Njena sestra J.K., L444P homozigot, razvila je asimptomat-

ske plućne manifestacije u uzrastu od šest godina, nakon dve i po godine enzimske supstitucionne terapije. Plućna bolest potvrđena je visokorezolutivnom kompjuterizovanom tomografijom (KT) pluća, citološkim pregledom bronhoalveolarnog lavata i histopatološkim pregledom uzorka dobijenog transbronhijalnom biopsijom pluća. **Zaključak.** Primarna plućna bolest kod dece homozigotne za L444P mutaciju u genu GBA ističe se kao značajna klinička manifestacija Gošeove bolesti sa nedovoljno jasnim odgovorom na enzimsku terapiju.

Ključne reči:

gošeova bolest; nasledne bolesti; mutacija; pluća, bolesti; lečenje, ishod.

Introduction

Gaucher disease (GD) is an autosomal recessive lysosomal storage disorder caused by deficient activity of beta-glucocerebrosidase¹. Mutations in the glucocerebrosidase gene (GBA) lead to a decreased enzymatic activity and accumulation of glucocerebroside within cells of mononuclear phagocyte origin which present as typical Gaucher cells in affected tissues. Pulmonary involvement has been described

in all three types of disease, but considered as relatively rare manifestation of GD². Clinically significant lung disease in most cases correlates with overall severity of the disease and is mainly seen in children with neuronopathic forms of GD (types II and III)³. However, pulmonary function testing revealed abnormalities in up to 68% of GD type I patients regardless of having clinical signs of pulmonary involvement⁴. There are reports suggesting that homozygosity for the mutation L444P (encoding the substitution of proline for leucine

at position 444 of the enzyme) is associated with a substantial risk of developing primary pulmonary disease in GD⁵. Beneficial effects of enzyme replacement therapy (ERT) on pulmonary involvement in GD seem to be absent or moderate in the majority of cases^{3,6,7}.

Case report

We reported two sisters diagnosed with GD type III who were born to non-consanguineous parents from the western Serbia. K.K. was the first-born child in this family and presented to our Institution at the age of 12 months with enlargement of the liver and spleen. The diagnosis of GD was established after a bone marrow examination revealed the presence of Gaucher cells. At the time ERT was not available in Serbia. Regarding the presence of oculomotor apraxia, type III of GD was suspected. During the following two years the girl developed massive hepatosplenomegaly and repeatedly suffered of lower respiratory tract infections with radiographic findings of chronic interstitial lung disease. At 3 years and 4 months of age the child was admitted at our Institute for progressive dyspnoea. Chest radiography examination revealed bilateral reticulonodular pattern of infiltration in lungs. She succumbed to respiratory failure several days later. *Post-mortem* examination was disallowed by family due to religious reasons. Retrospectively, severity score index (SSI) for GD was estimated to 21.

The other sister J.K. was born two years after the fatal outcome in K.K. Previously, the parents declined referral to genetic counseling. She was diagnosed with GD at two years of age on the basis of bone marrow infiltration with Gaucher cells and low leukocyte β -glucosidase activity. Genetic testing (mutation analysis in Biochemical laboratory of University of Amsterdam) revealed that J.K. was homozygous for L444P mutation. Initial manifestations of disease included massive hepatomegaly and splenomegaly, hematologic abnormalities (thrombocytopenia, anemia), growth retardation and oculomotor apraxia as only neurological sign. That patient was assigned with moderate SSI of 16 at the onset of disease. There were no clinical nor radiological signs of intrinsic pulmonary disease within GD at the time. Enzyme replacement therapy was started with imiglucerase at the age of four years with dose of 120 IU/kg/month. After two years of ERT dose was increased to 240 IU/kg/month due to discrete neurological progression. Other aspects of disease, however, showed a significant improvement: decreased visceromegaly and compensatory growth spurt. At six years of age routine pulmonary function testing revealed moderately reduced forced expiratory volume in the first second, but without any clinical signs of lung disease. Chest radiography revealed fine reticulonodular pattern of involvement in lung interstitium. Six months later high resolution computerized tomography (HRCT) of the lungs showed marked bilateral interstitial markings with ground-glass appearance (Figure 1). Fiberoptic bronchoscopy with bronchoalveolar lavage (BAL) and transbronchial biopsy of lung parenchyma were performed. Numerous Gaucher cells were identified in BAL fluid (Figure 2). Histopathology of transbronchial biopsy re-

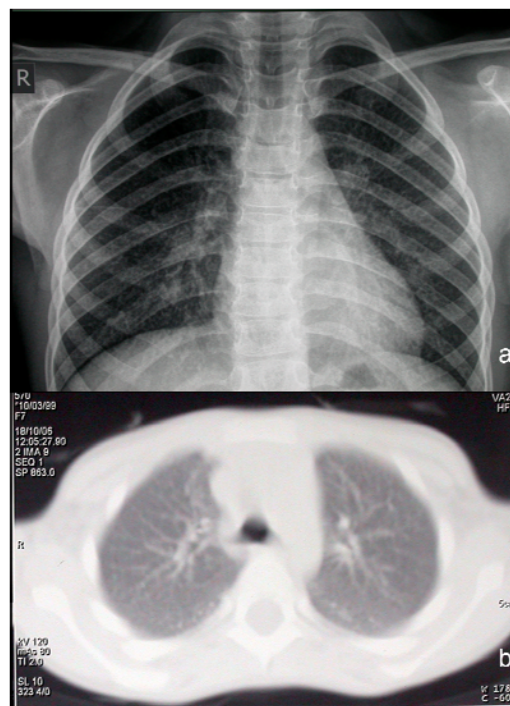


Fig. 1 – a) Chest radiography revealing fine reticulonodular pattern of lung interstitium involvement; b) High resolution computerized tomography of the lungs showing marked bilateral interstitial markings with ground-glass appearance

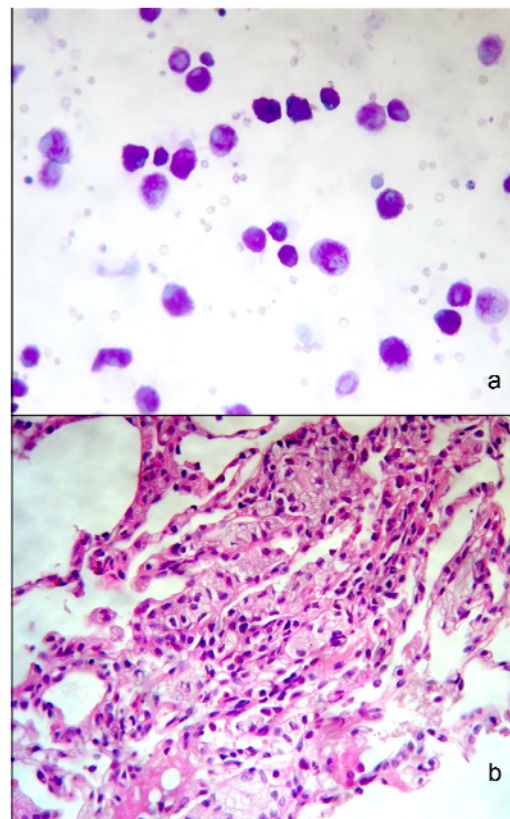


Fig. 2 – a) Numerous Gaucher cells identified in fluid recovered by bronchoalveolar lavage (HE, ×400); b) Histopathology shows infiltration of lung interstitium and alveolar spaces by Gaucher cells (PAS, ×200).

vealed infiltration of lung interstitium and alveolar spaces by Gaucher cells. Eighteen months later there were no significant changes in pulmonary function testing, while a control HRCT three years after baseline evaluation, showed no progression in pulmonary changes. Regular echocardiographic exams showed no signs of pulmonary hypertension. The patient remained without respiratory symptoms during a follow-up period.

Discussion

In the case of two siblings with GD intrinsic lung involvement several issues previously debated in the literature came to light. Genotype and phenotype correlation in GD, with rare exceptions, seems to be rather vague⁸⁻¹⁰. However, several articles pointed out that pulmonary involvement appeared significantly more frequent in patients homoallelic for L444P mutation than in those with other common genotypes^{3,5}. The vast majority (90%) of reported pediatric cases with homozygosity for L444P mutation and lung involvement were diagnosed with GD type III^{3,5}. Our patient J.K. was a homozygote for L444P, and her sister was not genetically tested. A study on variability in phenotype among siblings with GD revealed that in only 4% of families affected members had different genotypes¹¹. The same study showed substantial discordance between sibs regarding severity of disease, but there was no available data about pulmonary involvement in these patients.

Another aspect of comparison between these two sisters includes possible effects of enzyme replacement therapy. First child died at the age of 3 years and 4 months with frank interstitial lung disease and progressive respiratory failure, while her sister started receiving ERT at 4 years and 2 months of age with no clinical or radiological signs of pul-

monary involvement at the time. Visceromegaly significantly subsided before lung involvement was proven in J.K., while in K.K. the enlargement of abdominal organs most probably contributed substantially to respiratory failure. The presence of chest radiography, HRCT and pulmonary function test abnormalities in J.K. was noted after two and a half years of ERT and several months after the dosage of imiglucerase was increased to 240 IU/kg/month. In J.K. no echocardiographic signs of increased tricuspid incompetence gradient nor signs of pulmonary hypertension on chest X-ray were found. There have been reports that ERT induced pulmonary hypertension in a number of patients^{12,13}. However, a recent study on a large group of children with non-neuronopathic GD did not show substantial incidence of pulmonary hypertension during ERT¹⁴. Other reports imply that some improvement of pulmonary function and HRCT findings could be expected in children on high dosage ERT^{3,7,15}.

The presence of Gaucher cells in J.K.'s BAL fluid and transbronchial biopsy histopathology confirmed diagnosis of pulmonary involvement in GD. Several previous studies pointed out the significance of BAL fluid cytology in diagnosing lung complications of GD and other inborn errors of metabolism^{16,17}.

Conclusion

Primary lung disease in children homoallelic for L444P mutation in GBA gene has emerged as a significant clinical manifestation of GD with unclear response to enzyme replacement therapy. Correlation of genotype and phenotype regarding lung disease could be less variable in comparison with other features of GD. Siblings with GD type III reported herein had differences in progression of lung disease that could be related to ERT.

R E F E R E N C E S

1. *Beutler E, Grabowski GA.* Gaucher disease. In: *Scriver, CR, Beaudet, AL, Sly, WS, Valle, D,* editors. *Metabolic and molecular bases of inherited disease.* New York: McGraw-Hill; 2001. p. 3635–68.
2. *Lee RE, Yousem SA.* The frequency and type of lung involvement in patients with Gaucher disease. *Lab Invest* 1988; 58(1): 54A.
3. *Goitein O, Elstein D, Abrahamov A, Hadas-Halpern I, Melzer E, Kerem E,* et al. Lung involvement and enzyme replacement therapy in Gaucher's disease. *Q J Med* 2001; 94(8): 407–15.
4. *Kerem E, Elstein D, Abrahamov A, Bar Ziv Y, Hadas-Halpern I, Melzer E,* et al. Pulmonary function abnormalities in type I Gaucher disease. *Eur Respir J* 1996; 9(2): 340–5.
5. *Santamaria F, Parenti G, Guidi G, Filocamo M, Strisciunglio P, Grillo G,* et al. Pulmonary manifestations of Gaucher disease: an increased risk for L444P homozygotes. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157(3 Pt 1): 985–9.
6. *Versteegh C, Ammi F, Cuvelier P, Ferster A.* Persistence of pulmonary lesions in a 6-year-old boy with type I Gaucher's disease treated by alglucerase since the age of 20 months. *Arch Pediatr* 1998; 5(12): 1341–3. (French)
7. *Banjar H.* Pulmonary involvement of Gaucher's disease in children: a common presentation in Saudi Arabia. *Ann Trop Paediatr* 1998; 18(1): 55–9.
8. *Mistry PK, Sirrs S, Chan A, Pritzker MR, Duffy TP, Grace ME,* et al. Pulmonary hypertension in type 1 Gaucher's disease: genetic and epigenetic determinants of phenotype and response to therapy. *Mol Genet Metab* 2002; 77(1–2): 91–8.
9. *Grabowski GA.* Gaucher disease: gene frequencies and genotype/phenotype correlations. *Genet Test* 1997; 1(1): 5–12.
10. *Whitfield PD, Nelson P, Sharp PC, Bindloss CA, Dean C, Ravenscroft EM,* et al. Correlation among genotype, phenotype, and biochemical markers in Gaucher disease: implications for the prediction of disease severity. *Mol Genet Metab* 2002; 75(1): 46–55.
11. *Amato D, Stachiw T, Clarke JT, Rivard GE.* Gaucher disease: variability in phenotype among siblings. *J Inher Metab Dis* 2004; 27(5): 659–69.
12. *Harats D, Pauzner R, Elstein D, Many A, Klutstein MW, Kramer MR,* et al. Pulmonary hypertension in two patients with type I Gaucher disease while on alglucerase therapy. *Acta Haematol* 1997; 98(1): 47–50.
13. *Elstein D, Klutstein MW, Labad A, Abrahamov A, Hadas-Halpern I, Zimran A.* Echocardiographic assessment of pulmonary hypertension in Gaucher's disease. *Lancet* 1998; 351(9115): 1544–6.
14. *Rosengarten D, Abrahamov A, Nir A, Farber B, Glaser J, Zimran A,* et al. Outcome of ten years' echocardiographic follow-up in

- children with Gaucher disease. *Eur J Pediatr* 2007; 166(6): 549–51.
15. *Lee SY, Mak AW, Huen KF, Lam ST, Chow CB.* Gaucher disease with pulmonary involvement in a 6-year-old girl: report of resolution of radiographic abnormalities on increasing dose of imiglucerase. *J Pediatr* 2001; 139(6): 862–4.
16. *Carson KF, Williams CA, Rosenthal DL, Bhuta S, Kleernp E, Diaz RP, et al.* Bronchoalveolar lavage in a girl with Gaucher's disease. A case report. *Acta Cytol* 1994; 38(4): 597–600.
17. *Poletti V, Chilosi M, Olivieri D.* Diagnostic invasive procedures in diffuse infiltrative lung diseases. *Respiration* 2004; 71(2): 107–19.

Received on April 26, 2010.

Revised on November 4, 2010.

Accepted on November 6, 2010.



Iskrvarenje zbog krvarenja u meka tkiva kao uzrok smrti kod pretučenog, zlostavljanog djeteta

Bleeding to death because of hemorrhage into soft tissues as a cause of death in a beaten battered child

Dragana Čukić

Klinički centar Crne Gore, Medicinski fakultet, Odjeljenje za sudsku medicinu,
Podgorica, Crna Gora

Apstrakt

Uvod. Iskrvarenje je jedan od vodećih uzroka smrti kod nasilne smrti uopšte. Traumatsko iskrvarenje se najčešće dešava usljed krvarenja iz povrijeđenih organa ili krvnih sudova grudnog koša, trbuha i vrata ili usljed destrukcija ekstremiteta ili cijelog tijela. Iskrvarenost je daleko najčešće posljedica izlivanja krvi, rijetko istovremenog izlivanja i podlivanja krvi, a rijetko nastaje isključivo zbog podlivanja krvi i to kod opsežnih potkožnih, retroperitonealnih ili intramedijastinalnih krvnih podliva. Iskrvarenje nastalo isključivo usljed krvarenja u meka tkiva rijetko se sreće u sudskomedicinskoj praksi. Od oko 3 000 obdukcija urađenih u Odjeljenju za sudsku medicinu u Podgorici u 10-godišnjem periodu prikazani slučaj bio je jedinstven. **Prikaz bolesnika.** U radu je prikazan 5-godišnji dječak pretučen od strane majke i očuha kod koga je smrt nastupila iskrvarenjem zbog opsežnih krvarenja u meka tkiva. **Zaključak.** U cilju utvrđivanja uzroka smrti u slučajevima iskrvarenja u meka tkiva, trebalo bi primjenjivati niz postmortalnih dijagnostičkih procedura koje su navedene u ovom radu.

Ključne riječi:

krvarenje; meka tkiva, povrede; smrt; sindrom zlostavljanog deteta.

Abstract

Introduction. Bleeding to death is one of the leading causes of death speaking about violent death in general. Bleeding to death mostly happens through hurt organs or blood vessels of thorax, abdomen and neck or because of destruction of extremities or the whole body. Bleeding to death is very often the consequence of blood pouring, rarely of simultaneous pouring and suffusing of blood, and it is extremely rarely the result of blood suffusing solely and especially due to subcutaneous, retroperitoneal and intramediastinal blood suffusing. Fatal bleeding into soft tissues solely is very rare. During a 10-year-period among 3 000 performed autopsies in the Department of Forensic Medicine in Podgorica, the presented case was the unique one. **Case report.** The paper presents a 5-year-old boy who was beaten to death by his mother and step-father and died because of massive bleeding into soft tissues. **Conclusion.** In order to establish a cause of death in cases of exsanguination in soft tissues, a series of post-mortem diagnostic procedures should be performed, like those presented in this paper.

Key words:

hemorrhage; soft tissue injuries; death; battered child abuse.

Uvod

Traumatsko iskrvarenje najčešće se dešava usljed krvarenja iz povrijeđenih organa ili krvnih sudova grudnog koša, trbuha i vrata ili usljed destrukcije ekstremiteta ili cijelog tijela. Iskrvarenost je daleko najčešće posljedica izlivanja krvi, rijetko istovremenog izlivanja i podlivanja krvi, a izuzetno rijetko nastaje isključivo zbog podlivanja krvi i to kod opsežnih potkožnih, retroperitonealnih ili intramedijastinalnih krvnih podliva¹. Sindrom zlostavljanog djeteta (*battered child syndrome*), odnosno sindrom zlostavljanja i zanemarivanja djeteta (*syndrome of*

child abuse and neglect – SCAN) po definiciji predstavlja ponovljeno namjerno povređivanje djeteta od strane roditelja^{2,3}. Osnovna karakteristika ovog sindroma je postojanje većeg broja povreda različite starosti. Priče roditelja ili drugih osoba koje povređuju dijete slične su jedna drugoj: najčešće se navodi da je dijete palo, da je sklono povređivanju, da odbija hranu i sl, dok raspored, starost i druge karakteristike povreda očigledno nisu u skladu sa navedenim heteroanamnestičkim podacima³. Najčešći uzroci smrti kod zlostavljanog djeteta su kraniocerebralne povrede i povrede trbušnih organa, dok je iskrvarenje u meka tkiva relativno rijedak uzrok smrti²⁻⁵.

Cilj rada bio je da se ukaže na značaj dopunskih „nekonvencionalnih“ obdukcionijskih postupaka i drugih dijagnostičkih procedura za utvrđivanje svih povreda i uzroka smrti u slučajevima iskrvarenja u meka tkiva kod pretučenih osoba.

Prikaz bolesnika

U radu je prikazan 5-godišnji dječak, romske nacionalnosti, koji je, prema izjavi majke i očuha, nakon navodnog saplitanja i pada iz kombija sa visine od oko 30 cm na meku itionsku podlogu, odbijao hranu i povraćao, da bi nakon odlaska u službu hitne medicinske pomoći ljekar konstatovao smrt. Medicinska dokumentacija ljekara hitne medicinske pomoći nije dostavljena obducentu, a prema dostupnim podacima ljekar je pregled vršio sa veće distance i nije naveo uzrok smrti, već je predložio sudskomedicinsku obdukciju. Od inspektora policije dobijen je podatak da su roditelji prilikom prijavljivanja smrti djeteta bili pijani, što je i potvrđeno hemijskom analizom. Heteroanamnestički podaci o kliničkoj slici koja je prethodila nastupanju smrti bili su sasvim nesigurni i konfuzni. Dobijen je podatak da je dijete ranije bilo zdravo.

Obdukcioni nalaz: leš muškog djeteta, dužine 104 cm, životnog doba 5 godina, koje je bilo slabo uhranjeno (slika 1). Dijete je odavalo utisak krajnje nenjegovanosti (prljava odjeća, slabo odjeveno, naslage prljavštine u kožnim prevojima, prljavi nokti). Mrtvačke mrlje bile su slabo izražene (slika 2), a vežnjače malokrvne. Spoljašnjim pregledom ustanovljene su sljedeće povrede: više razderina u predjelu glave, različite starosti; mnogobrojne oguljotine različite starosti u predjelu lica, grudnog koša, zadnjice i na ekstremitetima; mnogobrojni krvni podlivi različite starosti u predjelu očnih kapaka, grudnog koša, zadnjice i ekstremiteta; otok lijevog lakta, šaka i stopala (slike 1, 2, 3) krvni podlivi na tabanima u predjelu peta (slika 4). Posebno su zapaženi prugasti krvni podlivi u lijevom zadnjičnom predjelu (slika 5). Unutrašnjim pregledom ustanovljeno je sljedeće: krvni podlivi poglavine,



Sl. 3 – Mnogobrojne oguljotine različite starosti u predjelu glave



Sl. 4 – Krvni podlivi na petama

jakostepeni otok mozga, malokrvnost svih organa, naboranost čaure slezine, sasvim prazan želudac i tanka crijeva, sa nešto rijetkog zelenkastog sadržaja u debelom crijevu. Na kostima nijesu ustanovljeni prelomi, a zasijecanjem i prepa-



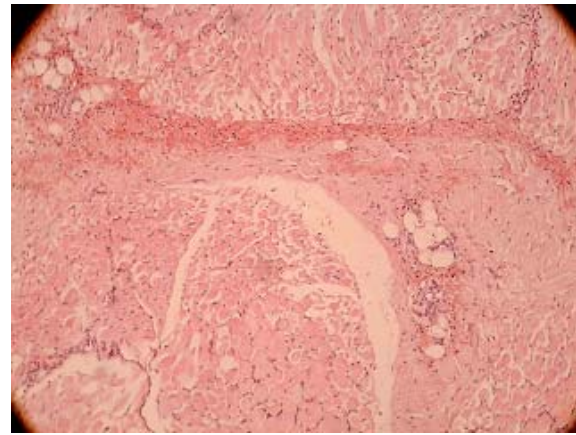
Sl. 1 – Spoljašnji izgled tijela



Sl. 2 – Zadnja strana tijela



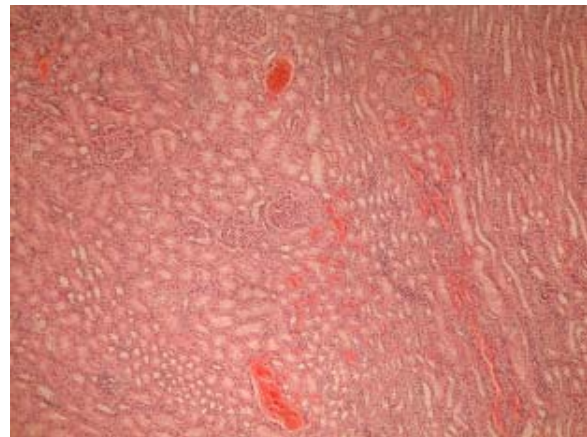
Sl. 5 – Prugasti krvni podlivi u lijevom zadnjem predjelu



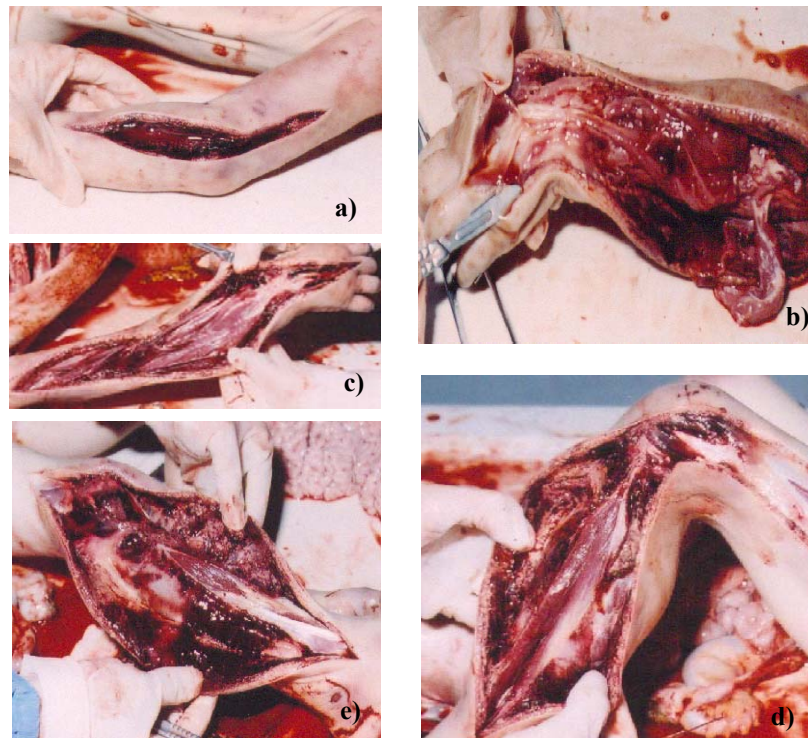
Sl. 7 – Krvarenje u meka tkiva (mikroskopski nalaz – HE bojenje, × 20)

risanjem kože i mekih tkiva trupa i ekstremiteta ustanovljeni su opsežni krvni podlivi potkožnog mekog tkiva (slika 6). Krv koja je prožimala meko tkivo bila je mrke boje, djelimično pihtijastog izgleda. Od dopunskih analiza rađeno je sljedeće: analiza krvi na alkohol (nalaz je bio negativan), specijalna obdukciona tehnika vrata, mikroskopski pregled tkiva i organa, kojim su potvrđena krvarenja u meka tkiva (slika 7), kao i prisustvo eritrocita i mioglobina u bubrežnim kanalicićima (slika 8). Sačuvana je krv radi eventualnih biohemijskih, bioloških i toksikoloških analiza.

Zaključeno je da je smrt nasilna i da je nastupila usljed iskrvarenja zbog krvarenja u meka tkiva, uzrokovanog mnogobrojnim povredama na tijelu, kao i da su sve opisane spoljašnje i unutrašnje povrede nastale višekratnim djelovanjem tupine zamahnutog mehaničkog oruđa.



Sl. 8 – Eritrociti i mioglobin u renalnim tubulima (mikroskopski nalaz – HE bojenje, × 20)



Sl. 6 – Krvni podlivi u mekim tkivima: a) lijeve ruke; b) lijeve podlaktice; c) desne ruke; d) spoljašnje strane lijeve potkoljenice; e) spoljašnje strane desne potkoljenice

Diskusija

Djeca ne mogu preživjeti gubitak ni jedne trećine krvi¹. Količina izgubljene krvi u mekim tkivima ne može se pouzdano izmjeriti jer se krv ne nalazi slobodna već difuzno prožima tkiva. U prikazanom slučaju obdukcioni nalaz koji ukazuje na iskrvarenje kao uzrok smrti bio je kompletan: slabo izražene pojedinačne mrtvačke mrlje, bljedilo kože, malokrvnost svih sluznica i organa, tačkasta krvarenja ispod usrčnice lijeve komore, naboranost čaure slezine kao depoa krvi, histološka potvrda krvarenja u meka tkiva i prisustvo eritrocita i mioglobina u bubrežnim tubulima. Obdukcijom su isključeni drugi traumatski uzroci smrti – nije bilo preloma lobanje niti povreda sadržaja lobanjske duplje, kao ni organa i krvnih sudova grudnog koša i trbuha. Kako je obdukcijom isključeno postojanje krvnih izliva u tjelesne duplje, kao i mogućnost iskrvarenja iz ustanovljenih rana, zaključeno je da je do iskrvarenja došlo zbog masivnih krvarenja u meka tkiva. Ovakva dijagnoza postavljena je vršenjem rezova i preparisanjem mekog tkiva trupa i ekstremiteta, čime je ustanovljen objektivni supstrat u vidu velike količine krvi koja je prožimala meka tkiva, sve do kostiju.

Zasijecanje i preparisanje mekih tkiva trupa i ekstremiteta najčešće se vrši kod smrtno povrijeđenih u saobraćajnim nezgodama, obavezno kod pješaka⁶, ali prikazani slučaj i mnogi drugi slučajevi upućuju na zaključak da bi ovaj dijagnostički postupak trebalo da bude obavezan u toku vršenja obdukcije kod sumnje na sindrom zlostavljanog djeteta, što predlažu i američki autori⁵.

U literaturi se navodi nekoliko radova koji se bave uzrocima smrti kod pretučenih osoba^{7,8}. Kao jedan od mogućih uzroka smrti u ovim slučajevima navodi se iskrvarenje u

meka tkiva⁷, koje se može javiti kao jedan od konkurentnih uzroka smrti, najčešće udružen sa drugim povredama koje uzrokuju krvarenje i kraniocerebralnim povredama. U manjem broju slučajeva iskrvarenje u meka tkiva dijagnostikuje se kao pojedinačni uzrok nasilne smrti kod pretučene osobe. Analizom 53 slučaja osoba pretučenih do smrti Hiss i sar.⁷ ustanovili su da je šest (11,3%) umrlo zbog aspiracije krvi ili intrakranijalnog krvarenja, 15 (28,3%) od hipovolemijskog šoka zbog iskrvarenja u meka tkiva, a 32 (60,4%) zbog sistemske masne embolije koja je u većini slučajeva bila posljedica opsežnih nagnječenja potkožnog masnog tkiva (samo kod četiri žrtve postojali su prelomi dugih cjevastih kostiju).

Kod prikazanog bolesnika radilo se o sindromu zlostavljanja i zanemarivanja djeteta, sa svim karakterističnim pokazateljima²⁻⁵. Naime, postojale su tjelesne povrede različite starosti i ubjedljivi znaci zanemarivanja djeteta (zapušten izgled djeteta, slaba uhranjenost, prazan gastrointestinalni trakt).

Zaključak

Iskrvarenje uzrokovano opsežnim krvarenjima u potkožno meko tkivo relativno je rijedak pojedinačni uzrok smrti. Uglavnom se dijagnostikuje kod osoba pretučenih do smrti, što se može dogoditi i u sklopu sindroma zlostavljanja i zanemarivanja djeteta. U takvim slučajevima, u cilju pouzdanog utvrđivanja uzroka smrti, neophodno je primjeniti niz „nekonvencionalnih“ obdukcionih postupaka i drugih dijagnostičkih procedura, među kojima je obavezno vršenje rezova i preparisanje mekog tkiva trupa i ekstremiteta, a po mogućstvu i mikroskopski pregled u cilju dijagnostikovanja masne embolije.

L I T E R A T U R A

1. *Milovanovic M.* Forensic medicine. Beograd, Zagreb: Medicinska knjiga; 2005: 26: 45–52. (Serbian)
2. *Alempijević D.* Child abuse. In *Popović V, Atanasijević T.* editors. Forensic medicine. Beograd: Medicinski fakultet; 2010. (Serbian)
3. *Tasić M.* Forensic aspects of family violence. In: Tasić M, editor. forensic medicine. Novi Sad: Zmaj d.o.o; 2007. p. 488 (Serbian)
4. *Kempe , Silverman FN, Steele B, Droegemueller W, Silver H.* The battered child syndrome. JAMA 1962; 181(1): 17–24.
5. *Di Maio VJ, Di Maio D.* Forensic pathology. London, New York, Washington: Boca Raton, FL, CRC Press; 2001.
6. *Dunjić D.* Special autopsies in determining of death, inspection of dead people, forensic medical autopsy. Beograd: Zebra; 1995. p. 136. (Serbian)
7. *Hiss J, Kabana T, Kugel CH.* Beaten to death: why do they die? J Trauma 1996; 40(1):27–30.
8. *Murphy GK.* "Beaten to death". An autopsy series of homicidal blunt force injuries. Am J Forensic Med Pathol 1991; 12(2): 98–101.

Primljen 29. IX 2010.
Prihvaćen 9. XI 2010.



Transvenous embolization of dural carotid cavernous fistula through the facial and ophthalmic vein

Duralna fistula kavernoznog sinusa: embolizacija transvenskim pristupom kroz facijalnu i gornju oftalmičku venu

Branko Prstojević*, Mirko Mićović†, Ivan Vukašinić*, Mirjana Nagulić†

Clinical Center of Serbia, *Center for Radiology and Magnetic Resonance, †Institute for Neurosurgery, Belgrade, Serbia

Abstract

Introduction. Dural carotid cavernous fistula is acquired, relatively rare, condition comprising of numerous small-caliber meningeal arterial branches, draining directly into cavernous sinus. Endovascular therapy is the treatment of choice, preferably by a transvenous approach. In the case of inaccessible inferior petrosal sinus, other alternative routes are considered. We presented a case of dural carotid cavernous fistula completely occluded with Guglielmi detachable coils, using a transvenous approach through facial and superior ophthalmic vein. **Case report.** A 62-year-old man was referred with a gradual worsening proptosis, red eye, and decreased visual acuity, on the right side. Digital subtraction angiography revealed the presence of a right dural carotid cavernous fistula, predominantly supplied from dural branches of the right internal carotid artery siphon, with minimal contribution from the right middle meningeal artery and contralateral dural branches of the left internal carotid artery siphon. The fistula was drained through the dilated superior ophthalmic vein, and *via* the facial to the internal jugular vein. There was neither pacification of pterygoid and petrous sinuses, nor cortical venous reflux. Endovascular treatment was performed by a transvenous approach. A guiding catheter was placed in the right facial vein. A microcatheter was advanced through the dilated angular and superior ophthalmic vein, and its tip positioned into the right cavernous sinus. Coils were deployed, until a complete angiographic occlusion of the fistula had been achieved. The patient experienced rapid improvement in the symptoms, with complete normalization of his condition one month after the treatment. **Conclusion.** Coil embolization of dural carotid cavernous fistula by transvenous catheterization, through the facial and superior ophthalmic vein, can be considered as safe and effective treatment option in the presence of marked anterior drainage.

Key words:

carotid-cavernous sinus fistula; diagnosis; angiography, digital subtraction; therapeutics; neurosurgical procedures; embolization, therapeutic.

Apstrakt

Uvod. Duralne karotidnokavernozne fistule su stečene, relativno retke lezije krvnih sudova u orbitokavernoznoj regiji. Endovaskularno lečenje smatra se metodom izbora u lečenju duralnih fistula kavernoznog sinusa. U slučaju neprohodnog donjeg petroznog sinusa, razmatraju se drugi pristupi. Prikazan je slučaj uspešne okluzije duralne fistule kavernoznog sinusa, plasiranjem platinskih spirala putem facijalne i gornje oftalmične vene. **Prikaz bolesnika.** Prikazan je bolesnik muškog pola, star 62 godine sa postepenim razvojem proptoze bulbusa, crvenila i slabljenja vida na desno oko. Digitalnom suptrakcionom angiografijom potvrđeno je postojanje indirektno karotidnokavernozne fistule koja se dominantno irigirala iz duralnih grana sifona desne unutrašnje karotidne arterije, a manjim delom iz desne srednje meningealne arterije i kontralateralno iz duralnih grana sifona leve unutrašnje karotidne arterije. Fistula se drenirala preko dilatirane desne gornje oftalmične vene i, dalje, preko facijalne u unutrašnju jugularnu venu. Nije bilo ni opacifikacije pterigoidnog i petroznih sinusa, niti kortikalnog venskog refluksa. Embolizacija je izvedena transvenskim putem. Vodeći kateter bio je pozicioniran u desnoj facijalnoj arteriji. Mikrokateter je plasiran u kavernozi sinus, preko dilatirane angularne i gornje oftalmične vene. Kavernozi sinus bio je ispunjen platinskim spiralama, sve do potpune okluzije fistule. Stanje bolesnika se rapidno popravljalo, sve do potpunog povlačenja svih simptoma, mesec dana posle embolizacije. **Zaključak.** Embolizacija duralnih fistula kavernoznog sinusa platinskim spiralama, transvenskim pristupom preko facijalne i gornje oftalmične vene, može se smatrati sigurnom i efikasnom metodom kod izražene prednje drenaže fistule.

Ključne reči:

karotidno-kavernozna fistula; dijagnoza; angiografija, digitalna suptrakcija; lečenje; neurohirurške procedure; embolizacija, terapijska.

Introduction

Dural carotid cavernous fistula (dCCF) is acquired, rare lesion with no exact data on incidence and prevalence. A population-based data reported incidence for intracranial vascular malformations was 1.84 per 100,000 person-years during 1965–1992¹. Dural arteriovenous fistulas comprise 10%–15% of all intracranial arteriovenous malformations², while Awad et al.³ published meta-analysis in which the incidence of dCCF was 11.9% among all dural arteriovenous fistulas. dCCF is comprised of dural fistulous communications between branches of the external carotid artery (ECA) and/or the internal carotid artery (ICA), and the cavernous sinus (CS). They are more common in women during menopause⁴. The diagnosis of dCCF is often late, after unsuccessful symptomatic treatment of the patient's "red eye". Although etiology is still not fully understood, it is associated with previous trauma, pregnancy, sinusitis, surgical intervention and thrombosis of CS⁵. Unlike their counterparts – direct carotid cavernous fistulas (arteriovenous communication through wall defect on cavernous portion of ICA), dCCF have a slower developing symptomatology, due to low-flow arterial supply⁶. Endovascular treatment is a method of first choice, for the dCCF. It is performed in cases with progressive worsening of the eye symptomatology, cortical venous reflux (with or without hemorrhage), or intolerable symptoms for the patient. Transvenous embolization remains preferred approach^{7,8}. In the case of inaccessible inferior petrosal sinus, other alternative routes are considered. Among those, the superior ophthalmic vein (SOV) approach *via* the facial vein is often used as a second line treatment^{9,10}.

Case report

On admission, at the beginning of July 2010, a 62-year-old male patient presented with significant right eye redness and bulging, diplopia, blurred vision and a headache. Two months earlier, the patient noticed his right eye slightly protruded, and double vision making him discomfort. He experienced progressive worsening of symptoms, over following time. On ophthalmological examination there was a decreased visual acuity, ophthalmoplegia, significant proptosis with conjunctival congestion and chemosis on the right eye (Figure 1). Auscultation revealed no systolic sound. There were no other symptoms and known diseases.

Computerised tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) studies showed dilated right SOV and congestion of retrobulbar soft tissue. Digital subtraction angiography (DSA) demonstrated the presence of right dCCF, predominantly supplied from dural branches of the right ICA siphon, with minimal contribution from the right middle meningeal artery and dural branches of the contralateral carotid siphon (Figure 2). There was an exclusive dCCF drainage into the right SOV (Figure 3). A progressive ocular symptomatology indicated endovascular treatment. Because of the dominant ICA supply, the transarterial approach was not a viable option. Therefore, transvenous embolization through the facial vein and SOV, was a clear solution.



Fig. 1 – The typical ocular signs of dural carotid cavernous fistula on the right, including exophthalmos, chemosis, and conjunctival hyperemia ("red eye")

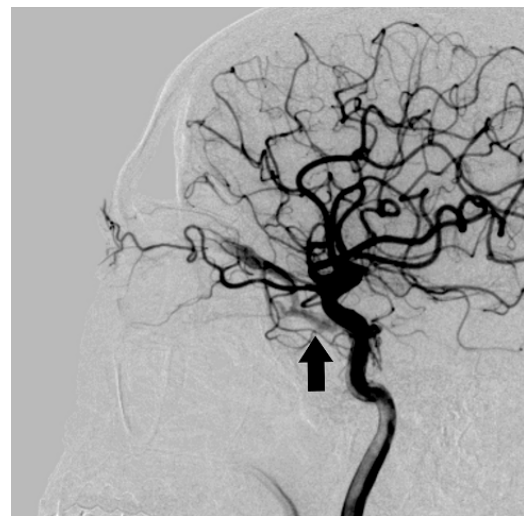


Fig. 2 – Internal carotid artery (ICA) injection, lateral view, typical angiographic appearance of dural carotid cavernous fistula dominantly supplied from dural branches of the right ICA siphon (wide arrow)



Fig. 3 – Exclusive venous drainage *via* the superior ophthalmic vein (arrowhead), and the facial vein (curved arrow)

Transvenous embolization was performed in general anesthesia, under systemic heparinization. After placement of 6F sheath in the right femoral artery, a 6F guiding catheter (Envoy, Cordis Neurovascular Inc., Miami Lakes, FL) was positioned in the right ICA. This catheter was left in place during the procedure, for intermittent angiographic evaluation of dCCF patency, and for generating a roadmap picture. After 6F sheath was placed in the right femoral vein, a 5F guiding catheter (Envoy, Cordis Neurovascular Inc., Miami Lakes, FL) was positioned in the right brachiocephalic vein. Through the catheter positioned in the ICA, a venous phase roadmap was obtained. With roadmap guidance, 5F catheter was navigated through the internal jugular vein into distal portion of the facial vein. Superselective CS catheterization was achieved with a coaxially navigated microcatheter (Echelon 0.010", eV3, Irvine, CA), through the dilated SOV. Position in CS was confirmed by microcatheter injection of contrast material. CS was then loosely packed with Guglielmi detachable coils (GDC), until a complete occlusion of dCCF (Figure 4). At the end of the procedure, DSA of both sides of ICA and ECA, showed stagnation of contrast material in the right ICA feeders, as a sure sign of a complete and durable fistula obliteration (Figure 5).

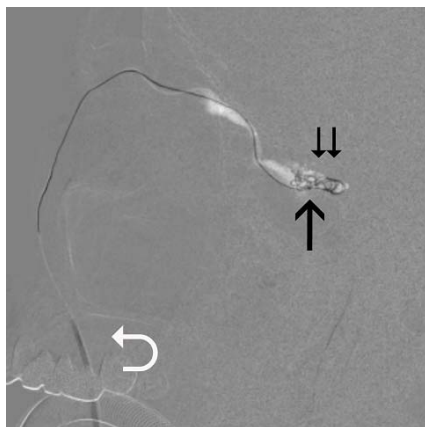


Fig. 4 – A roadmap image during embolization. The guiding catheter was placed in the facial artery (white curved arrow); tip of the microcatheter inside cavernous sinus (CS) (arrow); coils gradually filling the CS (small arrows)

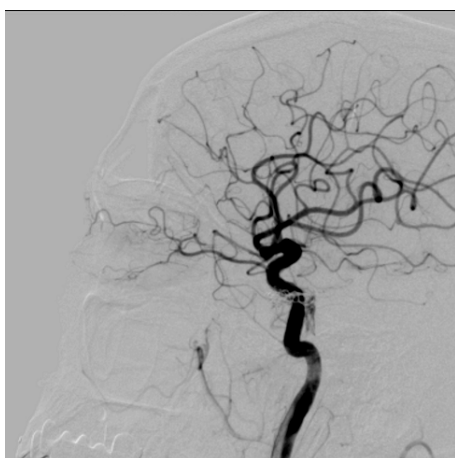


Fig. 5 – Obliteration of dural carotid cavernous fistula, with stagnation of contrast material in the right internal carotid artery feeders

The patient experienced rapid improvement in following days and weeks, until a complete resolution of the ocular symptoms, one month after the treatment (Figure 6). Control ophthalmological examination, seven months after embolization, revealed complete resolution of visual disturbances, with normal position and motility of the right eye.



Fig. 6 – The complete resolution of the ocular signs after successful treatment of the lesion

Discussion

Obliteration of dural communications and reduction of blood pressure in CS is the primary treatment goal for dCCF. Prior to the treatment, a complete catheter angiography workup is required, for accurate localization of all feeding arteries, and understanding of venous drainage hemodynamics. In the presented case, besides the dominant right ICA supply, there was also recruitment of feeders from the right ECA and contralateral ICA. Symptoms and clinical presentation are proportional to shunt size and pattern of venous drainage. Overwhelming of physiological venous outflow capacity (petrosal sinuses, pterygoid plexus), is compensated by retrograde drainage to ipsilateral ophthalmic artery, cortical veins, or contralateral CS, depending on individual venous anatomy. Retrograde venous drainage through the ophthalmic veins (mainly SOV) is accompanied conjunctival congestion (“red eye”), proptosis, glaucoma, and double vision⁷. Patients usually complain of headache and retrobulbar noise in the head (bruit, pulsatile tinnitus). Other common findings are cranial nerve palsies. In more severe cases retinal ischemia occurs, with decreasing of visual acuity. In our patient, ocular symptomatology was significantly reduced in the first 48 hours, and completely resolved one month after embolization. Reversibility is conditioned by gravity and duration of symptoms. In such cases, in spite of cured dCCF, recovery is prolonged for many months, often with irreversible ophthalmoplegia and permanently decreased visual acuity^{7,8}.

Spontaneous occlusion occurrence varies in the literature, and is on average 35% according to Tomsick⁴. dCCF with benign course should be first subjected to intermittent,

self-administered manual carotid-jugular compression, that alone may result in cure in 30% of patients¹¹. These are rarely life-threatening lesions. When symptoms are prolonged and cause significant impairment of patients quality of life, dCCF should be treated. Malignant course, with impending loss of vision, or cortical venous drainage (with or without intracranial hemorrhage), requires a prompt endovascular treatment^{8, 12, 13}. The two standard embolization approaches are in use: transarterial and transvenous. Transarterial embolization can be time-consuming, dangerous (ICA feeders, ECA-ICA anastomosis) and often impossible task. It seldom provides a complete dCCF occlusion. More often, after a partial occlusion and initial success, revascularization occurs in time^{14, 15}. For patients with dCCF transvenous embolization remains a preferred option. CS is most easily approached through the inferior petrosal sinus. When inferior petrosal sinus is inaccessible, other alternative routes are considered^{12, 16}. In the case of endovascularly inaccessible CS, combined surgical and endovascular approach is a viable solution. A microcatheter is introduced to CS, through surgically exposed and punctured SOV. Some authors¹⁷ also suggest direct percutaneous cannulation of CS, via the transorbital approach using fluoroscopic guidance. For most resilient cases, radiotherapy is recommended⁷.

Transfemoral SOV catheterization through facial vein, is an elegant and safe approach^{9, 10, 18}. Although it can sometimes be impaired with the difficult vascular anatomy and venous stenosis, small diameter and tortuous facial vein, angular vein or SOV, are seldom restricting catheterization. He et al.¹⁹ are applying this approach whenever transarterial embolization proves to be unsuccessful. Szikora⁷ recommends the approach over SOV, when infe-

rior petrous sinus is not a patent for catheterization. In the presented case, with exclusive dCCF drainage through SOV accompanied with its marked dilatation, therapeutic decision-making was straightforward. Catheterization of CS was achieved with minor difficulties, at the facial-jugular vein junction. Subsequent coil deployment went without difficulties, until a complete dCCF obliteration had been achieved. A variety of embolic materials are used alone or combined, for transvenous treatment. Because of their properties, coils surpassed detachable balloons, previously dominant embolic agent for intracavernous embolization. Coils better conform to the shape of CS, are less traumatic to sinus walls, and can be delivered with more accuracy. Liquid embolic agents (NBCA, Onyx), are also used in combination with coils or individually¹².

Potential complications of transvenous catheterization are iatrogenic perforation of venous vessels, nervus abducens lesion caused by coil mass effect, and combined with surgery – lesions of orbital structures and rarely infection⁷. Markedly septated CS can result in a partial embolization, and deterioration of symptoms, caused by shifting of venous drainage towards SOV and cortical veins. Nonetheless, all these complications are reported with low incidence^{15, 20}. The overall rate of transient and permanent complications is very low, 11.6% and 1.8%, respectively¹².

Conclusion

Transvenous embolization with GDC coils, through the facial and SOV, is a safe and effective treatment for dCCF. It can be considered a treatment of choice in case of predominant SOV drainage.

R E F E R E N C E S

1. Olivecrona H, Riives J. Arteriovenous aneurysms of the brain, their diagnosis and treatment. *Arch Neurol Psychiatry* 1948; 59(5): 567–602.
2. Newton TH, Cronquist S. Involvement of dural arteries in intracranial arteriovenous malformations. *Radiology* 1969; 93(5): 1071–8.
3. Awad LA, Little JR, Akarawi WP, Abl J. Intracranial dural arteriovenous malformations: factors predisposing to an aggressive neurological course. *J Neurosurg* 1990; 72(6): 839–50.
4. Tomsick TA. Type B,C,D (dural) CCF: etiology, prevalence, and natural history. In: Tomsick TA, editor. *Carotid cavernous fistula*. Philadelphia: Digital Educational Publishing; 1997. p. 59–73.
5. Halbach VV, Higashida RT, Hieshima GB, Hardin CW, Yang P. Transvenous embolization of direct carotid cavernous fistulas. *AJNR Am J Neuroradiol* 1988; 9(4): 741–7.
6. Barrow DL, Spector RH, Braun IF, Landman JA, Tindall SC, Tindall GT. Classification and treatment of spontaneous carotid-cavernous sinus fistulas. *J Neurosurg* 1985; 62(2): 248–56.
7. Szikora I. Dural arteriovenous malformations. In: Forsting M, Wanke I, editors. *Intracranial vascular malformations and aneurysms*. 2nd ed. Berlin, Heidelberg, New York: Springer; 2008. p. 121–66.
8. Prstojević B. Carotico-cavernous fistula. In: Ivanović S. *Cerebrovascular diseases*. Podgorica: Montenegrin Academy of Sciences and Arts. 2010; 75: p. 465–80. (Serbian)
9. Biondi A, Milea D, Cognard C, Ricciardi GK, Bonneville F, van Eijfemterre R. Cavernous sinus dural fistulae treated by transvenous approach through the facial vein: Report of seven cases and review of the literature. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003; 24(6): 1240–6.
10. Monsein LH, Debrun GM, Miller NR, Nauta HJ, Chazaly JR. Treatment of dural carotid-cavernous fistulas via the superior ophthalmic vein. *AJNR Am J Neuroradiol* 1991; 12(3): 435–9.
11. Higashida RT, Hieshima GB, Halbach VV, Bentson JR, Goto K. Closure of carotid cavernous sinus fistulae by external compression of the carotid artery and jugular vein. *Acta Radiol Suppl* 1986; 369: 580–3.
12. Benndorf G. Endovascular Treatment of Dural Cavernous Sinus Fistulas. In: Benndorf G, editor. *Dural cavernous sinus fistulas diagnostic and endovascular therapy*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer; 2010. p. 189–275.
13. Samardžić M, Grujić D, Prstojević B. Spontaneous intracerebral bleeding. In: Samardžić M, editor. *States of emergency in neurosurgery: diagnostic-therapeutic guide*. Beograd: I.P. „Obel-ežja“; 2010. p. 125–46. (Serbian)
14. Quinones D, Duckwiler G, Gobin PY, Goldberg RA, Vinuela F. Embolization of dural cavernous fistulas via superior ophthalmic vein approach. *AJNR Am J Neuroradiol* 1997; 18(5): 921–8.
15. Irie K, Kawanishi M, Kunishio K, Nagao S. The efficacy and safety of transvenous embolization in the treatment of intracranial

- dural arteriovenous fistulas. *J Clin Neurosci* 2001; 8(Suppl 1): 92–6.
16. *Yoshida K, Melake M, Oishi H, Yamamoto M, Arai H.* Transvenous embolization of dural carotid cavernous fistulas: a series of 44 consecutive patients. *AJNR Am J Neuroradiol* 2010; 31(4): 651–5.
 17. *Elhamady MS, Peterson EC, Aziz-Sultan MA.* Onyx embolization of a carotid cavernous fistula via direct transorbital puncture. *J Neurosurg* 2011; 114(1): 129–32.
 18. *Szkup P, Kelly ME, Meguro K.* Indirect carotid-cavernous fistula – embolization using the superior ophthalmic vein approach. *SA J Radiol* 2005; 9(1): 23–6.
 19. *He HW, Jiang CH, Wu ZX, Li YX, Wang ZC.* Transvenous embolisation of cavernous dural arteriovenous fistula: report of 28 cases. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120(24): 2229–32.
 20. *Oishi H, Arai KS, Sato K, Iizuka Y.* Complications associated with transvenous embolisation of cavernous dural arteriovenous fistula. *Acta Neurochir (Wien)* 1999; 141(12): 1265–71.

Received on March 09, 2011.

Revised on July 01, 2011.

Accepted on July 04, 2011.



Potpukovnik dr Laza Lazarević – lekar, književnik, ratnik (1851–1890)

Leutenant-Colonel Dr. Laza Lazarević – a physician, writer, warrior (1851–1890)

Aleksandar S. Nedok

Akademija medicinskih nauka Srpskog lekarskog društva, Beograd, Srbija

Ključne reči:

istojia medicine, XIX vek; lekari, vojni; rat; srbija.

Key words:

history, 19th century; physicians; military personnel; war; serbia.

Uvod

Doktor Laza Lazarević u opštoj populaciji ponajviše je poznat kao književnik (Prvi put s ocem na jutrenje, Švabica, Sve će to narod pozlatiti), a u lekarskim krugovima kao sjajan dijagnostičar i pisac 77 radova u „Srpskom arhivu“, „Narodnom zdravlju“ i „Novinama srbskim“, po jedan rad u nemačkim (inauguralna disertacija o dejstvu žive na živi organizam) i austrijskim medicinskim časopisima, od kojih će mu poslednji osigurati večiti pomen u neurologiji (Lazarević-Lasegue-ov znak u dijagnostici oštećenja ishijadičnog živca). Njegova vojnička karijera još je najmanje poznata.

Rođen 1. maja u Šapcu, gde je stekao osnovno i niže gimnazijsko obrazovanje, a više u Beogradu – medicinu je studirao kao državni pitomac u Berlinu. U to vreme profesori su mu bili Helmholtz, DiBoa Rejmon i Virhov, a na Filozofskom fakultetu čuveni slavista Vatroslav fon Jagić držao je predavanja o narodnoj poeziji Južnih Slovena koje je Laza redovno posećivao.

Laza Lazarević je verovatno u toku studija oboleo od tuberkuloze, koja ga je tokom njegovog kratkog života iscrpljivala, da ga na kraju prekrati – prerano i za srpsku medicinu i za srpsku književnost. Taman je apsolvirao predavanja i položio onda obavezni *Tentamen physicum*, kada je Kneževina Srbija ušla u rat sa Turskom.

Naime, od leta 1875, kada se Hercegovački ustanak rapsplamsao, u Srbiji se uvidelo da će uskoro biti rata sa Turskom, te se i vojska počela pripremati. U sklopu tih priprema, u sanitetu su pokušavali da obnove i dopune siromašnu opremu kojom se raspolagalo i da obezbede minimalno potreban broj stručnog osoblja, budući da je u aktivnoj vojnoj službi bilo samo 19 lekara, pet lekarskih pomoćnika, jedan

apotekar i četiri apotekarska pomoćnika. Pored njih, moglo se krajem 1875. računati još na 37 građanskih lekara, većinom stranaca, što je bilo premalo za potrebe narodne vojske koja bi u mobilnom stanju brojala oko 100 000 vojnika i starešina, i za pozadinsku službu, pa se računalo da bi bilo potrebno naći u inostranstvu još oko 170 lekara, među njima bar dvadesetak iskusnih operatera¹.

Izrađena su i osnovna dokumenta potrebna za organizaciju i funkcionisanje saniteta u ratnim uslovima: „Ustrojstvo vojnog saniteta“ i „Uputstvo za službu vojnog saniteta srpske narodne i stajaće vojske“¹, ali nije ništa urađeno da se nabavi neophodna oprema i nedostajući lekari, jer za to nije bilo razumevanja, niti su u državnoj kasi postojala sredstva da se namire sve potrebe. Događaj od najveće važnosti za razvoj saniteta i, uopšte, zdravstvene kulture u Srbiji odigrao se od 18. do 25. januara 1876: na inicijativu dr Vladana Đorđevića skup odabranih lica, lekara i državnih službenika, crkve i građanstva osnovao je „Srpsko društvo za privatnu pomoć ranjenicima i bolesnicima u vreme rata“, uskoro poznatije kao „Srpsko društvo Crvenog krsta“ koje će u svim budućim ratovima odigrati veliku ulogu u svekolikoj pomoći i opremanju vojnog saniteta i njegovih bolnica¹.

Rat sa Turskom 1876. godine

Dana 15. maja 1876. ministar vojni izdao je svim divizijskim komandama „Uput za mobilizaciju i koncentraciju“. Vojska se počela prikupljati i raspoređivati duž granice.

Nažalost, u pogledu popune sanitetskog osoblja Ministarstvo vojno je potpuno zakazalo, ili, kako veli dr Đorđević „na angažovanje lekarskog personala za ratovanje nije se pomišljalo dok rat nije počeo“¹.

Rat je oglašen 18. juna i tada je počeo priliv sanitetskog osoblja iz inostranstva, koje je popunjavalo širom Srbije mnogobrojne uspostavljene rezervne bolnice.

Najviše sanitetskog osoblja stiglo je iz Rusije, 123 lekara, medicinara i apotekara, 25 feldšera, 13 milosrdnih sestara i 27 nosilaca ranjenika.

Oni su popunili veliki deo, inače neobezbeđenih sanitetskih ustanova, čak i nekih na isturenim delovima fronta i tako omogućili kvalitetnu negu srpskih ranjenika. Među njima bila je i nekolicina istaknutih ruskih lekara (Botkin, Sklifasovski, Tauber, Markonet, Ignjatovski, Rajer, Rinek). Pored njih, bilo je lekara iz Italije, Austrije, Rumunije, Engleske, Bugarske.

Ukupno 147 studenata medicine, najvećim delom Rusa i Srba iz Srbije i Austrije, pridružilo se, puni mladalačkog entuzijazma, svojim starijim kolegama. Jedan od njih bio je i Laza Lazarević.

Mi, nažalost, danas o njegovom učešću u ovome ratu znamo malo. U Vojnom arhivu više nema dokumenata koji bi o tome govorili: prohujali ratovi i nebriga odneli su mnogo dokumenata, pa ga i sam dr Đorđević u svome nedovršenoj I tomu 2. knjige svoje „Istorije“ ne pominje. Drugi tom ove knjige, u kome je trebalo da piše o radu saniteta tokom ratnih dejstava nije ni ugledao svetlo dana, a izveštaji divizijskih i korpusnih načelnika saniteta, koje je u tome cilju bio prikupio, zaturio je i nisu mogli biti pronađeni u njegovoj zaostavštini rasturenoj po arhivima u zemlji i inostranstvu, uprkos našim naporima.

Sve što o Lazi Lazareviću iz toga vremena znamo je od dr Laze Dokića: „Za vreme Prvog rata, kao lekarski pomoćnik, služio je najpre pri trupi kod jednog odreda Drinske divizije u poljskoj bolnici u Šapcu. Za to vreme Laza je skrenuo osobitu pažnju svojih pretpostavljenih na svoj rad i svoje znanje. Bolnica u Šapcu beše za vreme Lazino uređena kao kakva klinika. Sam baron Mundi... zadivio se njegovoj spremi i njegovom radu“².

Ovaj rat završio se srpskim neuspelom, jer slabo naoružana, opremljena i obučena narodna vojska nije mogla da se suprotstavi bolje naoružanoj i izvežbanoj turskoj. Ali, kako reče Jovan Ristić, u njemu se prolila i izmešala srpska i ruska krv i tako zauvek učvrstila bratske veze između ta dva slovenska naroda.

Skoro je sigurno da se Laza Lazarević posle završenog ovoga rata nije vratio u Berlin da završi studije, to ne spominje ni dr Laza Dokić („po svršetku ratova vratio se ponovo u Berlin da dovrši ispite“, misleći na kraj II srpsko-turskog rata 1878)².

Drugi srpsko-turski rat 1877–1878

Dana 3. decembra 1877, na poziv ruskog cara Srbija je ponovo napala Tursku, ovoga puta uspešno, oslobodivši Niš, Pirot, Leskovac, Prokuplje, Kuršumliju i Vranje, doprevši kod Gnjilana do Kosova polja.

I ovoga puta, među srpskim lekarima i medicinarima, mi srećemo Lazu Lazarevića, sada već sanitetskogporučnika³ i lekara Šabačke rezervne vojske u sastavu Drinskog korpusa, opet u rezervnoj bolnici⁴.

Iako ovoga puta korpus nije imao značajnijih borbenih dejstava, dužina fronta kojim je branio pristup zapadnim krajevima Srbije i hladna i vlažna zima prouzrokovali su veliki broj obolevanja među vojnicima i sanitetskim osobljem. To se najbolje vidi iz izveštaja njegovog v.d. načelnika: od oko 18 000 vojnika u bolnicama korpusa lečeno je 2 189 bolesnika, najvećim delom od bolesti disajnih organa, reumatičnih i zaraznih⁴. Lečenih po ambulantomama bilo je nekoliko puta više. I sam načelnik saniteta korpusa, major dr Stevan Nedok, umro je usled naporne službe 4. maja 1878⁵.

Posle završenog rata, Laza Lazarević vratio se u Berlin i, odbranivši disertaciju 8. marta 1879. postao doktor medicine i hirurgije, posvetivši se potom radu u beogradskoj varoškoj bolnici, gde je uskoro postao šef unutrašnjeg odeljenja i oformio bolničku laboratoriju.

Srpsko-bugarski rat 1885.

Dana 14. septembra 1885, u predvečerje rata, dr Laza Lazarević je Ukazom Nj. V kralja Milana Obrenovića IV unapređen u čin rezervnog sanitetskog majora i raspoređen u Sanitetsko odeljenje Vrhovne komande za delovođu, u stvari pomoćnika načelnika odeljenja, reaktiviranog pukovnika dr Vladana Đorđevića⁶.

U ovome lakomisleno i nesrećno vođenom ratu, koji je Srbiju, manje zbog gubitaka u ljudstvu, a više zbog izgubljenog ugleda, skupo koštao, zasijala je ličnost dr Laze Lazarevića punim sjajem, osvetlivši njegovu plemenitost, požrtvovanost i, nadasve, stručnu i organizacionu sposobnost, uprkos podmucljoj bolci koja je razarala njegovo krhko telo.

Dana 2. novembra srpske jedinice počele su napade na ujedinjenu bugarsko-rumelijsku vojsku, napredujući preko Caribroda ka Slivnici, gde se odigrala odsudna bitka u kojoj je srpska vojska poražena. Mase ranjenika, kolima i pešice, zapljusnule su puteve od Caribroda i Pirotka ka Nišu.

U Nišu, u vojnoj bolnici nedovoljne veličine za ratne prilike, nalazili su se samo njen načelnik major dr Osvald Hajnc sa dva lekara (kapetani dr Jevta Ristić i dr Leon Šnekenendorf). Predviđenu rezervnu bolnicu trebalo je tek otvoriti u dve kasarne uz pomoć lokalnih vlasti i Srpskog Crvenog krsta⁶.

Pritisnut prilivom ranjenika, dr Hajnc depešom traži od Vrhovne komande pojačanje u lekarima. Dr Đorđević, koji se zajedno sa kraljem Milanom nalazio kod operativne vojske, hitno traži od ministarstva jednog lekara (dr Milana Vasića) i u međuvremenu, 8. novembra, šalje svoga delovođu dr Lazu Lazarevića da u Nišu organizuje veliku rezervnu vojnu bolnicu i rad u njoj, a zatim depešom zahteva još pojačanja u lekarima i osoblju.

Priliv ranjenika bio je veliki, njihov transport sanitetskim vozom do Beograda neorganizovan zbog samovoljne umešanosti kraljice Natalije i pritiska ranjenika koji su se skupljali na železničkoj stanici. Stigavši u Niš, dr Laza Lazarević sa ogromnom energijom organizuje službu prijema, smeštaja, hirurške obrade ranjenika i njihove planske evakuacije vozom.

Veličinu rada dr Laze Lazarević i prisutnih lekara za vreme tih sudbonosnih dana najbolje je opisao dr Đorđević:

„Tih šest lekara, radeći i dan i noć, nemajući vremena ni da ručaju ni da spavaju, prosto su padali od umora...oni su za ono nekoliko dana imali da previju bar po jedan put 3 000 ranjenika...“⁶.

Kakvo je bilo stanje u Nišu u vreme njegovog dolaska, sam dr Laza Lazarević opisuje u depeši koju 9. novembra šalje načelniku Saniteta dr Đorđeviću: „Kreveta u varoši ima 753, inače nijedna kasarna nije još nameštena. Za vezu sa Beogradom i Kragujevcem brinuću se sam“⁶.

Za sledećih 48 sati od dolaska dr Laza Lazarević je uspeo da u Nišu uvede red i da namesti još 1 200 postelja!

Već 10. novembra on javlja Vrhovnoj komandi:

1. „...naredio sam da se svi berberi...i 100 vojnika iz bilo koje komande upute u bolnicu, pošto nema nijednog pravog bolničara...“

2. „...naredio sam da se postave šiljboci pred bolnicama i straže na ulascima i izlascima iz varoši da upućuju sanitetske transporte i ranjenike..u bolnice... oni će znati u kojoj bolnici ima mesta i koja je dežurna...“

3. „...pitao sam beogradsku i kragujevačku bolnicu koliko imaju praznih kreveta... i Ministarstvo vojno ...gde su na železničkoj liniji podignute rezervne bolnice...“

4. „...danas je 800 vojnika otputovalo u razna mesta sa vrlo problematičnim povredama (pa sam) telegrafski naredio svima (usputnim) stanicama da ih ne puštaju pre Beograda, a beogradskoj bolnici da ih sve primi...“

5. „...naredio sam) da se „prstaši“ upute u komandu, a transportabilne ranjenike, ako žele, da se puste kućama na određeno vreme...“

6. „...pošto sam uveren da je beogradska bolnica već prepuna, to sam železnici izdao naredbu da nijednog ranjenika bez moje objave ne pušta u voz, a čim upola napunim ovu bolnicu, odmah ću se starati da aranžujem jedan čitav železnički voz-ekspres za ranjenike...“

7. „...osnovaću u obe kasarne jedno dobro snabdeveno operaciono odeljenje... Molim da se bolnica snabde najboljim našim snagama... predlažem dr Svetozara Atanasijevića, dr Gerasimovića, dr Zajičeka, dr Kuželja, dr Hirša, a ne izuzimajući dr (Mitru) Milićevića i dr (Lazu) Dimitrijevića koji su već ovde...“

8. „...Mesto upravnika treba da popuni ...praktičan i energičan čovek...na pr. potpukovnik dr Mika Marković...“

9. Zbog potrebe prepisao sam ovu bolnicu „Velika vojna rezervna niška bolnica“...“

10. „...Dr Siberta sam uzeo na svoju odgovornost u službu (prim: dr Karlo Sibert, kapetan, Slovak rodom, bio je pod istragom zbog kritike što su dva slovenska naroda u ratu)...“

11. „...za inspektora uzeo sam g. Đoku Nešića ...on će odrediti druge komesare u bolnicama...“

I tako, za 3–4 dana moći će ova bolnica početi raditi kao što to dolikuje ovakvom zavodu... pa molim...“

1. da se što pre uputi potreban broj lekara,

2. i potreban broj lekarskih pomoćnika.

Stalnu vojnu bolnicu stavio sam samovoljno (tj svojom odlukom) pod svoju komandu”⁶.

Ove opširne organizacione mere, preduzete od strane dr Laze Lazarević odmah po dolasku u Niš, sredile su teško stanje koje je zatekao i pokazale njegovu izuzetnu odlučnost i sposobnost da se u tako haotičnoj i urgentnoj situaciji snađe i u nju uvede red.

Niške vojne bolnice su nastavile od tada normalno svoj rad sve do zaključenja mira, kada se rezervno osoblje vratilo svojim mirnodopskim poslovima.

Dr Laza Lazarević je za svoj rad odlikovan Ordenom Svetog Save IV reda i Belog orla V reda⁷, uz novu spomenicu za učešće u ovome ratu.

Prelazak u aktivnu vojnu službu i smrt

Posle rata njegovo zdravstveno stanje postepeno se pogoršavalo usled napora u svakodnevnom radu u bolnici i u privatnoj praksi, u kojoj je pokazivao posebnu socijalnu crtu svoje ličnosti, obilazeći i lečeći sirotinju besplatno, kupujući joj čak i lekove.

U želji da ga bar delimično poštedi napora, kralj Milan Obrenović čini plemeniti potez i van redovne rangliste unapređuje ga u čin sanitetskog potpukovnika, prevodeći ga 1. februara 1889. u aktivnu vojnu službu. Istovremeno, postavlja ga za člana Vojnosanitetskog komiteta i za svoga ličnog lekara⁵.

Uzalud ovaj pokušaj, dr Laza Lazarević umire u noći 28/29. decembra 1890, ostavljajući za sobom opus ne samo velikog književnika i obdarenog lekara i naučnika čije će ime stajati dovela u istoriji svetske medicine (Lazarević-Lasegov znak), već nadasve visokomoralne i plemenite ličnosti, odane svome narodu i svome pozivu do poslednjeg daha.

Ceneći njegov književni, ali i lekarski rad, Srpska kraljevska akademija ga je 10. januara 1888. izabrala za svoga dopisnog člana.

Naš istaknuti lekar, naučnik, političar (predsednik Vlade) i predsednik Srpskog lekarskog društva, pukovnik, profesor Velike škole dr Lazar Dokić za dr Lazu Lazarevića rekao je u svome godišnjem izveštaju : „...Društvu našem beše suđeno da prošle godine pretrpi još jedan težak udar za koji, mislim da neću pogrešiti ako kažem, da je jedan od najvećih koje je naše Društvo zadesilo od kako ono postoji...Dela Lazina ...su tako velika, da bi ih samo jedan pesnik ravan dr Lazi Lazareviću mogao da opiše...“².

Ličnost koja je najbolje poznavala dr Lazu Lazarevića, dr Vladan Đorđević, izrekao je o njemu sledeće reči: „...Svi mi koji smo imali sreće da sa njime radimo... nećemo moći nikada zaboraviti njegovu ljubaznu kolegijalnost ...njegovu gotovost ...da pomogne svakome kolegi...Ali, što mnogima neće biti poznato, to je veličanstvenost Lazarevićevog ponašanja u sirotinjskoj praksi...obilazi dva puta na dan kao i svoje najbogatije bolesnike... obilazi onako slab i noću...vadi iz džepa sve što je imao i daje...“².

L I T E R A T U R A

1. *Vladan Đorđević*. Istorija srpskog vojnog saniteta. Knj. 2, sv. 1, Beograd, 1893.
2. *Lažar Dokić*. Slovo o dr Lazi Lazareviću. Srpski Arhiv, Beograd, 1895. 12: 233; 237.
3. Vrhovna Komanda srpske vojske. Šematizam srpske dejstvjuće vojske u ratu 1877/78. Niš, 1878.
4. *Vladan Đorđević*. Istorija srpskog vojnog saniteta. Knj. 3, Beograd, 1880.
5. *Aleksandar Nedok*. Personalna istorija srpskog vojnog saniteta, biografija dr Stevana Nedoka, rukopis (neobjavljeni podaci).
6. *Vladan Đorđević*. Istorija srpskog vojnog saniteta. Knj. 4, Beograd; 1886.
7. Kancelarija Kraljevih Ordena. Šematizam odlikovanih lica u Kraljevini Srbiji. Knj. 1, (1865–1894), Beograd, 1895 i Knj. 2 (1895–1900), Beograd; 1900.

Primljen 1. X 2011.
Prihvaćen 1. XI 2011.



VOJNOSANITETSKI PREGLED

VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA

Crnotravska 17, 11040 Beograd, Srbija

Tel/faks: +381 11 2669689

vsp@vma.mod.gov.rs

vmavsp@hotmail.com

Poziv za reklamiranje u 2012. 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 2012. 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 obaveštenja, uputstva i ponude obratiti se redakciji 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



Aortoprotetski hemostatski šav – da li je to zaista nova modifikacija Bentall-ove procedure?

(Komentar o članku: *Rosić M, Ilić L, Jonjev Ž. Nova modifikacija Bentall-ove procedure: primena aortoprotetskog hemostatskog šava. Vojnosanit Pregl 2011; 68(5): 441–3, i odgovor autora*)

The aorto-prosthetic hemostatic suture – is it really a new modification of Bentall's procedure?

(A comment on the paper: *Rosić M, Ilić L, Jonjev Ž. A revised modified Bentall's procedure using aortic prosthetic hemostatic suture. Vojnosanit Pregl 2011; 68(5): 441–3, and the author's reply*)

Komentar

Nesporno je da je hirurgija grudne aorte, naročito u slučajevima akutne disekcije aorte, jedna od najzahtevnijih procedura u kardiohirurgiji. Bentall i De Bonno¹ svojom originalnom (inkluzionom) metodom rekonstrukcije ascendentne aorte i aortnog korena kompozitnim graftom (mehanička aortna valvula fiksirana na protetskom tubusu) dali su izuzetan doprinos u ovoj oblasti. Glavna zamerka pomenutoj tehnici je mogućnost nastanka pseudoaneurizmatičkih formacija na svim suturnim linijama^{2,3}. Tehnika koja danas predstavlja *state-of-the-art*⁴ u implantaciji kompozitnog grafta u hirurgiji ascendentne aorte je modifikacija originalne Bentall-ove tehnike prema Kouchoukos-u i Karp-u⁵. Pošto se koronarni ostijumi isecaju i izdvajaju iz zida ascendentne aorte u obliku dugmeta (*button*) i našivaju na protetski tubus, tehnika je još poznata i pod nazivom – *button*-Bentall-ova tehnika. Ipak, i upotrebom ove tehnike zabeleženo je (u znatno manjoj meri) nastajanje pseudoaneurizmatičkih formacija na suturnoj liniji koronarnih ostijuma i protetskog tubusa³.

Takođe, i distalna i proksimalna anastomoza između aorte i kompozitnog grafta su mesta mogućeg krvarenja i dehiscencije što povećava ukupni postoperativni mortalitet i morbiditet. Potpuno je razumljivo da svaki novi operativni detalj ili trik koji smanjuje rizik takvih komplikacija ima veliko kliničko značenje. Zbog toga sam sa izuzetnim interesovanjem pročitao članak² koji je nedavno objavljen u Vojnosanitetskom pregledu (autori – Ristić, Ilić, Jonjev) u kojem je prikazana nova modifikacija Bentall-ove tehnike.

Međutim, opisana „nova tehnika“ niti je nova, niti je originalna. Naime, Copeland i sar.⁶, pre dvadesetak godina opisali su tada novu tehniku koja ojačava proksimalnu suturnu liniju između aorte i kompozitnog grafta. Apsolutno svi detalji hirurške tehnike te procedure su usvojeni, ponovljeni i opisani u prikazu Ristića i sar.² kao potpuno nova procedura. U obe tehnike prilikom isecanja proksimalnog kraja aorte ostavlja se nekoliko milimetara tkiva aorte iznad nivoa aort-

nog anulusa. Nakon fiksiranja dela kompozitnog grafta (mehaničke aortne valvule) u nivou aortnog anulusa, prethodno ostavljeni deo proksimalne aorte kontinuiranim monofilamentnim šavom (3–0 – Copeland i sar.⁶, 5–0 – Ristić i sar.²) fiksira se za slobodnu ivicu kompozitnog grafta oko prstena mehaničke valvule (*flange, cuff*). Time se zaista ojačava proksimalna suturna linija između aorte i kompozitnog grafta i tako se smanjuje rizik od dehiscencije i krvarenja. Copeland i sar.⁶, kao autori ove modifikacije Bentall-ove procedure, citirani su i na sajtu *Multimedia Manual of Cardiothoracic Surgery* u sekciji *Composite graft replacement of the aortic root: button technique*⁴, koji je preko interneta dostupan svima. Bayfield i Kron⁷ su modifikaciju Copelandove tehnike prikazali par godina kasnije, a modifikacija se sastoji u tome što se ostavljeno tkivo proksimalne aorte fiksira kontinuiranim šavom za protetski tubus. Da komentar bude potpun, Copeland nije citiran ni u njihovom članku, iako je pomenuta i njegova tehnika ojačavanja i fiksiranja proksimalne anastomoze. Khanna i Akhter⁸ su, takođe, iskoristili ostatak tkiva aorte za formiranje dvostrukog ojačanja proksimalne anastomoze. Monofilamentni 3–0 šav plasiran je kao šav dvanakese duž celog obima ostatka tkiva aorte u nivou proksimalne anastomoze. U slučaju pojačanog krvarenja šav se zateže i fiksira tkivo aorte preko šavova sa pledžetima upotrebljenih za fiksiranje kompozitnog grafta. Šav se zateže dok krvarenje ne bude pod kontrolom.

Efikasnost Copelandove tehnike u smanjenju gubitka krvi prikazali su Pratali i sar.⁹. U grupi bolesnika (n = 19) kod kojih je korištena Copelandova tehnika ojačanja proksimalne suturne linije između aorte i kompozitnog grafta, kao i tehnika ušivanja dugmeta koronarnih ostijuma sa podvostručenjem zida dugmeta, zabeležen je statistički značajno manji gubitak krvi poređeno sa grupom kod koje je primenjena klasična *button* Bentall-ova procedura (16 bolesnika). Takođe, i broj transfundovanih jedinica krvi bio je značajno manji u istoj grupi. Multivarijantna analiza potvrdila je korišćenje *button* Bentall-ove tehnike (bez upotrebe Copelandove modi-

fikacije i posebne tehnike ušivanja dugmeta koronarnih ostijuma) kao jedini nezavisni faktor rizika od krvarenja preko 1 000 mL i potrebu za transfundovanjem 3 ili više jedinica krvi.

Očigledno je da je aortoprotetski hemostatski šav veoma značajan u proceduri ojačavanja proksimalne suturne linije između aorte i kompozitnog grafta, ali i da je u upotrebi već gotovo 20 godina.

dr sc med. Duško Nežić, FETCS
Institut za kardiovaskularne bolesti
„Dedinje“, Beograd
E-mail: nezic@eunet.rs

LITERATURA

1. *Bentall H, De Bonno A.* A technique for complete replacement of the ascending aorta. *Thorax* 1968; 23(4): 338–9.
2. *Rosić M, Ilić L, Jonjev Ž.* A revised modified Bentall's procedure using aorto-prosthetic hemostatic suture. *Vojnosanit Pregl* 2011; 68(5): 441–3. (Serbian)
3. *Nežić D, Čirković M, Knežević A, Jović M.* Modified Bentall procedure - "a collar technique" to control bleeding from coronary ostia anastomoses. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2008; 7: 709–11.
4. *Turina M.* Composite graft replacement of the aortic root: "button" technique. *Multimedia Man Cardiothorac Surg* doi:10.1510/MMCTS.2003.00001.
5. *Kouchoukos N, Karp RB.* Resection of ascending aortic aneurysm and replacement of aortic valve. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1981; 81: 142–3.
6. *Copeland J III, Rosado L, Snyder S.* New technique for improving hemostasis in aortic root replacement with composite graft. *Ann Thorac Surg* 1993; 55: 1027–9.
7. *Bayfield M, Kron I.* Reducing bleeding after replacement of the aortic root. *Ann Thorac Surg* 1995; 60: 1130–1.
8. *Khanna S, Akhter M.* Hemostatic modification in aortic root replacement with composite graft. *Ann Thorac Surg* 1995; 60: 1161–2.
9. *Pratali S, Milano A, Codecasa R, De Carlo M, Borzoni G, Bortolotti U.* Improving hemostasis during replacement of the ascen-

ding aorta and aortic valve with a composite graft. *Tex Heart Inst J* 2000; 27: 246–9.

Odgovor autora

Pismo dr Nežića potvrđuje činjenicu da je hirurgija aorte, posebno u slučaju akutne disekcije, hirurški veoma delikatan i krajnje zahtevan posao. U tom smislu raduje nas interesovanje i komentar dr Nežića čime se potvrđuje pravilan odabir teme od strane autora rada, recenzenata i uredništva. Poznato je da većina hirurških metoda nije univerzalno primenljiva u svim slučajevima, a razvoj novih tehnologija i protetskih materijala nameće permanentno usavršavanje postojećih operativnih tehnika i taktika. Svoju kritiku dr Nežić bazira na članku Coplanda i sar. objavljenom u *Ann Thorac Surg* 1993. (referenca broj 6 u komentaru dr Nežića) u kome i sam autor navodi potrebu za daljim modifikovanjem svoje procedure s obzirom na tehničke probleme prisutne kod mehaničkih valvula sa malim suturnim anulusom i drugim anatomske varijetetima. Dr Nežić nalazi dosta sličnosti između opisanih operativnih tehnika. U tom smislu, naš rad nije koncipiran tako da apostrofira autorizaciju opisane modifikacije (što se vidi iz naslova rada i termina *aortoprotetski hemostatski šav*), već da promovise ideju o dve anuloprotetske suturne linije koja uz preciznije odabranu operativnu tehniku može biti primenljiva i u slučajevima od kojih se i sam Copland distancirao.

Rad Coplanda i sar. nije citiran u našem radu iz tehničkih razloga, jer zbog ograničenja teksta i broja referenci nije bilo moguće uvrstiti sve željene reference. S obzirom na to da se radi o članku koji privlači veće interesovanje domaćih čitaoca, potrudimo se da u nekoj od budućih publikacija ispravimo propušteno.

Ass. dr Milenko Rosić
Institut za kardiovaskularne bolesti Vojvodine,
Sremska Kamenica
E-mail: mrosic@gmail.com



Balkan endemic nephropathy and Balkan endemic tumors of upper urothelium. Retrospective 1941–2011

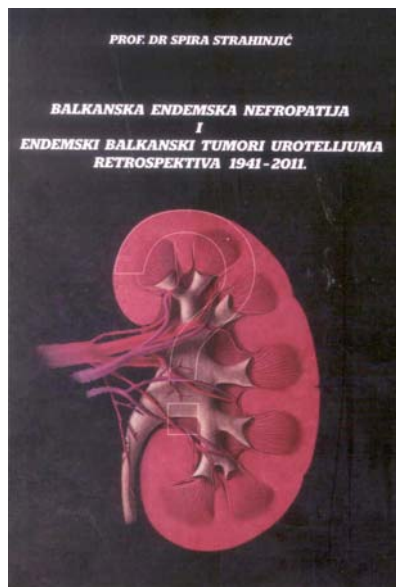
Original title in Serbian: Balkanska endemska nefropatija i endemski balkanski tumori urotelijuma. Retrospektiva 1942–2011

Written by: Prof. Dr Spira Strahinjić

Published by: Medical Faculty, University of Niš, and Academy of Medical Sciences of the Serbian Medical Society

Printed by: „Galaksija“ Niš

Published in Niš, 2011



The book „Balkanska endemska nefropatija i endemski balkanski tumori gornjeg urotelijuma. Retrospektiva 1941–2011“ is a monolithic and capital work of Prof. Dr. Spira Strahinjić and the staff from the Republic of Serbia (Niš, Belgrade, Leskovac, Lazarevac) and abroad – Romania (Timisoara), USA (Reston), Bosnia and Herzegovina (Tuzla).

The book „Balkanska endemska nefropatija i endemski balkanski tumori gornjeg urotelijuma. Retrospektiva 1941–2011“ is the result of the project “Health of the population of Southeast Serbia 1960–2010”, the Academy of Medical Sciences of Serbian Medical Society (SMS), Department in Niš.

It was written in honor of 50th anniversary of the School of Medicine Niš, 45th anniversary of the University of Niš, 34th anniversary of the Academy of Medical Sciences SMS and 50th anniversary of scientific research and 85th birth anniversary of the doyen and the legend of Serbian medicine Professor Dr. Spira Strahinjić.

The book “Balkanska endemska nefropatija i endemski balkanski tumori gornjeg urotelijuma. Retrospektiva 1941–2011” has a message: “It is easy to teach an animal. It is easy to teach a villain, but it is hard to teach the one who is untaught, but who becomes a teacher to others,” the words of the Holy Bishop Nikola Velimirović.

The "Balkanska endemska nefropatija i endemski balkanski tumori gornjeg urotelijuma. Retrospektiva 1941–2011" was written in the Center for Balkan Endemic Nephropathy and Endemic Balkan Urothelial Tumors. The book is richly illustrated with photos, charts, diagrams and tables. The format of the book is B5. The book has 142 pages. The book cover was designed by Tijana Stevanović, a final year student of the School of Arts, Niš. The cover page is illustrated by the Balkan Peninsula, and the painting of kidney failure in front of a big question mark. Professor Strahinjić in more than 50 years of scientific research tried to provide a reply to etiology, epidemiology, clinical presentation, clinical pathoanatomic confrontation, treatment, prevention, rehabilitation, psychosocial aspects of Balkan endemic nephropathy in the endemic Balkan tumor urothelium.

Introducing, Prof. Dr. Spira Strahinjić states that "The study of Balkan endemic nephropathy (BEN) is the work of enthusiasts, not only doctors but also of many other experts who are interested in the puzzle of Balkan endemic nephropathy and Balkan endemic urothelium tumors".

The book consists of essays on etiology, epidemiology, clinical pathoanatomical confrontation, treatment and rehabilitation and psychosocial aspects of BEN, and etiology,

epidemiology, clinical pathoanatomical confrontation, treatment of urothelium tumors and rehabilitation and psychosocial aspects of Balkan urothelium tumors.

According to the decision of the Science and Teaching Council of the Faculty of Medicine Niš, the book “Balkanska endemska nefropatija i endemski balkanski tumori gornjeg urotelijuma. Retrospektiva 1941–2011” is recommended as

a manual for doctors of all profiles and specializations, wonder graduated students and doctoral students and other health care professionals.

Dr. Sc. Rade R. Babić
Center for Radiology, Clinical Center Niš
Niš, Serbia



VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA
INSTITUT ZA NAUČNE INFORMACIJE
Redakcija časopisa „*Vojnosanitetski pregled*“
Crnotravska 17, 11 000 Beograd

Kontakt tel./fax: +381 011 26 69 689
Elektronska pošta: vsp@vma.mod.gov.rs

VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA
INSTITUT ZA NAUČNE INFORMACIJE

Uređivački odbor Vojnosanitetskog pregleda

U P U T S T V O
ZA PISANJE RADOVA ZA

Vojnosanitetski pregled

Vojnosanitetski pregled objavljuje samo radove koji nisu ranije objavljivani. Mogu se prihvatiti i radovi *in extenso* koji su prethodno delimično izloženi na naučnom/stručnom skupu. **Svaki pokušaj plagijata ili autoplagijata biće najstrože sankcionisan** (zabrana publikovanja svim autorima rada u VSP u određenom vremenskom periodu zavisno od stepena težine prekršaja i obaveštavanje o tome rukovodstva institucija autora i njihovih strukovnih udruženja).

Primaju se samo radovi napisani na engleskom jeziku.

Od 1. januara 2012. godine Vojnosanitetski pregled prelazi na

e-Ur: Elektronsko uređivanje časopisa

i radovi će se primati prijavljivanjem putem adrese:

<http://scindeks-eur.ceon.rs/index.php/vsp>

Svi korisnici sistema: autori, recezenti i urednici moraju biti registrovani korisnici sistema sa jednoznačnom e-mail adresom. Registraciju je moguće izvršiti na adresi :

<http://scindeks-eur.ceon.rs/index.php/vsp>

Tehničko uputstvo za korišćenje sistema **e-Ur: Elektronsko uređivanje časopisa** može se preuzeti na web adresi Vojnosanitetskog pregleda:

<http://www.vma.mod.gov.rs/vsp>

Prijavom rada u sistem elektronskog uređivanja Vojnosanitetskog pregleda u samom postupku prijave neophodno je dati saglasnost da su ispunjeni svi postavljeni tehnički zahtevi koji uključuju i izjavu svih autora i koautora da rad do sada nije u celini ili delimično objavljen ili prihvaćen za štampu u drugom časopisu. Tim postupkom svi autori preuzimaju odgovornost da rad zaista ispunjava sve postavljene uslove na osnovu čega će se doneti odluka o ulasku u uređivački postupak.

Sistem **e-Ur: Elektronsko uređivanje časopisa** obezbeđuje korišćenje servisa CrossCheck, i svi prijavljeni radovi automatski će pre prvog koraka uređivačkog postupka biti proveravani na **plagijarizam ili autoplagijarizam**.

Prihvaćeni radovi objavljuju se po redosledu koji određuje uređivački odbor na predlog glavnog i odgovornog urednika.

U Vojnosanitetskom pregledu objavljuju se: **uvodnici, originalni članci, prethodna ili kratka saopštenja**, revijski radovi tipa **opšteg pregleda, aktuelne teme, metaanalize i seminari praktičnog lekara, kazuistika**, članci iz **istorije medicine, lični stavovi, komentari**, pisma uredništvu, izveštaji sa naučnih i stručnih skupova, prikazi knjiga.

Originalni članci – Po obimu ne smeju prelaziti 16 stranica teksta (bez priloga). Detalji o strukturi radova nalaze se u poglavlju „**Priprema rada**“.

Prethodno ili kratko saopštenje – Tekst ne sme biti duži od 5 stranica (bez priloga); predstavlja početnu ili kratku belešku o istraživanjima koja nisu završena, ali su dobijene informacije od interesa za naučnu i stručnu javnost; sadrži sva poglavlja kao i originalni naučni ili stručni članak, ali u znatno skraćenom obimu. **Rezultati i diskusija** mogu biti spojeni u jednu celinu; **zaključak** može izostati, ali se na kraju članka mora dati kratki tekst u vidu preliminarnog zaključka ili najave daljih istraživanja.

Opšti pregled (tematska studija – do 16 stranica) – Predstavlja sistematsko izlaganje nekog problema na osnovu podataka iz literature, uključivši i najmanje 5 radova autora članka iz uže oblasti iz koje je rad; mora obuhvatiti svu dostupnu relevantnu literaturu za određeni vremenski period. Autor članka mora dati i svoje viđenje problema u vidu zaključnog stava (podnaslov **zaključak** nije obavezan) kojim se obično preporučuju pravci daljih istraživanja.

Metaanaliza (studija o studijama – do 16 stranica) – Predstavlja analitičko-sintetičku studiju većeg broja studija o nekoj značajnoj temi, uz analizu suprotstavljenih stavova i procenu praktične primenljivosti. Dopušta preporuke i zaključivanje na osnovu tuđih podataka i mora da ima jasno formulisani zaključak i strukturisani apstrakt do 250 reči na srpskom i do 450 reči na engleskom jeziku.

Aktuelna tema (kraći pregled aktuelne teme – do 8–10 stranica) – razmatra neko savremeno, nerešeno ili kontradiktorno pitanje od teorijskog i praktičnog značaja uz iznošenje sopstvenih rezultata istraživanja ili relevantnih i najnovijih podataka iz literature. Konstrukcija članka je slobodna; članak ne mora imati zaključak, ali su poželjne kratke zaključne napomene sa jasnom porukom.

Seminar praktičnog lekara, stomatologa ili farmaceuta (do 8 stranica teksta zajedno sa priložima) – razmatra sa praktične tačke gledišta neko aktuelno pitanje iz prakse i preporučuje stavove koji doprinose poboljšanju profilakse, dijagnostike ili lečenja, odnosno rešavanja nekog problema od značaja za svakodnevni rad zdravstvenih stručnjaka.

Kazuistika (prikaz jednog ili nekoliko slučajeva oboljenja, tekst do 6 stranica i prilozi) – Članci su obično didaktičkog karaktera (dijagnostički, terapijski ili iz domena preventivne medicine). Mogu se prikazivati i slučajevi vrlo retkih oboljenja ukoliko su od značaja za diferencijalnu dijagnozu. Uz rad se piše i strukturisani apstrakt na srpskom i engleskom jeziku (do 150 reči).

Iz istorije medicine (tekst i prilozi do 12 stranica) – Objavljuju se materijali od interesa za rasvetljavanje pojedinih događaja iz istorije opšte, a posebno vojne medicine.

Prikazi knjiga – Ne smeju biti duži od 2 stranice. Sadrže osnovne podatke o publikaciji (autori, izvorni naslov, izdavač, mesto i godina izdanja), kratak sadržaj i pretpostavljeni domen interesovanja. Prikaz je osnovna informacija o publikaciji, ali može da sadrži i kritičke komentare.

Lični stavovi, komentari i pisma uredništvu – mogu se odnositi na tekstove objavljene u *Vojnosanitetskom pregledu*, na teme od značaja za medicinsku praksu, uopšte, kao i na knjige (monografije) od posebnog medicinskog ili vojnosanitetskog značaja. U načelu nisu duži od 3 do 4 stranice, ali o tome odlučuje glavni i odgovorni urednik. Pišu se slobodno uz eventualno navođenje podataka iz literature. Objavljuju se prema nahodjenju glavnog i odgovornog urednika.

Izveštaji sa naučnih i stručnih skupova – Kratak prikaz rada skupa uz isticanje najvažnijih referata ili zaključaka, odnosno preporuka koje bi bile od značaja za širi krug čitalaca *Vojnosanitetskog pregleda*. Ne sme biti duži od 2 stranice.

Radovi se objavljuju na engleskom jeziku sa apstraktom na srpskom i engleskom.

U celom radu obavezno je korišćenje međunarodnog sistema mera (SI). Izuzetak čine krvni pritisak koji treba izražavati u mm Hg i temperatura, koju treba izražavati u °C.

Prilikom pisanja radova koristiti samo standardne skraćenice. Ne koristiti ih u naslovu i apstraktu. Pun naziv sa skraćenicom u zagradi treba dati kod prvog pominjanja u tekstu – npr. holinesteraza (ChE).

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 belo hartiji formata A4 samo sa jedne strane lista, sa levom marginom od **4 cm**. Koristiti font veličine 12 (preporučuje se izvorni **Arial** ili **Times New Roman**, a ne njihove različite modifikacije) i načelno izbegavati upotrebu **bold** i *italic* slova koja su rezervisana za podnaslove.

Prispeli radovi podležu anonimnoj recenziji od strane najmanje dva urednika/recenzenta. Primedbe i sugestije urednika i recenzenata dostavljaju se autoru radi konačnog oblikovanja rada.

Prvi štamparski otisak članka „**autorsko čitanje**“, šalje se korespondirajućem autoru na korekciju putem e-Ur: Elektronsko uređivanje časopisa. Evantualne korekcije treba izvršiti u roku od 2 dana. U ovoj fazi nije moguće izvršiti radikalnije izmene, već samo ispravke slovni i drugih sitnih grešaka.

Ključne reči ne p o d l e ž u autorskoj korekturi, pošto se radi o deskriptorima iz Tezaurusa koje određuju stručni indekseri. Ukoliko korektura u tom roku ne bude vraćena, smatraće se da autor nema primedbi. *Rukopisi radova prihvaćenih za štampu ne vraćaju se autoru.*

P r i p r e m a r a d a

Radove pripremati u skladu sa **Vankuverskim dogovorom** (V izdanje, revizija iz 1997.) postignutog na inicijativu Međunarodnog komiteta urednika medicinskih časopisa (*International Committee of Medical Journal Editors*) **Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals. Ann Intern Med 1997; 126: 36–47. Updated October 2001.**

Delovi rada su 1) naslovna strana, 2) apstrakt sa ključnim rečima, 3) tekst rada, 4) zahvalnost (po želji), 5) literatura, 6) prilozi (tabele, slike). Stranice treba numerisati redom, počevši od naslovne strane. Broj stranice se stavlja u gornji ili donji desni ugao stranice.

1. Naslovna strana

- a) Naslov treba da bude kratak, jasan i informativan, na srpskom i engleskom jeziku, bez skraćenica i da odgovara sadržaju rada. Podnaslove treba izbegavati
- b) Ispisuju se puna imena i prezimena autora.
- v) Navode se puni nazivi ustanove i organizacijske jedinice u kojima je rad pripremljen i mesta u kojima se ustanove nalaze.
- g) Znacima *, †, ‡, ||, §, ¶, **, †† ... itd. identifikuje se koji je autor iz koje ustanove/organizacijske jedinice.
- d) Ime, adresa i telefonski brojevi (fiksni, mobilni, faks) i *e-mail* adresa za kontakt autora zaduženog za korespondenciju u vezi sa rukopisom.
- đ) Ime i adresa autora kome se mogu slati zahtevi za separate.
- e) Kratak naslov rada (do 40 znakova, uključujući i beline) na dnu naslovne strane.

2. Apstrakt i ključne reči

Na drugoj stranici se nalazi **strukturisani apstrakt**, koji se piše na srpskom i engleskom jeziku. Apstrakt se piše kratkim rečenicama. Iznose se kratki **uvod/cilj rada, metode** (osnovne procedure, izbor ispitanika ili laboratorijskih životinja; metode posmatranja i analize), **rezultati** (glavni nalazi, konkretni podaci i njihova statistička značajnost) i **zaključak**. Naglasiti nove i značajne aspekte studije ili zapažanja. Strukturisani apstrakt **originalnih članaka i metaanaliza** ima podnaslove: **uvod, metode, rezultati i zaključak** i piše se u **250–300** reči. Za kazuistiku strukturisani apstrakt ima **150–200** reči, sa podnaslovima **uvod, prikaz slučaja i zaključak**. Apstrakt za članke iz ostalih rubrika nije obavezan, a u koliko autori žele da ga pripreme, ne treba da bude strukturisan (ne treba da ima podnaslove), i piše se u najviše **150** reči. Ispod apstrakta, pod podnaslovom „Ključne reči“ dati 3–10 ključnih reči ili kratkih izraza koji oslikavaju sadržinu članka. One su samo pomoć u indeksiranju i ne moraju se u tom obliku obavezno naći u članku jer će se koristiti odgovarajući deskriptori, odnosno termini iz *Medical Subject Headings (MeSH)* liste *Index Medicus-a*.

3. Tekst članka

Originalni članci obavezno treba da sadrže sledeća poglavlja: **uvod, metode, rezultati i diskusija**. **Zaključak** može da bude posebno poglavlje ili se iznosi u poslednjem pasusu diskusije. Samo izuzetno dozvoljava se spajanje **rezultata i diskusije** u jedno poglavlje.

Uvod

Navesti hipotezu (ukoliko postoji) i ciljeve rada koji iz nje proističu. Ukratko izneti razloge za studiju ili posmatranje. Navesti samo strogo relevantne podatke iz literature i ne iznositi opširna razmatranja o predmetu rada. Ne iznositi podatke ili zaključke iz rada o kome se izveštava.

Metode

Jasno opisati izbor metoda posmatranja ili eksperimentalnih metoda (ispitanici ili eksperimentalne životinje). Identifikovati metode, aparaturu (ime i adresa proizvođača u zagradi) i proceduru dovoljno detaljno da bi se drugim autorima omogućilo ponavljanje rezultata. Za uhodane metode, uključujući i statističke, navesti samo podatke iz literature. Dati podatak iz literature i kratak opis za metode koje su publikovane, ali nisu dovoljno poznate. Opisati nove ili značajno modifikovane metode, izneti razlog za njihovo korišćenje i proceniti njihova ograničenja. Tačno identifikovati sve primenjene lekove i hemikalije, uključujući generičko ime, doze i načine primene (*im, per os, iv, sc, ip*, itd). Ne koristiti komercijalna imena lekova i drugih preparata.

Etika

Kada se izveštava o eksperimentu na ljudima, naglasiti da li je procedura sprovedena u skladu sa etičkim standardima Komiteta za eksperimente na ljudima ili sa Helsinškom deklaracijom. Obavezna je i **saglasnost nadležnog etičkog komiteta**. Ne iznositi imena, inicijale ili bolničke brojeve ispitanika, naročito ukoliko je materijal ilustrovan. Kod eksperimenata na životinjama naznačiti da li su poštovani principi o zaštiti životinja po propisima i zakonu.

Statistika

Detaljno opisati statističke metode da se dobro informisanom čitaocu omogući da proveriti iznesene rezultate. Kada je moguće, kvantifikovati nalaze i prikazati ih uz odgovarajuće pokazatelje greške (kao npr. SD, SE ili granice poverenja). Izbegavati oslanjanje samo na statističko testiranje hipoteze, kao što je vrednost *r*, što ne daje značajne kvantitativne informacije. Prodiskutovati prihvatljivost subjekata eksperimenta. Izneti detalje o randomizovanju (metodi slučajnog izbora). Opisati metode za slepo ispitivanje, izneti broj zapažanja. Izvestiti o gubicima kod zapažanja (kao npr. bolesnici koji otpadnu iz kliničkog ispitivanja). Podaci iz literature za dizajn studije i statističke metode treba, ako i kada je moguće, da budu standardni radovi radije nego članci u kojima je to prvi put objavljeno. Naglasiti ako je primenjen neki kompjuterski program koji je u opštoj upotrebi. Opis statističkih metoda treba smestiti u poglavlje

Metode.

Rezultati

Rezultate prikazati logičkim redosledom u tekstu, tabelama i ilustracijama. U tekstu ne ponavljati sve podatke iz tabela ili ilustracija; naglasiti ili sumirati samo značajna zapažanja.

Kada se sumiraju rezultati, naglasiti kojom statističkom metodom su analizovani. Tabele i slike ograničiti na one koje su neophodne da bi se objasnili i podržali stavovi u radu.

Slike treba koristiti umesto tabela sa mnogo podataka. Ne duplirati prikazivanje podataka slikom i tabelom. Definisati statističke termine, skraćenice i većinu simbola.

Diskusija

Naglasiti nove i značajne aspekte studije i zaključke koji iz njih slede. Ne ponavljati detaljno podatke ili drugi materijal koji je već prikazan u **uvodu** ili **rezultatima**. U diskusiju uključiti implikacije nalaza i njihova ograničenja uključujući i one za buduća istraživanja. 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 kategorične tvrdnje i zaključke koje podaci iz rada ne podržavaju u potpunosti. Izbegavati isticanje primata u nečemu i aluzije na rad koji nije dovršen. Izneti nove hipoteze kada je to opravdano, ali ih jasno naznačiti kao takve. Kada je to primereno, mogu se uključiti i preporuke.

Zaključak – kratke zaključne napomene sa jasnom porukom, a koje su proistekle iz rezultata istraživanja.

4. Zahvalnost

Iza zaključka, a ispred literature, kada je to potrebno, izneti u jednoj ili više rečenica (a) doprinos osobe kojoj treba odati priznanje, ali koja ne zaslužuje koautorstvo, kao npr. podrška šefa odeljenja; (b) zahvalnost za tehničku pomoć; (v) zahvalnost za finansijsku i materijalnu pomoć, uz naznačavanje vrste pomoći itd.

5. Literatura

Podatke iz literature treba numerisati onim redosledom kojim se pojavljuju u tekstu. Identifikovati reference u tekstu, tabelama i legendama **arapskim brojevima** u zagradi (1). Svi podaci o citiranoj literaturi moraju biti tačni. Preporuka je da se ne citiraju radovi iz časopisa koje ne indeksiraju *Current Contents*, *Index Medicus (Medline)* ili *Excerpta Medica*. **Svi radovi, bez obzira na jezik izvora**, citiraju se na engleskom jeziku, uz navođenje izvornog jezika u zagradi iza naslova (npr. Serbian, Russian, German, French, itd.)

Koristiti stil citiranja, kao u navedenim primerima, koji se koristi u *Index Medicus*-u. Ne prihvata se citiranje apstrakata, sekundarnih publikacija, usmenih saopštenja, nepublikovanih radova, službenih i poverljivih dokumenata. Mogu se prihvatiti citati radova koji su prihvaćeni za štampu, ali još nisu objavljeni.

Naznačuje se časopis i dodaje „*in press*“. Informacije iz rukopisa koji su predati ali još nisu prihvaćeni za štampu u tekstu se citiraju kao neobjavljeni podaci i ne navode se u popisu literature.

Primeri ispravnog oblika referenci:

Članci u časopisima

(1) Standardni članak u časopisu (navesti sve autore, ali ako broj prelazi šest, navesti šest i dodati et al (i dr.)
Jurhar-Pavlova M, Petlichkovski A, Trajkov D, Efińska-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.

Ako časopis ima kontinualno straničenje u celom volumenu, nije obavezno (ali je poželjno) navoditi broj sveske.

(2) Organizacija kao autor

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 164: 282–4.

(3) Bez autora

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84: 15.

(4) Volumen sa suplementom

Tadić V, Četković S, Knežević D. Endogenous opioids release: an alternative mechanism of cyanide toxicity? *Iugoslav Physiol Pharmacol Acta* 1989; 25 Suppl 7: 143–4.

(5) Sveska sa suplementom

Dimitrijević J, Đukanović Lj, Kovačević Z, Bogdanović R, Maksić Đ, Hrvačević R, et al. Lupis nephritis: histopathologic features, classification and histologic scoring in renal biopsy. *Vojnosanit Pregl* 2002; 59 (6 Suppl): 21–31.

(6) Volumen sa delom (Pt)

Ozben T, Nacitarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995; 32 (Pt 3): 303–6.

(7) Sveska sa delom

Poole GH, Mills SM. One hundred consecutive cases of flap lacerations of the leg in ageing patients. *N Z Med J* 1994; 107 (986 Pt 1): 377–8.

(8) Sveska bez volumena

Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995; (320): 110–4.

(9) Bez volumena i sveske

Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. *Curr Opin Gen Surg* 1993: 325–33.

(10) Paginacija rimskim brojevima

Fisher GA, Sikic BI. Drug resistance in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 Apr; 9 (2): xi–xii.

Knjige i druge monografije

(11) Pojedinaac kao autor

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

(12) Urednik (editor) kao autor

Balint B, editor. Transfusiology. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2004 (Serbian).

(13) Poglavlje u knjizi

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

(14) Zbornik radova sa kongresa

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15–19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

(15) Rad iz zbornika

Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: *Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O,* editors. *MEDINFO 92.* Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6–10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561–5.

(16) Disertacija

Knežević D. The importance of decontamination as an element of complex therapy of poisoning with organophosphorous compounds [dissertation]. Belgrade: School of Veterinary Medicine; 1988 (Serbian).

Ostali publikovani materijali

(17) Novinski članak

Vujadinović J. The inconsistency between federal and republican regulation about pharmacies. In between double standards (Serbian). *Borba* 2002 February 28; p. 5.

(18) Sveto pismo

Serbian Bible. Beograd: British and Foreign Biblical Society (In Serbian); 1981. Book of Isaiah 2: 19–22.

(19) Rečnici i slične reference

Kostić AĐ. Multilingual Medical Dictionary. 4th Edition. Beograd: Nolit; 1976. Erythrophobia; p. 173–4.

N e o b j a v l j e n i m a t e r i j a l

(20) U štampi (in press)

Pantović V, Jarebinski M, Pekmezović T, Knežević A, Kisić D. Mortality caused by endometrial cancer in female population of Belgrade. *Vojnosanit Pregl* 2004; 61 (2): *in press*. (Serbian)

E l e k t r o n s k i m a t e r i j a l

(21) Članak u elektronskom formatu

Morse SS. Factors in the emergence of infectious disease. *Emerg Infect Dis* [5serial online] 1995 Jan–Mar. Dostupno na URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid/htm>

(22) Monografija u elektronskom formatu

CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD-ROM]. Reeves JRT, Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995.

(23) Kompjuterska datoteka

Hemodynamics III: the ups and downs of hemodynamics [computer program]. Version 2.2. Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

Prilozi

Sistem **e-Ur: Elektronsko uređivanje časopisa**, omogućuje individualno postavljanje priloga, ili mogu biti u sastavu word datoteke, prema propozicijama Vojnosanitetskog pregleda iza odeljka literature.

Tabele

Svaka tabela kuca se sa dvostrukim proredom na posebnom listu hartije. Tabele ne prilagati u obliku fotografije. Obeležavati ih redosledom pojavljivanja, arapskim brojevima u desnom uglu (**Tabela 1**) i dati svakoj kratak naslov. Svaka kolona treba da ima kratko ili skraćeno zaglavlje. Objašnjenja se daju u fusnoti, ne u zaglavlju. U fusnoti se objašnjavaju sve nestandardne skraćenice koje se u tabeli koriste. Za fusnotu koristiti sledeće simbole ovim redosledom: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, itd.

Označiti statističke mere varijacije kao što su standardna devijacija (SD) i standardna greška (SE) srednje vrednosti (\bar{x}).

Ne koristiti horizontalne i vertikalne crte za razdvajanje redova i kolona u tabeli.

Svaka tabela mora obavezno da se pomene u tekstu.

Ako se koriste tuđi podaci iz objavljenog ili neobjavljenog izvora, obezbediti odobrenje autora i obavezno navesti kao i svaki drugi podatak iz literature.

Ne treba koristiti previše tabela u odnosu na dužinu teksta jer to stvara teškoće u prelomu.

Ilustracije (slike)

Svi grafički prilozi – fotografije, crteži, grafikoni, dijagrami, sheme – nazivaju se **slike** i predaju se u dva primerka (fotografije u jednom). Fotografije treba da budu oštre, crno-bele na glatkom i sjajnom papiru, do formata dopisnice, a maksimalno do 20 × 25 cm. Slova, brojevi i simboli treba da su jasni i ujednačeni, a dovoljne veličine da prilikom umanjivanja budu čitljivi. Naslovi i detaljna objašnjenja ne pišu se na samoj slici nego na legendama.

Na svakoj slici treba na poledini nalepiti natpis na kome treba označiti broj slike, ime prvog autora i gornji kraj slike (ne pisati direktno na fotografijama jer ih to oštećuje). Izbegavati upotrebu spajalica na fotografijama. Slike ne treba lepiti na karton.

Ako se koriste fotografije osoba (bolesnika), ne sme da se prepozna lik ili treba od osobe dobiti pismenu dozvolu za korišćenje fotografije. Na priložima (snimci rendgenom, skenerom, ultrazvukom itd.) treba ukloniti sve što može da identifikuje bolesnika. Slike treba obeležiti brojevima onim redom kojim se navode u tekstu (**Sl. 1; Sl. 2** itd.). Ukoliko je slika već negde objavljena treba citirati izvor uz eventualno pismeno odobrenje, ukoliko se radi o zaštićenom materijalu.

Legende za ilustracije

Legende za ilustracije pišu se na posebnom listu hartije, duplim proredom, koristeći arapske brojeve (SI. 1; SI. 2 itd.). Ukoliko se koriste simboli, strelice, brojevi ili slova za objašnjavanje pojedinih delova ilustracije, svaki pojedinačno treba objasniti u legendi. Za fotomikrografije treba navesti unutrašnju skalu i metod bojenja.

Merne jedinice

Sve mere iz hematologije i kliničke hemije treba da budu u metričkom sistemu prema Međunarodnom sistemu mera (SI). Krvni pritisak se navodi u mm Hg, a temperatura u ° C.

Skraćenice i simboli

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

Jezik

Srpski ▼

Veličina znakova



Početna > Prijava

Prijava

Korisničko ime petarpetrovic

Lozinka ●●●●●●

 Zapamti moje korisničko ime i lozinku

Prijava

- » Niste korisnik? Registrujte se u ovaj sistem!
- » Zaboravili ste lozinku?

Tehničko uputstvo za korišćenje sistema e-Ur: Elektronsko uređivanje časopisa

<http://scindeks-ur.ceon.rs/index.php/vsp>

Poštovani,

Vojnosanitetski pregled otpočeo je sa elektronskim uređivanjem kroz sistem e-Ur pripremljenim u Centru za evaluaciju u obrazovanju i nauci (CEON).

Pred VSP-om nalaze se veoma strogi zahtevi koje postavlja važeći Akt o uređivanju naučnih časopisa, koje jedan časopis mora da ispunjava kako bi imao status naučnog. Stepem usaglašenosti sa uslovima koje postavlja Akt o uređivanju naučnih časopisa osnov je za kategorizaciju naučnih časopisa.

Svi uslovi koji se postavljaju pred naš časopis automatski su ispunjeni pristupanjem sistemu elektronskog uređivanja e-Ur.

Pomoću sistema elektronskog uređivanja celokupan uređivački postupak daleko je jednostavniji, brži i transparentniji, a autor ima u svakom trenutku uvid u kojoj se fazi uređivačkog postupka nalazi njegov rad.

Autorima je dostupno uputstvo, koje sadrži tehničke zahteve sa kojima je potrebno usaglasiti buduće radove.

Sa zahvalnošću za razumevanje i napore koje ćemo zajedno uložiti kako bismo naš VSP osavremenili i usaglasili sa važećim uslovima, na zajedničku korist svih, dostavljamo Vam ovo detaljno tehničko uputstvo za korišćenje sistema e-Ur.

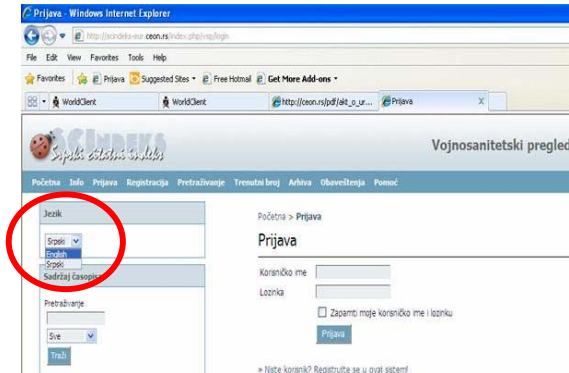
Uredništvo
Vojnosanitetskog pregleda

Tehničko uputstvo za korišćenje sistema
e-Ur: Elektronsko uređivanje časopisa
<http://scindeks-eur.ceon.rs/index.php/vsp>

1. Pravljenje korisničkog naloga - Registracija korisnika u sistem

Na web adresi

<http://scindeks-eur.ceon.rs/index.php/vsp>



U levom frame-u izaberite jezik: srpski ili engleski

a) kliknuti na opciju **Registracija** u gornjem levom uglu, na tamno plavoj traci



b) Na stranici za registraciju:

- **koristite isključivo LATINICU** bilo da podatke unosite na srpskom ili engleskom jeziku
- **obavezno popunite sva polja koja su označena zvezdicom (*)**, bez toga nećete moći da dovršite proces registracije. U slučaju da neko zaboravite, sam sistem će Vam reći šta još treba da popunite pre nego što završite registraciju
- Poželjno je da popunite i ostala polja, ali to ćete moći i naknadno uraditi preko opcije *moj profil*, kada se prijavite na svoj nalog. Takođe sve podatke o sebi, kao o korisniku, moguće je kasnije izmeniti.
- Zapišite na sigurno mesto vaše korisničko ime i loziku, u slučaju da je zaboravite.
- Stranicu **OBAVEZNO POPUNITI DVA PUTA**, i na srpskom i na engleskom jeziku na sledeći način:

- Proveriti da li je u prvom polju **Jezik obrasca** podešena opcija **Srpski**
- Uneti sve podatke koji slede na srpskom jeziku **LATINICOM**

Profil	
Jezik obrasca	Srpski ▼ Ukoliko želite da unesete
Korisničko ime*	<input type="text"/>

- U prvom polju **Jezik obrasca** podesiti opciju **English**
- Uneti sve podatke na engleskom jeziku

Profil	
Jezik obrasca	English ▼ Ukoliko želite da unesete
Korisničko ime*	<input type="text"/>

- Poslednje opcije se odnose na Vaš status u časopisu (Autor, Recenzent)

- Ukoliko ste primili zahtev za recenziju Vaša uloga može biti dvostruka i ovde se možete prijaviti i kao autor i kao recenzent

- Naposljetku kliknite na plavo dugme **Registracija**, u dnu stranice.
- Završili ste postupak registracije i automatski ste prijavljeni na svoj nalog.
- Za odjavu iz naloga (v. *uputstvo pod 2.b*)

2. Prijava prethodno registrovanog korisnika – uređivanje profila; odjava

- a) Na veb adresi

<http://scindeks-eur.ceon.rs/index.php/vsp>

- b) uneti korisničko ime i lozinku i kliknuti na plavo dugme **Prijava**

- c) Podake o Vama možete u svakom trenutku menjati u opciji **Moj profil**, u meniju sa leve strane. Ulaskom u ovu opciju naći ćete se na identičnoj stranici kao prilikom registracije Vašeg naloga (v. *uputstvo pod 1.c*) – Nakon unetih izmena pritiskom na dugme **Sačuvaj** izvršićete izmene u Vašem profilu.
- d) Po završetku rada odjavite se pritiskom na opciju **Odjava**, u meniju sa leve strane.

3. Prijava novog priloga – predavanje prve verzije rada Uredništvu

- a) Po prijavi (v. *uputstvo 2.a*) odaberite opciju **Autor**.

Početna > **Korisnička strana**

Korisnička strana

Vojnosanitetski pregled

> **Autor**

- b) Za početak prijave priloga izaberite opciju **Kliknite ovde**

- c) **Nalazite se na 1. koraku prijave priloga – početak**

Obavezno popunite sva polja koja su označena zvezdicom (*), bez toga nećete moći da pređete na sledeći korak. U slučaju da neko polje zaboravite, sam sistem će Vas obavestiti šta još treba da popunite pre nego Vam dozvoli da pređete na sledeći korak.

- e) Prvo je neophodno da odaberete odgovarajuću **Rubriku** za Vaš prilog. Rubriku morate odabrati, a Glavni urednik, ukoliko bude smatrao da Vaš prilog ne spada u odabranu rubriku, izvršiće potrebnu promenu.

1.korak Započnite s prijavom priloga

1. POČETAK 2. METAPODACI 3. PRILAGANJE DATOTEKE 4. DODATNE DAT

Rubrika časopisa

Odaberite odgovarajuću rubriku za Vaš prilog (pogledajte Rubrike po

Rubrika* Molimo odaberite rubriku...

- f) Neophodno je da Vaš **rad ispunjava sve postavljene tehničke zahteve**, nezavisno od toga koliko ih je u datom trenutku prijave postavljeno i da li su eventualno promenjeni od poslednjeg puta kada ste prijavljivali prilog.

Pročitajte ih pažljivo i potvrdite samo onda kada Vaš rad zaista ispunjava date uslove. Ukoliko Vaš rad to ne ispunjava, uredite ga i potom nastavite postupak prijave. Tek kada budete sigurni da Vaš rad ispunjava postavljene uslove **označite predviđena polja sve kockice**.

Na ovaj način preuzimate odgovornost da Vaš prilog zaista i ispunjava postavljene uslove, na osnovu čega će biti doneta odluka o ulasku u uređivački postupak.

Uslovi za pred

Potvrdite da je Va

<input checked="" type="checkbox"/>	Prijavljen
<input checked="" type="checkbox"/>	se pod "h
<input checked="" type="checkbox"/>	Datoteka
<input checked="" type="checkbox"/>	URL adre
<input checked="" type="checkbox"/>	Tekst je
<input checked="" type="checkbox"/>	Ilustracij
<input checked="" type="checkbox"/>	rada (pa
<input checked="" type="checkbox"/>	Tekst isp
<input checked="" type="checkbox"/>	Poštovan
<input checked="" type="checkbox"/>	Naveden
<input checked="" type="checkbox"/>	Sažeci i
<input checked="" type="checkbox"/>	određeni

- g) Pređite na sledeći korak pritiskom na dugme u dnu **Sačuvaj i nastavi**

h) **Nalazite se na 2. koraku prijave priloga – metapodaci**

Ovo je **najznačajniji korak** u prijavi novog priloga.

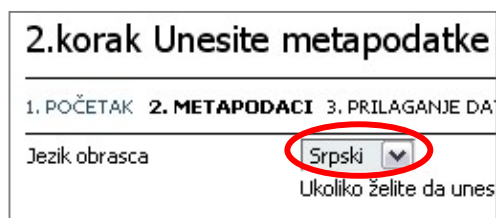
Metapodaci su podaci o radu koji se, nezavisno od toga što se oni uključuju u sam rad, **posebno unose u sam sistem** kako bi pratili rad i omogućili dalje praćenje citiranosti rada i ostalih relevantnih parametara.

Metapodaci uključuju:

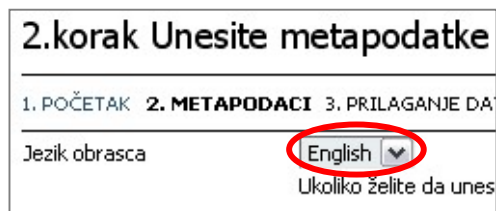
- Podatke o autoru
 - Naslov i sažetak
 - Pojmovne odrednice (ključne reči) koje će naknadno biti automatski dodeljene od strane stručnog indeksa a pomoću servisa KWAS
 - Ostale podatke
- Potrebno je da metapodatke **unesete isključivo LATINICOM** bilo da podatke unosite na srpskom ili engleskom jeziku.
- **Podatke o autoru** sam sistem preuzima sa Vašeg profila. Oni takođe **moraju biti ispisani LATINICOM**. U slučaju da nisu, treba ih LATINICOM uneti u Vaš profil (*v. uputstvo pod 2.a) i 2.b)*
- **Obavezno popunite sva polja koja su označena zvezdicom (*)**. U slučaju da neki podatak zaboravite, sam sistem će Vam reći šta još treba da popunite pre nego Vam dozvoli prelazak na sledeći korak. Poželjno je da popunite i ostala polja.

i) Stranicu **OBAVEZNO POPUNITI DVA PUTA**, i na srpskom i na engleskom jeziku na sledeći način:

- Proveriti da li je u prvom polju **Jezik obrasca** podešena opcija **Srpski**
- Uneti sve metapodatke koji slede na srpskom jeziku **obavezno LATINICOM**
- ukoliko koristite funkciju **paste – zalepi**, vodite računa da ne prenesete metapodatke na ćirilici. (Obavezno koristiti opciju „paste from Word“)



- U prvom polju **Jezik obrasca** podesiti opciju **English**
- Uneti sve metapodatke na engleskom jeziku

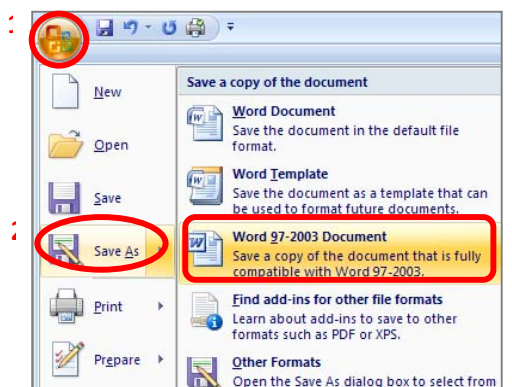


j) Pređite na sledeći korak pritiskom na dugme u dnu **Sačuvaj i nastavi**

k) **Nalazite se na 3. koraku prijave priloga – prilaganje datoteke**

- Na ovom koraku u sistem podnosite samu **datoteku (fajl) u WORD formatu (.doc)**
- Vodite računa da se Vaš **rad podnosi u verziji koja tek treba da ide na ocenu recenzentu**. Ne treba podnositi rad koji je prošao postupak recenzije izvan sistema. Smisao sistema **e-Ur** jeste upravo u vršenju uređivačkog, time i postupka recenzije kroz sistem, na osnovu čega se vrši evaluacija kvaliteta uređivanja časopisa, pa i samog rada.
- **Datoteka (fajl) se podnosi u nekom od tekstualnih formata**
- U slučaju da koristite **Microsoft WORD 2007**, **želite da prijavite rad u WORD 2003 ili ranije verzije** sledite sledeći postupak:

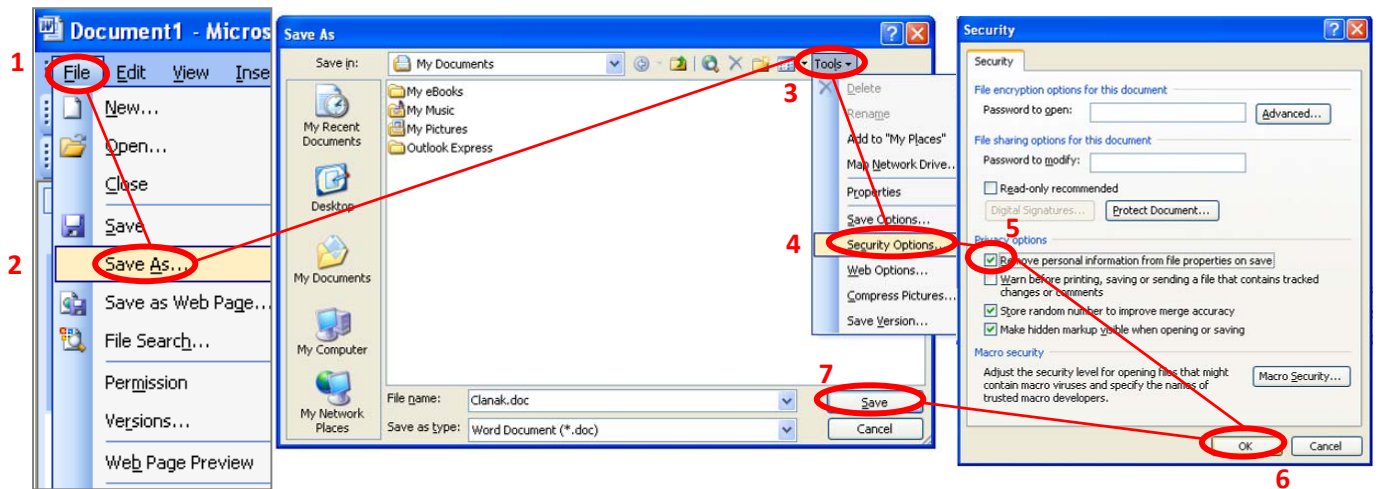
1. Kliknite na **Office button** u gornjem levom uglu prozora
2. potom izaberite opciju **Save As**
3. Kao format vašeg dokumenta odaberite **Word 97-2003 Document** nakon čega će se pojaviti uobičajeni prozor u kome ćete izabrati lokaciju za čuvanje, upisati ime i sačuvati dokument.



- U slučajevima kada se Autor poziva na svoju knjigu ili članak, **neophodno je izostaviti oblike sa prisvojnim pridevima „moj rad“, „naš rad“ i sl.** i pozivati se kao da je u pitanju drugi autor (npr. *Videti više o tome Petrović, P...*).
- Neophodno je da **autor u datoteci (fajlu) Microsoft Word iz Properties ukloni ličnu identifikaciju** na sledeći način:

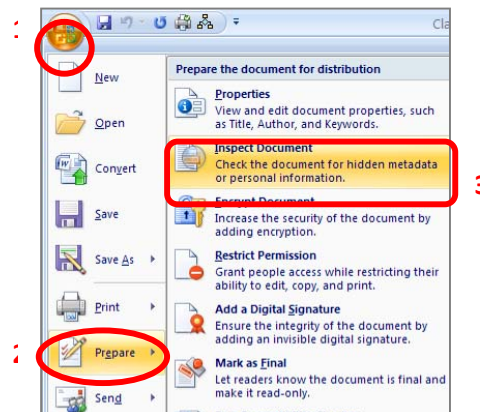
o Za verzije Word zaključno sa 2003:

File > Save As > Tools > Security > Remove personal information from file on save > OK > Save

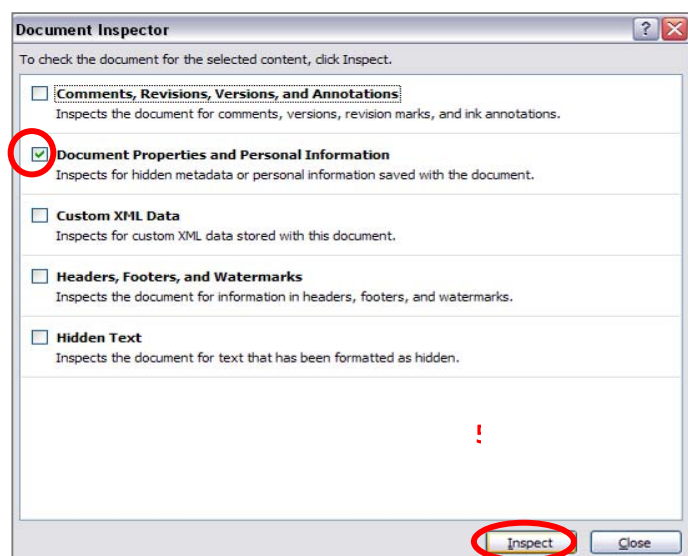


o Za verziju Word 2007:

1. Kliknite na **Office button** u gornjem levom uglu prozora
2. potom izaberite opciju **Prepare**
3. zatim izaberite opciju **Inspect Document**



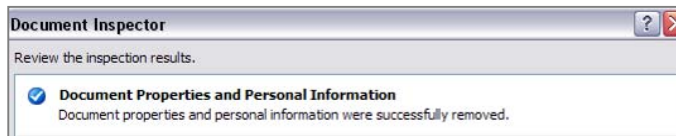
4. označite **Document Properties and Personal Information**
5. kliknite na dugme **Inspect**



6. kliknite na dugme **Remove All**



7. program će potvrditi brisanje ličnih podataka



8.

9. kliknite na dugme **Close**

- Zahtev anonimnosti recenzije postavlja važeći Akt o uređivanju naučnih časopisa, donet od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj, koji je moguće pronaći na internet adresi: http://ceon.rs/pdf/akt_o_uredjivanju_casopisa.pdf
- Datoteka (fajl) u WORD formatu **moraju** u sebi sadržati sve metapodatke (naslov, sažetak, ključne reči...) i na srpskom i na engleskom, identične onima koje ste uneli u prethodnom koraku (korak 2 – metapodaci; v. uputstvo pod 3.g)
- U slučaju da tokom procesa recenziranja dođe do promene metapodataka, Glavni urednik časopisa će izvršiti njihovu izmenu.

3.korak Prilaganje datoteke

1. POČETAK 2. METAPODACI 3. PRILAGANJE DATOTEKE 4. DODATNE DATOTEKE 5. POTVRDA

Da biste priložili rukopis, unesite naziv odgovarajuće datoteke na lokanom disku Vašeg računara, uključujući i putanju do datoteke. To možete učiniti tako da:

1. Kliknite (dole) na *Browse* (ili *Choose file*), čime otvarate prozor za navigaciju u Vašem računaru.
2. Locirajte datoteku i označite je.
3. Kliknite na *Open* u prozoru *Choose File*, čime upisujete naziv datoteke u odgovarajući prostor sistema e-Ur.
4. Kliknite na *Pošalji datoteku*, čime se datoteka s računara prenosi na e-Ur stranicu časopisa.
5. Kada se naziv i podaci o datoteci ispišu na ekranu, kliknite na *Sačuvaj i nastavi*.

Sadržaj priložene datoteke možete da proverite ukoliko kliknete na njen naziv. Pritom možete da je zamenite novom ili revidiranom datotekom.

Datoteka s prilogom

Datoteka još nije priložena.

Postavi datoteku priloga

Browse...

Pošalji datoteku

Sačuvaj i nastavi

Poništi

l) Sledite detaljna uputstva za prilaganje datoteke koja sadrži Vaš rad, koja su Vam data na stranici na kojoj se nalazite:

m) **Nalazite se na 4. koraku prijave rada – prilaganje dodatne datoteke**

- Ovaj korak **NIJE OBAVEZAN**. Omogućava prilaganje dodatnih datoteka prilogu ukoliko postoji potreba za istima.
- Pravila o uređivanju Vojnosanitetskog pregleda u Beogradu nalažu da se sve **slike, skice, grafikoni i sl. prilože radu kao prilog van konteksta word teksta u kome je označeno gde će biti prilog.**

n) **Nalazite se na 5. koraku prijave priloga – potvrda prijave priloga**

- Poslednji korak Vam omogućava da **klikom na ime datoteke** u polju *Izvorno ime datoteke* prekontrolišete poslednji put da li ste u sistem položili odgovarajući dokument.

Kratak pregled datoteke	
ID	IZVORNO IME DATOTEKE
86	CLANAK.DOC

- U slučaju da utvrdite da ste podneli pogrešan dokument, pre dovršetka prijave priloga, kliknite na opciju **3. Prilaganje datoteke** i naći ćete se na 3. koraku prijave priloga. Ponovite postupak (v. *uputstvo pod 3.j*) i izaberite odgovarajući dokument koji će zameniti stari.

5.korak Potvrdite prijavljivanje priloga				
1. POČETAK	2. METAPODACI	3. PRILAGANJE DATOTEKE	4. DODATNE DATOTEKE	5. POTVRDA

- Klikom na dugme **Dovrši prijavu priloga** završavate postupak i Vaš rad je tog momenta predat Uredništvu.

4. Postupak nakon predaje priloga

- Nakon obavljenog postupka predaje priloga Vaš rad se nalazi u postupku uređivanja, o čijem toku ćete od samog početka biti obavestavani putem e-mejl adrese koju ste uneli u sistem prilikom registracije. Molimo Vas da elektronsku poštu na adresi koju ste uneli prilikom registracije proveravate redovno.
- Promena e-mejl adrese, putem koje će Vas sistem obavestavati Vašem prilogu, moguće je promeniti pod opcijom **Moj profil** (v. *uputstvo pod 1.c*)

- Osim putem obaveštenja elektronskom poštom, u svakom trenutku prijavom u sistem (v. uputstvo pod 2) možete videti u kojoj se fazi nalazi Vaš rad.
- Po izvršenoj prijavi (v. uputstvo 3.a) odaberite opciju **Autor**.
 - Pred Vama će se otvoriti prozor **Aktivni priloz** u kome ćete moći da vidite status svih Vaših priloga koje ste podneli Uredništvu.
 - Klikom na aktivne opcije možete se informisati:

- o samom prilogu klikom na aktivni naslov priloga
- o postupku uređivanja i rokovima u kojima će određene faze uređivačkog postupka biti realizovane, klikom na aktivni status priloga

Početna > Korisnik > Autor > Aktivni priloz

Aktivni priloz

AKTIVNO ARHIVA

ID	MM-DD PRILOZI	RUBRIKA	AUTOR(I)	1 NASLOV	2 STATUS
61	10-11	ČLA	Petrović	ČLANAK	U RECENZIJU

1 - 1 od 1 stavke/ŕ

Započnite prijavu novog priloga
 Za početak prijave priloga [KLIKNIŠTE OVDE](#).

Početna > Korisnik > Autor > Priloz > #61 > Recenzija

Recenzija br.61

PREGLED PRILOGA **RECENZIJA** UREĐIVANJE

Prilog

Autor(i) Petar Petrović

Naslov Članak

Rubrika Članak

Glavni urednik Dragiša Drakić

Recenzija

Krug 1

Verzija u recenziji 61-88-1-RV.DOCX 2009-10-11

Započeto —

Zadnja izmena 2009-10-11

Poslata datoteka Ne postoji

Odluka urednika

Odluka —

Obaveštavanje Dosadašnja korespondencija

Urednikova verzija Ne postoji

Autorova verzija Ne postoji

Predajte prepravljenu

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. **Primaju se radovi napisani samo na engleskom jeziku.**

Od 1. januara 2012. godine Vojnosanitetski pregled prelazi na e-Ur: Elektronsko uređivanje časopisa.

Svi korisnici sistema: autori, recenzenti i urednici moraju biti registrovani jednoznačnom e-mail adresom. Registraciju je moguće izvršiti na adresi:

<http://scindeks-eur.ceon.rs/index.php/vsp>

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 prilozii. Radovi tipa originalnih članaka, prethodnih ili kratkih saopštenja, metaanalize i kazuistike **objavljaju se uz apstrakte na srpskom i engleskom jeziku.**

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

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

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 tri dana. Rukopisi radova prihvaćenih za štampu ne vraćaju se autoru.

Priprema rada

Delovi rada su: **naslovna strana, apstrakt sa ključnim rečima, tekst i literatura.**

1. Naslovna strana

- Naslov treba da bude kratak, jasan i informativan i da odgovara sadržaju rada. Podnaslove treba izbegavati.
- Ispisuju se puna imena i prezimena autora.
- 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 eksperimentalne životinje, uključujući kontrolne). Identifikovati metode, aparaturu (ime i adresa proizvođača u zagradi) i proceduru, dovoljno detaljno da se drugim autorima omogući reprodukcija rezultata. Navesti podatke iz literature za uhodane metode, uključujući i statističke. Tačno identifikovati sve primenjene lekove i hemikalije, uključujući generičko ime, doze i načine davanja. Za ispitivanja na ljudima i životinjama navesti saglasnost etičkog komiteta.

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

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

Literatura

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

Primeri oblika referenci:

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

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

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

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

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

Tabele

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

Ilustracije

Slikama se zovu svi oblici grafičkih priloga i predaju se u tri primerka i na disketi (CD). Fotografije treba da budu oštre, na glatkom i sjajnom papiru, do formata dopisnice. Slova, brojevi i simboli treba da su jasni i ujednačeni, a dovoljne veličine da prilikom umanjivanja budu čitljivi. Na svakoj slici treba na poledini, 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 pregled (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.

From January 1, 2012 the Vojnosanitetski pregled is going to be edited using the service e-Ur: Electronic Journal Editing.

All users of the system: authors, editors and reviewers have to be registered users with only one e-mail address. Registration should be made on the web-address:

<http://scindeks-eur.ceon.rs/index.php/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, 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).

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 3 days. Manuscripts accepted for publication are not being returned.

Preparation of manuscript

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

1. Title page

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

2. Abstract and key words

The second page should carry a structured abstract with the title for original articles, 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. **Struc-tured** 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, Efinska-Mladenovska O, Arsov T, Strezova A, et al. Influence of the elevated ambient temperature on immunoglobulin G and immunoglobulin G subclasses in sera of Wistar rats. *Vojnosanit Pregl* 2003; 60(6): 657–612.

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

Blinder MA. Anemia and Transfusion Therapy. In: Ahya NS, Flood K, Paranjothi S, editors. *The Washington Manual of Medical Therapeutics*, 30th edition. Boston: Lippincott, Williams and Wilkins; 2001. p. 413–28.

Christensen S, Oppacher F. An analysis of Kozal'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>

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 2012. godinu iznosi: 4 000 dinara za građane Srbije, 8 000 dinara za ustanove iz Srbije i 150 € za strane državljane i ustanove. Sredstva se uplaćuju na tekući račun Vojnomedicinske akademije Beograd kod Uprave za javna plaćanja u Beogradu broj: **840-941621-02 VMA (za Vojnosanitetski pregled ili za VSP), PIB 102116082**. 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 2012. godinu iznosi: 4 000 dinara za građane Srbije, 8 000 dinara za ustanove iz Srbije i 150 € za strane državljane i ustanove. Sredstva se uplaćuju na tekući račun Vojnomedicinske akademije Beograd kod Uprave za javna plaćanja u Beogradu broj: **840-941621-02 VMA (za Vojnosanitetski pregled ili za VSP), PIB 102116082**. 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 _____

