

СРПСКИ АРХИВ

ЧАСОПИС СРПСКОГ ЛЕКАРСКОГ ДРУШТВА ОСНОВАН 1872. ГОДИНЕ

ЗА ЦЕЛОКУПНО ЛЕКАРСТВО

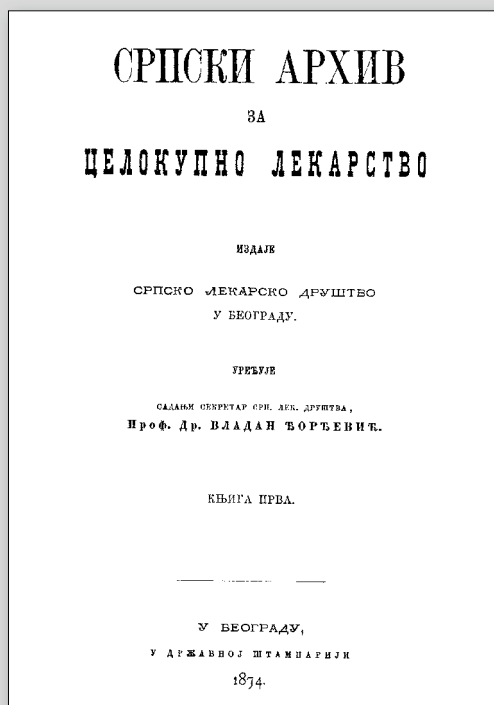


ГОДИШТЕ 142.
МАЈ–ЈУН 2014.
СВЕЦКА 5-6

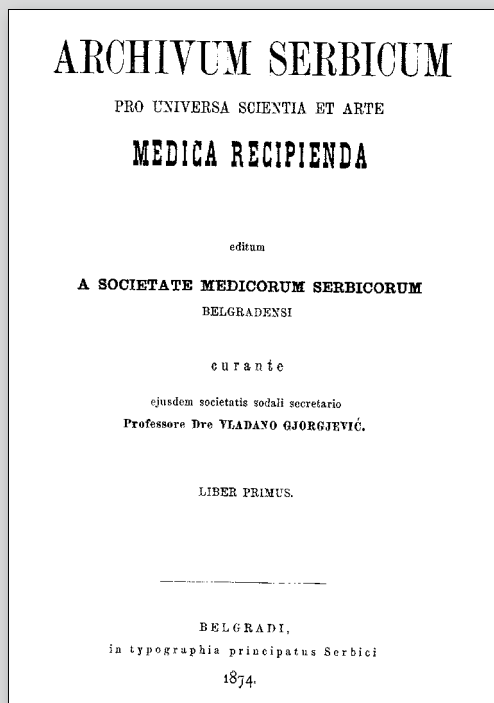
VOLUME 142
MAY–JUNE 2014
NUMBER 5-6

SERBIAN ARCHIVES OF MEDICINE

OFFICIAL JOURNAL OF THE SERBIAN MEDICAL SOCIETY FOUNDED IN 1872



Факсимил текста на српском језику на првој страници прве свеске часописа, објављене 1874. године (две године после оснивања часописа).



Facimile of the text in Latin language of the title page of the first Journal edition published in 1874 (two years after the Journal was founded)

Српски архив за целокупно лекарство је часопис Српског лекарског друштва основан 1872. године, у којем се објављују радови чланова Српског лекарског друштва, претплатника часописа и чланова других друштава медицинских и сродних струка. Часопис објављује: оригиналне радове, саопштења, приказе болесника, прегледе литературе, актуелне теме, радове из историје медицине, радове за праксу, радове који се односе на језик медицине, радове из медицинске етике (клиничка етика, етика публиковања, регулаторни стандарди у медицини), извештаје с конгреса и стручних састанака, стручне вести, приказе књига и дописе за рубрике *Сећање*, *In memoriam* и *Promemoria*, као и коментаре и писма Уредништву у вези с објављеним радовима.

Сви рукописи који се разматрају за штампање у „Српском архиву за целокупно лекарство“ не могу да се поднесу или да буду разматрани за публикавање на другим местима. Радови не смеју да буду претходно штампани на другим местима (делимично или у потпуности).

Приспели рукопис Уређивачки одбор шаље рецензентима ради стручне процене. Уколико рецензенти предложе измене или допуне, копија рецензије се доставља аутору с молбом да унесе тражене измене у текст рада или да аргументовано образложи своје неслагање с примедбама рецензента. Коначну одлуку о прихватању рада за штампу доноси главни и одговорни уредник.

За објављене радове се не исплаћује хонорар, а ауторска права се преносе на издавача. Рукописи и прилози се не враћају. За репродукцију или поновно објављивање неког сегмента рада публикованог у „Српском архиву“ неопходна је сагласност издавача.

Радови се штампају на српском језику, ћирилицом, са кратким садржајем на српском и енглеском језику, односно на енглеском језику са кратким садржајем на енглеском и српском језику.

Аутори прихватају потпуну одговорност за тачност целокупног садржаја рукописа. Материјал публикације представља мишљење аутора и није нужно одраз мишљења Српског лекарског друштва. С обзиром на брз напредак медицинске научне области, корисници треба да независно процењују информацију пре него што је користе или се на њу ослањају. Српско лекарско друштво, уредник или Уређивачки одбор „Српског архива за целокупно лекарство“ не прихватају било какву одговорност за наводе у радовима. Рекламни материјал треба да буде у складу с етичким (медицинским) и правним стандардима. Рекламни материјал укључен у овај часопис не гарантује квалитет или вредност оглашеног производа, односно тврдње произвођача.

Поднесени рукопис подразумева да је његово публиковање одобрио одговорни ауторитет установе у којој је истраживање обављено. Издавач се неће сматрати правно одговорним у случају подношења било каквог захтева за компензацију. Треба да се наведу сви извори финансирања рада.

Serbian Archives of Medicine is the Journal of the Serbian Medical Society, founded in 1872, which publishes articles by the members of the Serbian Medical Society, subscribers, as well as members of other associations of medical and related fields. The Journal publishes: original articles, communications, case reports, review articles, current topics, articles of history of medicine, articles for practitioners, articles related to the language of medicine, articles on medical ethics (clinical ethics, publication ethics, regulatory standards in medicine), congress and scientific meeting reports, professional news, book reviews, texts for “In memory of...”, i.e. In memoriam and Promemoria columns, as well as comments and letters to the Editorial Board in relation to the published papers.

All manuscripts under consideration in the Serbian Archives of Medicine may not be offered or be under consideration for publication elsewhere. Articles must not have been published elsewhere (in part or in full).

The submitted manuscripts are forwarded by the Editorial Board to reviewers for editing and evaluation. If the reviewers find that the manuscript needs to be modified or amended, the copy of the report is sent to the author(s), requiring of them to make necessary modifications or amendments of the text or to provide argumentative explanation of their disagreement with the suggested reviewer's remarks. The final decision on acceptance of the article for publication is made by the Editor-in-Chief.

The authors shall not be remunerated for the published articles, and they are required to assign copyright of their papers to the publisher. Manuscripts and enclosures shall not be returned to the authors. Reproduction or repeated publication of any section of the manuscript already published in the “Serbian Archives” requires the publisher's approval.

The articles are printed in the Serbian language, Cyrillic alphabet, with an abstract in Serbian and English, or in the English language with an abstract both in English and Serbian.

Authors accept full responsibility for the accuracy of all content within the manuscript. Material in the publication represents the opinions of the authors and does not necessarily reflect opinions of the Serbian Medical Society. Because of rapid advances in the medical sciences, users should independently evaluate information before using or relying on it. Serbian Medical Society, the Editor or Editorial Board of the Serbian Archives of Medicine does not accept any responsibility for the statements in the articles. Advertising material is expected to conform to ethical (medical) and legal standards. Inclusion of advertising material in this publication does not guarantee the quality or value of such product or claims made by its manufacturer.

Submission of the manuscript implies that its publication has been approved by the responsible authorities at the institution where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should be any claims for compensation. Details of all funding sources for the work should be given.



ИЗДАВАЧ

Српско лекарско друштво
Џорџа Вашингтона 19, 11000 Београд, Србија
Председник: академик Радоје Чоловић
Председник Издавачког савета:
прим. др Мирјана Лапчевић
Интернет страна: <http://www.sld.org.rs>

АДРЕСА УРЕДНИШТВА

Српско лекарско друштво
Џорџа Вашингтона 19, 11000 Београд, Србија
Телефон: +381 (0)11 3245 149
Е-пошта: srparhiv@bvcom.net
Интернет страна: www.srp-arh.rs

ПРЕТПЛАТА И ЕКСПЕДИЦИЈА

Српско лекарско друштво
Џорџа Вашингтона 19, 11000 Београд, Србија
Телефон: +381 (0)11 3346 963
Текући рачуни: 205-8041-21 и
355-1009094-22

Чланци су у целости доступни на интернет
страници: www.srp-arh.rs

Цена претплате за календарску годину је 3.000
динара за појединце, 6.000 динара за установе
и 100 евра за читаоце ван Србије. Цена поједи-
начног примерка је 600 динара, а свеске из прет-
ходних година 300 динара.

Штампање „Српског архива за целокупно
лекарство“ током 2014. године помогли
су Министарство просвете, науке и
технолошког развоја и Министарство
здравља Републике Србије.

Copyright © 2014 Српско лекарско друштво.
Сва права заштићена.

Није дозвољено да се ниједан део ове публикације користи,
репродукује, чува у датотекама у систему коришћења или
преноси у било којем облику или било каквим средствима
(електронским, механичким, фотокопирањем, преснима-
вањем или било којим другим начином) без претходно до-
бијене писане сагласности издавача. Фотокопије су до-
звољене за личну или институционалну употребу. Више-
струко копирање садржаја публикације је увек противза-
конито.

ISSN 0370-8179; ISSN Suppl 0354-2793

Штампано у Србији
www.sld.org.rs
www.srp-arh.rs

Часопис „Српски архив за целокупно лекарство“ је индексиран у базама:
Science Citation Index Expanded, Journal Citation Reports/Science Edition,
Index Medicus (Medline, PubMed), Web of Science, Scopus, EBSCO, Directory of
Open Access Journals, DOI Serbia.

ГЛАВНИ И ОДГОВОРНИ УРЕДНИК

Проф. др Павле Миленковић

ЗАМЕНИК ГЛАВНОГ И ОДГОВОРНОГ УРЕДНИКА

Проф. др Зоран Латковић

ПОМОЋНИЦИ ГЛАВНОГ И ОДГОВОРНОГ УРЕДНИКА

Академик Небојша Лалић

Академик Миодраг Чолић

Проф. др Зоран Вукашиновић

ЧЛАНОВИ УРЕЂИВАЧКОГ ОДБОРА

Проф. др Бела Балинт
Проф. др Бранко Белеслин
Академик Владимир Бумбаширевић
Проф. др Марко Бумбаширевић
Др Љиљана Вучковић-Декић, научни саветник
Проф. др Љиљана Гојковић-Букарица
Проф. др Слободан Голубовић
Проф. др Мирјана Готић
Проф. др Љубица Ђукановић
Др сц. мед. Славица Жижић-Борјановић
Проф. др Татјана Илле
Проф. др Љиљана Јаношевић
Проф. др Ђорђе Јевтовић
Академик Владимир Костић
Проф. др Радојка Коцијанчић
Проф. др Јелена Милашин
Проф. др Марија Мостарица-Стојковић
Проф. др Недељко Радловић
Проф. др Зоран Радовановић
Проф. др Небојша Радунковић, дописни члан САНУ
Проф. др Драгослав Стаменковић
Академик Владисав Стефановић
Проф. др Миодраг Стојковић
Проф. др Едита Стокић
Проф. др Милица Чоловић
Академик Радоје Чоловић

МЕЂУНАРОДНИ УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР

Prof. dr Achilles Anagnostopoulos (Грчка)
Prof. dr Athanassios Athanassiou (Грчка)
Prof. dr Henry Dushan Edward Atkinson (Велика Британија)
Prof. dr Mila Goldner-Vukov (Аустралија)
Prof. dr Nagy Habib (Велика Британија)
Prof. dr Rajko Igić (САД)
Prof. dr Bernhard Maisch (Немачка)
Prof. dr Gordana Matijašević-Cavrić (Босна и Херцеговина)
Prof. dr Veselin Mitrović (Немачка),
Prof. dr Andreas Nidecker (Швајцарска)
Prof. dr Ljupčo T. Nikolovski (Македонија)
Prof. dr Dan V. Poenaru (Румунија)
Prof. dr Tatjana Stanković-Taylor (Велика Британија)
Prof. dr Vladan Starčević (Аустралија)
Prof. dr Igor Švab (Словенија)
Prof. dr A. Malcolm R. Taylor (Велика Британија)
Prof. dr Gaetano Thiene (Италија)
Prof. dr Peter H. Wiernik (САД)

Лектор за српски језик: Исидора Илић

Лектор за енглески језик: Татјана Пауновић

Секретар Уредништва: Александар Божић

Прелом текста и припрема за штампу: Саша Бешевић

Штампа: ЈП „Службени гласник“, Београд

Тираж: 700 примерака



SERBIAN ARCHIVES OF MEDICINE

VOLUME 142

MAY-JUNE 2014

NUMBER 5-6

The journal "Srpski arhiv za celokupno lekarstvo" (Serbian Archives of Medicine) is indexed in: Science Citation Index Expanded, Journal Citation Reports/Science Edition, Index Medicus (Medline, PubMed), Web of Science, Scopus, EBSCO, Directory of Open Access Journals, DOI Serbia.

EDITOR-IN-CHIEF

Prof. Pavle Milenković, MD, PhD

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Prof. Zoran Latković, MD, PhD

ASSOCIATE EDITORS

Prof. Nebojša Lalić, MD, PhD, MSASA

Prof. Miodrag Čolić, MD, PhD, MSASA

Prof. Zoran Vukašinović, MD, PhD

MEMBERS OF THE EDITORIAL BOARD

Prof. Bela Balint, MD, PhD

Prof. Branko Beleslin, MD, PhD

Prof. Vladimir Bumbaširević, MD, PhD, MSASA

Prof. Marko Bumbaširević, MD, PhD

Prof. Milica Čolović, MD, PhD

Prof. Radoje Čolović, MD, PhD, MSASA

Prof. Ljubica Djukanović, MD, PhD

Prof. Ljiljana Gojković-Bukarica, MD, PhD

Prof. Slobodan Golubović, MD, PhD

Prof. Mirjana Gotić, MD, PhD

Prof. Tatjana Ille, MD, PhD

Prof. Ljiljana Janošević, MD, PhD

Prof. Djordje Jevtović, MD, PhD

Prof. Radojka Kocijančić, MD, PhD

Prof. Vladimir Kostić, MD, PhD, MSASA

Prof. Jelena Milašin, PhD

Prof. Marija Mostarica-Stojković, MD, PhD

Prof. Nedeljko Radlović, MD, PhD

Prof. Zoran Radovanović, MD, PhD

Prof. Nebojša Radunović, MD, PhD, MSASA

Prof. Dragoslav Stamenković, DDS, PhD

Prof. Vladislav Stefanović, MD, PhD, MSASA

Prof. Miodrag Stojković, DVM, PhD

Prof. Edita Stokić, MD, PhD

Ljiljana Vučković-Dekić, MD, PhD, research professor

Slavica Žižić-Borjanović, MD, PhD

INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

Prof. Achilles Anagnostopoulos, MD, PhD (Greece)

Prof. Athanassios Athanassiou, MD, PhD (Greece)

Prof. Henry Dushan Edward Atkinson, MD, PhD (UK)

Prof. Mila Goldner-Vukov, MD, PhD (Australia)

Prof. Nagy Habib, MD, PhD (UK)

Prof. Rajko Igić, MD, PhD (USA)

Prof. Bernhard Maisch, MD, PhD (Germany)

Prof. Gordana Matijašević-Cavrić, MD, PhD (Botswana)

Prof. Veselin Mitrović, MD, PhD (Germany)

Prof. Andreas Nidecker, MD, PhD (Switzerland)

Prof. Ljupčo T. Nikolovski, MD, PhD (Macedonia)

Prof. Dan V. Poenaru, MD, PhD (Romania)

Prof. Tatjana Stanković-Taylor, MD, PhD (UK)

Prof. Vladan Starčević, MD, PhD (Australia)

Prof. Igor Švab, MD, PhD (Slovenia)

Prof. A. Malcolm R. Taylor, MD, PhD (UK)

Prof. Gaetano Thiene, MD, PhD (Italy)

Prof. Peter H. Wiernik, MD, PhD (USA)

Serbian language lector: Isidora Ilić

English language lector: Tatjana Paunović

Editorial Office Secretary: Aleksandar Božić

Layout & Prepress: Saša Bešević

Printed by: JP "Službeni glasnik", Beograd

Circulation: 700 copies

Srp Arh Celok Lek
ISSN 0370-8179
UDC 61(497.1)=861
COBISS. SR-ID 3378434

Serbian Archives of Medicine is an official publication of the Serbian Medical Society, and is published six times per year.

PUBLISHER

Serbian Medical Society

Džordža Vašingtona 19, 11000 Belgrade, Serbia

President: Prof. Radoje Čolović, MD, PhD, MSASA

Chair of the Publishing Council:

Mirjana Lapčević, MD

Web site: www.sld.org.rs

EDITORIAL OFFICE

Serbian Medical Society

Džordža Vašingtona 19, 11000 Belgrade, Serbia

Phone: +381 (0)11 3245 149

E-mail: srparhiv@bvcom.net

Web site: www.srp-arh.rs

SUBSCRIPTION AND DISTRIBUTION

Serbian Medical Society

Džordža Vašingtona 19, 11000 Belgrade, Serbia

Phone: +381 (0)11 3346 963

Bank accounts: 205-8041-21 and

355-1009094-22

Full-text articles are available at web site:

www.srp-arh.rs

Calendar year subscriptions prices are: 3,000 dinars for individuals, 6,000 dinars for institutions, and 100 Euros for readers outside Serbia. The price of a current issue is 600 dinars, and of a back issue 300 dinars.

The publishing of the Serbian Archives of Medicine during 2014 is supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development, and the Ministry of Health of the Republic of Serbia.

Copyright © 2014 by the Serbian Medical Society.
All rights reserved.

No part of this publication may be used, reproduced, stored in a retrieval system or transmitted in any form or by any means (electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise) without the prior written permission of the journal publisher. Photocopies may be made for personal or in-house use. Multiple copying of the contents of the publication is always illegal.

ISSN 0370-8179; ISSN Suppl 0354-2793

Printed in Serbia
www.sld.org.rs
www.srp-arh.rs

САДРЖАЈ • CONTENTS

ОРИГИНАЛНИ РАДОВИ • ORIGINAL ARTICLES

РЕПЕТИТИВНА ТРАНСКРАНИЈАЛНА МАГНЕТНА СТИМУЛАЦИЈА КАО АДЈУВАНТНА МЕТОДА У ЛЕЧЕЊУ ДЕПРЕСИЈЕ – ПОЧЕТНА ИСКУСТВА	280-285
Милица Јовичић, Саша Радовановић, Нађа П. Марић, Владимир Костић	
REPETITIVE TRANSCRANIAL MAGNETIC STIMULATION AS AN ADJUVANT METHOD IN THE TREATMENT OF DEPRESSION: PRELIMINARY RESULTS	
Milica Jovičić, Saša Radovanović, Nadja P. Marić, Vladimir Kostić	
CHANGES IN THE RETROBULBAR HEMODYNAMIC PARAMETERS AFTER DECREASING THE ELEVATED INTRAOCULAR PRESSURE IN PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA PATIENTS	286-290
Ivan Marjanović, Antonio Martinez, Marija Marjanović, Nataša Milić, Djordje Kontić, Paraskeva Hentova-Senčanić, Vujica Marković, Marija Božić	
ПРОМЕНЕ У ПАРАМЕТРИМА РЕТРОБУЛБАРНЕ ЦИРКУЛАЦИЈЕ НАКОН СНИЖАВАЊА ПОВИШЕНОГ ИНТРАОКУЛАРНОГ ПРИТИСКА КОД ОСОБА С ПРИМАРНИМ ГЛАУКОМОМ ОТВОРЕНОГ УГЛА	
Иван Марјановић, Антонио Мартинез, Марија Марјановић, Наташа Милић, Ђорђе Контић, Параскева Хентова-Сенћанић, Вујица Марковић, Марија Божић	
ИНТРАТИМПАНИЧНА ПРИМЕНА КОРТИКОСТЕРОИДА У ЛЕЧЕЊУ МЕНИЈЕРОВЕ БОЛЕСТИ	291-295
Снежана Санковић-Бабић, Раде Косановић, Зоран Иванковић, Снежана Бабац, Милица Татовић	
INTRATYMPANIC CORTICOSTEROID PERFUSION IN THE THERAPY OF MENIERE'S DISEASE	
Snežana Sanković-Babić, Rade Kosanović, Zoran Ivanković, Snežana Babac, Milica Tatović	
DETECTION OF HERPES SIMPLEX VIRUS TYPE 1 IN GINGIVAL CREVICULAR FLUID OF GINGIVAL SULCUS/PERIODONTAL POCKET USING POLYMERASE CHAIN REACTION	296-300
Sanja Matic Petrović, Ksenija Zelić, Jelena Milašin, Branka Popović, Ana Pucar, Obrad Zelić	
ОТКРИВАЊЕ ВИРУСА HERPES SIMPLEX ТИП 1 У ГИНГИВАЛНОЈ ТЕЧНОСТИ СУЛКУСА ИЛИ ПАРОДОНТАЛНОГ ЦЕПА ЛАНЧАНОМ РЕАКЦИЈОМ ПОЛИМЕРАЗЕ	
Сања Матић Петровић, Ксенија Зелић, Јелена Милашин, Бранка Поповић, Ана Пуцар, Обрад Зелић	
CHANGES IN SUBGINGIVAL MICROFLORA AFTER PLACEMENT AND REMOVAL OF FIXED ORTHODONTIC APPLIANCES	301-305
Marija Živković Sandić, Branka Popović, Jelena Čarkić, Nadja Nikolić, Branislav Glišić	
ПРОМЕНЕ СУБГИНГИВАЛНЕ МИКРОФЛОРЕ НАКОН ПОСТАВКЕ И УКЛАЊАЊА ФИКСНИХ ОРТОДОНТСКИХ АПАРАТА	
Марија Живковић Сандић, Бранка Поповић, Јелена Чаркић, Нађа Николић, Бранислав Глишић	
СРЕДЊОРОЧНИ РЕЗУЛТАТИ ПОТПУНЕ ХИРУРШКЕ КОРЕКЦИЈЕ ТРАНСПОЗИЦИЈЕ ВЕЛИКИХ КРВНИХ СУДОВА	306-313
Војислав Парезановић, Мирко Мрђен, Слободан Илић, Ирена Вулићевић, Милан Ђукић, Ида Јовановић, Игор Стефановић, Тамара Илисић, Јасна Калањ, Бранко Мимић, Владимир Миловановић	
MIDTERM RESULTS AFTER COMPLETE SURGICAL CORRECTION OF TRANSPOSITION OF THE GREAT ARTERIES	
Vojislav Parezanović, Mirko Mrdjen, Slobodan Ilić, Irena Vulićević, Milan Djukić, Ida Jovanović, Igor Stefanović, Tamara Ilišić, Jasna Kalanj, Branko Mimic, Vladimir Milovanović	
THE INFLUENCE OF HYPERPROLACTINEMIA ON COAGULATION PARAMETERS IN FEMALES WITH PROLACTINOMAS	314-319
Milica Medić-Stojanoska, Gorana Mitić, Igor Mitić, Dragan T. Spasić, Nikola Čurić, Sandra Pekić, Branka Kovačev-Zavišić, Vera Popović	
УТИЦАЈ ХИПЕРПРОЛАКТИНЕМИЈЕ НА ПАРАМЕТРЕ КОАГУЛАЦИЈЕ КОД ЖЕНА СА ПРОЛАКТИНОМОМ	
Милица Медић-Стојаноска, Горана Митић, Игор Митић, Драган Т. Спасић, Никола Ћурић, Сандра Пекић, Бранка Ковачев-Завишић, Вера Поповић	
INDICATIONS FOR REPEATED ENEMA REDUCTION OF INTUSSUSCEPTION IN CHILDREN	320-324
Dragana Vujović, Marija Lukač, Aleksandar Sretenović, Tamara Krstajić, Vesna Ljubić, Sanja Sindjić Antunović	
ИНДИКАЦИЈЕ ЗА ПОНАВЉАЊЕ КЛИЗМЕ У НЕХИРУРШКОЈ РЕДУКЦИЈИ ИНВАГИНАЦИЈА КОД ДЕЦЕ	
Драгана Вујовић, Марија Лукач, Александар Сретеновић, Тамара Крстајић, Весна Љубић, Сања Синђић Антуновић	
EARLY CLINICAL RESULTS OF SURGICAL TREATMENT OF PATIENTS WITH FEMOROACETABULAR IMPINGEMENT	325-329
Desimir Mladenović, Zoran Andjelković, Zoran Vukašinović, Milorad Mitković, Saša Milenković, Ivan Micić, Marko Mladenović	
РАНИ КЛИНИЧКИ РЕЗУЛТАТИ ХИРУРШКОГ ЛЕЧЕЊА БОЛЕСНИКА СА ФЕМОРОАЦЕТАБУЛАРНИМ СУДАРОМ	
Десимир Младеновић, Зоран Анђелковић, Зоран Вукашиновић, Милорад Митковић, Саша Миленковић, Иван Мицић, Марко Младеновић	
THE IMPACT OF EDUCATION ON ADOLESCENTS' SUN BEHAVIOR: EXPERIENCES FROM SERBIA	330-336
Suzana Miljković, Djordje Baljžović, Dušanka Krajnović, Ljiljana Tasić, Gorica Sbutega-Milošević	
УТИЦАЈ ОБРАЗОВАЊА НА ПОНАШАЊЕ АДОЛЕСЦЕНАТА НА СУНЦУ: ИСКУСТВА ИЗ СРБИЈЕ	
Сузана Миљковић, Ђорђе Балјозовић, Душанка Крајновић, Љиљана Тасић, Горица Сбутега-Милошевић	

ПРИКАЗИ БОЛЕСНИКА • CASE REPORTS

L-2-HYDROXYGLUTARIC ACIDURIA: A CASE REPORT	337-341
Nebojša J. Jović, Ana Kosać, Katarina Koprivšek	
L-2-ХИДРОКСИГЛУТАРИЧКА АЦИДУРИЈА: ПРИКАЗ БОЛЕСНИКА	
Небојша Ј. Јовић, Ана Косаћ, Катарина Копрившек	
THROMBOLYSIS OF OCCLUDED FEMOROPROPLITEAL GRAFT WITH LOCALLY DELIVERED HUMAN PLASMIN	342-346
Dragoslav Nenezić, Djordje Radak, Dario Jocić, Predrag Gajin, Slobodan Tanasković, Aleksandra Novaković, Predrag Matić	
ТРОМБОЛИЗА ОКЛУДИРАНОГ ФЕМОРОПОПЛИТЕАЛНОГ ГРАФТА ЛОКАЛНО ПРИМЕЊЕНИМ ХУМАНИМ ПЛАЗМИНОМ	
Драгослав Ненезић, Ђорђе Радак, Дарио Јоцић, Предраг Гајин, Слободан Танасковић, Александра Новаковић, Предраг Матић	
RECONSTRUCTION OF FULL THICKNESS ABDOMINAL WALL DEFECT FOLLOWING TUMOR RESECTION: A CASE REPORT	347-350
Predrag Kovačević, Asen V. Veličkov, Danilo Stojiljković, Aleksandra I. Veličkov, Zoran Čeranić	
РЕКОНСТРУКЦИЈА ОШТЕЋЕЊА ПРЕДЊЕГ ТРБУШНОГ ЗИДА ПУНЕ ДЕБЉИНЕ НАКОН РЕСЕКЦИЈЕ ТУМОРА – ПРИКАЗ БОЛЕСНИКА	
Предраг Ковачевић, Асен В. Величков, Данило Стојиљковић, Александра И. Величков, Зоран Ћеранић	
ГИНЕКОЛОШКО-АКУШЕРСКЕ ИНТЕРВЕНЦИЈЕ КОД ЖЕНА СА БЕРНАР-СУЛИЈЕОВИМ СИНДРОМОМ – ПРИКАЗ ДВЕ БОЛЕСНИЦЕ	351-355
Mirjana Mitrović, Ivo Elezović, Predrag Mišić, Darko Antić	
OBSTETRIC AND GYNECOLOGICAL INTERVENTION IN WOMEN WITH BERNARD-SOULIER SYNDROME: REPORT OF TWO CASES	
Mirjana Mitrović, Ivo Elezović, Predrag Mišić, Darko Antić	
BUSCHKE-LÖWENSTEIN TUMOR: SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE ANOGENITAL REGION	356-359
Ivan Turkalj, Dragana Djilas-Ivanović, Nedeljka Boškov, Branislav Petrov, Laszlo Stajer, Tatjana Ivković-Kapic	
БУШКЕ-ЛЕВЕНШТАЈНОВ ТУМОР – СКВАМОЦЕЛУЛАРНИ КАРЦИНОМ АНОГЕНИТАЛНЕ РЕГИЈЕ	
Иван Туркаљ, Драгана Ђилас-Ивановић, Недељка Бошков, Бранислав Петров, Ласло Штајер, Татјана Ивковић-Капиц	
СМРТ УСЛЕД ТОПЛОТНОГ УДАРА – ПРИКАЗ СЛУЧАЈА	360-364
Slobodan Savić, Snežana Pavlekić, Djordje Alempijević, Dragan Ječmenica	
DEATH CAUSED BY HEAT STROKE: CASE REPORT	
Slobodan Savić, Snežana Pavlekić, Djordje Alempijević, Dragan Ječmenica	

ПРЕГЛЕДИ ЛИТЕРАТУРЕ • REVIEW ARTICLES

МИНИМАЛНО ИНВАЗИВНА ПРЕПАРАЦИЈА ЧВРСТИХ ЗУБНИХ ТКИВА САВРЕМЕНИМ ПОЛИМЕРНИМ РОТИРАЈУЋИМ ИНСТРУМЕНТИМА И ЛАСЕРОМ	365-370
Miloš Beloica, Zoran R. Vulićević, Zoran Mandinić, Ivana Radović, Olivera Jovičić, Momir Carević, Jasmina Tekić	
HARD DENTAL TISSUE MINIMAL-INVASIVE PREPARATION USING CONTEMPORARY POLYMER ROTATING INSTRUMENTS AND LASER	
Miloš Beloica, Zoran R. Vulićević, Zoran Mandinić, Ivana Radović, Olivera Jovičić, Momir Carević, Jasmina Tekić	
АКУТНО ОШТЕЋЕЊЕ БУБРЕГА КОД ДЕЦЕ	371-377
Amira Pećo-Antić, Dušan Paripović	
ACUTE KIDNEY INJURY IN CHILDREN	
Amira-Peco-Antić, Dušan Paripović	
УПОРНА ИНФЕКЦИЈА ХУМАНИМ ПАПИЛОМА ВИРУСОМ У НАСТАНКУ КАРЦИНОМА ГРЛИЋА МАТЕРИЦЕ: УЛОГА ИМУНОЛОШКИХ, ГЕНЕТСКИХ, ВИРУСОЛОШКИХ И ЋЕЛИЈСКИХ ФАКТОРА	378-383
Radomir Živadinović, Aleksandra Petrić, Goran Lilić, Vekoslav Lilić, Biljana Djordjević	
PERSISTENT HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION IN THE ETIOLOGY OF CERVICAL CARCINOMA: THE ROLE OF IMMUNOLOGICAL, GENETIC, VIRAL AND CELLULAR FACTORS	
Radomir Živadinović, Aleksandra Petrić, Goran Lilić, Vekoslav Lilić, Biljana Djordjević	

АКТУЕЛНЕ ТЕМЕ • CURRENT TOPICS

ПОВЕЋАЊЕ СИГУРНОСТИ КРВИ: АНАЛИЗА ГРЕШАКА У ТРАНСФУЗИЈСКОЈ ПРАКСИ	384-390
Nevanka Bujandrić, Jasmina Grujić, Mirjana Krga-Milanović	
IMPROVING BLOOD SAFETY: ERRORS MANAGEMENT IN TRANSFUSION MEDICINE	
Nevanka Bujandrić, Jasmina Grujić, Mirjana Krga-Milanović	

УПУТСТВО АУТОРИМА • INSTRUCTIONS FOR AUTHORS	392-395
---	----------------

Репетитивна транскранијална магнетна стимулација као адјувантна метода у лечењу депресије – почетна искуства

Милица Јовичић¹, Саша Радовановић², Нађа П. Марић^{1,3}, Владимир Костић^{1,4}

¹Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

²Институт за медицинска истраживања, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

³Клиника за психијатрију, Клинички центар Србије, Београд, Србија;

⁴Клиника за неурологију, Клинички центар Србије, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Репетитивна транскранијална магнетна стимулација (*rTMS*) је метода мождане стимулације која се све чешће примењује у клиничком и истраживачком раду. Досадашња истраживања су указала на могуће антидепресивно дејство *rTMS*, али јасна надмоћност ове методе у односу на плацебо још није потврђена.

Циљ рада Циљ рада је било праћење ефекта *rTMS* као адјувантног третмана антидепресивима на јачину депресивности током 18 недеља примене протокола стимулације.

Методе рада Четири болесника са дијагнозом умереног, односно тешког депресивног поремећаја била су укључена у студију. Протокол је подразумевао примену 2.000 стимулација на дан током 15 дана са фреквенцијом *rTMS* од 10 Hz, интензитета 120% моторног прага, над левим дорзолатералним префронталним кортексом. Субјективни и објективни симптоми депресије оцењени су пре почетка примене *rTMS* и поново процењени у 3, 6, 12. и 18. недељи од почетка стимулације.

Резултати Код два испитаника је по завршетку протокола *rTMS* уочено повлачење симптома депресије које се одржало током читавог периода надгледања. Код једне испитанице запажена је тенденција успостављања ремисије у првих 12. недеља клиничког праћења, али је у 18. недељи дошло до појачања симптома депресије. Код друге испитанице није запажено значајније смањење симптома депресије ни у једном тренутку клиничког праћења.

Закључак Прелиминарни резултати указују на добру подношљивост *rTMS* и ефикасност у појачавању деловања антидепресива, и то најпре код епизода депресије које краће трају и чији су симптоми умереног интензитета.

Кључне речи: транскранијална магнетна стимулација; депресија; антидепресиви; *HAMD*

УВОД

Репетитивна транскранијална магнетна стимулација (енгл. *repetitive transcranial magnetic stimulation – rTMS*) је метода мождане стимулације која се, због своје неинвазивности и профила сигурности, све чешће примењује у клиничком и истраживачком раду [1]. Иако је метода *rTMS* званично одобрена само за лечење фармакорезистентне депресије (Америчка агенција за храну и лекове – *FDA*, одлука из 2008. године), истраживања показују да техника може имати позитивне терапијске ефекте и код других психијатријских обољења (опсесивно-компулсивни поремећај, халуцинације у шизофренији), као и неуролошких болести (реhabилитација након цереброваскуларног инсульта, поремећаји покрета, неуропатски бол) [2-6]. Током последњих двадесет година (почев од 1993. године) објављен је велики број појединачних студија и неколико метаанализа које указују на могуће антидепресивно дејство *rTMS* [7].

Дејство *rTMS* се испољава директно на нивоу кортикалних неурона. Активација електромагнета на површини главе ствара

електричну струју која доводи до деполаризације неурона локализованих испод места стимулације [8]. Иако механизам дејства *rTMS* у депресији није потпуно разјашњен, сматра се да би терапијско деловање могло бити резултат повећања кортикалног пластицитета и промена у моноаминергичкој неуротрансмисији у централном нервном систему [9]. Досадашњи резултати неуроимицинг студија показали су да је код особа са депресијом активност дорзолатералног префронталног кортекса (*DLPFC*) и дорзалних делова предњег цингулатног кортекса слабија [10], те се оправдано претпоставило да би деловањем *rTMS* на лако доступан *DLPFC* могло доћи до нормализације активности неурона и симптоматског опоравка [11]. Претпоставка је потврђена кроз истраживања применом неуроимицинга (*PET*, *SPECT* и *fMRI* [12, 13, 14]), којима је показано да је након примене *rTMS* над *DLPFC* код особа са депресијом дошло до значајних промена у активности не само *DLPFC*, већ и других кортикалних и лимбичких структура (предњег цингулатног кортекса, перириналног кортекса, средњег темпоралног кортекса и фузиформног гируса).

Correspondence to:

Saša RADOVANOVIĆ
Institut za medicinska istraživanja
Univerzitet u Beogradu
Dr Subotića 4, 11129 Beograd
Srbija
sasar@imi.bg.ac.rs

Метода *rTMS* се препоручује у неколико светских водича [15, 16], као и у националном водичу за лечење депресије [17]. Међутим, сами протоколи стимулације варирају између студија, те параметри стимулације који би били најделотворнији још нису тачно дефинисани, нити универзално прихваћени.

Фактори који доприносе хетерогености резултата, осим параметара у вези са самом стимулацијом (локализација калема, фреквенција, интензитет, трајање *rTMS*), јесу и дужина праћења ефеката стимулације, карактеристике испитаника и тип депресивног поремећаја који се лечи. Показано је да број примењених сесија *rTMS* корелира са трајањем ефеката стимулације (већи број сесија – дужи ефекат), као и то да су сесије спровођене у краћим временским интервалима (дан за даном) делотворније од оних где су паузе између примена биле дуже [18, 19]. Студије се разликују и по томе да ли су испитаници лечени антидепресивима током периода стимулације или је *rTMS* примењена код испитаника који нису узимали психофармаке (тзв. *drug-free*). Резултати студија у којима је *rTMS* коришћена уз антидепресиве не показују усаглашеност резултата око питања надмоћности ове методе у односу на плацебо терапију [20, 21], а исто важи и за студије где је *rTMS* била једини терапијски модалитет [22, 23].

Већина истраживача је посматрала деловање *rTMS* свега неколико недеља после завршетка стимулације [20, 22, 24], но најновије студије показују да се изражени антидепресивни ефекат ове методе запажа тек око 12. недеље или још касније [21, 25]. Такође, има података у литератури који говоре о томе да је *rTMS* била ефикаснија код болесника код којих је епизода депресије трајала релативно кратко, као и у случајевима где је постојала само делимична резистенција на примењену терапију [23, 26], док се за јасне случајеве униполарне депресије резистентне на терапију, према светским и националним смерницама [16, 17], и даље препоручује електроконвулзивна терапија (ЕКТ). ЕКТ је такође сигурнија код биполарних депресија услед ризика од појаве маничне епизоде током стимулације особа са биполарном депресијом методом *rTMS* [27, 28], док је за *rTMS* показано да ће брже и ефикасније деловати код униполарне депресије с израженим симптомима несанице [26].

Када је у питању сигурносни профил *rTMS*, нежељена дејства су забележена, али не и трајније последице по здравље испитаника. Процењено је да се конвулзије, најтеже нежељено дејство *rTMS*, јављају с учесталошћу мањом од 0,5%, као и да код досад забележених случајева није било понављаних напада нити потребе за терапијском интервенцијом [15]. Остали забележени нежељени ефекти, као што су когнитивни и неуропсихолошки испади, синкопа, главобоља, бол и осећај нелагоде на месту стимулације, оштећење слуха и лезије коже на месту контакта с калемом, били су пролазни [29]. Због постојања магнетног поља и промена које изазива у активности можданих неурона, *rTMS* је контраиндикован код особа с металним имплантатом у телу, органским оштећењем мозга, сниженим конвулзивним прагом или тешким соматским обољењем [29].

У сваком случају, капацитете *rTMS* треба пажљиво проучавати и примењивати у најбољем интересу болесника, а пут ка томе је што систематичнији приступ креирању одговарајућег протокола на основу светских и локалних искустава. Прва искуства примене *rTMS* код нас забележена су пре десетак година на Клиници за неурологију Клиничког центра Србије, код групе испитаника са депресијом у Паркинсоновој болести [30].

ЦИЉ РАДА

Актуелна пилот-студија је резултат сарадње Клинике за психијатрију и Клинике за неурологију Клиничког центра Србије ради стицања почетних искустава у примени *rTMS* као ађувантне терапије код четири испитаника у фази акутне депресије који су најмање три недеље пре увођења *rTMS* добијали преписани антидепресив. Циљ је био клиничко праћење удруженог дејства *rTMS* и датих антидепресива на јачину депресивности током 18 недеља примене протокола.

МЕТОДЕ РАДА

Испитаници

У студију су укључена четири болесника Клинике за психијатрију Клиничког центра Србије која су задовољавала установљене критеријуме и дала писани пристанак за учешће у истраживању током двомесечног периода одређеног за регрутацију испитаника.

Услов за укључивање у студију подразумевао је актуелну дијагнозу депресивне епизоде (*F32.2*) или рекурентног депресивног поремећаја (*F33.2*) без симптома психозе (према МКБ-10), као и то да су болесници најмање три недеље већ примали антидепресиве у одговарајућој дози и да је интензитет депресивности на Хамилтоновој скали депресије (*Hamilton Rating Scale for Depression – HAMD*) [31] био већи од 17 (укупни резултат ове скале одређује тежину депресивности на следећи начин: резултати у опсегу 17–24 односе се на умерену депресивност, а вредности веће од 24 представљају изражену депресивност).

Додатни услови за укључивање у истраживање били су и да није било ниједног другог психијатријског обољења на оси I, нити соматских обољења или стања која су контраиндикација за примену *rTMS* (ментални имплантат у телу, епилепсија, васкуларне, трауматске, инфективне, метаболичке туморске лезије у мозгу, депривација спавања, алкохолизам, тешко или скорашње обољење срца, трудноћа, примена лекова који снижавају конвулзивни праг без истовремене примене лекова који штите од појаве конвулзија) [29], као и да је налаз на ЕЕГ (урађен пре укључивања у програм стимулације) без одступања од физиолошког.

Од сваког испитаника добијена је писана сагласност за учешће у овако дефинисаном протоколу. Протокол је био потпуно у складу с Хелсиншком декларацијом.

Клиничка процена

Клиничка процена је рађена на Клиници за психијатрију Клиничког центра Србије у Београду. На почетној визити дијагноза униполарне депресије потврђена је применом структурираног интервјуа за психијатријске болести према критеријумима *DSM-IV* и МКБ-10 (*M.I.N.I.*, верзија 5.0.0) [32]. Интензитет депресивне симптоматологије проценили су испитивач помоћу *HAMD* [31] и сам испитаник применом Цунгове (*Zung*) скале за самопроцену симптома депресије [33] и Упитника за самопроцену симптома депресије из скале *DASS* (*Depression Anxiety Stress Scales*) [34].

Остала процена подразумевала је детаљну социодемографску анкету, преглед историје болести (ради анализе дужине епизоде депресије, броја епизода, времена постављања дијагнозе) и преглед историје психофармаколошког лечења. Пре почетка стимулације, ради искључивања постојања ризика од конвулзија, обављено је ЕЕГ снимање на Клиници за неурологију Клиничког центра Србије. Ни код једног испитаника нису забележене контраиндикације за *rTMS*. Одлике испитаника приказане су у табели 1.

Психометријска процена (*HAMD*, Цунгова скала, *DASS*) поновљена је у 3, 6, 12. и 18. недељи од почетка протокола стимулације и била је комплетна, осим у једном случају (испитаник бр. 3), где је изостала посета лекару у 18. недељи испитивања.

У време примене *rTMS* испитаник бр. 1 лечен је у диспансеру, испитаник бр. 4 стационарно, док су испитаници бр. 2 и 3 лечени у условима парцијалне хоспитализације. Фармакотерапијски режим се није мењао током трајања *rTMS* (прве три недеље испитивања). По завршетку протокола *rTMS* терапија антидепресивима је настављена.

rTMS

Испитивања су рађена на Клиници за неурологију Клиничког центра Србије. Магнетна стимулација је вршена помоћу магнетног стимулатора *Rapid Transcranial Magnetic Stimulator* (*rapidTMS*, *Magstim Co*, *UK*), с

калемом у облику осмице и кружним калемом пречника од 90 *mm*. Испитаници су смештени у удобну столицу која је прилагођена тако да испитанику лекар несметано може калемом намештеном на одговарајући начин применити серију стимулуса, са подесивим наслонима за главу и руке ради максималне релаксације тела и удова испитаника током самог протокола.

Протокол стимулације је подразумевао примену *rTMS* фреквенције од 10 *Hz*, интензитета од 120% унапред одређеног моторног прага, над левим *DLPFC*. Једна *rTMS* сесија се састојала од 5 *s* стимулације (фреквенцијом од 10 *Hz*, што чини укупно 50 стимулуса) и 29 *s* паузе. Испитаници су добијали 2.000 стимулуса на дан (50 стимулуса пута 40 поновљених сесија). Стимулација је укупно трајала 15 дневних сесија током три недеље (сваким радним даном, уз паузу за викенд). Пре почетка стимулације сваком испитанику је одређиван праг активације (енгл. *motor threshold*), који је процењиван према протоколу помоћу ЕМГ одговора на постепено појачање магнетне стимулације, као минимални интензитет стимулације који производи одговор мишића у шест од десет покушаја.

РЕЗУЛТАТИ

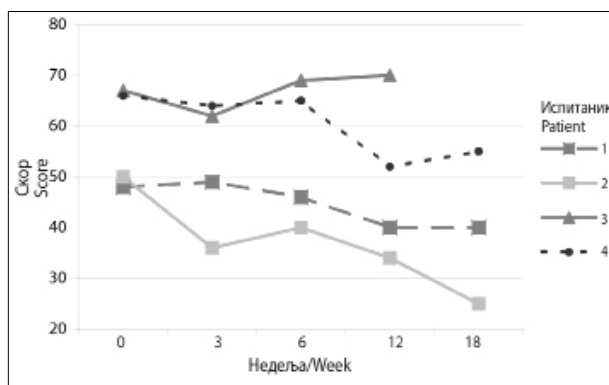
Код четири испитаника (три жене и једног мушкарца) примењен је наведени протокол стимулације на исти начин. Осим описа локалних сензација непријатности у пределу лица и вилице током трајања стимулације код два испитаника (под редним бројевима 1 и 3), нежељена дејства нису забележена.

Код прва два испитаника, код којих је актуелна епизода депресије трајала месец дана, односно четири месеца, током клиничког праћења уочено је постепено повлачење симптома поремећаја забележених на почетку примене *rTMS* као адјувантне терапије, што је потврђено и проценом испитивача и самопроценом. Побољшање уочено на почетку лечења (у 3. и 6. недељи) одржавало се и током даљих визита до 18. недеље испитивања, тј. свих 15 недеља након прекида *rTMS* и лечења преписаним антидепресивом (Графикони 1, 2 и 3). Најизраженији помак током саме стимулације

Табела 1. Одлике испитаника
Table 1. Patients' characteristics

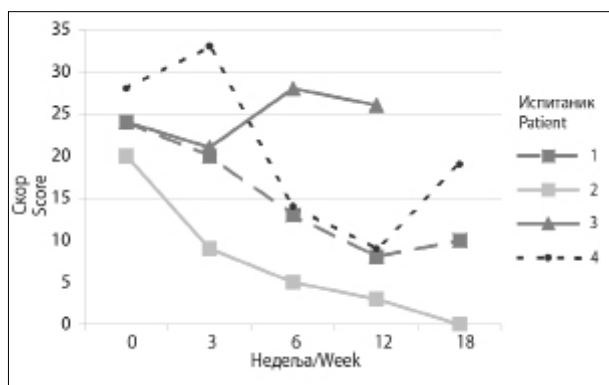
Бр. No.	Старост (године) Age (years)	Пол Gender	Доминантна рука Dominant hand	Године школовања Years of education	Дијагноза према МКБ-10 ICD-10 diagnosis	Време од прве епизоде Time since first episode	Број епизода Number of episodes	Трајање актуелне епизоде (месеци) Duration of current episode (months)	<i>HAMD</i>	Антидепресив Antidepressant	Доза (<i>mg</i>) Dosage (<i>mg</i>)
1	38	М/М	Д/Р	16	F32.2	1 месец 1 month	1	1	24	Пароксетин Paroxetine	20
2	37	Ж/Ф	Л/Л	15	F33.2	6 година 6 years	3	4	20	Есциталопрам Escitalopram	15
3	56	Ж/Ф	Д/Р	16	F33.2	16 година 16 years	7	4	24	Кломипрамин Clomipramine	100
4	46	Ж/Ф	Д/Р	12	F33.2	7 година 7 years	2	10	28	Мапротилин Maprotiline	200

М – мушко; Ж – женско; Д – десна; Л – лева; МКБ-10 – Десета ревизија Међународне класификације болести; *HAMD* – Хамилтонова скала депресије
M – male; F – female; R – right; L – left; ICD-10 – 10th Revision of the International Classification of Diseases; *HAMD* – Hamilton Rating Scale for Depression



Графикон 1. Скорови испитаника на Цунговом упитнику за самопроцену депресије

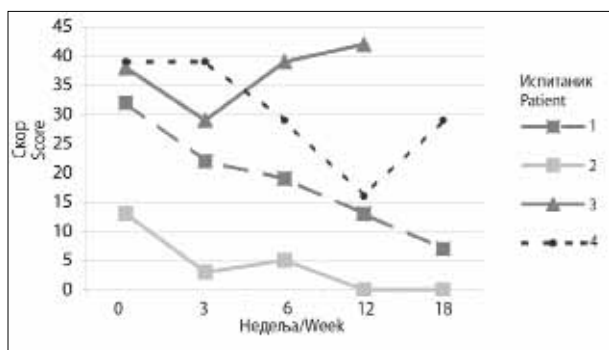
Graph 1. Patients' scores on Zung self-rating depression scale



Графикон 2. Скорови испитаника на скали HAMD

Graph 2. Patients' scores on HAMD

HAMD – Hamilton Rating Scale for Depression



Графикон 3. Скорови испитаника на DASS

Graph 3. Patients' scores on DASS

DASS – Depression Anxiety Stress Scales

уочен је код испитаника бр. 2, где је ниво депресивности био сведен на супклинички интензитет током прве три недеље надгледања и дати ефекат се одржавао (Графикони 1, 2 и 3).

Код друга два испитаника, код којих је актуелна епизода депресије трајала дуге (10 месеци) или сама болест трајала дуго (у овом случају чак 16 година од јављања прве епизоде и седам епизода у међувремену), стабилно побољшање није уочено током периода клиничког праћења. Извесна тежња успостављања ремисије уочена је код испитаника бр. 4, почевши од треће недеље испитивања, тј. након завршене серије

стимулација, али у 18. недељи дошло је до новог интензивирања симптома депресије (релапса).

ДИСКУСИЈА

Резултати наше студије показују да описани протокол *rTMS*, примењен као адјувантна терапија уз лечење антидепресивима, није имао нежељена дејства, што је веома важно за почетна искуства која смо стекли поштујући основни принцип свих лекарских интервенција који гласи: *Primum non nocere*. Протокол стимулације био је изведен уз пуну и непрестану сарадњу укључених испитаника, што је у складу с подацима из литературе о прихватљивости и доброј подношљивости *rTMS* међу популацијом депресивних болесника [35]. Када је о ефикасности реч, иако је испитивани узорак мали да би се доносили јасни закључци, стиче се утисак да се *rTMS* може користити ради појачања деловања антидепресива, и то првенствено код оних епизода депресије које трају краће и умерене су тежине (или имају умерену резистенцију на терапију). У овим случајевима ефекат тронедељне стимулације *rTMS*, стимулације од 15 сесија, која у просеку траје 40 минута дневно, уз лечење антидепресивима, одржавао се свих осамнаест недеља клиничког праћења током студије. Овај налаз је у складу са смерницама водича за примену *rTMS* у депресији, према којима се најбоље дејство *rTMS* остварује код особа млађег животног доба, код краћег трајања депресивне епизоде и у случајевима где нема резистенције на примењену терапију [18, 23, 26].

Невелики број досад објављених појединачних студија указао је на постојање антидепресивног дејства *rTMS*, али надмоћност ове методе у односу на плацебо није у свима потврђена [36]. Мултицентрична рандомизирана контролисана студија са сличним протоколом указала је на антидепресивно дејство *rTMS*, али не и на надмоћност *rTMS* у односу на плацебо (тзв. *sham*-стимулацију) [20]. Међутим, ова студија је бележила антидепресивни ефекат само до 6. недеље од почетка стимулације, а наши резултати су показали да се најизраженије антидепресивно дејство јавља касније, између 6. и 12. недеље. С тим у вези, студија отвореног типа, с нешто другачијим протоколом (високофреквентна *rTMS* над левим *DLPFC*, слабијег интензитета, краћег трајања и с мање пулсева на дан), испитивала је девет болесника током годину дана и показала да се највеће смањење скорa на скали *HAMD* бележи у 8. месецу од почетка лечења [25]. Сви испитаници су упоредо били на стабилној медикаментној терапији, а седам од девет испитаника било је у ремисији и у 12. месецу од почетка стимулације. Такође, код ових испитаника утврђен је делимични одговор на терапију антидепресивима (тј. болесници резистентни на терапију нису укључени у студију) [25]. Ово би значило да је за наставак нашег испитивања, као и за истраживања дејства *rTMS* на депресију која ће тек уследити, поред повећања броја испитаника, кључно продужити и период њиховог надгледања (клиничког праћења) после стимулације.

ЗАКЉУЧАК

Побољшање ефикасности лечења депресије, која значајно доприноси онеспособљености људи код нас [37] и у свету [38], један је од главних задатака савремене медицинске науке, посебно ако се има у виду чињеница да је ефикасност постојећих антидепресива који делују на нивоу моноаминергичких система недовољно [39].

Саопштени резултати овог пилот-истраживања показују да високофреквентна *rTMS* може деловати на смањење депресије код особа које нису довољно добро одговориле на антидепресиве након најмање три недеље лечења и да је при увођењу *rTMS* у терапијски протокол потребно детаљно сагледати одлике самих болесника (старост, трајање епизоде депресије, трајање болести, терапијски одговор), те пажљиво одабрати протокол стимулације (локализација калема, фреквенција *rTMS*, број и распоред сесија самих третмана стимулације).

Нема сумње да би у наставку истраживања било корисно спровести плацебо-контролисану (тзв. *sham*) стимулацију на већем броју испитаника, као и да би било важно размотрити продужење посматрања дејства магнетне стимулације на испитанике код којих је примењен овако дефинисан протокол. Додатно праћење одређених биолошких корелата депресивности,

нпр. методама функционалног неуроимицинга (*PET*, *fMRI* или *SPECT*) или испитивањем могућих биомаркера депресије, као што су *BNDF* (енгл. *brain derived neurotrophic factor*), цитокини, функција глукокортикоидног рецептора итд., допринело би бољем разумевању молекуларних и електрофизиолошких аспеката дејства *rTMS* и самим тим омогућило индивидуализацију и оптимизацију ове терапијске методе, која јесте уврштена у алгоритме за лечење депресије, али је и даље непознаница за већину стручне јавности.

ЗАХВАЛНИЦА

Аутори дугују посебну захвалност прим. др Драгани Стојановић и доц. др Борјанки Батинић са Клинике за психијатрију Клиничког центра Србије, на сарадњи и помоћи у овом истраживању.

НАПОМЕНА

Истраживачи у овој студији су ангажовани у оквиру научноистраживачких пројеката Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (број ИИИИ41029 и ОН175090).

ЛИТЕРАТУРА

- George MS, Taylor JJ, Short EB. The expanding evidence base for *rTMS* treatment of depression. *Curr Opin Psychiatry*. 2013; 26(1):13-8.
- Berlim MT, Neufeld NH, Van den Eynde F. Repetitive transcranial magnetic stimulation (*rTMS*) for obsessive-compulsive disorder (OCD): an exploratory meta-analysis of randomized and sham-controlled trials. *J Psychiatr Res*. 2013; 47(8):999-1006.
- Slotema CW, Aleman A, Daskalakis ZJ, Sommer IE. Meta-analysis of repetitive transcranial magnetic stimulation in the treatment of auditory verbal hallucinations: update and effects after one month. *Schizophr Res*. 2012; 142(1-3):40-5.
- Pinter MM, Brainin M. Role of repetitive transcranial magnetic stimulation in stroke rehabilitation. *Front Neurol Neurosci*. 2013; 32:112-21.
- Shirota Y, Ohtsu H, Hamada M, Enomoto H, Ugawa Y; Research Committee on *rTMS* Treatment of Parkinson's Disease. Supplementary motor area stimulation for Parkinson disease: a randomized controlled study. *Neurology*. 2013; 80(15):1400-5.
- Hosomi K, Shimokawa T, Ikoma K, Nakamura Y, Sugiyama K, Ugawa Y, et al. Daily repetitive transcranial magnetic stimulation of primary motor cortex for neuropathic pain: a randomized, multicenter, double-blind, crossover, sham-controlled trial. *Pain*. 2013; 154(7):1065-72.
- Schutter DJ. Antidepressant efficacy of high-frequency transcranial magnetic stimulation over the left dorsolateral prefrontal cortex in double-blind sham-controlled designs: a meta-analysis. *Psychol Med*. 2009; 39(1):65-75.
- Aleman A. Use of repetitive transcranial magnetic stimulation for treatment in psychiatry. *Clin Psychopharmacol Neurosci*. 2013; 11(2):53-9.
- Leuchter AF, Cook IA, Jin Y, Phillips B. The relationship between brain oscillatory activity and therapeutic effectiveness of transcranial magnetic stimulation in the treatment of major depressive disorder. *Front Hum Neurosci*. 2013; 7:37.
- Fitzgerald PB, Laird AR, Maller J, Daskalakis ZJ. A meta-analytic study of changes in brain activation in depression. *Hum Brain Mapp*. 2008; 29(6):683-95.
- Kupfer DJ, Frank E, Phillips ML. Major depressive disorder: new clinical, neurobiological, and treatment perspectives. *Lancet*. 2012; 379(9820):1045-55.
- Baeken C, De Raedt R, Van Hove C, Clerinx P, De Mey J, Bossuyt A. HF-*rTMS* treatment in medication-resistant melancholic depression: results from 18FDG-PET brain imaging. *CNS Spectr*. 2009; 14(8):439-48.
- Richieri R, Boyer L, Padovani R, Adida M, Colavolpe C, Mundler O, et al. Equivalent brain SPECT perfusion changes underlying therapeutic efficiency in pharmacoresistant depression using either high-frequency left or low-frequency right prefrontal *rTMS*. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012; 39(2):364-70.
- Li CT, Wang SJ, Hirvonen J, Hsieh JC, Bai YM, Hong CJ, et al. Antidepressant mechanism of add-on repetitive transcranial magnetic stimulation in medication-resistant depression using cerebral glucose metabolism. *J Affect Disord*. 2010; 127(1-3):219-29.
- Schlaepfer TE, George MS, Mayberg H; WFSBP Task Force on Brain Stimulation. WFSBP Guidelines on Brain Stimulation Treatments in Psychiatry. *World J Biol Psychiatry*. 2010; 11(1):2-18.
- Bauer M, Whybrow PC, Angst J, Versiani M, Moller HJ; World Federation of Societies Biological Psychiatry Task Force on Treatment Guidelines for Unipolar Depressive Disorders. World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) Guidelines for Biological Treatment of Unipolar Depressive Disorders, Part 1: Acute and continuation treatment of major depressive disorder. *World J Biol Psychiatry*. 2002; 3(1):5-43.
- Ministartstvo zdravlja Republike Srbije. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje depresije. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije; 2011.
- Cohen RB, Boggio PS, Fregni F. Risk factors for relapse after remission with repetitive transcranial magnetic stimulation for the treatment of depression. *Depress Anxiety*. 2009; 26(7):682-8.
- Turnier-Shea Y, Bruno R, Pridmore S. Daily and spaced treatment with transcranial magnetic stimulation in major depression: a pilot study. *Aust N Z J Psychiatry*. 2006; 40(9):759-63.
- Herwig U, Fallgatter AJ, Höppner J, Eschweiler GW, Kron M, Hajak G, et al. Antidepressant effects of augmentative transcranial magnetic stimulation: randomised multicentre trial. *Br J Psychiatry*. 2007; 191:441-8.

21. Bortolomasi M, Minelli A, Fuggetta G, Perini M, Comencini S, Fiaschi A, et al. Long-lasting effects of high frequency repetitive transcranial magnetic stimulation in major depressed patients. *Psychiatry Res.* 2007; 150(2):181-6.
22. O'Reardon JP, Solvason HB, Janicak PG, Sampson S, Isenberg KE, Nahas Y, et al. Efficacy and safety of transcranial magnetic stimulation in the acute treatment of major depression: a multisite randomized controlled trial. *Biol Psychiatry.* 2007; 62(11):1208-16.
23. Holtzheimer PE, Russo J, Claypoole KH, Roy-Byrne P, Avery DH. Shorter duration of depressive episode may predict response to repetitive transcranial magnetic stimulation. *Depress Anxiety.* 2004; 19(1):24-30.
24. Hoppner J, Schulz M, Irmisch G, Mau R, Schlafke D, Richter J. Antidepressant efficacy of two different rTMS procedures: high frequency over left versus low frequency over right prefrontal cortex compared with sham stimulation. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2003; 253:103-9.
25. Charnsil C, Suttajit S, Boonyanaruthee V, Leelarphat S. Twelve-month, prospective, open-label study of repetitive transcranial magnetic stimulation for major depressive disorder in partial remission. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2012; 8:393-7.
26. Brakemeier EL, Luborzewski A, Danker-Hopfe H, Kathmann N, Bajbouj M. Positive predictors for antidepressive response to prefrontal repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS). *J Psychiatr Res.* 2007; 41(5):395-403.
27. Dolberg OT, Schreiber S, Grunhaus L. Transcranial magnetic stimulation-induced switch into mania: a report of two cases. *Biol Psychiatry.* 2001; 49(5):468-70.
28. Krstić J, Ilić TV. Repetitive transcranial magnetic stimulation in bipolar depression: another puzzle of manic switch? *Vojnosanit Pregl.* 2013; 70(6):595-9.
29. Rossi S, Hallett M, Rossini PM, Pascual-Leone A; Safety of TMS Consensus Group. Safety, ethical considerations, and application guidelines for the use of transcranial magnetic stimulation in clinical practice and research. *Clin Neurophysiol.* 2009; 120(12):2008-39.
30. Dragašević N, Potrebić A, Damjanović A, Stefanova E, Kostić VS. Therapeutic efficacy of bilateral prefrontal slow repetitive transcranial magnetic stimulation in depressed patients with Parkinson's disease: an open study. *Mov Disord.* 2002; 17(3):528-32.
31. Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1960; 23:56-62.
32. Sheehan DV, Lecrubier Y, Sheehan KH, Amorim P, Janavs J, Weiller E, et al. The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.); the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *J Clin Psychiatr.* 1998; 59(Suppl 20):22-33.
33. Zung WW. A self-rating depression scale. *Arch Gen Psychiatry.* 1965; 12:63-70.
34. Lovibond SH, Lovibond PF. Manual for the Depression Anxiety Stress Scales. 2nd ed. Sydney: Psychology Foundation; 1995.
35. Frank E, Eichhammer P, Burger J, Zowe M, Landgrebe M, Hajak G, et al. Transcranial magnetic stimulation for the treatment of depression: feasibility and results under naturalistic conditions: a retrospective analysis. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2011; 261(4):261-6.
36. Schönfeldt-Lecuona C, Cárdenas-Morales L, Freudenmann RW, Kammer T, Herwig U. Transcranial magnetic stimulation in depression – lessons from the multicentre trials. *Restor Neurol Neurosci.* 2010; 28(4):569-76.
37. Jankovic S, Vlajinac H, Bjegovic V, Marinkovic J, Sipetic-Grujicic S, Markovic-Denic L, et al. The burden of disease and injury in Serbia. *Eur J Public Health.* 2007; 17(1):80-5.
38. Ferrari AJ, Charlson FJ, Norman RE, Flaxman AD, Patten SB, Vos T, et al. The epidemiological modelling of major depressive disorder: application for the Global Burden of Disease Study 2010. *PLoS One.* 2013; 8(7):e69637.
39. Maric NP, Adzic M. Pharmacological modulation of HPA axis in depression – new avenues for potential therapeutic benefits. *Psychiatr Danub.* 2013; 25(3):299-305.

Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation as an Adjuvant Method in the Treatment of Depression: Preliminary Results

Milica Jovičić¹, Saša Radovanović², Nadja P. Marić^{1,3}, Vladimir Kostić^{1,4}

¹School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

²Institute for Medical Research, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

³Clinic for Psychiatry, Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia;

⁴Clinic for Neurology, Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) is a method of brain stimulation which is increasingly used in both clinical practice and research. Up-to-date studies have pointed out a potential antidepressive effect of rTMS, but definitive superiority over placebo has not yet been confirmed.

Objective The aim of the study was to examine the effect of rTMS as an adjuvant treatment with antidepressants during 18 weeks of evaluation starting from the initial application of the protocol.

Methods Four patients with the diagnosis of moderate/severe major depression were included in the study. The protocol involved 2000 stimuli per day (rTMS frequency of 10 Hz, intensity of 120% motor threshold) administered over the left dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) for 15 days. Subjective and objec-

tive depressive symptoms were measured before the initiation of rTMS and repeatedly evaluated at week 3, 6, 12 and 18 from the beginning of the stimulation.

Results After completion of rTMS protocol two patients demonstrated a reduction of depressive symptoms that was sustained throughout the 15-week follow-up period. One patient showed a tendency of remission during the first 12 weeks of the study, but relapsed in week 18. One patient showed no significant symptom reduction at any point of follow-up.

Conclusion Preliminary findings suggest that rTMS has a good tolerability and can be efficient in accelerating the effect of antidepressants, particularly in individuals with shorter duration of depressive episodes and moderate symptom severity.

Keywords: transcranial magnetic stimulation; depression; antidepressants; HAMD

Changes in the Retrobulbar Hemodynamic Parameters after Decreasing the Elevated Intraocular Pressure in Primary Open-angle Glaucoma Patients

Ivan Marjanović^{1,2}, Antonio Martinez³, Marija Marjanović^{1,4}, Nataša Milić⁵, Djordje Kontić^{1,2}, Paraskeva Hentova-Senčanić^{1,2}, Vujica Marković^{1,2}, Marija Božić^{1,2}

¹School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

²Eye Clinic, Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia;

³Instituto Gallego de Oftalmologia, Clinical Research Department, Science Research and Sports, Santiago de Compostela, La Coruna, Spain;

⁴Cardiology Clinic, Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia;

⁵Institute for Medical Statistics and Informatics, School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Ocular blood flow (OBF) disturbances could be involved both in the pathogenesis and in progression of glaucomatous damage.

Objective The aim of the study was to compare the retrobulbar hemodynamic parameters in the ophthalmic artery (OA), central retinal artery (CRA) and short posterior ciliary arteries (SPCA) after decreasing the elevated intraocular pressure (IOP) in primary open-angle glaucoma (POAG) patients by using color Doppler imaging (CDI).

Methods We examined 60 patients (21 male and 39 female) with diagnosed and treated POAG. Thirty-nine patients had increased IOP (>25 mm Hg). Peak-systolic velocity (PSV), end-diastolic velocity (EDV), Pourcelot resistance index (RI), and pulsatility index (PI) were assessed in the OA, CRA, and SPCA. IOP was measured both with the Goldmann Applanation tonometer (GAT) and with the Dynamic Contour tonometer (DCT), three times respectively. Ocular pulse amplitude (OPA) was measured using DCT.

Results The retrobulbar parameters between the baseline and after IOP reduction showed no difference in measurements. After Bonferroni correction ($p \leq 0.0056$, alpha/9) statistical significance was recorded only in the following retrobulbar hemodynamic parameters; DCT (29.8 ± 6.2 vs. 15.5 ± 5.0), GAT (33.8 ± 9.0 vs. 15.0 ± 6.6) and OPA measurements (4.3 ± 1.0 vs. 3.0 ± 1.6), as compared to the baseline. There was no correlation between the changes in IOP measured with either DCT or GAT and changes in the hemodynamic parameters ($p > 0.05$ for all). Pearson correlation coefficient (95% CI) showed very good correlation for IOP measurements between DCT and GAT: at baseline 0.83 (0.71 to 0.90) and at the end 0.71 (0.55 to 0.83); $p < 0.0001$ for both measurements, but without any difference between them ($p > 0.05$).

Conclusion There was a lack of correlation between the changes in IOP measured with either DCT or GAT and the changes in the hemodynamic parameters.

Keywords: retrobulbar vessels; color Doppler imaging; elevated intraocular pressure; glaucoma

INTRODUCTION

There is increasing evidence that ocular blood flow (OBF) disturbances are involved both in the pathogenesis of glaucoma [1-5] and in progression of glaucomatous damage [6-9]. However, the question of whether OBF disturbances are a secondary effect, caused either by increased intraocular pressure (IOP) or the presence of the glaucomatous optic neuropathy or whether changes in OBF are an independent primary factor remains.

Many different methods are used to visualize and measure directly or calculated indirectly in vivo OBF. Color Doppler imaging (CDI) uses ultrasound technology to measure blood flow parameters in the vessels supplying ocular tissues. CDI combines two dimensional structural ultrasound images with velocity measurements derived from the Doppler shift of sound waves reflected from erythrocytes as they travel through the retrobulbar vessels. In ophthalmol-

ogy this method is used to measure blood flow velocities in the retrobulbar vessels [3, 10].

OBJECTIVE

Our study aimed to compare the value of CDI measurements, peak-systolic velocity (PSV), end-diastolic velocity (EDV), and Pourcelot resistivity index (RI) in the ophthalmic artery (OA), central retinal artery (CRA) and short posterior ciliary arteries (SPCA), after the decrease of elevated IOP in primary open-angle glaucoma (POAG) patients.

METHODS

We examined 60 patients (21 male and 39 female) with a clinical diagnosed of POAG from December 2009 to December 2010 referred to or recruited at the Eye Clinic and Neurology

Correspondence to:

Ivan MARJANOVIĆ
Eye Clinic
Clinical Center of Serbia
Pasterova 2, 11000 Belgrade
Serbia
ivanmarjanovic007@yahoo.com

Clinic, Clinical Center of Serbia in Belgrade. Thirty-nine patients who met the inclusion/exclusion criteria and signed a written consent form were included in this prospective and interventional study. Institutional review board approval was obtained and the study adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki.

Only one eye that fulfilled all the inclusion criteria and none of the exclusion criteria was designed as the study eye in each patient; in patients in whom both eyes fulfilled all inclusion criteria and none of the exclusion criteria one randomly chosen eye was included for the purpose of statistical analysis.

All participants were required to meet the following inclusion criteria: age equal or over 50 years; clinical diagnosis of POAG; IOP higher than 25 mmHg; willingness to comply with investigators and protocol indications.

Excluded patients were those with any form of glaucoma other than POAG, previous treatment with ocular filtering surgery, history of previous refractive surgery, diabetes, history of progressive retinal or optic nerve disease of any cause; asthma or any other obstructive pulmonary disease, and pregnancy or lactation.

For glaucoma diagnosis visual field (VF) examinations were performed using the 24-2 Swedish Interactive Thresholding Algorithm Standard strategy (SITA standard) using the Humphrey visual field analyzer (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA). Glaucomatous VF defects were defined as follows: a minimum of one location in the paracentral or nasal step regions corresponding to sectors 1 or 2 or to the inferior 3 location in the sector 3 of the Glaucoma Hemifield Test [11] exhibiting repeatable abnormality at the $p < 0.5\%$ level by pattern deviation probability analysis, or by two or more locations in a cluster exhibiting repeatable abnormality at $p < 2\%$ by pattern deviation probability analysis, excluding any location in the cluster located in the opposite horizontal hemifield.

At baseline, all subjects underwent a standard ophthalmic examination including visual acuity (Snellen chart), slit-lamp biomicroscopy, gonioscopy, intraocular pressure measurement with Goldmann applanation tonometry (GAT) and Dynamic Contour tonometer (DCT), central corneal thickness measurement with ultrasound pachymeter, lens examination of the fundus, and central corneal thickness (CCT) three times consecutively with ultrasound pachymetry (Palm Scan AP 2000, ophthalmic ultrasound, Micro Medical Devices, Inc. Clabaras, CA, USA). Diagnostic observation also included automated perimetry on the Humphrey visual field analyzer (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA) and scanning laser ophthalmoscopy (HRT II, Heidelberg Engineering, GmbH, Dossenheim, Germany) exam at least once a year.

IOP was determined three times, each consecutively, using DCT (Swiss Microtechnology AG, Port, Switzerland) and GAT (Goldmann tonometer; Haag Streit AG, Koeniz, Switzerland). Ocular pulse amplitude (OPA) appeared during DCT measurement.

All CDI examinations (model Antares; Siemens, Munich, Germany) were performed at all study visits by the same experienced observer who was masked to the treatment.

A 7.5-10 MHz vector-array transducer was applied to the closed eyelid using a coupling gel; any pressure on the eye itself was avoided. Measurements were taken using the conventional technique [12], which is identical to the technique we have used in many previous studies [8, 13-18]. In brief, OA flow measurements were performed approximately 10-15 mm posterior to the globe where ultrasound signals were stronger. SPCA images were taken temporally and nasally to the optic nerve just behind the posterior pole of the eye. The angle between transducer and vessel orientation was corrected. CRA measurements were taken at the optic nerve head level.

PSV and EDV were measured in the OA, CRA and medial and lateral SPCAs. Although the medial and lateral posterior ciliary arteries (PCAs) were individually assessed, the mean value of both was used for the statistical analysis. PSV and EDV were used to calculate the RI using the following equation: $RI = PSV - EDV / PSV$ [19]. Evaluations of blood pressure (BP) and radial pulse were obtained in a supine position after 10 min of rest. Systolic (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were measured in the upper right arm using a mercury sphygmomanometer and heart rate (HR) was measured by palpation of the radial pulse. These parameters were obtained every 10 min during CDI examination.

After baseline examinations, the patients received treatment, either medical or surgical, for decreasing IOP. Treatment assignment was based on the clinical situation of each patient. The patients were asked to return one month after treatment, and at the end of this time the same measurements were repeated.

Statistical analysis

Before the study, it was determined that a sample of at least 36 patients was required to detect a difference of 0.05 units in the mean RI in the OA, SPCA, and CRA at a significance level of 0.01, with a power of 0.95, and assuming a standard deviation of 0.05 units. The adjusted power of the study was 0.86 ($0.95 \cdot 0.95 \cdot 0.95$).

Descriptive statistics (mean $\pm$ standard deviation) and 95% confidence intervals (95% CIs) were used to report demographic and ocular baseline characteristics. Data were tested for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov test. As data were normally distributed, the two-tailed, paired Student's t-test was used to evaluate IOP and hemodynamic parameters by intragroup comparisons made between the values obtained under baseline conditions and treatment conditions.

Because of the large number of tests, simultaneous inference using the Bonferroni correction was used to correct the p-value ($\alpha/9$). Statistical significance was accepted for $p < 0.0056$.

To analyze the correlation between changes in the retrolbulbar hemodynamics and changes in IOP assessed with both GAT and DCT, Pearson correlation coefficients were calculated for every parameter.

Statistical analysis was performed using Med-Calculator 11.5.1.0 (MedCalc software, Mariakerke, Belgium).

Table 1. Comparison of clinical and hemodynamic variables at baseline and after IOP reduction in open-angle glaucoma patients

Variable		Baseline		Final		p
		Mean (SD)	95% CI	Mean (SD)	95% CI	
DCT		29.8 (6.2)	28.3–31.3	15.5 (5.0)	14.3–16.7	<0.0001
GAT		33.8 (9.0)	31.6–36.0	15.0 (6.6)	13.4–16.6	<0.0001
OPA		4.3 (1.0)	4.1–4.6	3.0 (1.6)	2.6–2.8	<0.0001
OA	PSV	58.0 (28.9)	51.0–65.0	51.5 (22.2)	46.1–56.9	0.059
	EDV	20.3 (15.3)	16.6–24.0	16.9 (10.9)	14.3–19.5	0.066
	RI	0.70 (0.12)	0.68–0.73	0.71 (0.18)	0.67–0.75	0.824
CRA	PSV	40.1 (20.9)	35.0–45.1	37.4 (12.9)	34.3–40.5	0.292
	EDV	13.1 (7.4)	11.3–14.9	12.1 (6.3)	10.6–13.7	0.266
	RI	0.68 (0.12)	0.65–0.71	0.71 (0.16)	0.67–0.74	0.301
PCA	PSV	28.8 (13.9)	25.5–32.2	27.0 (10.9)	24.4–29.7	0.339
	EDV	9.4 (4.0)	8.4–10.4	9.7 (3.8)	8.8–10.7	0.576
	RI	0.67 (0.18)	0.62–0.71	0.68 (0.27)	0.62–0.74	0.689

SD – standard deviation; 95% CI – 95% confidence interval; CT – central corneal thickness; DCT – dynamic contour tonometry; GAT – Goldmann applanation tonometry; OPA – ocular pulse amplitude; OA – ophthalmic artery; PSV – peak systolic velocity; EDV – end-diastolic velocity; RI – resistivity index; CRA – central retinal artery; PCA – posterior ciliary artery

Table 2. Pearson correlation coefficient between IOP reductions, assessed with both DCT and GAT, changes in OPA and some hemodynamic parameters

Changes	DCT			GAT			OPA		
	R	95% CI	p	r	95% CI	p	r	95% CI	p
RI OA	-0.115	-0.342–0.124	0.345	-0.077	-0.308–0.162	0.528	0.091	-0.148–0.321	0.456
RI CRA	-0.159	-0.381–0.080	-0.159	-0.057	-0.290–0.181	0.639	0.130	-0.109–0.356	0.283
RI PCA	-0.254	-0.463–0.018	0.035	-0.127	-0.353–0.113	0.297	-0.0948	-0.324–0.145	0.438

RESULTS

Of 60 patients who were screened, 39 fulfilled the respective demands of inclusion and exclusion criteria. Mean±SD (95% confidence interval – 95% CI) age was 64.7±13.9 years (60.3 to 69.2 years).

CCT was 555.1±44.5 µm (545.0 to 565.2 µm), visual field mean deviation was 12.9±13.6 dB (-19.5 to -6.4 dB), and visual field pattern standard deviation was 5.7±4.1 (3.4 to 7.9).

IOP, OPA, and retrobulbar hemodynamic parameters, at the baseline and after treatment, are summarized in Table 1.

Retrobulbar hemodynamic parameters did not change after therapy when Bonferroni correction was applied.

Pearson correlation coefficient (95% CI) showed very good correlation for IOP measurements between DCT and GAT: at baseline 0.825 (0.730 to 0.888) and at the end 0.878 (0.808 to 0.923); $p<0.0001$ for both measurements, with no differences between them ($p=0.1451$).

Pearson correlation coefficient between IOP reductions, assessed with both DCT and GAT, changes in OPA and some hemodynamic parameters is presented in Table 2. There was no correlation between the changes in IOP measured with either DCT or GAT, OPA and the changes

in the hemodynamic parameters (RI in the retrobulbar vessels). The lack of correlation between the changes in IOP and changes in blood flow meant a lack of influence of IOP, even at high levels, on the ocular hemodynamics.

We found a lack of correlation between OPA and IOP reductions. Pearson correlation coefficient between changes in OPA and IOP reductions, assessed with both DCT and GAT is presented in Table 3.

DISCUSSION

In the present study it was not found that decreasing IOP in POAG patients with elevated IOP caused any significant change in retrobulbar hemodynamics.

The results of the present study suggest that although ocular hemodynamics may be influenced by elevated IOP, dramatic chronic decreases in IOP do not lead to changes in ocular blood flow as measured by the technique utilized in this cohort of POAG patients.

These results agree with those previously published by our group [17] that reported no significant changes in the retrobulbar circulation in open-angle glaucoma (OAG) patients after the reduction of IOP with either medical or surgical treatment. This study evaluated 46 open-angle glaucoma patients (primary + secondary OAG patients) who were assessed to have IOP too high for their degree of optic nerve cupping and visual field loss.

Hemodynamics in the OA, CRA and SPCA were evaluated by using CDI. The results of this study suggested that despite the significant decrease in IOP following treatment (52.1%; $p<0.001$), there were no significant changes in the

Table 3. Pearson correlation coefficient between changes in OPA and IOP reductions, assessed with both DCT and GAT

Changes	OPA		
	r	95% CI	p
DCT	0.264	0.029–0.471	0.028
GAT	0.279	0.046–0.484	0.020

PSV, EDV, or RI in OA. The PSV, EDV, and RI in the CRA also remained unchanged from baseline measures at all study visits.

Additionally, the results of this study agree partially with those previously published by Martinez and Sánchez [16], who reported no significant correlation between EDV and IOP either in OA or SPCA. Although it is difficult to compare the results of both studies because Martinez and Sanchez [16] evaluated pseudoexfoliative glaucoma patients.

However, the results of our study contrast sharply with those of several studies that reported a direct relationship between changes in IOP and altered ocular hemodynamics. Tribble et al. [20] reported a statistically significant increase in the mean and EDV and a significant decrease in the vascular resistance of CRA and both SPCA after trabeculectomy.

Additionally, by using a suction cup, Findl et al. [21] increased IOP by 10 and 20 mmHg in normal subjects. In that study, a 20 mmHg increase in IOP caused a significant reduction in the mean flow velocity in the CRA. Moreover, the RI in the CRA increased significantly, with IOP elevation of just 10 mmHg.

A possible explanation for the findings in the present study, compared with previously published works, might

be that many of previously cited studies used scleral suction cups to induce artificially acute IOP elevations in normal subjects, with normal baseline IOPs.

Our study has some limitations. The first one results from our use of a singular ocular imaging technology to study OBF without providing data on the retina or other vascular beds. The second limitation of our study is that it is a single center study, with a limited number of patients. Nevertheless, the sample size was calculated prior to study.

An important limitation of the present study is that the patients received glaucoma drug treatment for decreasing IOP and this may influence the OBF. On the other hand the results obtained were independent of the anti-glaucoma therapy.

CONCLUSION

Despite these limitations, the results of our study suggested a lack of correlation between the changes in IOP measured with either DCT or GAT and the changes in hemodynamic parameters. These findings might point out that OBF disturbances, found in this cohort of POAG patients, seem to be independent of IOP.

REFERENCES

- Carter CJ, Brooks DE, Doyle DL, Drance SM. Investigation into a vascular aetiology for low tension glaucoma. *Ophthalmol.* 1990; 97:49-55.
- Hayreh SS. Progress in the understanding of the vascular etiology of glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol.* 1994; 5(2):26-35.
- Flammer J, Orgül S, Costa VP, Orzalesi N, Kriegelstein GK, Metzner-Serra L, et al. The impact of ocular blood flow in glaucoma. *Prog Retin Eye Res.* 2002; 21:359-93.
- Harris A, Kagemann L, Ehrlich R, Rospigliosi C, Moore D, Siesky B. Measuring and interpreting ocular blood flow and metabolism in glaucoma. *Can J Ophthalmol.* 2008; 43(3):328-36.
- Werne A, Harris A, Moore D, BenZion I, Siesky B. The circadian variations in systemic blood pressure, ocular perfusion pressure, and ocular blood flow: risk factors for glaucoma? *Surv Ophthalmol.* 2008; 53(6):559-67.
- Galassi F, Sodi A, Ucci F, Renieri G, Pieri B, Baccini M. Ocular hemodynamics and glaucoma prognosis: a color Doppler imaging study. *Arch Ophthalmol.* 2003; 121:1711-5.
- Satilmis M, Orgul S, Doubler B, Flammer J. Rate of progression of glaucoma correlates with retrobulbar circulation and intraocular pressure. *Am J Ophthalmol.* 2003; 135:664-9.
- Martinez A, Sanchez M. Predictive value of color Doppler imaging in a prospective study of visual field progression in primary open-angle glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand.* 2005; 83:716-23.
- Zeit O, Galambos P, Wagenfeld L, Wiermann A, Wlodarsch P, Praga R, et al. Glaucoma progression is associated with decreased blood flow velocities in the short posterior ciliary artery. *Br J Ophthalmol.* 2006; 90:1245-8.
- Lieb WE. Color Doppler ultrasonography of the eye and orbit. *Curr Opin Ophthalmol.* 1993; 4(3):68-75.
- Asman P, Heijl A. Glaucoma Hemifield Test. Automated visual field evaluation. *Arch Ophthalmol.* 1992; 110:812-9.
- Lieb WE, Cohen SM, Merton DA, Shields JA, Mitchell DG, Goldberg BB. Colour Doppler imaging of the eye and orbit: technique and normal vascular anatomy. *Arch Ophthalmol.* 1991; 109:527-31.
- Martinez A, González F, Capeans C, Pérez R, Sánchez-Salorio M. Dorzolamide effect on ocular blood flow. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999; 40(6):1270-5.
- Martinez A, Sanchez M. A comparison of the effects of 0.005% latanoprost and fixed combination dorzolamide/timolol on retrobulbar haemodynamics in previously untreated glaucoma patients. *Curr Med Res Opin.* 2006; 22:67-73.
- Martinez A, Sanchez M. Effects of dorzolamide 2% added to timolol maleate 0.5% on intraocular pressure, retrobulbar blood flow, and progression of visual field damage in patients with primary open angle glaucoma: a single-centre, 4-year, open-label study. *Clin Ther.* 2008; 30:1120-34.
- Martinez A, Sanchez M. Ocular haemodynamics in pseudoexfoliative and primary open-angle glaucoma. *Eye.* 2008; 22(4):515-20.
- Marjanovic I, Milic N, Martinez A. The impact of intraocular pressure reduction on retrobulbar hemodynamic parameters in patients with open-angle glaucoma. *Eur J Ophthalmol.* 2012; 22(1):77-82.
- Marjanovic I, Milic N, Martinez A, Benitez-del-Castillo J. Retrobulbar hemodynamic parameters in open-angle and angle-closure glaucoma patients. *Eye (Lond).* 2012; 26(4):523-8.
- Pourcelot L. Indications de l'ultrasonographie Doppler dans l'étude des vaisseaux peripheriques. *Rev Prat.* 1975; 25:4671-80.
- Tribble JR, Sergott RC, Spaeth GL, Wilson RP, Katz LJ, Moster MR, et al. Trabeculectomy is associated with retrobulbar hemodynamic changes. A color Doppler analysis. *Ophthalmology.* 1994; 101(2):340-51.
- Findl O, Strenn K, Wolzt M, Menapace R, Vass C, Eichler HG, et al. Effects of changes in intraocular pressure on human ocular hemodynamics. *Curr Eye Res.* 1997; 16:1024-9.

Промене у параметрима ретробулбарне циркулације након снижавања повишеног интраокуларног притиска код особа с примарним глаукомом отвореног угла

Иван Марјановић^{1,2}, Антонио Мартинез³, Марија Марјановић^{1,4}, Наташа Милић⁵, Ђорђе Контић^{1,2}, Параскева Хентова-Сенћанић^{1,2}, Вујица Марковић^{1,2}, Марија Божић^{1,2}

¹Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

²Клиника за очне болести, Клинички центар Србије, Београд, Србија;

³Одељење за клиничка истраживања, Галицијски институт за офталмологију, Сантјаго де Компостела, Ла Корунја, Шпанија;

⁴Клиника за кардиологију, Клинички центар Србије, Београд, Србија;

⁵Институт за медицинску статистику и информатику, Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Поремећај протока крви у оку може бити укључен како у патогенезу, тако и у прогресију глаукомног оштећења.

Циљ рада Циљ рада је био да се упореде параметри ретробулбарне хемодинамике у офталмичкој артерији (ОА), централној ретиналној артерији (СРА) и кратким задњим цилијарним артеријама (СПСА) након снижавања повишеног интраокуларног притиска (ИОП) код особа с примарним глаукомом отвореног угла (РОАГ) применом колор доплера.

Методе рада Испитано је 60 болесника (21 мушкарац и 39 жена) са дијагностикованим и леченим РОАГ. Код 39 испитаника установљен је повишен ИОП ($>25 \text{ mm Hg}$). Параметри вршног систолног протока, крајњег дијастолног протока, Пурселоов (Pourcelot) индекс резистенције и индекс пулзатилности мерени су у ОА, СРА и СПСА. ИОП је мерен Голдмановим (Goldmann) апланационим тонометром (GAT) и динамичким контурним тонометром (DCT), по три пута узастопно. Окуларна пулсна амплитуда (ОРА) је мерена помоћу DCT.

Резултати Параметри ретробулбарне циркулације се нису променили после снижавања ИОП. Након Бонферонијеве

(Bonferroni) корекције ($p \leq 0,0056$, $\alpha/9$) статистички значајна разлика у ретробулбарним параметрима је утврђена код оних мерених помоћу DCT ($29,8 \pm 6,2$ према $15,5 \pm 5,0$), GAT ($33,8 \pm 9,0$ према $15,0 \pm 6,6$) и код ОРА ($4,3 \pm 1,0$ према $3,0 \pm 1,6$), у поређењу с почетним вредностима. Није уочена корелација између промена ИОП који је мерен помоћу DCT или GAT и промена у хемодинамским параметрима ($p > 0,05$ за све). Пирсонов коефицијент корелације (95-процентни интервал поверења) показао је веома добру корелацију за вредности ИОП између оних добијених мерењем помоћу DCT и оних измерених применом GAT: почетна вредност у просеку је била 0,83 (распон 0,71–0,90), а завршна 0,71 (распон 0,55–0,83); $p < 0,0001$ за оба мерења и без разлике међу њима ($p > 0,05$).

Закључак Није утврђена корелација између разлика у ИОП мерених помоћу DCT или GAT и промена у посматраним хемодинамским параметрима.

Кључне речи: ретробулбарни крвни судови; колор доплер; повишен интраокуларни притисак; глауком

Примљен • Received: 21/01/2013

Ревизија • Revision: 19/11/2013

Прихваћен • Accepted: 05/12/2013

Интратимпанична примена кортикостероида у лечењу Менијерове болести

Снежана Санковић-Бабић, Раде Косановић, Зоран Иванковић, Снежана Бабац, Милица Татовић
ОРЛ клиника, Клиничко-болнички центар „Звездара“, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Укапавање лекова у бубну дупљу је минимално инвазивна метода која се примењује у последње две деценије у лечењу Менијеровог обољења. Експерименталне студије истичу антиинфламаторно, имunosупресивно, антиоксидантно и неуропротективно дејство локално примењених кортикостероида на структуре унутрашњег ува. У ћелијама Кортијевог органа опоравља се акциони потенцијал, а на мембранама лабиринта смањује се експресија аквапорина 1, гликопротеина одговорног за хидропс лабиринта и поремећен градијент јона натријума и калијума.

Циљ рада У студији су приказани резултати лечења болесника с Менијеровом болешћу резистентним на конзервативну терапију интратимпаничном применом дексаметазона.

Методе рада Дексаметазон у појединачној дози од 4 mg/ml примењен је код 19 болесника с тежим обликом Менијерове болести. Лек је примењен кроз серију од шест појединачних, сукцесивних интратимпаничних инјекција убризганих у задњедоњи квадрант бубне опне. Стање болесника је утврђено на основу клиничког упитника, који је попуњаван месец дана после завршене серије инстилација, као и на свака три месеца до годину дана.

Резултати Месец дана по завршетку примене лека код 78% болесника забележени су било престанак или знатно смањење вертигинозних тегоба. Побољшана функција слуха забележена је код 68% испитаника, а редукција тинитуса код 84%. После годину дана испитивања код 63% болесника није било вртоглавице или се јачина ових напада изразито смањила. Побољшање слуха одржавало се код 52% испитаника, а непостојање или скоро потпуно смањење тинитуса забележени су код 73% болесника.

Закључак Интратимпанична примена дексаметазона код болесника са Менијеровим обољењем доприноси смањењу понављаних напада вртоглавице, смањењу интензитета тинитуса и побољшању просечног прага слуха. Особе које болују од хроничних обољења која су контраиндикација за системску примену кортикостероида (дијабетес мелитус, хипертензија, глауком, улкусна болест и др.) с овом методом лечења имају додатну терапијску опцију.

Кључне речи: интратимпанична инстилација; дексаметазон; Менијерова болест

УВОД

Менијерово (*Ménière*) обољење се клинички испољава као понављани напади вртоглавице удружени с осећањем притиска у уву, зујањем и наглувошћу. Код прогресивног обољења периоди без симптома су све ређи, а болесници наводе да им конзервативна терапија не помаже. Квалитет живота болесника значајно се погоршава сталним нападима вртоглавице којима се може придружити и прогресивни губитак слуха.

Интратимпанична инстилација лекова је минимално инвазивна метода која се примењује у последње две деценије у лечењу Менијерове болести. Примарни циљ ове терапије јесте спречавање вертигинозних напада и даљег губитка слуха код болесника с овим обољењем [1]. Резултати експерименталних студија о утицају кортикостероида на смањење хидропса мембранозног лабиринта дали су основне разлоге за увођење локалне терапије кортикостероидима у Менијеровом обољењу. Прва студија о дистрибуцији кортикостероидних рецептора у унутрашњем уву пацова објављена је 1989. године, а исти аутор 1996. године

публикује студију која показује расподелу рецептора у унутрашњем уву човека. Рецептори су установљени у Кортијевом органу, стрији васкуларис, спиралном лигаменту и макули сакулуса и утрикулуса [2].

Улога кортикостероида у патофизиолошким механизмима у Менијеровом обољењу је мултифункционална. Интратимпанично примењени кортикостероиди утичу на побољшање циркулације у лабиринту [3]. Антиинфламаторна улога кортикостероида у унутрашњем уву је описана у студијама које су откриле смањену активност нуклеарног фактора капа Б (*NF-κB*) у ендолимфи. Овај фактор је укључен у производњу проинфламаторних цитокина, као што су интерлеукин 1, интерферон гама и фактор некрозе тумора алфа [4]. Кортикостероиди утичу на повећање експресије аквапорина 1, гликопротеина који је укључен у активни пренос воде у мембранозном лабиринту. Аквапорин 1 има кључну улогу у одржавању осмотског притиска унутар ћелија, а његова експресија је смањена у хидропсу лабиринта [5]. Протективна улога локално примењених кортикостероида описана је у експерименталним моделима ототоксичног,

Correspondence to:

Snežana SANKOVIĆ-BABIĆ
ORL klinika
KBC „Zvezdara“
Preševska 31, 11000 Beograd
Srbija
orklbcz@gmail.com

трауматског и исхемијског оштећења мембранозног лабиринта [6, 7, 8]. Кортикостероиди утичу на активност јонских канала за натријум и калијум у маргиналним ћелијама стрије васкуларис, спиралном лигаменту и у епителним ћелијама полукружних канала лабиринта. Њиховим дејством на јонске канале усмерава се пренос јона *Na* из ендолимфатичног простора ка перилимфатичном простору мембранозног лабиринта, односно јони *K* усмеравају се ка ендолимфи [9].

Идеја о локалној примени лекова у лечењу Менијерове болести није нова. Шукнехт (*Schuknecht*) [10] је 1956. године објавио рад о интратимпаничној примени стрептомицина код болесника са дуготрајним Менијеровим обољењем резистентним на конзервативну терапију. Код 62% болесника знатно су се проредили напади вртоглавице и квалитет њиховог живота се значајно побољшао. Ито (*Itoh*) и Саката (*Sakata*) [11] 1991. године публиковали су истраживање у којем су код 136 болесника са Менијеровим обољењем интратимпанично укапали дексаметазон и лидокаин. Потпуно смањење учесталости вртоглавице забележено је код 83% испитаника непосредно након терапије. Годину дана по завршетку лечења код 69% болесника није више било вертигинозних напада.

Предност интратимпаничне примене кортикостероида је постизање високе концентрације лека у перилимфи и ендолимфи. Концентрације су веће него када се лек даје перорално или интравенски. На тај начин постиже се максимални терапијски учинак, а избегавају се нежељена дејства системски примењених кортикостероидних лекова. Студија у којој су поређени ефекти хидрокортизона, метилпреднизолона и дексаметазона даваних перорално, интравенски и интратимпанично експерименталним животињама показала је да су сва три лека нађена у вишој концентрацији у перилимфи после укапавања у бубну дупљу [12]. Такође, концентрација дексаметазона била је виша од концентрације метилпреднизолона и хидрокортизона [12].

Индикације за интратимпаничну примену кортикостероидних лекова код болесника с Менијеровим обољењем су: понављани напади вртоглавице резистентни на конзервативну терапију и контраиндикације за системску примену кортикостероида [13, 14].

ЦИЉ РАДА

Циљ студије је био да се прикажу резултати лечења испитаника с Менијеровом болешћу резистентних на конзервативну терапију интратимпаничном применом дексаметазона.

МЕТОДЕ РАДА

Ова дескриптивна клиничка студија обухватила је 19 болесника с Менијеровим обољењем на једном уву. У групи испитаника било је 12 жена и седам мушкараца

старости од 28 до 65 година. Код свих болесника пре интратимпаничне примене дексаметазона урађена је дијагностика Менијеровог обољења према критеријумима Комитета за слух и равнотежу Америчке академије за отоларингологију и хирургију главе и врата (*AAO-HNS*) [15]. Према тежини вертигинозних тегоба, болесници су припадали IV и V групи, како је наглашено у Функционалној скали вертигинозних тегоба (енгл. *functional level scale – FLS*), у Клиничком водичу *AAO-HNS* [15]. Студијом су обухваћени болесници који су лечени најмање шест месеци конзервативном терапијом без икаквог побољшања. Резултати лечења су вредновани на основу клиничког упитника о тежини симптома, аудиометријских тестова и калоријског теста пре започете терапије, месец дана по завршетку лечења и даље свака три месеца до годину дана.

Дексаметазон у дози од 4 *mg/ml* даван је интратимпанично после локалне анестезије спољашњег слушног ходника (*sol. Marcain*, корнеални анестетик у офталмологији). Лек је примењен у шест појединачних доза сваки други дан. Техника примене подразумевала је споро укапавање дексаметазона у задњедоњи квадрант бубне опне [16, 17].

Контролна аудиометрија и контролно калориметријско испитивање вршени су месец дана по завршетку прве серије лечења. Контрола прага слуха за ниске и средње фреквенције (0,5 *kHz*, 1 *kHz*, 2 *kHz* и 4 *kHz*) бележена је пре и после лечења, као и у тромесечном интервалу до годину дана по завршеној првој терапијској серији примене лека. Болесницима код којих није било побољшања стања предложена је друга серија инстилација. Поређени су резултати просечног прага слуха. Побољшање функције слуха бележило се као боља перцепција јачине звука за више од 15 *dB* за одређене фреквенције. Резултати у вези с проценом стања вертигинозних тегоба бележени су у односу на смањење броја и тежину напада вртоглавице као: непостојање вртоглавице (А); значајно смањење броја и интензитета вертигинозних напада (В); нема смањења броја вертигинозних напада (С) [5]. Према клиничком упитнику, бележене су промене јачине тинитуса пре и после терапије као: непостојање тинитуса (0); тинитус подношљивог интензитета, не смета у обављању свакодневних радњи и не омета сан (1); умерено јак тинитус, успављивање помоћу седатива (2); неподношљиво јак тинитус (3).

РЕЗУЛТАТИ

Прва клиничка контрола болесника месец дана по завршеном лечењу показала је да је стопа успешности, односно престанка или смањења вертигинозних тегоба 78% (15/19). Напади су сасвим престали код девет болесника (47%), док су код шест (31%) били упола ређи, знатно су краће трајали и били слабијег интензитета. Болесници су истицали да им је, у функционалном смислу, знатно боље и да терапија има позитиван учинак на њихов квалитет живота. Код четири боле-

Табела 1. Функционални опоравак 19 болесника с Менијеровим обољењем месец дана и годину дана по завршетку интратимпаничне примене дексаметазона

Table 1. Functional recovery of 19 patients with Meniere's disease (1) one month and one year after intratympanic instillation of dexamethasone

Функционална група опоравка* Functional recovery group*	Број болесника са смањеним бројем напада вртоглавице Number of patients with reduction of vertigo spells	
	Месец дана после терапије One months after therapy	Годину дана после терапије One year after therapy
A	9 (47%)	8 (42%)
B	6 (32%)	4 (21%)
C	4 (21%)	7 (37%)

* према критеријумима AAH-HNS

A – без напада вртоглавице; B – број напада вртоглавице смањен за више од 50%; C – без смањења броја напада вртоглавице

* according to AAH-HNS guidelines

A – no vertigo spells; B – reduction of vertigo spells more than 50%; C – no change in the number of vertigo spells

сника (21%) терапија није деловала на побољшање, али није довела ни до погоршања тегоба. Није било перзистентне перфорације бубне опне, нити је било икаквих тегоба у вези са самом техником извођења методе. После клиничког праћења од годину дана, код 12 болесника (63%) и даље се одржавало стање функционалног опоравка, док су се код три болесника повратиле интензивне вертигинозне тегобе шест месеци од завршетка терапије. Предложена им је друга серија инстилације дексаметазона, коју су сва три болесника прихватила. Непосредно по завршеној другој серији терапије код сва три болесника је запажено клиничко побољшање, будући да су напади вртоглавице престали (Табела 1).

Аудиометријско испитивање болесника, које је вршено пре започете терапије, месец дана касније и годину дана по завршетку лечења, показало је да је интратимпанична примена дексаметазона допринела побољшању функције слуха, односно опоравку просечних прагова слуха за фреквенције од 0,5 kHz до 4 kHz код 13 испитаника (68%) месец дана после завршене терапије (Табела 2). На контролним аудиометријским мерењима након годину дана надгледања, успешан опоравак просечног прага слуха забележен је код 10 испитаника (52%). Код њих је просечан праг слуха за говорне фреквенције био смањен до 25 dB. Болесници нису имали погоршање слуха током при-

мене терапије, нити по њеном окончању. Перзистентна перфорација бубне опне није забележена ни код једног испитаника (Табела 2).

Сви болесници су пре лечења пријавили да имају тинитус. Код девет испитаника (47%) он је био умереног интензитета (оцењен са 1 на скали јачине), код седам болесника (37%) био је јачег интензитета (оцена 2), док је код два болесника (11%) био изузетно јак (оцена 3). На првој клиничког контроли о јачини тинитуса, месец дана по завршетку лечења, 16 болесника (84%) је одговорило да им је примењена терапија помогла у значајном смањењу или престанку тинитуса: код 14 болесника (73%) он је сасвим редукован, а код два (11%) је ослабио са умерено јаког степена на благ облик. Код два испитаника терапија није деловала на промену интензитета тинитуса. Три месеца по завршетку терапије нису пријављена погоршања стања. После шест месеци код три болесника дошло је до појаве тинитуса и његовог погоршања, те им је предложена поновљена серија инстилација. Након друге серије терапије тинитус се изразито смањило, и то непосредно по завршетку лечења. На клиничким прегледима после годину дана код 14 испитаника (73%) тинитус није забележен. Сви болесници без тинитуса или с изразитим смањењем тинитуса су после примењене терапије навели да им то значајно доприноси субјективном осећању побољшања здравља и квалитета живота.

ДИСКУСИЈА

Клиничке студије истичу предност интратимпаничне примене дексаметазона: висока концентрација лека постиже се локално у самом унутрашњем уву, тако да се избегавају нежељена дејства која се могу јавити после системске примене лека. Метода је минимално инвазивна и сигурна за болеснике, а ототоксични ефекти нису описани. Најтеже нежељено дејство које је описано у литератури јесте перзистентна перфорација бубне опне. У нашој студији испитаници нису пријавили било какве нежељене ефекте док је терапија трајала, нити је било погоршања симптома саме болести. Такође није било појаве перзистентне перфорације бубне опне.

Овом методом је проширено индикационо поље за лечење особа оболелих од Менијерове болести и обољења која су директна контраиндикација за пероралну

Табела 2. Расподела 19 болесника с просечним смањењем прага слуха за фреквенције 0,5–4 kHz пре лечења и месец дана и годину дана после интратимпаничне примене дексаметазона

Table 2. The distribution of 19 patients with the average hearing thresholds reduction for frequencies 0.5–4 kHz before therapy, one month after and one year after intratympanic instillations of dexamethasone

Степен смањења просечног прага слуха (dB) The level of reduction of the average hearing threshold (dB)	Број болесника с просечним смањењем прага слуха Number of patients with the average reduction of the hearing thresholds		
	Пре терапије Before therapy	Месец дана после терапије One months after therapy	Годину дана после терапије One year after therapy
≤25	4 (21%)	13 (68%)	10 (52%)
25–40	9 (47%)	4 (21%)	7 (37%)
40–70	6 (32%)	2 (11%)	2 (11%)
≥70	0	0	0

Табела 3. Стопа успешности интратимпаничне (iti) примене дексаметазона (период клиничког праћења дужи годину дана)
Table 3. Success rate of dexamethasone intratympanic (iti) instillation (follow-up period one year or more)

Аутори, референца, година Authors, reference number, year	Број испитаника Number of patients	Дозе дексаметазона Doses of dexamethasone	Стопа успешности лечења Therapy success rate
<i>Sennaroglu et al.</i> [17] (2001)	24	1 mg/ml перфузија, вент туба, три месеца 1 mg/ml perfusion, Vent tube, 3 months	72%
<i>Hamid & Trune</i> [5] (2001)	60	24 mg/ml iti, до три дозе 24 mg/ml iti, up to 3 doses	90%
<i>Barrs</i> [16] (2004)	34	10 mg/ml iti	47%
<i>Garduño-Anaya et al.</i> [21] (2005)	22	4 mg/ml iti	82%
<i>Boleas-Aguirre et al.</i> [20] (2008)	129	12 mg/ml iti	91%

или парентералну примену кортикостероида (хипертензија, дијабетес мелитус, остеопороза, глауком). Ови болесници су добили додатну терапијску опцију пре него што би им се предложила много инвазивнија метода, као што је интратимпанична примена гентамицина, декомпресија ендолимфатичног сакулуса или ресекција вестибуларног нерва [17, 18].

Према резултатима неколико клиничких студија, стопа успешности смањења вртоглавице после интратимпаничног укапавања дексаметазона код болесника с Менијеровим обољењем је између 47% и 91% (Табела 3). Стопа успешности смањења тинитуса је 45–82%, а побољшања прага слуха 16–68% [18]. У нашој студији терапија је после годину дана клиничког праћења била успешна у погледу потпуног престанка или изразитог смањења вертигинозних напада код 63% болесника; побољшање слуха одржавало се код 52% болесника, а престанак или скоро потпуно смањење тинитуса забележено је код 73% болесника.

У свету још нису усклађени ставови о дозама лека које се препоручују као најделотворније, а подаци у разним студијама су шаролики. Поједине студије истичу у први план терапију високим дозама дексаметазона (и до 24 mg/ml), наводећи да је стопа смањења тегоба 90%; на супрот томе, студије у којима је испитиван учинак примене двоструко мањих доза дексазона (12 mg/ml) показале су ефикасност у погледу смањења учесталости вртоглавице и до 91% [5, 19]. Истраживања у којима је примењена доза од 4 mg/ml забележиле су ефикасност лека од 47% до 82% [16, 20, 21]. У нашој студији месец дана по завршетку терапије степен сма-

њења вертигинозних тегоба био је 78%, а после годину дана од примене дексаметазона у дози од 4 mg/ml био је 63%. Аутори свих студија истичу да су код неких болесника, без обзира на дозу лека која је примењена, потребне поновљене инстилације, да би се тегобе смањиле. Болесници су веома мотивисани да прихвате овакву врсту терапије. Она је минимално инвазивна и не носи ризике које имају много агресивније методе лечења. Уколико се ни поновљено укапавање дексаметазона не покаже као делотворно, болесницима се може предложити примена гарамидина или хируршка декомпресија ендолимфатичног сакулуса, па и најагресивнија метода – ресекција вестибуларног нерва [17, 18]. Аутори су сагласни у томе да је потребан већи број двоструко слепих, плацебо-контролисаних клиничких студија, како би се прецизније одредила доза дексаметазона неопходна за максималну ефикасност примењеног лечења [5, 13, 19, 20, 21].

ЗАКЉУЧАК

Интратимпанична примена дексаметазона код болесника с Менијеровим обољењем је минимално инвазивна терапијска метода која доприноси смањењу понављаних напада вртоглавице, смањењу интензитета тинитуса и побољшању просечног прага слуха. Болесницима који имају контраиндикације за системску примену кортикостероида (дијабетес мелитус, хипертензија, глауком, улкусна болест и др.) овом се методом лечења пружа додатна терапијска опција.

ЛИТЕРАТУРА

- Dodson KM, Woodson E, Sismanis A. Intratympanic steroid perfusion for the treatment of Ménière's disease: a retrospective study. *Ear Nose Throat J.* 2004; 83:394-8.
- Rarey KE, Curtis LM. Receptors for glucocorticoids in the human inner ear. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1996; 115(1):38-41.
- Parnes LS, Sun AH, Freeman DJ. Corticosteroid pharmacokinetics in the inner ear fluids: an animal study followed by clinical application. *Laryngoscope.* 1999; 109(7 Pt 2):1-17.
- Yang GS, Song HT, Keithley EM, Harris JP. Intratympanic immunosuppressives for prevention of immune-mediated sensorineural hearing loss. *Am J Otol.* 2000; 21:499-504.
- Hamid M, Trune D. Issues, indications, and controversies regarding intratympanic steroid perfusion. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008; 16(5):434-40.
- Topdag M, Iseri M, Gelenli E, Yardimoglu M, Yazir Y, Ulubil SA, et al. Effect of intratympanic dexamethasone, memantine and piracetam on cellular apoptosis due to cisplatin ototoxicity. *J Laryngol Otol.* 2012; 126(1):1091-6.
- Takemura K, Komeda M, Yagi M, Himeno C, Izumikawa M, Doi T, et al. Direct inner ear infusion of dexamethasone attenuated noise-induced trauma in guinea pig. *Hear Res.* 2004; 196:58-68.
- Hargunani CA, Kempton BJ, DeGagne JM, Trune DR. Intratympanic injection of dexamethasone: time course of inner ear distribution and conversion to its active form. *Otol Neurotol.* 2006; 27:564-9.
- Pondugula SR, Sonneman JD, Wangemann P, Milhaud PG, Marcus DC. Glucocorticoids stimulate cation absorption by semicircular canal duct epithelium via epithelial sodium channels. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004; 286(2):127-35.
- Schuknecht HF. Ablation therapy for the relief of Ménière's disease. *Laryngoscope.* 1956; 66:859-70.
- Itoh A, Sakata E. Treatment of vestibular disorders. *Acta Otolaryngol Suppl.* 1991; 481:617-23.
- Chandrasekhar S, Rubinstein R, Kwatler J, Gatz M, Connelly PE, Huang E, et al. Dexamethasone pharmacokinetics in the inner ear: comparison of route of administration and use of facilitating agents. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2000; 122(4):521-8.

13. Phillips JS, Westerberg B. Intratympanic steroids for Ménière's disease or syndrome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011; (7):CD008514.
14. Hu A, Parnes LS. Intratympanic steroids for inner ear disorders: a review. *Audiol Neurotol.* 2009; 14:373-82.
15. American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Foundation, Inc. Committee on Hearing and Equilibrium guidelines for the diagnosis and evaluation of therapy in Ménière's disease. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1995; 113:181-5.
16. Barrs DM. Intratympanic injections of dexamethasone for long-term control of vertigo. *Laryngoscope.* 2004; 114:1910-4.
17. Sennaroglu L, Sennaroglu G, Gursel B, Dini FM. Intratympanic dexamethasone, intratympanic gentamycin and endolymphatic sac surgery for intractable vertigo in Ménière's disease. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2001; 125(5):537-43.
18. Casani AP, Piaggi P, Cerchiai N, Seccia V, Sellari Franceschini S, Dallan I. Intratympanic treatment of intractable unilateral Ménière disease: gentamicin or dexamethasone? A randomized controlled trial. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012; 146(3):430-7.
19. Harris JP. Inner ear steroid perfusion. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007; 15(5):303.
20. Boleas-Aguirre MS, Frank LR, Della Santina CC, Minor LB, Carey JP. Longitudinal results with intratympanic dexamethasone in the treatment of Ménière's disease. *Otol Neurotol.* 2008; 29(1):33-8.
21. Garduño-Anaya MA, Couthino De Toledo H, Hinojosa-González R, Pane-Pianese C, Ríos-Castañeda LC. Dexamethasone inner ear perfusion by intratympanic injection in unilateral Ménière's disease: a two-year prospective, placebo-controlled, double-blind, randomized trial. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005; 133(2):285-94.

Intratympanic Corticosteroid Perfusion in the Therapy of Meniere's Disease

Snežana Sanković-Babić, Rade Kosanović, Zoran Ivanković, Snežana Babac, Milica Tatović

Otorhinolaryngology Hospital, Clinical Hospital Center Zvezdara, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Over the last two decades the intratympanic perfusion of corticosteroids has been used as a minimally invasive surgical therapy of Meniere's disease. According to experimental studies the antiinflammatory, immunoprotective, antioxidant and neuroprotective role of the locally perfused corticosteroids was noticed in the inner ear structures. The recovery of action potentials in the cells of the Corti organ was confirmed as well as a decreased expression of aquaporine-1, a glycoprotein responsible for labyrinth hydrops and N and K ions derangement.

Objective The study showed results of intratympanic perfusion therapy with dexamethasone in patients with retractable Meniere's disease who are resistant to conservative treatment.

Methods Single doses of 4 mg/ml dexamethasone were given intratympanically in 19 patients with retractable Meniere's disease. Six single successive doses of dexamethasone were administered in the posteroinferior quadrant of the tympanic membrane. Follow-up of the patients was conducted by using a clinical questionnaire a month after completed perfusion series as well as on every third month up to one year.

Results One month after completed first course of perfusions, in 78% of patients, vertigo problems completely ceased or were markedly reduced. The recovery of hearing function was recorded in 68% and marked tinnitus reduction in 84% of patients. After a year of follow-up, in 63% of patients the reduction of vertigo persisted, while hearing function was satisfactory in 52%. Tinnitus reduction was present in 73% of patients.

Conclusion Intratympanic perfusion of dexamethasone in patients with Meniere's disease is a minimally invasive therapeutic method that contributes to the reduction of the intensity of vertigo recurrent attacks, decrease of the intensity of tinnitus and improvement of the average hearing threshold. Patients with chronic diseases and Meniere's disease who are contraindicated for systemic administration of corticosteroids (hypertension, diabetes, glaucoma, peptic ulcer, etc.) have an additional therapeutic option by dexamethasone intratympanic perfusion.

Keywords: intratympanic perfusion; dexamethasone; Meniere's disease

Примљен • Received: 05/03/2013

Ревизија • Revision: 30/10/2013

Прихваћен • Accepted: 02/04/2014

Detection of Herpes Simplex Virus Type 1 in Gingival Crevicular Fluid of Gingival Sulcus/Periodontal Pocket Using Polymerase Chain Reaction

Sanja Matić Petrović¹, Ksenija Zelić², Jelena Milašin³, Branka Popović³, Ana Pucar¹, Obrad Zelić¹

¹Department of Periodontology and Oral Medicine, School of Dental Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

²Laboratory of Anthropology, Department of Anatomy, School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

³Institute of Human Genetics, School of Dental Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Pathogenesis and some characteristics of periodontitis cannot be fully explained by bacterial etiology alone. Herpes viruses may bridge the gap between clinical characteristics and molecular understanding of periodontal destruction.

Objective The aim of this study was to investigate the prevalence of herpes simplex virus type 1 (HSV-1) in gingival crevicular fluid (GCF) of healthy and damaged periodontium in Serbian population and to explore potential correlation between the presence of this virus and the level of periodontal destruction.

Methods Samples were collected from gingival sulcus/periodontal pockets by sterile paper points and the presence of viral DNA in gingival crevicular fluid was assessed by PCR.

Results There was no statistically significant difference in HSV-1 in presence between periodontitis patients (PG=38.9%) and healthy controls (HC=32.3%), (Chi-square test, with Yates' correction $p=0.7574$). However, HSV-1 positive patients showed significantly higher values of parameters of periodontal destruction (PPD= 7.11 ± 2.52 , CAL= 5.46 ± 2.34) than periodontitis patients without HSV-1 in gingival crevicular fluid (PPD= 4.70 ± 1.79 , CAL= 3.39 ± 2.65) (p values respectively, $p=0.002$ and $p=0.023$, Independent Samples T-Test). HSV-1 occurred more often in deeper (PPD ≥ 6 mm) (69.2%) than in shallow pockets (3 mm < PPD < 6 mm) (18.2%) (Chi-square test, with Yates' correction, $p=0.008$). Plaque index was lower in the HSV-1 positive group (0.84 ± 0.69 vs. 1.43 ± 0.76 , $p=0.023$, Independent Samples T-Test).

Conclusion This study demonstrated that the presence of HSV-1 in the gingival crevicular fluid coincides with a higher degree of tissue destruction in patients with periodontitis.

Keywords: periodontitis; herpes simplex; gingival crevicular fluid; periodontal pocket

INTRODUCTION

Plaque-associated periodontal diseases are chronic infections caused by a mixed microbial flora, resulting in an inflammatory process that leads to periodontal attachment loss and ultimately tooth loss [1]. Although bacteria of dental biofilm are known to be the most important etiological factor for periodontal disease, a susceptible host is also needed. Immune-inflammatory reaction that develops in periodontal tissues in response to chronic bacterial presence results in the destruction of structural components of the periodontium [2].

Bacterial etiology has not been able to explain rapid periodontal tissue breakdown in cases with minimal plaque, or low levels of common risk factors [3]. Other aspects of periodontitis that cannot be fully explained by bacterial etiology are disease remission and reactivation [4], periodontitis site specificity [5], progression of periodontal destruction in some patients and not in others [6], evolution of gingivitis to periodontitis, or stable to disease-active periodontitis [7].

Herpes viruses and their biology may provide some answers for better understanding of mechanisms involved in the degradation of periodontal tissues.

Herpes viruses have been found in periodontal tissues and in gingival crevicular fluid in chronic [8], advanced [9] and aggressive [10] periodontitis as well as in the periodontium of HIV patients [11] and patients with the following syndromes: Papillon-Lefèvre [12], Down [13] and Kostmann [14].

Currently, it is believed that the pathogenesis of some types of periodontitis is a multi-step process, involving a complex interaction between the host, bacteria, viruses, and a variety of environmental factors.

OBJECTIVE

The aim of this study was to investigate the prevalence of HSV-1 in gingival crevicular fluid of healthy and damaged periodontium in Serbian population and to explore whether there is a correlation between the presence of this virus and the level of periodontal destruction.

Correspondence to:

Ksenija ZELIĆ
Rige od Fere 5/3, 11000 Beograd
Srbija
ksenijazelic@gmail.com

METHODS

The study, approved by the Ethical Committee of the School of Dentistry, included 67 subjects (25 men and 42 women, age 18-76). The group of patients with periodontitis (periodontitis group -PG) consisted of 36 patients (18 men and 18 women, age 23-76) who had clinical signs of periodontitis and were treated at the Clinic for Periodontology and Oral Medicine, School of Dental Medicine, University of Belgrade. Healthy control group (HC) consisted of 31 volunteers (7 men and 24 women, age 18-33) without clinical signs of periodontitis. Exclusion criteria for the study were: 1) known systemic diseases (cardiovascular, respiratory, renal, malignancy, etc.), 2) presence or history of any severe infections, 3) systemic antibiotic or immunomodulatory treatment in the previous 3 months, 4) long-term treatment with any medication suspected to affect the periodontium (e.g. non-steroidal anti-inflammatory drugs), 5) pregnant or lactating women and 6) less than 20 teeth present, 7) less than 3 teeth from Ramfjord examination model, (8) any therapy of periodontitis 1.5 year period prior to the study.

Anamnestic data included history of oral manifestation of recurrent herpes infection and information regarding smoking.

Clinical examinations included the determination of Plaque index – PI (Silness-Löe) [15], Gingival index – GI (Löe-Silness) [16], bleeding on probing – BOP (Mühlemann-Son) [17], clinical attachment loss – CAL and probing pocket depth – PPD. The probings were done by Williams probe calibrated in millimeters and were assessed on six Ramfjord's teeth [18, 19]. Subjects were assigned to the periodontitis group (PG) if they had at least three sites with probing pocket depth ≥ 3 mm and a clinical attachment loss ≥ 2 mm in at least three quadrants. The PG group was divided into two subgroups according to PPD values. The first subgroup included patients with PPD 3-6 mm and the second patients with PPD ≥ 6 mm. Subjects were assigned to the control group (HC) if they had PPD ≤ 3 mm, CAL=0 and did not have bleeding on probing.

The samples were collected 24 hours after the periodontal examination in order to avoid blood contamination of the samples. All samples were collected from the gingival sulcus/deepest periodontal pocket. The sample site was isolated from saliva with cotton rolls and gently air dried. The supragingival plaque was removed by sterile cotton pellets. Two paper points were inserted in each gingival sulcus/periodontal pocket until a mild resistance for 30 seconds. Paper points contaminated with blood were not used in the analysis. Those points were placed in sterile plastic tubes containing saline. All samples were stored at -70°C until further analysis.

The PCR procedure was carried out at the Laboratory for Molecular Biology, School of Dental Medicine, University of Belgrade. After thawing, the DNA was isolated by boiling at 100°C for 10 minutes.

HSV-1 type-specific oligonucleotide primers (forward 5'- ATA CCG ACG ATA TGC GAC CT and reverse 5'- TTA TTG CCG TCA TAG CGC GG) were used to amplify the 110bp region of thymidine kinase gene, unique for HSV-1.

The PCR was performed in the total volume of 25 μl containing 2.5 μl of 10X PCR buffer (MBI Fermentas, Lithuania), 1.5 μl of MgCl_2 , 0.2 mM dNTPs, 0.375 μM of each primer, 1 unit of Taq DNA polymerase (MBI Fermentas, Lithuania), 3 μl of biological sample and water to the final volume of 25 μl .

The PCR amplification was performed in a thermal cycler (PCR Express, Hybaid, USA). After the initial incubation at 94°C for 10 minutes, the PCR procedure included a 35-round amplification process that was performed in three steps covering denaturation (at 94°C for 1 minute), annealing (at 52°C for 1 minute) and extension (at 72°C for 3 minutes), followed by a final extension at 72°C for 7 minutes.

The PCR products were loaded onto 8% polyacrilamide gels and stained with 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of ethidium bromide after electrophoresis. The gels were analyzed and photographed under UV rays on transilluminator (Power Station 300plus, Labnet International, INC, USA). A one-kb DNA ladder digest (MBI, Fermentas, Lithuania) was used as a molecular size marker.

Each gel contained a negative and a positive control; for the negative control, samples were replaced with water while DNA samples obtained from patients with herpes labialis were used as positive controls.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows, version 15. The Kolmogorov-Smirnov test allowed for normal evaluation of data distribution. The Independent Samples T-test was used for comparing continuous variables. Statistical differences between frequencies were tested with Chi-square test with Yates' correction. In all analyses the significance level was set at 0.05.

After training and calibration, the samples were collected by the first and second author. For the evaluation of intra- and inter- reliability, 10% of randomly selected subjects were re-examined 2 weeks after the first examination. Reliability was tested by applying the Cohen-Kappa test (performed in SPSS for Windows). The Cohen's Kappa score was determined for each periodontal index in order to test the intra-and inter-observer agreement.

RESULTS

The Kappa scores were 0.5-0.7, representing a very good agreement [20].

The age and sex distribution of study subjects are shown in Table 1. HC and PG subjects were matched for smoking, but not for age. Clinical parameters for both groups are presented in Table 2.

There were no statistically significant differences in the presence of HSV-1 between PG (38.9%) and HC (32.3%) groups (Chi-square test, with Yates' correction $p=0.7574$). The difference in mean age was not found neither between

Table 1. Age and sex distributions of patients

Variable	Healthy control group	Periodontitis group
Number of patients	31	36
Age, years (mean±SD)	18-33 (24.81±4.79)	23-76 (45.83±14.49)
Woman (%)	24 (77.4)	18 (50.0)
Smokers (%)	5 (16.1)	10 (27.8)

Table 2. Clinical parameters of Healthy control (HC) and Periodontitis group (PG)

Parameter	Mean±SD		p*
	HC	PG	
PI	0.74±0.77	1.20±0.78	0.018
GI	1.27±0.76	2.19±0.62	0.000
BOP	1.29±0.80	2.45±1.22	0.000
PPD	2.00±0.00	4.19±2.70	0.000
CAL	0.00±0.00	5.64±2.36	0.000

* p-values determined by Independent-Samples T Test

PI – Plaque Index (Silness-Löe); GI – Gingival Index (Löe-Silness); BOP – bleeding on probing (Mühlemann-Son); PPD – probing pocket depth; CAL – clinical attachment loss

Table 3. Clinical parameters of HSV-1 positive and HSV-1 negative patients with clinical signs of periodontitis

Parameter	HSV-1 patients		p*
	Positive	Negative	
PI	0.84±0.69	1.43±0.76	0.023
GI	2.31±0.41	2.10±0.73	0.333
BOP	2.59±0.60	2.36±1.49	0.524
PPD	7.11±2.52	4.70±1.79	0.020
CAL	5.46±2.34	3.39±2.36	0.023

* p-values determined by Independent-Samples T Test

Table 4. HSV-1 in Periodontitis group (PG) of patients according to the pocket depth (PPD)

PG patients	PPD		p*
	3–6 mm (N=22)	>6 mm (N=13)	
HSV+ (%)	4 (18.2)	9 (69.2)	0.008

* p-values determined by using Chi-Square Test with Yates' correction exact test

the patients with or without HSV-1 nor between genders. Sixteen female (38.1%) and 8 male (32.0%) patients were positive for HSV-1 in gingival crevicular fluid samples (Chi-square test with Yates' correction, $p=0.8105$). Furthermore, the distribution of HSV-1 was similar in smokers (40.0%) and non-smokers (34.6%) (Chi-square test with Yates' correction, $p=0.938$). We also tried to establish a correlation between the presence of HSV-1 and the recurrence of oral herpes infections. Seventeen patients could not recall if they ever had a recurrent herpes infection. For the rest of them, 14 patients noted at least one episode of herpes labialis, and 36 denied it. There was no statistically significant difference in the presence of HSV-1 between patients who had recurrent HSV infection in the oral region (50.0% were HSV positive) and patients who had not (38.9% were HSV positive) (Chi-square test, $p=0.6924$).

However, within the PG group, several clinical parameters differed significantly depending on the presence of the virus (Table 3). Probing pocket depth and clinical attachment loss revealed higher values in the patients with HSV, while plaque index was lower in the HSV-1 positive group than in the HSV-1 negative group. In addition,

HSV-1 occurred more often in deeper pockets (Table 4), and three out of four deepest pockets measuring 11 mm harbored HSV1.

DISCUSSION

As previously mentioned, the etiopathogenesis of the periodontal disease is not completely clarified. The initial event in the development of periodontitis is the formation of dental biofilm followed by gingivitis. T lymphocytes, B lymphocytes and monocytes/macrophages infiltrate can lead to the accumulation of herpes viruses in the periodontal tissue, as these cells are considered to be the source of viruses [21, 22]. Reactivation of herpes viruses can decrease the local host resistance and lead to the overgrowth of periodontal pathogenic bacteria, as *Porphyromonas gingivalis* [7].

Herpes viruses may contribute to the progression of periodontitis through a number of mechanisms. It is assumed that these viruses are able to express cytopathogenic effects, immune evasion, immunopathogenicity, latency, reactivation and tissue tropism [23]. They can infect or alter structural cells and host defense cells in the periodontium, and thereby reduce the ability of periodontal tissues to resist bacterial insults [22].

In the multitude of studies dealing with the presence of viruses from the Herpesviridae family in the periodontium, the majority focused on EBV-1 and HCMV [14, 24, 25, 26]. HSV was investigated to a lesser extent [8, 27, 28]. To the best of our knowledge, this is the first study conducted in Serbian population regarding HSV-1 detection in the gingival sulci in subjects with a healthy periodontium as well as in the periodontal pockets of periodontitis patients.

We decided to analyze the presence of this particular virus because it is most common of all viruses from the Herpesviridae family, and causes well-known and frequent oral pathologies – herpetic stomatitis and recurrent herpetic infections most usually manifested as herpes labialis. Our results showed a high prevalence of HSV-1 in GCF (35.8%), which is in agreement with some other authors who reported a high prevalence of this virus in specimens taken with paper points from gingival crevicular fluid/periodontal pockets [8, 9, 27]. Contrary to our results, Nibali et al. [28] found a low prevalence of all investigated herpes viruses, especially HSV-1 in both patients with periodontitis and healthy controls.

In the present study the hypothesis that the presence of HSV-1 is in correlation with the development of periodontitis could not be confirmed because we did not detect any difference in the presence of this virus between the control group and patients with chronic periodontitis. Although, the subjects with a healthy periodontium were much younger than those with periodontitis, this discrepancy should not have an impact on our results as the peak of the primary herpetic infection occurs until the age of five [29]. However, we can assume that periodontal disease did not develop in younger individuals, or did not lead to clinically

noticeable tissue destruction yet. Consequently, it would be valuable to conduct a follow-up of young patients with HSV-1 detected in their periodontium and periodically make clinical examinations.

As for the different number of male and female individuals in the healthy control group, gender itself is not considered as the predilection factor for periodontal destruction [30]. On the other hand, lactation, pregnancy, oral contraceptives, menstrual period may have an impact on periodontal tissues, which is why we excluded females with any of the mentioned conditions. Regarding the influence of gender on HSV-1 prevalence, no gender differences were found in the study performed in Romania from 2004-2005 [31]. As the prevalence of HSV-1 infection varies among different geographic regions, and Romania borders with Serbia, we consider findings of this study relevant in regard to our population.

Contreras and Slots [27] also failed to detect differences in the presence of HSV-1 between PG and HC groups. On the other hand, Grenier et al. [8] reported a higher prevalence of HSV-1 in subjects with periodontitis than in healthy controls. Parra and Slots [9] also found statistically higher prevalence of HSV-1 in patients with chronic periodontitis than in patients with mild gingivitis. The same results were reached by Contreras et al. [22] in gingival tissue specimens. Surprisingly, Bilichodmath et al. [32] found higher prevalence of HSV-1 in patients with chronic periodontitis than in patients with the aggressive form of the disease, but they explained the results as the influence of their patients' age.

The most important result in our study is the relationship between the presence of HSV-1 and pocket depth. Our results showed a significantly higher prevalence of HSV-1 in deeper pockets than in shallower ones; clinical parameters (CAL, PPD) also showed significantly higher values in HSV+ periodontitis patients than in HSV-, which is in agreement with the results of Slots et al. [7]. Other authors did not find correlation between the depth of periodontal pockets and HSV-1 presence. [8]. Our results also showed lower values for the plaque index in PG HSV+ patients, which speaks in favor of HSV-1 influence on periodontal tissue destruction and confirms the hypothesis that viruses might have influence on periodontitis progression in patients with good oral hygiene [3]. Kamma et al.

[33] detected significantly higher frequencies of HCMV, EBV-1 and HSV in active and progressive periodontitis sites than in stable sites.

Herpes viruses and in particular HSV-1 are considered to have a potential role in the pathogenesis of some oral diseases. There is evidence of a higher presence of HCMV, EBV-1 and HSV in Nigerian malnourished children with acute necrotizing ulcerative gingivitis (ANUG) [34]. The hypothesis is that herpes viruses can affect the host's immune system, facilitating the development of secondary bacterial infections. Sabeti et al. [35] found a clear relationship between symptomatic periapical lesions and the presence of HCMV and EBV. They presume that viral infections contribute to immune impairment, which in turn creates a fertile ground for endodontopathogenic bacterial infections. This model of pathogenesis could be potentially applied to the shifting of gingivitis toward periodontitis. Furthermore, phases of remission and reactivation of periodontitis might coincide with the latency and the reactivation of viruses [36], whilst viral tissue tropism could explain the site-specificity of periodontal destruction in some patients [37].

CONCLUSION

In the present study, we demonstrated that the presence of HSV-1 in the GCF is related to the degree of tissue destruction in the patients with periodontitis. The confirmation of the role of HSV-1 in the pathogenesis of periodontitis will require a larger sample along with a prospective study that would detect the presence of HSV in the periodontium before the onset, at the time of periodontitis initiation, and periodically during its development. Also, future studies demonstrating the role of HSV infection in the pathogenesis of periodontitis should prove that eradication of viral infection can prevent the progression of periodontal destruction.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study is supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of Serbia, Grants No. 45005 and 41008.

REFERENCES

- Heitz-Mayfield LJ. Disease progression: identification of high-risk groups and individuals for periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005; 32(Suppl 6):196-209.
- Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet*. 2005; 366(9499):1809-20.
- Cho C-M, You H-K, Jeong S-N. The clinical assessment of aggressive periodontitis patients. *J Periodontal Implant Sci*. 2011; 41(3):143-8.
- Goodson JM, Tanner ACR, Haffajee AD, Sornberger GC, Socransky SS. Patterns of progression and regression of advanced destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1982; 9(6):472-81.
- Heitz-Mayfield LJ, Schätzle M, Löe H, Bürgin W, Ånerud Å, Boysen H, et al. Clinical course of chronic periodontitis: incidence, characteristics and time of occurrence of the initial periodontal lesion. *J Clin Periodontol*. 2003; 30(10):902-8.
- Papapanou PN. Periodontal diseases: epidemiology. *Ann Periodontol*. 1996; 1(1):1-36.
- Slots J, Kamma JJ, Sugar C. The herpesvirus-Porphyromonas gingivalis-periodontitis axis. *J Periodont Res*. 2003; 38:318-23.
- Grenier G, Gagnon G, Grenier D. Detection of herpetic viruses in gingival crevicular fluid of patients suffering from periodontal diseases: prevalence and effect of treatment. *Oral Microbiol Immunol*. 2009; 24:506-9.
- Parra B, Slots J. Detection of human viruses in periodontal pockets using polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol*. 1996; 11(5):289-93.
- Saygun I, Kubar A, Özdemir A, Yapar M, Slots J. Herpesviral-bacterial interrelationship in aggressive periodontitis. *J Periodont Res*. 2004; 39(4):207-12.

11. Mardirossian A, Contreras A, Navazesh M, Nowzari H, Slots J. Herpes viruses 6, 7 and 8 in HIV- and non-HIV-associated periodontitis. *J Periodont Res.* 2000; 35(5):278-84.
12. Velazco CH, Coelho C, Salazar F, Contreras A, Slots J, Pacheco JJ. Microbiological features of Papillon-Lefèvre syndrome periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1999; 26(9):622-7.
13. Hanookai D, Nowzari H, Contreras A, Morrison JL, Slot J. Herpesviruses and periodontopathic bacteria in trisomy 21 periodontitis. *J Periodontol.* 2000; 71(3):376-84.
14. Yildirim S, Yapar M, Kubar A. Detection and quantification of herpesviruses in Kostmann syndrome periodontitis using real-time polymerase chain reaction: a case report. *Oral Microbiol Immunol.* 2006; 21(2):73-8.
15. Löe H. The gingival index, the plaque index and the retention index systems. *J Periodontol.* 1967; 38(6):610-6.
16. Silness J, Löe H. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand.* 1964; 22(1):121-35.
17. Mühlemann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding – a leading symptom in initial gingivitis. *Helv Odontol Acta.* 1971; 15(2):107-13.
18. Ramfjord SP. The Periodontal Disease Index (PDI). *J Periodontol.* 1967; 38(6):602-10.
19. Zelić O. Osnovi kliničke parodontologije. 3rd ed. Beograd: Službeni glasnik; 2006.
20. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* 1977; 33(1):159-74.
21. Slots J, Contreras A. Herpesviruses: a unifying causative factor in periodontitis? *Oral Microbiol Immunol.* 2000; 15(5):277-80.
22. Contreras A, Nowzari H, Slots J. Herpesviruses in periodontal pocket and gingival tissue specimens. *Oral Microbiol Immunol.* 2000; 15(1):15-8.
23. Slots J. Herpesviruses in periodontal diseases. *Periodontol.* 2000; 2005; 38(1):33-62.
24. Klemenc P, Skalerič U, Artnik B, Nograšek P, Marin J. Prevalence of some herpesviruses in gingival crevicular fluid. *J Clin Vir.* 2005; 34(2):147-52.
25. Sunde PT, Olsen I, Enersen M, Beiske K, Grinde B. Human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in apical and marginal periodontitis: a role in pathology? *J Med Virol.* 2008; 80(6):1007-11.
26. Chalabi M, Rezaie F, Moghim S, Mogharehabet A, Rezaei M, Mehraban B. Periodontopathic bacteria and herpesviruses in chronic periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2010; 25(3):236-40.
27. Contreras A, Slots J. Typing of herpes simplex virus from human periodontium. *Oral Microbiol Immunol.* 2001; 16(1):63-4.
28. Nibali L, Atkinson C, Griffiths P, Darbar U, Rakmanee T, Suvan J, et al. Low prevalence of subgingival viruses in periodontitis patients. *J Clin Periodontol.* 2009; 36(11):928-32.
29. Scully C. *Oral and Maxillofacial Medicine.* 2nd ed. London: Churchill Livingstone Elsevier; 2008. p.233-240.
30. Chambrone L, Chambrone D, Lima LA, Chambrone LA. Predictors of tooth loss during long-term periodontal maintenance: a systematic review of observational studies. *J Clin Periodontol.* 2010; 37(7):675-84.
31. Arama V, Cercel AS, Vladareanu R, Mihai C, Mihailescu R, Rankin J, et al. Type-specific herpes simplex virus-1 and herpes simplex virus-2 seroprevalence in Romania: comparison of prevalence and risk factors in women and men. *Int J Infect Dis.* 2010; 14(Suppl 3):e25-31.
32. Bilichodmath S, Mangalekar SB, Sharma DCG, Prabhakar AK, Reedy SB, Kalburgi NB, et al. Herpesviruses in chronic and aggressive periodontitis patients in an Indian population. *J Oral Sci.* 2009; 51(1):79-86.
33. Kamma JJ, Contreras A, Slots J. Herpes viruses and periodontopathic bacteria in early-onset periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2001; 28(9):879-85.
34. Contreras A, Falkler WA, Enwonwu CO, Idigbe EO, Savage KO, Afolabi MB, et al. Human Herpesviridae in acute necrotising ulcerative gingivitis in children in Nigeria. *Oral Microbiol Immunol.* 1997; 12(5):259-65.
35. Sabeti M, Simon JH, Slots J. Cytomegalovirus and Epstein-Barr virus are associated with symptomatic periapical pathosis. *Oral Microbiol Immunol.* 2003; 18(5):327-8.
36. Kamma JJ, Slots J. Herpesviral-bacterial interactions in aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2003; 30(5):420-6.
37. Şahin S, Saygun I, Kubar A, Slots J. Periodontitis lesions are main source of salivary cytomegalovirus. *Oral Microbiol Immunol.* 2009; 24(4):340-2.

Откривање вируса *herpes simplex* тип 1 у гингивалној течности сулкуса или пародонталног џепа ланчаном реакцијом полимеразе

Сања Матић Петровић¹, Ксенија Зелић², Јелена Милашин³, Бранка Поповић³, Ана Пуцар¹, Обрад Зелић¹

¹Клиника за пародонтологију и оралну медицину, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

²Лабораторија за антропологију, Катедра за анатомију, Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

³Институт за хуману генетику, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Патогенеза и неке клиничке одлике пародонтопатије не могу се до краја објаснити бактеријском етиологијом. Херпесвируси би могли да премосте јаз који постоји између клиничких особина и познавања патогенетских механизма пародонтопатије на молекуларном нивоу.

Циљ рада Циљ ове студије био је одређивање преваленције вируса *herpes simplex* тип 1 (*HSV-1*) у здравом и оболелом пародонцијуму особа у Србији, као и утврђивање могуће корелације између постојања ових вируса и степена оштећења пародонцијума.

Методе рада Узорци су узимани папирним поенима из гингивалних сулкуса или пародонталних џепова, а вирус је откриван реакцијом ланчаном умножавања молекула ДНК (енгл. *polymerase chain reaction – PCR*).

Резултати Није утврђена статистички значајна разлика у преваленцији *HSV-1* између особа с пародонтопатијом (32,3%) и здравим пародонцијумом (38,9%); χ^2 -тест са Јејтсовом (*Yates*) корекцијом: $p=0,7574$. У групи испитаника с

пародонтопатијом параметри који означавају степен оштећења (дубина пародонталног џепа – ДПЦ; ниво припојног епитела – НПЕ) били су значајно већи код оних с откривеним вирусом (ДПЦ: $7,11 \pm 2,52$ mm; НПЕ: $5,46 \pm 2,34$), него код испитаника без вируса у узорцима гингивалне течности (ДПЦ: $4,70 \pm 1,79$ mm; НПЕ: $3,39 \pm 2,65$); Студентов *t*-тест за неvezане узорке: $p=0,002$, односно $p=0,023$. У дубљим пародонталним џеповима (ДПЦ ≥ 6 mm) *HSV-1* је откривен статистички значајно чешће (69,2%) него у плићим џеповима (ДПЦ ≤ 3 –6 mm) (18,2%); χ^2 -тест са Јејтсовом корекцијом: $p=0,008$. Просечне вредности плак-индекса биле су ниже код испитаника са *HSV-1* ($0,84 \pm 0,69$) у поређењу са испитаницима код којих овај вирус није откривен ($1,43 \pm 0,76$); Студентов *t*-тест за неvezане узорке: $p=0,023$.

Закључак Приказана студија показала је да је постојање *HSV-1* повезано са нивоом оштећења ткива код особа с пародонтопатијом.

Кључне речи: пародонтопатија; *herpes simplex*; гингивална течност; пародонтални џеп

Changes in Subgingival Microflora after Placement and Removal of Fixed Orthodontic Appliances

Marija Živković Sandić¹, Branka Popović², Jelena Čarkić², Nadja Nikolić², Branislav Glišić¹

¹Clinic for Orthodontics, School of Dental Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

²Institute of Human Genetics, School of Dental Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction The placement of fixed orthodontic appliances may lead to increased plaque accumulation and changes in subgingival microflora.

Objective The aim of this study was to examine the changes in frequency of subgingival microflora that occur after placement and removal of fixed orthodontic appliance using polymerase chain reaction (PCR).

Methods This study included 33 orthodontic patients, who were divided into two groups. Subgingival plaque samples were collected from the right upper incisor (U1) and right upper first molar (U6). In group A, the samples were taken three times: before placement appliance (T1), after one month (T2), and after 3 months (T3). In group B the samples were also taken three times: before appliance removal (T1), after one month (T2), and after three months (T3). PCR method was used to determine the presence of *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, and *P. intermedia*.

Results In group A the frequency of *P. gingivalis* showed statistically significant decrease at U1 ($p=0.049$) and U6 ($p=0.008$), from T1 to T2, and at U1 ($p=0.048$) from T1 to T3. In group B only the frequency of *T. forsythia* showed a statistically significant decrease, at U6 (T1 vs. T2, $p=0.004$; T1 vs. T3, $p=0.0003$). Regarding other analyzed bacteria, changes in the presence were noticed but no statistical significance was found.

Conclusion Placement of fixed appliances may have an impact on subgingival microflora, but in the first months after the placement and removal of the appliance changes were not significant, probably due to good oral hygiene.

Keywords: orthodontic appliance; bacteria; PCR

INTRODUCTION

Fixed orthodontic appliance is the most common method for treating malocclusions in contemporary orthodontics. However, the placement of orthodontic brackets and bands may compromise oral hygiene, because new retentive places are formed resulting in increased accumulation of dental plaque leading to gingival inflammation [1, 2]. As known, bacterial plaque is the main etiological factor for the development of gingival inflammation and periodontitis [3, 4].

Numerous studies have registered changes of microbiologic status during orthodontic therapy and after the removal of orthodontic fixed appliance [2, 5-8]. However, some studies have reported that the placement of fixed orthodontic appliances affects subgingival microflora by increasing the prevalence of periodontopathogens [5, 6]. Also, some other studies have reported that anaerobic bacteria are significantly reduced after appliance removal [9, 10]. Contrary to those data, the results of ten-year retrospective studies have shown that orthodontic treatment during adolescence has no significant effect on later periodontal health [7].

Moreover, one recent prospective study found that placement of fixed appliances has an impact on periodontal parameters, but these changes are partially reversible two years after the end of treatment [11].

OBJECTIVE

The aim of this study was to examine the changes that occur in the subgingival microflora after placement and removal of fixed orthodontic appliance using PCR.

METHODS

Subjects and clinical procedures

This study was carried out on 33 patients (14 males and 19 females), aged between 12 and 36 years. The mean age of all patients was 19.7 years (females 19.2 and males 20.5). They were enrolled according to the following criteria: fixed orthodontic appliance in the upper tooth arch and healthy systemic condition. The subjects were divided into 2 groups. Group A consisted of patients at the beginning and group B of the patients at the end of orthodontic therapy.

In group A the samples were taken at three different times: before placement of fixed appliance (T1), one month after the placement (T2), and three months after the placement (T3). In group B the samples were also taken at three times: before appliance removal (T1), one month after appliance removal (T2), and three months after appliance removal (T3). After the placement of appliance, the patients from group A were instructed to take care of

Correspondence to:

Branka POPOVIĆ
Institute of Human Genetics
School of Dental Medicine
Dr Subotića 8, 11000 Belgrade
Serbia
brankapopovic7@yahoo.com

oral hygiene by brushing their teeth more often and longer, but without additional use of antibacterial mouthwashes. Also, patients from group B, after removal of appliance were advised to visit their dentist to have plaque and calculus removed and their teeth polished.

Subgingival plaque samples were collected from subgingival space at the buccal, mesial and distal side of the right upper incisor (U1) and the right upper first molar (U6). The sampling sites were fixed with cotton rolls and dried by gentle air stream. Sterile paper points were placed into the subgingival space depth of about 1 mm and left in situ for 15 seconds. Paper points were transferred into a sterile tube and then kept in freezer at -20°C.

Bacteriological methods

The extraction of potentially present bacterial DNA was performed by the boiling method of Gebara et al. [12]. The presence of the most important periodontopathogens: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* and *Prevotella intermedia*, was determined using the PCR method. The sequence of primers for 16S rRNA gene of analyzed bacteria is shown in Table 1.

PCR mixture in a total volume of 25 µl contained 1 µl of 5 µM up-stream and down-stream primers, 5 µl of 10×PCR buffer, 1 µl of 0.2 mM dNTP mix, 1 unit of Taq polymerase (Fermentas, Vilnius, Lithuania), 3 µl of bacterial DNA, and distilled water up to 25 µl. The number of amplification cycles was 35 performed in a thermal cycler

Table 1. PCR primers

Primers	Size (bp)
<i>Universal 16S rDNA</i> 5' AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG 3'	
<i>Porphyromonas gingivalis</i> 5' CAA TAC TCG TAT CGC CCG TTA TTC 3'	400
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> 5' CAC TTA AAG GTC CGC CTA CGT GC 3'	600
<i>Tannerella forsythia</i> 5' GTA GAG CTT ACA CTA TAT CGC AAA CTC CTA 3'	840
<i>Prevotella intermedia</i> 5' GTT GCG TGC ACT CAA GTC CGC C 3'	660

(PCR Express, Hybaid, USA). The temperature conditions of amplification consisted of initial denaturation of 3 minutes at 94°C. Each of the 35 amplification cycles consisted of denaturation at 94°C for 1 min, hybridization for 1 min at 55°C, and extension for 3 min at 72°C. The final extension lasted for 7 minutes at 72°C.

PCR products were run on an 8% polyacrylamide gel, and after electrophoresis, the gel was stained with ethidium bromide solution. Bacterial DNA was observed after staining under transilluminator UV light (Power Station 300 plus, Labnet International, Inc.).

Statistical analysis

Comparison between the groups was performed using a two-tails Chi-square (χ^2) test with Yates' correction and Student's t-test. The significance was set at p value of <0.05.

Table 2. Frequency of periodontopathogens in subgingival plaque at three times: before placement of fixed appliance (T1), one month after the placement (T2), and 3 months after the placement (T3)

Group A			T1		T2		T3		p-value		
Microorganism	Tooth	N	N	%	N	%	N	%	T1 vs. T2	T2 vs. T3	T1 vs. T3
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	U1	14	7	50.0	7	50.0	8	57.1	0.65	0.49	0.49
	U6	14	12	85.7	11	78.6	12	85.7	0.49	0.50	0.70
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	U1	14	4	28.6	0	0	0	0	0.049*	/	0.048*
	U6	14	6	42.8	0	0	2	14.3	0.008*	0.24	0.10
<i>Prevotella intermedia</i>	U1	14	6	42.8	9	64.3	7	50.0	0.23	0.35	0.49
	U6	14	8	57.1	9	64.3	6	42.8	0.49	0.23	0.35
<i>Tannerella forsythia</i>	U1	14	2	14.3	1	7.0	3	21.4	0.50	0.29	0.49
	U6	14	5	35.7	7	50.0	7	50.0	0.35	0.65	0.35

* statistically significant at p<0.05

U1 – the right upper incisor; U6 – the right upper first molar

Table 3. Frequency of periodontopathogens in subgingival plaque at three times: before appliance removal (T1), one month after the appliance removal (T2), and three months after the removal (T3)

Group B			T1		T2		T3		p-value		
Microorganism	Tooth	N	N	%	N	%	N	%	T1 vs. T2	T2 vs. T3	T1 vs. T3
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	U1	19	6	31.5	3	15.8	5	26.3	0.22	0.35	0.49
	U6	19	7	36.8	4	21.1	7	36.8	0.24	0.24	0.63
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	U1	19	1	5.2	1	5.2	0	0	0.76	0.50	0.50
	U6	19	0	0	1	5.2	0	0	0.49	0.50	/
<i>Prevotella intermedia</i>	U1	19	5	26.3	6	31.6	7	36.8	0.49	0.49	0.36
	U6	19	6	31.6	8	42.1	5	26.3	0.37	0.25	0.49
<i>Tannerella forsythia</i>	U1	19	3	15.7	4	21.1	4	21.1	0.49	0.65	0.49
	U6	19	13	68.4	4	21.1	2	10.5	0.004*	0.33	0.0003*

* statistically significant at p<0.05

U1 – the right upper incisor; U6 – the right upper first molar

RESULTS

The frequencies of 4 analyzed bacteria at U1 and U6 sample sites in T1, T2 and T3 times of groups A and B are shown in Tables 2 and 3.

In patients with the placement of fixed appliance (group A), the frequency of *P. gingivalis* was decreased significantly, from T1 to T2 time, on both sample sites, the upper incisor ($p=0.049$) and the upper first molar ($p=0.008$), and for U1 from T1 to T3 time ($p=0.048$). Contrarily, in the same group significant changes in frequency of *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, and *T. forsythia* were not noticed at U1 and U6 sites, from T1 to T3 time.

In patients with appliance removal (group B), only the frequency of *T. forsythia* was significantly reduced with time at U6 site (T1 vs. T2, $p=0.004$; T1 vs. T3, $p=0.0003$). No significant difference in frequency was registered for all other analyzed bacteria, from T1 to T3.

In the group A the following presence of all analyzed bacteria, comparing T1 and T3 recording time, the frequency of unchanged pattern (--) for U1 and U6 was 46% and 29%, respectively; the frequency of unchanged pattern (++) for U1 and U6 was 14% and 32%, respectively. A changed pattern (+) was observed in 18% for U1 and 16% for U6 sites. A changed pattern (+-) was noticed in 21% for U1 and 23% for U6 (Graph 1).

In the group B the frequency of all analyzed bacteria, comparing T1 and T3 at unchanged pattern (--), for U1 and U6, was 67% and 60%, respectively; the frequency of unchanged pattern (++), for U1 and U6 was 8% and 13%, respectively. A changed pattern (+) was seen in 13% for U1 and 5% for U6. A changed pattern (+-) was found in 12% for U1 and 21% for U6 (Graph 2).

DISCUSSION

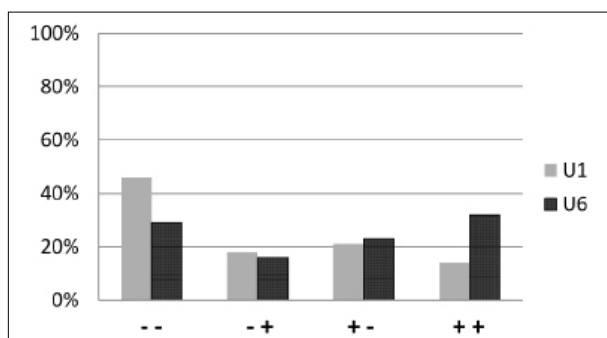
The inflammatory reaction of gingival tissues can be often detected among patients with fixed orthodontic appliances as a result of inadequate oral hygiene. The results of many studies about the effects of orthodontic therapy on gingival and periodontal health are rather inconsistent. Some of

them showed that subgingival microflora was changed in patients with an orthodontic appliance [5, 6], while others showed that those changes were reversible and had no significant effect on later periodontal health [7].

For periodontal microbial identification the most commonly used methods are cell culturing, PCR, and immunologically analysis. The cell culturing method is time consuming, expensive and may fail to grow some important organisms, while the PCR method shows greater sensitivity and specificity compared with other techniques [13]. Over the recent years, by using the PCR method most investigations have been directed to estimation of periodontopathogens during orthodontic therapy; however, there is still a lack of literature data about alterations of bacterial status after therapy [14, 15]. In our study PCRs were used to detect 4 anaerobes: *T. forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, and *P. intermedia* that are assumed as the main etiological factor for the development of periodontal disease [16].

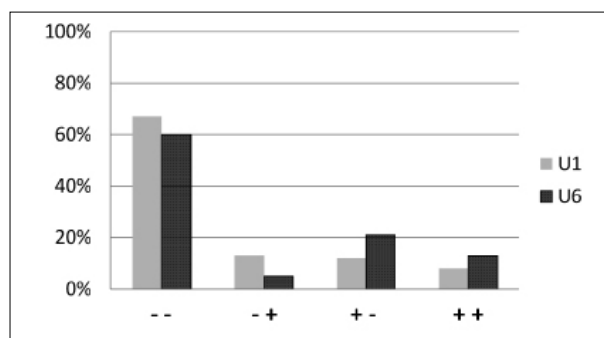
In the reports of Socransky et al. [16] two anaerobes, *T. forsythia* and *P. gingivalis*, have been categorized as the "red complex" species, which is related to the severity of periodontitis, while *A. actinomycetemcomitans* and *P. intermedia* are categorized as secondary risk factors involved in periodontal tissue destruction. According to data, *A. actinomycetemcomitans* is anaerobe linked with juvenile periodontitis, while *P. gingivalis* is found in normal microflora of the oral cavity, and has an important role in the etiology of adult periodontitis [17, 18]. In the study of Griffen et al. [19] applying a specific PCR assay, *P. gingivalis* was detected in only 25% of healthy subjects, and in higher rate (79%) of patients with periodontitis. Anyway, as known all four bacteria analyzed in our study may have synergistic effect in destroying periodontal tissues, as reported in investigation by Ashimoto et al. [13].

In the first of tested group (A) with patients at the beginning of orthodontic therapy; where we compared the frequency of sites positive for each bacteria in times, T1 (before placement), T2 (one month after), and T3 (three months after), no statistically significant difference was registered between recorded times for *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, and *T. forsythia* (Table 2).



Graph 1. Group A: Comparison of subgingival microorganisms in each site at T1 (before placement of fixed appliance) and T3 (3 months after placement of the appliance)

(--) – microorganisms did not exist at T1 and T3; (+) – microorganisms did not exist at T1 but appeared at T3; (+-) – microorganisms existed at T1 but disappeared at T3; (++) – microorganisms existed at T1 and T3; U1 – the right upper incisor; U6 – the right upper first molar



Graph 2. Group B: Comparison of subgingival microorganisms in each site at T1 (before removal of fixed appliance) and T3 (3 months after removal of the appliance)

(--) – microorganisms did not exist at T1 and T3; (+) – microorganisms did not exist at T1 but appeared at T3; (+-) – microorganisms existed at T1 but disappeared at T3; (++) – microorganisms existed at T1 and T3; U1 – the right upper incisor; U6 – the right upper first molar

Only the frequency of *P. gingivalis* on U1 was significantly decreased in T2 and T3 compared to T1 time, and on U6 between T1 and T2, although we expected that it would be increased. As in our study, Liu et al. [10] showed the decrease of *P. gingivalis* during the first 3 months after the placement of the appliance, although the sampling sites were different. Similar to our data, in one of the first investigation of gingival changes of oral bacteria in patients during orthodontic treatment, Diamanti-Kipioti et al. [20] registered a decreasing rate of bacteria (*B. intermedius* and *A. odontolyticus*) 4 months after the placement of brackets. Opposite results were obtained by Ristic et al. [8] reports involving clinical investigation which showed increased values of *P. gingivalis* and *F. nucleatum*, 3 months after placement applicants, but also their decrease 6 months after the beginning of orthodontic therapy.

As noted in our study, the absence of variation in frequencies for three anaerobes and the decreasing rate of *P. gingivalis* during 3 months from the beginning of orthodontics treatment might be explained in two ways. Namely, after the placement of appliances, new retentive places around the brackets could be formed, where the amount of supragingival plaque and aerobic bacteria might be increased, while anaerobes could be reduced and plaque composition modified. Also, one of the reasons for this microbiological status regarding anaerobes might be that the patients followed our instructions about oral hygiene in the first months of the orthodontic therapy. First 3 months of our treatment was the period when patients were highly motivated to take more care about dental hygiene, and as the consequence the presence of analyzed bacteria did not change significantly during this time. Interestingly, the study of Van Gastel et al. [4] showed a decrease of bacteria after bonding in the recording time (from week 18 to week 36).

As well known, the presence of some oral anaerobes might be associated with the hormonal level, especially during pregnancy and puberty [21]. Since the average age of our female patients was 19.2 years, microbiological changes can be probably related to individual dental hygiene habits. However, as shown in study by Shourie et al. [22], hormones may have a negligible effect on clinically healthy periodontium.

Additional data analyses confirmed our results of no significant changes of bacterial value during the period of therapy. Moreover, in the group A, summarizing the presence of all bacteria, either on U1 or U6 site, the patients with unchanged (--) / (++) patterns had higher values and also a changed pattern (+-) was noticed in higher percentage than in those with (-+) (Graph 1).

Also, in the second tested group (B), after the removal of the orthodontic appliance microbiological changes were followed at three different times: the time of appliance removal (T1), after one month (T2) and after three months (T3). In our study, only a decreasing of frequency for *T. forsythia* on U6 from T1 to T2, and T1 to T3 was noticed, with statistical significance. The same decreasing trend of *T. forsythia* on U1 through the time was not observed. Opposite to those results, other analyzed anaerobes showed no significant changes during the three-month period (Table 3). Similar to our results, in a report of Choi et al. [9] no statistical significant decrease of the same bacterial species was evaluated after the removal of orthodontic appliance. Opposite to our data, Sallum et al. [14] showed a significant reduction of anaerobes after the removal of the orthodontic appliance. Those contradictory results might be explained by different sampling sites, applied techniques, individual oral hygiene habits, and the use of prophylactic measures. Moreover, similar to our obtained data related to *T. forsythia*, Liu et al. [10] observed a reduced frequency of patients with *P. gingivalis* after 3 months from the removal of appliances. Anyway, as in our study, the same trend toward the reduction of bacteria was noticed in reports of other authors, especially on U6 after appliances removal [9, 10, 14].

Also, in the group B U6 showed a higher reduction of all bacteria, from T1 to T3 time than U1, so it might be suggested that U6 could be more relevant for the following microbiological changes. Analyzing the overall frequency in the group B, unchanged pattern (--) had the highest value, but the patients with changed pattern (+-) were present in a greater percentage than those with (-+) and (++) (Graph 2).

CONCLUSION

Placement of fixed appliances may have an impact on subgingival microflora, but in the first months after the placement of the appliance those changes were not significant, probably due to good oral hygiene. After the removal of fixed appliance the trend of decreased anaerobic bacteria was noticed. However, how long it takes to return to the preorthodontic composition of subgingival microflora remains to be seen.

ACKNOWLEDGMENT

This research is supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of Serbia, Grant 175075.

REFERENCES

1. Bollen AM, Cunha-Cruz J, Bakko DW, Huang GJ, Hujoel PP. The effects of orthodontic therapy on periodontal health: a systematic review of controlled evidence. *J Am Dent Assoc.* 2008; 139(4):413-22.
2. Alexander SA. Effects of orthodontic attachments on the gingival health of permanent second molars. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1991; 100(4):337-40.
3. Loe H. Physiology of the gingival pocket. *Acad Rev Calif Acad Periodontol.* 1965; 13(1):6-14.
4. Van Gastel J, Quirynen M, Teughels W, Coucke W, Carels C. Longitudinal changes in microbiology and clinical periodontal variables after placement of fixed orthodontic appliances. *Eur J Orthod.* 2011; 33(1):15-21.
5. Boyd RL, Baumrind S. Periodontal considerations in the use of bonds or bands on molars in adolescents and adults. *Angle Orthod.* 1992; 62(2):117-26.
6. Paolantonio M, Festa F, di Placido G, D'Attilio M, Catam G, Piccolomini R. Site-specific subgingival colonization by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1999; 115(4):423-8.
7. Polson AM, Subtelny JD, Meitner SW, Polson AP, Sommers EW, Iker HP, et al. Long-term periodontal status after orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1988; 93(1):51-5.
8. Ristic M, Vlahovic Svabic M,asic M, Zelic O. Effects of fixed orthodontic appliances on subgingival microflora. *Int J Dent Hyg.* 2008; 6(2):129-36.
9. Choi DS, Cha BK, Jost-Brinkmann PG, Lee SY, Chang BS, Jang I, et al. Microbiologic changes in subgingival plaque after removal of fixed orthodontic appliances. *Angle Orthod.* 2009; 79(6):1149-55.
10. Liu H, Sun J, Dong Y, Lu H, Zhou H, Hansen BF, et al. Periodontal health and relative quantity of subgingival *Porphyromonas gingivalis* during orthodontic treatment. *Angle Orthod.* 2011; 81(4):609-15.
11. Ghijselings E, Coucke W, Verdonck A, Teughels W, Quirynen M, Pauwels M, et al. Long-term changes in microbiology and clinical periodontal variables after completion of fixed orthodontic appliances. *Orthod Craniofac Res.* 2013 [in press].
12. Gebara EC, Pannuti C, Faria CM, Chehter L, Mayer MP, Lima LA. Prevalence of *Helicobacter pylori* detected by polymerase chain reaction in the oral cavity of periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol.* 2004; 19(4):277-80.
13. Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol.* 1996; 11(4):266-73.
14. Sallum EJ, Nouer DF, Klein MI, Goncalves RB, Machion L, Wilson Sallum A, et al. Clinical and microbiologic changes after removal of orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2004; 126(3):363-6.
15. Kim SH, Choi DS, Jang I, Cha BK, Jost-Brinkmann PG, Song JS. Microbiologic changes in subgingival plaque before and during the early period of orthodontic treatment. *Angle Orthod.* 2012; 82(2):254-60.
16. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998; 25(2):134-44.
17. Henderson B, Wilson M, Sharp L, Ward JM. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Med Microbiol.* 2002; 51(12):1013-20.
18. Slots J, Listgarten MA. *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 1988; 15(2):85-93.
19. Griffen AL, Becker MR, Lyons SR, Moeschberger ML, Leys EJ. Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* and periodontal health status. *J Clin Microbiol.* 1998; 36(11):3239-42.
20. Diamanti-Kipioti A, Gusberti FA, Lang NP. Clinical and microbiological effects of fixed orthodontic appliances. *J Clin Periodontol.* 1987; 14(6):326-33.
21. Güncü G, Tözüm T, Çağlayan F. Effects of endogenous sex hormones on the periodontium – review of literature. *Aust Dent J.* 2005; 50(3):138-45.
22. Shourie V, Dwarakanath CD, Prashanth GV, Alampalli RV, Padmanabhan S, Bali S. The effect of menstrual cycle on periodontal health – a clinical and microbiological study. *Oral Health Prev Dent.* 2012; 10(2):185-92.

Промене субгингивалне микрофлоре након поставке и уклањања фиксних ортодонтских апарата

Марија Живковић Сандић¹, Бранка Поповић², Јелена Чаркић², Нађа Николић², Бранислав Глишић¹

¹Клиника за ортопедију вилица, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

²Институт за хуману генетику, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Поставка фиксних ортодонтских апарата може довести до повећаног нагомилавања плака и промена у субгингивалној микрофлори.

Циљ рада Циљ овог рада био је да се испитају промене субгингивалне микрофлоре након поставке и уклањања фиксних ортодонтских апарата применом реакције ланчаног умножавања молекула ДНК (енгл. *polymerase chain reaction* – PCR).

Методе рада Студија је обухватила 33 пацијента која су сврстана у две групе (А и Б). Узорци плака су узети из субгингивалног простора десног горњег централног секутића (У1) и десног горњег првог кутњака (У6). У групи А узорци су узимани пре поставке фиксног апарата (Т1), месец дана после поставке (Т2) и три месеца од поставке (Т3). У групи Б узорци су узимани пре уклањања апарата (Т1), месец дана после уклањања (Т2) и три месеца након уклањања (Т3). Применом методе PCR анализирано је постојање микроорганизама:

Porphyromonas gingivalis, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* и *Prevotella intermedia*.

Резултати У групи А учесталост *P. gingivalis* показала је статистички значајно смањење на оба зуба (У1: $p=0,049$; У6: $p=0,008$) у временском интервалу од Т1 до Т2. Уочено је и статистички значајно смањење заступљености ове бактерије на зубу У1 у интервалу од Т1 до Т3 ($p=0,048$). У групи Б само се учесталост *T. forsythia* статистички значајно смањила на зубу У6 у интервалу од Т1 до Т2 ($p=0,004$) и од Т1 до Т3 ($p=0,0003$). Учесталости осталих бактерија у обе групе испитаника нису показале статистички значајне промене.

Закључак Поставка фиксних апарата може да утиче на састав субгингивалне микрофлоре, али у првим месецима након поставке и уклањања апарата углавном нису уочене статистички значајне промене, вероватно због добре оралне хигијене.

Кључне речи: ортодонтски апарат; бактерије; PCR

Средњорочни резултати потпуне хируршке корекције транспозиције великих крвних судова

Војислав Парезановић^{1,2}, Мирко Мрђен³, Слободан Илић^{1,2}, Ирена Вулићевић²,
Милан Ђукић^{1,2}, Ида Јовановић^{1,2}, Игор Стефановић², Тамара Илисић², Јасна Калањ²,
Бранко Мимић², Владимир Миловановић²

¹Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

²Универзитетска деčја клиника, Београд, Србија;

³Општа болница, Лозница, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Артеријска „свич“ операција (АСО) је кардиохируршка метода избора потпуне корекције транспозиције великих крвних судова. Усавршавање ове технике је значајно поправило исход и дугорочну прогнозу код деце рођене с овако тешком урођеном срчаном маном.

Циљ рада Циљ рада је био да се процени успешност АСО кроз ретроспективну анализу морталитета и касних компликација.

Методе рада Испитано је 57 деце која су оперисана у периоду 2005–2009. године у Универзитетској деçјој клиници у Београду. Анализирани су параметри који могу утицати на исход операције и касне компликације: стенозе неопулмоналне артерије, стенозе неоаорте, неоаортне регургитације и клиничких знакова инсуфицијенције срца.

Резултати Рани периоперациони морталитет је забележен код девет болесника (15,8%). Током даљег клиничког праћења, које је у просеку трајало 36,5 месеци (од осам месеци до 72 месеца), није било смртних исхода. На последњем ехокардиографском прегледу неоаортна регургитација је утврђена код 73,2% болесника, а неопулмонална регургитација код 67,4%, али су оне код све деце биле благог степена. Неопулмонална стеноза је забележена код 32,6% деце, где је по једно дете било с умереним и тешким степеном стенозе. Ни код једног болесника нису уочене исхемијске ЕКГ промене. Због озбиљних резидуалних проблема, учињене су три реинтервенције: по једна хируршка корекција неоаортне, односно неопулмоналне стенозе и једна транскатетерска дилатација рекоарктације аорте. На крају посматраног периода само су код једног болесника од 46 доследно надгледаних уочени знаци слабости срца (2,2%), док су сви остали болесници били без тегоба и потребе за ограничењем у физичким активностима.

Закључак АСО се у нашој средини обавља успешно с прихватљивим периоперационим морталитетом и одличним дугорочним резултатима.

Кључне речи: транспозиција великих артерија; артеријска „свич“ операција; деца

УВОД

Анатомска корекција транспозиције великих крвних судова (енгл. *dextro-transposition of the great arteries* – *D-TGA*) је терапијска метода избора и постиже се артеријском „свич“ операцијом (АСО), која подразумева хируршко „премештање“ (енгл. *switch*) аорте и плућне артерије у анатомски одговарајућу комору. АСО је осмислио и први пут извео 1975. године бразилски лекар Жатене (*Jatene*) са својим сарадницима [1]. Корекција се постиже трансекцијом аорте и плућне артерије, инсерцијом коронарних артерија за проксимални део неоаорте, а затим анастомозом тако настале неоаорте са дисталном аортом и реконструкцијом плућне артерије аутологним пачем (енгл. *patch* – закрпа) (Слика 1). На тај начин се постиже вентрикулоартеријски склад, за разлику од раније обављане „физиолошке корекције“ операцијама по Мустарду (*Mustard*) или Сенингу (*Senning*), после којих болесници и даље имају вентрикулоартеријски дискорданс. Операције по Мустарду и Сенингу су

носили ризик од попуштања десне коморе, тешких поремећаја срчаног ритма и биле су праћене високом стопом морталитета. Код АСО сачуване су функције синусног чвора и леве коморе као системске коморе [2].

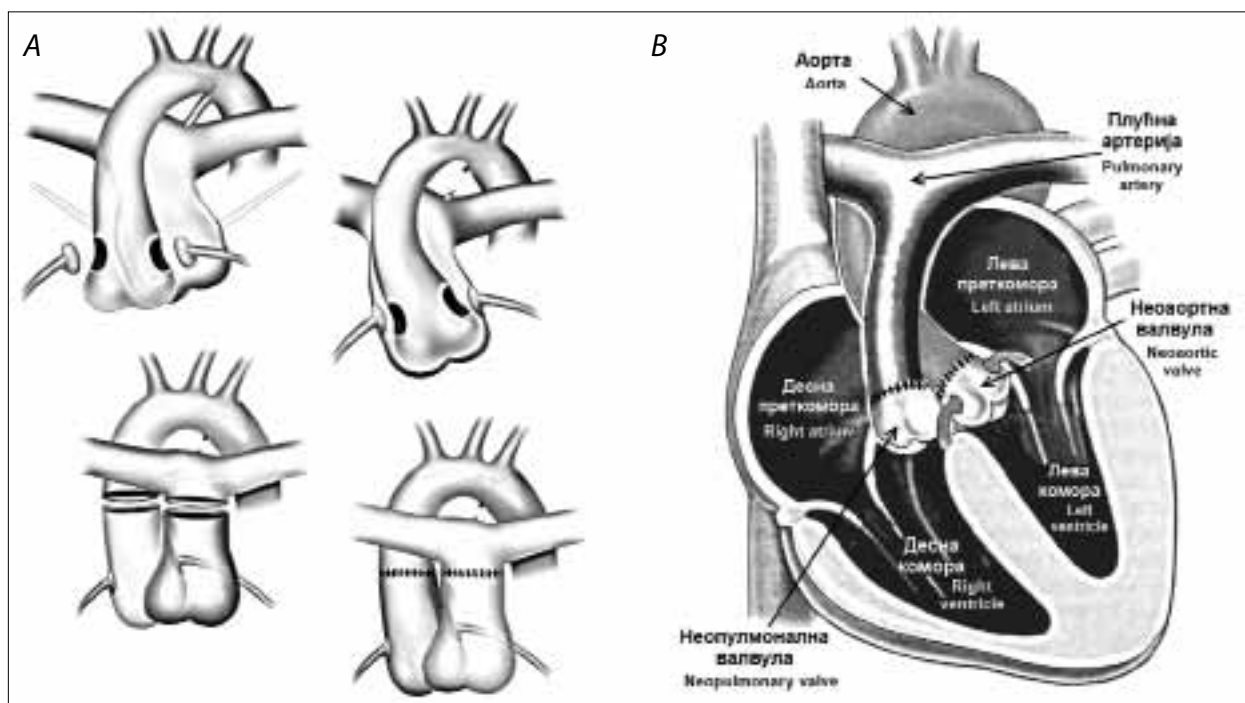
Упркос широкоприхваћеној АСО, и даље се воде полемике у вези с краткорочном и дугорочном користи ове интервенције. Коронарне артерије су премештене, морфолошки плућна валвула функционише као системска, а гране плућне артерије могу бити стенотичне (уврнуте) због нетипичног односа великих артерија. Постоје бројни подаци о могућим компликацијама, као што су коронарна исхемија, дисфункција семи-лунарних валвула и дисритмија [3].

ЦИЉ РАДА

Циљ рада је био да се код деце са *D-TGA* која су у неонаталном периоду била подвргнута АСО процене изводљивост и поузданост ове хируршке методе. Посебан нагласак је стављен на морталитет током хируршког

Correspondence to:

Voislav PAREZANOVIĆ
Univerzitetska deçja klinika
Tiršova 10, 11000 Beograd
Srbija
vparezan@gmail.com



Слика 1. Артеријска „свич“ операција: А) фазе операције; В) изглед срца и великих артерија после операције
Figure 1. Arterial switch operation: A) procedures in arterial switch operation; B) appearance of the heart and great arteries after surgery

захвата и раног постоперационог тока. Позни резултати су процењивани на основу компликација које су захтевале поновну интервенцију и постојања клиничких знакова, ЕКГ промена или ехокардиографских поремећаја који би указивали на смањену функционалну способност оперисане деце.

МЕТОДЕ РАДА

Ретроспективном студијом је обухваћено 57 новорођенчади са *D-TGA* која су оперисана применом АСО од 1. јануара 2005. до 31. децембра 2009. године (петогодишњи период) на Универзитетској дечјој клиници у Београду. Из студије су искључени болесници са значајнијим аномалијама које се јављају удружено са *D-TGA*, осим мањег вентрикуларног септалног дефекта (ВСД) или коарктације аорте.

Поред општих преоперационих података, анализирани су параметри који могу утицати на успех хирушког лечења: придружене аномалије, као што су ВСД или коарктација аорте, примена простагландина и балон-атриосептостомије (БАС) пре операције и претходни кардиохируршки захвати (нпр. операција критичне коарктације аорте).

Анализирани периоперациони параметри били су: трајање постоперационе механичке вентилације и дужина боравка у јединици интензивне неге.

Постоперациони параметри су анализирани код болесника који су средњорочно клинички праћени (8–72 месеца, просечно 36,5 месеци). Коришћени су ехокардиографски и клинички подаци добијени на првом прегледу после операције и на последњем контролном прегледу. Посматрано је могуће постојање ком-

пликација: стенозе неопулмоналне артерије, стенозе неоорте или неоортна регургитација. Ради процене функције леве коморе, свим болесницима је ехокардиографски одређена вредност фракционог скраћења.

Од клиничких параметара анализирани су заступљени клинички знаци инсуфицијенције срца према класификацији за децу Њујоршког удружења за срце (*New York Heart Association – NYHA*) [4]. Болесницима је на контролним прегледима начињен ЕКГ да би се уочили евентуална исхемија, блок десне гране или поремећај срчаног ритма.

Посебан нагласак је стављен на учесталост компликација током клиничког праћења оперисаних болесника. Крајни циљ анализе био је да се процени стопа дугогодишњег преживљавања, односно вероватноћа да оперисана деца неће морати да се подвргну било каквој поновној операцији.

Сваки параметар који је достигао високу статистичку значајност ($p < 0,1$) анализиран је Коксовом (*Cox*) мултиваријантном методом. Вероватноћа дугогтрајног преживљавања и изостанка потребе за поновном операцијом процењена је Каплан–Мајеровом (*Kaplan–Meier*) методом. Подаци су анализирани коришћењем статистичког софтвера *SPSS*.

РЕЗУЛТАТИ

Од укупно 57 испитаника, 37 (64,9%) су чинили дечаца, а 20 (35,1%) девојчице. Деца су у тренутку операције била просечног узраста од $19,4 \pm 9,9$ дана (распон: 6–50 дана). Код 40 оперисане деце (70,1%) нису уочене придружене структурне аномалије. Коарктација аорте, као једина придружена мана, забележена је код једног

болесника (1,8%), док је ВСД установљен код 13 деце (22,8%). Код три детета (5,3%) утврђени су и ВСД и коарктација аорте. Пре операције 49 болесника (86,0%) је примало простагландине. За оптимално мешање крви на атријалном нивоу, код 53 болесника (93,0%) је пре операције урађена БАС. Код четири болесника (7,0%) хируршка корекција коарктације аорте претходила је АСО. Хируршки захват и рани постоперациони период преживело је 48 оперисаних болесника (84,2%). Код деветоро деце (15,8%) дошло је до тзв. раног смртног исхода. Расподела болесника према полу, примени простагландина, претходно примењеној БАС и исходу операције у погледу преживљавања приказани су у табели 1.

У овом раду анализирани су могући фактори ризика за „рану смрт“, која је дефинисана као смрт током операције или у периоду до 30 дана након хируршког захвата или током хоспитализације. То су: узраст у време операције, телесна маса у време операције, постојање ВСД и/или коарктације аорте пре операције, примена БАС и простагландина пре операције и претходно хируршко лечење (Табела 2). Просечни узраст деце која су преживела хируршки захват на операцији био је 20,1 дан, а умрле деце 16,1 дан. Рани смртни исход је доживело 25% болесника код којих је пре операције установљен ВСД, односно 12% болесника с интактним вентрикуларним септумом. Простагландине пре операције није примило осморо новорођенчади (14%), међу којима и једно које није преживело (11%). Код једног детета код којег није учињена БАС забележен је рани постоперациони смртни исход, али је смрт наступила и код осам болесника који су пре хируршког лечења били подвргнути примени БАС. Униваријантна анализа фактора показала је да ниједан наведени фактор није био статистички значајно повезан са смртним исходом болесника.

Међу девет болесника који су доживели рани смртни исход, шесторо је умрло на дан операције (или *in tabulam* или непосредно након операције у јединици кардиохируршке интензивне неге). Узрок смрти је био синдром ниског минутног волумена срца (енгл. *low cardiac output syndrome*). Један болесник је преминуо другог дана од операције због слабости бубрега. Код детета које је умрло петог дана развиле су се тешка метаболичка ацидоза и плућна хипертензија, а код другог, који је умро 34. дана од операције (тзв. касни смртни исход), установљена је интраатријална *re-entry* тахикардија. Кумулативна статистичка „слобода“ од раног морталитета 34 дана након операције била је 83,64% (Графикон 1).

Током периода клиничког надгледања болесника није забележен ниједан случај смртног исхода након отпуста болесника с кардиохируршког одељења. Кумулативна статистичка „слобода“ од касног морталитета приказана је на графикону 2.

Од 48 преживелих болесника 46 је надгледано, док два болесника нису даље клинички праћена. Надгледање оперисаних болесника у просеку је трајало $35,5 \pm 19,9$ месеци (распон: 8–72 месеца). Болесници који су клинички праћени оперисани су у просечном узрасту од

Табела 1. Одлике болесника пре операције и исход хируршког лечења

Table 1. Patients' characteristics before surgery and outcome

Одлике Characteristics		Број болесника (%) Number of patients (%)
Пол Gender	Мушки Male	37 (64.9)
	Женски Female	20 (35.1)
Примена простагландина пре операције Prostaglandin therapy before operation	Да Yes	49 (86.0)
	Не No	8 (14.0)
БАС пре операције BAS before operation	Да Yes	53 (93.0)
	Не No	4 (7.0)
Исход операције Outcome	Преживели Survived	48 (84.2)
	Умрли Died	9 (15.8)

БАС – балон-атриосептостомија

BAS – balloon atrioseptostomy

Табела 2. Анализа фактора ризика раног морталитета

Table 2. Analysis of early mortality risk factors

Фактори ризика Risk factors	Живи Alive	Умрли Dead	95% CI	p
Узраст у време операције (дани) Age at operation (days)	20.1*	16.1*	0.869–1.041	0.27
ВСД у време операције VSD at operation	Не No	36 (88%)	0.553–10.419	0.23
	Да Yes	12 (75%)		
Коарктација аорте Coarctation of the aorta	Не No	45 (85%)	0.753–20.358	0.6
	Да Yes	3 (75%)		
БАС пре операције BAS before operation	Не No	3 (75%)	0.049–5.791	0.6
	Да Yes	45 (85%)		
Примена простагландина пре операције Prostaglandin therapy before operation	Не No	7 (87%)	0.147–12.677	0.78
	Да Yes	41 (84%)		

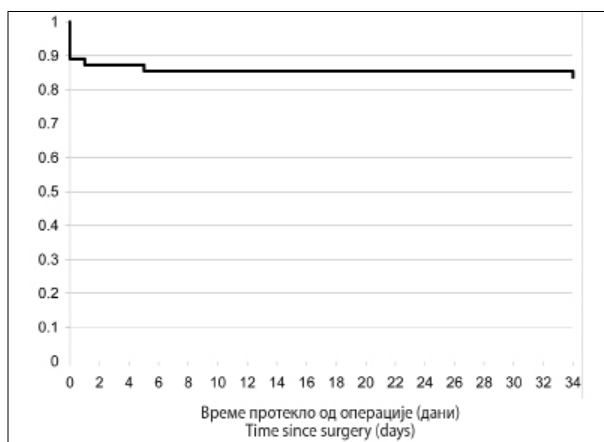
* Ове вредности се односе на дане, а све остале на број болесника и проценат.

БАС – балон-атриосептостомија; ВСД – вентрикуларни септални дефект; CI – интервал поверења

* These values mean days, all other relate to the number of patients and percentage.

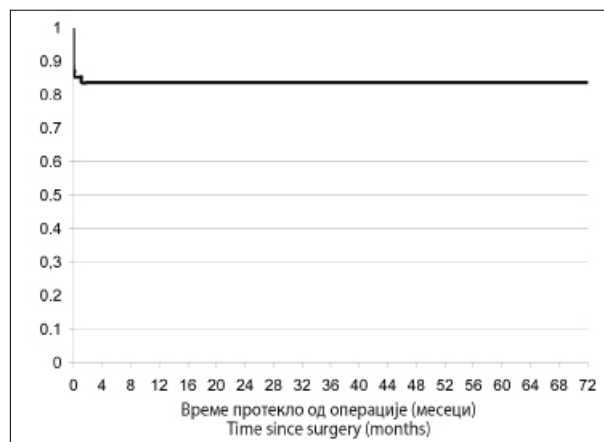
BAS – balloon atrioseptostomy; VSD – ventricular septal defect; CI – confidence interval

$20,3 \pm 10,4$ дана (распон: 7–50 дана). Просечна телесна маса деце на операцији била је $3,5 \pm 0,5$ kg (распон: 2,6–5 kg). Примена механичке вентилације након хируршког захвата у просеку је трајала 5,4 дана (распон: 2–53 дана). Просечно трајање боравка на одељењу кардиохируршке интензивне неге било је 9,1 дан (распон: 3–61 дан). Болничко лечење на одељењу кардиохирургије у просеку је трајало 17,4 дана (распон: 9–71 дан). Болесници који су претходно оперисани због коаркта-



Графикон 1. Кумулативна статистичка слобода од раног морталитета

Graph 1. Cumulative freedom from early mortality



Графикон 2. Кумулативна статистичка слобода од касног морталитета

Graph 2. Cumulative freedom from late mortality

ције аорте (два детета, 4,3%) знатно су дуже били на механичкој вентилацији у односу на остале болеснике, а разлика је била близу статистичке значајности ($p=0,06$). Такође, њихово болничко лечење статистички је значајно дуже трајало од хоспитализације деце која претходно нису оперисана ($p<0,05$). На крају периода клиничког праћења код једног детета уочени су знаци инсуфицијенције срца, а 45 болесника (97,8%) сврстано је у прву групу према класификацији NYHA.

Увид у ЕКГ запис са последњег прегледа био је могућ за 30 болесника. Нормалан ЕКГ је забележен код 17 деце (56,7%). Ниједно дете није имало исхемијске промене, а код 13 болесника (43,3%) је утврђен инкомплетни блок десне гране. Просечно фракционо скраћење код болесника на првом ехокардиографском прегледу после операције било је 0,39 (распон: 0,29–0,50), а на последњем 0,40, са готово истоветним распонем вредности (0,28–0,50).

На првом постоперационом ехокардиографском прегледу код 26 деце (56,5%) утврђена је тривијална или блага неоартна регургитација, а на последњем код 34 болесника (73,2%), док ни код једног детета није уочен умерен или тежак степен ове компликације (Табела 3).

Током клиничког праћења код једне девојчице забележена је суправалвуларна неоартна стеноза са градијентом притиска (ПГ) од 89 mm Hg на месту сужења. Код ње је 23 месеца након АСО извршена хируршка корекција стенозе. На последњем контролном ехокардиографском прегледу забележена је блага неоартна стеноза код овог и још једног детета. Ниједан болесник није имао умерен (ПГ већи од 35 mm Hg) или тежак степен неоартне стенозе (ПГ већи од 50 mm Hg) ни на првом постоперационом ехокардиографском прегледу, нити на последњем.

Између првог и последњег ехокардиографског прегледа дошло је до незнатног смањења броја болесника без неопулмоналне стенозе са 32 (66,6%) на 29 (63,0%), као и повећања броја деце са благим степеном ове компликације са 10 (21,7%) на 15 (32,6%). Код једног болесника је остао тежак степен стенозе, што је захтевало поновну интервенцију (Табела 3).

На последњем контролном ехокардиографском прегледу код 31 оперисаног болесника (67,4%) утврђена је неопулмонална регургитација. Она је, као и на првом прегледу, код 15 деце (32,6%) била тривијална, а код 16 (34,8%) блага. Ни код једног детета није забележен умерен или тежак степен ове постоперационе компликације (Табела 3).

Табела 3. Касне компликације после артеријске „свич“ операције
Table 3. Late complications after arterial switch operation

Касне компликације Late complications	Степен Degree	Број болесника (%) Number of patients (%)	
		Непосредно после операције Early after operation	На крају клиничког праћења At the end of follow-up
Неоартна регургитација Neoartortic regurgitation	Сви All	26 (56.5)	34 (73.9)
	Тривијална Trivial	24 (52.2)	31 (67.4)
	Блага Mild	2 (4.3)	3 (6.5)
	Умерена Moderate	0	0
	Тешка Severe	0	0
Неопулмонална стеноза Neopulmonary stenosis	Сви All	14 (30.5)	17 (37.0)
	Блага Mild	10 (21.8)	15 (32.6)
	Умерена Moderate	3 (6.5)	1 (2.2)
	Тешка Severe	1 (2.2)	1 (2.2)
Неопулмонална регургитација Neopulmonary regurgitation	Сви All	31 (67.4)	31 (67.4)
	Тривијална Trivial	15 (32.6)	15 (32.6)
	Блага Mild	16 (34.8)	16 (34.8)
	Умерена Moderate	0	0
	Тешка Severe	0	0

Табела 4. Тешке постоперационе компликације
Table 4. Serious postoperative complications

Тешке компликације Serious complications	Ране компликације (до 30 дана од операције) Early complications (up to 30 days after operation)	Касне компликације Late complications	Компликације које су захтевале интервенцију Complications which needed intervention	Исход (на крају клиничког праћења) Outcome (at the end of follow-up)
Неопулмонална стеноза (умерено тешка/тешка) Neopulmonary stenosis (moderate/severe)	4	0	1 Реоперација Reoperation	2
Неоаортна стеноза (умерено тешка/тешка) Neo-aortic stenosis (moderate/severe)	0	1	1 Реоперација Reoperation	0
Рекоарктација аорте Recoarctation of the aorta	0	1	1 Балон-дилатација Balloon-dilation	0
АВ блок трећег степена AV block III degree	2	0	2 Привремени пејсмејкер Temporary pacemaker	0
Суправентрикуларна тахикардија Supraventricular tachycardia	6	0	6 Медикаментна терапија Medicament therapy	0
Атријални флатер Atrial flutter	0	1	1 Медикаментна терапија Medicament therapy	0
Смањена систолна функција леве коморе Decreased systolic left ventricle function	1	0	1 Медикаментна терапија Medicament therapy	1

Током периода надгледања код три детета су се јавиле компликације због којих је била потребна поновна хируршка или транскатетерска интервенција (Табела 4). Поред поменутих корекција неоаортне, односно неопулмоналне стенозе, код једног детета је обављена транскатетерска дилатација рекоарктације аорте 14 месеци после операције.

Поремећаји срчаног ритма су у раном постоперационом току уочени код осам болесника (17,4%). Код шест болесника (13,0%) забележена је суправентрикуларна тахикардија. Синусни ритам је успостављен применом антиаритмика (амјодарон, пропранолол, пропафен). Код два детета (4,4%) је у непосредном постоперационом току установљена атриовентрикуларна дисоцијација с коморском брадикардијом (пролазни АВ блок), која се током клиничког праћења спонтано превела у синусни ритам. Код једне девојчице је осам месеци након операције на ЕКГ запису регистрован атријални флатер. Применом медикаментне терапије (пропранолол и амјодарон) успостављен је синусни ритам. На последњем клиничком прегледу ниједан болесник није имао тежак поремећај срчаног ритма. Учесталост тешких компликација после хируршког лечења болесника приказана је у табели 4.

ДИСКУСИЈА

Клиничке одлике испитиваних болесника у овој студији су сличне онима које се налазе код анатомске корекције транспозиције великих артерија (TGA). Већина болесника је оперисана током треће недеље по рођењу, када је лева комора срца припремљена за системску циркулацију. У већини публикованих сту-

дија просечан узраст деце на операцији је 6–12 дана [5, 6, 7]. У овим студијама уочава се и тренд смањења процента болесника код којих су примењени простагландини или БАС.

Током првих година извођења АСО стопа морталитета болесника је у светским кардиохируршким центрима била изразито висока – до 50% [8, 9]. Непрестано побољшање ране дијагностике и хируршке технике довело је до смањења смртности оперисаних болесника. У већини студија стопа операционог морталитета је била 5–15% [9, 10]. У нашем раду она је износила 15,7%, што је и просечан резултат у студији Хутера (Hutter) и сарадника [10] у којој је приказано 25-годишње искуство у извођењу АСО у Утрехту, у Холандији. Према резултатима мултиинституционалне студије Европског удружења кардиохирурга [5], која је обухватила 19 установа у којима се врше кардиохируршке интервенције, стопа периоперационог морталитета у периоду 1998–2001. године била је 3% у групи болесника с интактним вентрикуларним септумом и 13% у групи болесника са ВСД пре АСО; разлика је била статистички високо значајна ($p < 0,01$). Већина студија је показала да је ВСД значајан фактор ризика за смртност болесника током операције [5, 8, 10, 11]. У нашој студији није било статистички значајне разлике између ових група болесника ($p = 0,23$). Такође, статистичка анализа је показала да то што болесници нису примали простагландине пре операције није утицало на исход хируршког лечења. Према подацима из литературе, најважнији узроци периоперационог морталитета били су: инсуфицијенција леве коморе, плућне компликације, септикемија и инфаркт миокарда [2, 10, 11]. С побољшањем хируршке технике стопа морталитета се знатно смањила, иако је инциденција

исхемије или инфаркта миокарда и даље висока због несавршености транслокације коронарних артерија [2, 11]. Код болесника оперисаних у Универзитетској децјој клиници у Београду већина смртних исхода се догодила *in tabulam*, као последица синдрома смањеног минутног волумена срца. С обзиром на то да се АСО на овој клиници рутински примењује као терапија избора у лечењу *D-TGA* од 2000. године, стопа раног морталитета је у складу с резултатима водећих светских кардиохируршких центара у првој деценији примене АСО.

Код болесника обухваћених овом студијом није забележен ниједан случај тзв. касног морталитета. У већини других студија утврђена је различита учесталост касног смртног исхода, а узрок смрти је код већине болесника био плућна васкуларна болест или исхемија миокарда. Стеноза коронарних артерија је била одговорна за изненадну смрт деце, обично у првој години по рођењу [12, 13].

На последњем ехокардиографском прегледу код 73,9% деце запажена је неоартна инсуфицијенција, а код око две трећине болесника установљен је тривијалан степен регургитације. Ниједан болесник није имао умерену или тешку регургитацију. У студији Ванга (*Hwang*) и сарадника [14] је током клиничког праћења болесника дошло, као и у нашем истраживању, до повећања учесталости ове компликације, али и до њене прогресије код десет болесника. Код 58% оперисаних болесника се или смањило степен регургитације или је она ишчезла. Објашњење за велику учесталост неоартне регургитације лежи у чињеници да нативна плућна валвула није саздана тако да обавља улогу аортне валвуле, па ванредни напор неоартне (бивше плућне) валвуле притиском погађа њену функцију, што временом доводи до валвуларне некомпетентности [6, 15, 16, 17]. Међутим, учесталост поновне интервенције због ове компликације је веома мала. Друге студије, слично нашој, нису забележиле ниједан случај поновне интервенције [14] или су забележиле веома мали проценат (1,4%) [16].

Неоартна стеноза је ретка компликација (с учесталошћу од 1% до 8%), вероватно због недостатка тракције између неоаорте и пулмоналног трункуса [6]. Локализована је углавном на синотубуларној анастомози [11, 18, 19]. У нашој студији је на постоперационом ехокардиографском прегледу ова компликација установљена код два болесника (4,3%). Током клиничког праћења није било нових случајева, али је код једног детета обављена поновна интервенција због тешког степена суправалвуларне стенозе. На последњем ехокардиографском прегледу налаз је одговарао добро коригованој стенози, без значајне резидуалне опструкције. У студији Хутера и сарадника [10] забележена је само једна поновна интервенција, а у студији Чоија (*Choi*) и сарадника [6] било их је две, што представља инциденцију од 2,1% и сагласно је налазима наше студије.

Неопулмонална стеноза је, према извештајима, најчешћа компликација и најчешћи разлог за поновну ин-

тервенцију након АСО [2, 6, 19]. Инциденција је од 7% до 50%. Обично је лоцирана на линији операционог шава, тј. на пулмоналном трункусу и на бифуркацији. Према подацима из литературе, транспулмонални градијент је био у значајној сразмери са неодговарајућим соматским растом на линији операционог шава [20], вероватно због развоја фиброзног ткива које доводи до сужења обима. Данас је инциденција поновне интервенције због неопулмоналне стенозе ниска, што се приписује екстензивној мобилизацији грана плућне артерије, да би се смањила тензија на месту анастомозе, и употреба широког *pantaloon patch*-а, што подржавају и други аутори [20, 21]. У нашој студији су код детета код којег је након операције утврђена ова компликација поновном интервенцијом учињене трансекција и ремоделовање трункуса плућне артерије. Даљим надгледањем овог болесника уочени су резидуални поремећаји, тј. дифузна хипоплазија обе гране плућне артерије и опструкција на њиховој бифуркацији. Дете болује од слабости срца *IV* степена према класификацији *NYHA*, која захтева антиконгестивну терапију.

Инциденција неопулмоналне регургитације у разним студијама је од 9% до 80% [9, 22]. Углавном је тривијална и веома ретко је потребна поновна операција. Мине (*Minet*) и сарадници [22] су забележили неопулмоналну регургитацију код 81% деце, од којих је тривијалан степен регургитације установљен код 62% болесника. Ретка појава регургитације високог степена је вероватно последица слабије силе смицања и стреса због истезања у плућном системском крвотоку [6]. Код једног болесника из наше студије, којем је петог дана по рођењу урађена корекција коарктације аорте, а 21. дана АСО са затварањем ВСД, развила се рекоарктација аорте са највећим ПГ од 69 *mm Hg*. У узрасту од 14 месеци учињена је успешна транскатетерска балон-дилатација. Поновни хируршки захвати због опструкције лука аорте су, према наводима из литературе, ретки, с инциденцијом 1,2–2,5% [10, 11, 16].

Збирно гледано, учесталост поновних интервенција због компликација које могу настати након АСО је од 5% до 30% [2, 9], док је у нашој студији она била 6,5% (укупно три поновљене интервенције код 46 клинички праћених болесника).

Како се наводи у већини радова, функција леве коморе је, уколико није било миокардног инфаркта или тешке неоартне регургитације, након АСО углавном нормална [11, 20, 21]. У нашем раду као параметар коришћено је фракционо скраћење и оно је само код једног детета (2%) било малих вредности (мање од 0,33). Болесник је поново оперисан због стенозе неопулмоналне артерије.

У нашем раду сви болесници су осим једног детета (97,8%) на крају периода надгледања били без субјективних тегоба, добро су подносили напор и сврстани су у функционалну класу *NYHA I*. У већини других студија уочена је слична припадност болесника функционалним класама према класификацији *NYHA*. У извештајима Чоија и сарадника [6], Вандекеркховеа

(*Vandekerckhove*) и сарадника [8] и Хутера и сарадника [10], 96–98% надгледане деце припадало је функционалној класи I, док су у студији Дибардина (*Dibardino*) и сарадника [3] овој класи припадали сви испитаници. Међутим, аутори сматрају да класификација *NYHA* није довољно сензитивна, зато што је 94% деце с ехокардиографски процењеном ниском ејекционом фракцијом припадало *NYHA* I класи [3, 6, 10].

Већина радова показује да је инциденција значајних поремећаја ритма након АСО врло ниска [11, 21, 23] у поређењу с резултатима након АСО према техници Мустарда и Сенинга, с инциденцијом поремећаја ритма од 30% до 100% [24]. Претпостављени механизми за поремећаје ритма након АСО били су оштећење синусног или атриовентрикуларног чвора или њиховог снабдевања крвљу. Интраатријална линија шава доводи до стварања ожиљка, што је предиспозиција за настанак тзв. *re-entry* тахикардије [25]. Током АСО интраатријална манипулација је ограничена. Атријални септум може бити затворен једним шавом, па у основи остаје нетакнут, без оштећења синусног или атриовентрикуларног чвора.

У нашој студији код 13 болесника (43,3%) од 30 код којих је на последњем контролном прегледу урађен ЕКГ имало је инкомплетни блок десне гране. Овај налаз потврђује резултате других радова. У студији Хевелс–Гирихове (*Hövels-Gürich*) и сарадника [25] утврђена је инциденција инкомплетног блока десне гране код 49,4% оперисаних болесника, што је слично резултатима нашег испитивања. Међутим, инциденција комплетног блока десне гране била је 100% код болесника код којих је урађена корекција са *TGA* са затварањем ВСД пачем, а свега 6,7% код болесника без ВСД. Узрок оваквог ЕКГ налаза могло је да буде затварање ВСД током АСО, где се „жртвује“ мала грана леве коронарне артерије која снабдева инфундибулум. То доводи до настанка мале зоне инфаркта у инфундибулуму и тзв. периферног комплетног блока десне гране [23].

У нашој студији ни код једног болесника нису забележен промене на ЕКГ које би указивале на исхемију миокарда, која би могла бити узрокована стенозом коронарних артерија због фиброцелуларног задебља-

ња интима или увијањем због несавршености њихове транслокације током АСО. Учесталост ове компликације, која може довести до смрти услед инфаркта миокарда или до поновне операције, смањивала се с порастом искуства кардиохирурга [7, 9, 12, 16]. Резултати наше студије су у сагласности с налазима студије Хевелс–Гирихове и сарадника [25], у којој нико од болесника није у стању мировања имао ЕКГ знаке исхемије. Дебриц (*Daebritz*) и сарадници [2] су код 3% болесника установили коронарну стенозу. Аутори сматрају да је права инциденција ове компликације потцењена, па се препоручује да се у узрасту од четири-пет година код свих оперисаних болесника уради рутинска системска аортографија.

ЗАКЉУЧАК

Ова студија је показала да се АСО у нашој средини обавља успешно, са прихватљиво ниским периоперационим морталитетом и одличним дугорочним резултатима. Стопа раног морталитета је релативно висока, али је стопа морталитета слична резултатима неких европских и светских студија које су изведене у првој деценији примене методе. У досадашњем клиничком праћењу болесника није забележен ниједан случај касног морталитета. Код само три детета утврђене су тешке касне компликације због којих су болесници подвргнути поновној операцији. На крају периода надгледања, осим једног болесника, сва остала деца била су без тегоба, нормалног раста, развоја и налаза ЕКГ, а припадају функционалној класи I према класификацији *NYHA*. Неоаортна и/или неопулмонална регургитација су забележене у високом проценту, али углавном су биле тривијалног или благог степена.

Главна ограничење ове студије је њен ретроспективни тип истраживања. Осим тога, у студији су коришћене само неинвазивне методе кардиолошке процене. Више информација о евентуалним променама у коронарној перфузији очекује се након инвазивне коронарографије и сцинтиграфије, чије извођење се планира у даљим студијама.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jatene AD, Fontes VF, Paulista PP, Souza LC, Neger F, Galantier M, et al. Anatomic correction of transposition of the great vessels. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1976; 72:364-70.
2. Daebritz SH, Nollert G, Schweg JS, Engelhardt W, Bernuth G, Messmer BJ. Anatomical risk factors for mortality and cardiac morbidity after arterial switch operation. *Ann Thorac Surg.* 2000; 69:1880-6.
3. Dibardino DJ, Allison AE, Vaughn WK, McKenzie ED, Fraser CD Jr. Current expectations for newborns undergoing the arterial switch operation. *Ann Surg.* 2004; 239:588-98.
4. Ross RD, Bollinger RO, Pinsky WW. Grading the severity of congestive heart failure in infants. *Pediatr Cardiol.* 1992; 13:72-5.
5. Sarris GE, Chatzis AC, Giannopoulos NM, Kirvassilis G, Berggren H, Hazekamp M, et al. The arterial switch operation in Europe for transposition of the great arteries: a multi-institutional study from the European Congenital Heart Surgeons Association. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006; 132:633-9.
6. Choi BS, Kwon BS, Kim GB, Bae EJ, Noh CI, Choi JY, et al. Long-term outcomes after an arterial switch operation for simple complete transposition of the great arteries. *Korean Circ J.* 2010; 40(1):23-30.
7. Blume ED, Altmann K, Mazer JE, Colan SD, Gauvreau K, Geva T. Evolution of risk factors influencing early mortality of the arterial switch operation. *J Am Coll Cardiol.* 1999; 33:1702-9.
8. Vandekerckhove KD, Blom NA, Lalezari S, Koolbergen DR, Rijlaarsdam ME, Hazekamp MG. Long-term follow-up of arterial switch operation with an emphasis on function and dimensions of left ventricle and aorta. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2009; 35(4):582-7.
9. Raja SG, Shau A, Kaarne M. Outcomes after arterial switch operation for simple transposition. *Asian Cardiovasc Thorac Ann.* 2005; 13:190-8.
10. Hutter PA, Kreb DL, Mantel SF, Hitchcock JF, Meijboom EJ, Bennink GB. Twenty-five years' experience with the arterial switch operation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2002; 124:790-7.

11. Prifti E, Crucean A, Bonacchi M, Bernabei M, Murzi B, Luisi SV, et al. Early and long term outcome of the arterial switch operation for transposition of the great arteries: predictors and functional evaluation. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2002; 22:864-73.
12. Prêtre R, Tamisier D, Bonhoeffer P, Mauriat P, Pouard P, Sidi D, et al. Results of the arterial switch operation in neonates with transposed great arteries. *Lancet.* 2001; 357:1826-30.
13. Pocar M, Villa E, Degandt A, Mauriat P, Pouard P, Vouhé PR. Long-term results after primary one-stage repair of transposition of the great arteries and aortic arch obstruction. *J Am Coll Cardiol.* 2005; 46:1331-8.
14. Hwang HY, Kim WH, Kwak JG, Lee JR, Kim YJ, Rho JR, et al. Mid-term follow-up of neo-aortic regurgitation after the arterial switch operation for transposition of the great arteries. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2006; 29:162-7.
15. Murakami T, Nakazawa M, Momma K, Imai Y. Impaired distensibility of neo-aorta after arterial switch procedure. *Ann Thorac Surg.* 2000; 70(6):1907-10.
16. Losay J, Touchot A, Serraf A, Litvinova A, Lambert V, Piot JD, et al. Late outcome after arterial switch operation for transposition of the great arteries. *Circulation.* 2001; 104(12 Suppl 1):1121-6.
17. Formigari R, Toscano A, Giardini A, Gargiulo G, Di Donato R, Picchio FM, et al. Prevalence and predictors of neo-aortic regurgitation after arterial switch operation for transposition of the great arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003; 126:1753-9.
18. Brown JW, Hyung JP, Turrentine MW. Arterial switch operation: factors impacting survival in the current era. *Ann Thorac Surg.* 2001; 71:1978-84.
19. Haas F, Wottke M, Poppert H, Meisner H. Long-term survival and functional follow-up in patients after the arterial switch operation. *Ann Thorac Surg.* 1999; 68:1692-7.
20. Angely E, Raïsky O, Bonnet D, Sidi D, Vouhé PR. Late reoperations after neonatal arterial switch operation for transposition of the great arteries. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2008; 34:32-6.
21. Bové T, De Meulder F, Vandenplas G, De Groote K, Panzer J, Suys B, et al. Midterm assessment of the reconstructed arteries after the arterial switch operation. *Ann Thorac Surg.* 2008; 85:823-30.
22. Minet P, Vaksman G, Rey C, Francart C, Breviere GM, Dupuis C. Doppler echocardiography after anatomical repair of transposition of great arteries. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 1992; 85:515-20.
23. Rhodes LA, Wernovsky G, Keane JF, Mayer JE, Shuren A, Dindy C, et al. Arrhythmias and intracardiac conduction after the arterial switch operation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1995; 109:303-10.
24. Beerman LB, Neches WH, Fricker FJ, Mathews RA, Fischer DR, Park SC, et al. Arrhythmias in transposition of the great arteries after the Mustard operation. *Am J Cardiol.* 1983; 51:1530-4.
25. Hövels-Gürich HH, Seghaye MC, Ma Q, Miskova M, Minkenberg R, Messmer BJ, et al. Long-term results of cardiac and general health status in children after neonatal arterial switch operation. *Ann Thorac Surg.* 2003; 75:935-43.

Midterm Results after Complete Surgical Correction of Transposition of the Great Arteries

Vojislav Parezanović^{1,2}, Mirko Mrdjen³, Slobodan Ilić^{1,2}, Irena Vulićević², Milan Djukić^{1,2}, Ida Jovanović^{1,2}, Igor Stefanović², Tamara Ilisić², Jasna Kalanj², Branko Mimic², Vladimir Milovanović²

¹School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

²University Children's Hospital, Belgrade, Serbia;

³General Hospital, Loznica, Serbia

SUMMARY

Introduction Arterial switch operation (ASO) is a cardiosurgical method of choice for complete anatomical correction of transposition of great arteries. Improvement of this procedure has made considerably improved the outcome and long-term prognosis of children born with this complex congenital heart disease.

Objective The aim of this study was to estimate the success rate of ASO through retrospective analysis of mortality and late complications.

Methods This study included 57 children operated from 1st January 2005 until 31st December 2009. Parameters that could influence the outcome of surgery were investigated. The following late complications were investigated: neopulmonary artery stenosis, neo-aortic stenosis and regurgitation, as well as clinical signs of heart failure.

Results Early postoperative mortality was 15.8% (9/57 patients). During follow-up (8 to 72 months, average 36.5 months)

there were no lethal outcomes. On the last echocardiography examination, 73.2% patients had neo-aortic regurgitation and 67.4% patients had neopulmonary regurgitation, but all of them were mild in intensity. Neopulmonary stenosis had 32.6% of patients, but only two had moderate or severe stenosis. No one had ischemic ECG changes. Three reinterventions were performed due to serious residual problems: surgical correction of neo-aortic stenosis, surgical correction of neopulmonary stenosis and transcatheter balloon dilatation for aortic recoarctation. At the end of the follow-up period, only one of 46 consistently followed patients had signs of heart failure which required therapy (2.2%), while the majority of patients were without any symptoms and with good effort tolerance.

Conclusion Arterial switch operation has been successfully performed at our institution, with acceptable perioperative mortality and excellent late outcome.

Keywords: transposition of the great arteries; arterial switch operation; children

Примљен • Received: 29/01/2013

Ревизија • Revision: 29/09/2013

Прихваћен • Accepted: 22/11/2013

The Influence of Hyperprolactinemia on Coagulation Parameters in Females with Prolactinomas

Milica Medić-Stojanoska^{1,2}, Gorana Mitić^{2,3}, Igor Mitić^{2,4}, Dragan T. Spasić⁵, Nikola Ćurić^{2,3}, Sandra Pekić^{6,7}, Branka Kovačev-Zavišić^{1,2}, Vera Popović^{6,7}

¹Clinic for Endocrinology, Diabetes and Metabolic Diseases, Clinical Center of Vojvodina, Novi Sad, Serbia;

²Medical Faculty, University of Novi Sad, Novi Sad, Serbia;

³Center of Laboratory Medicine, Clinical Center of Vojvodina, Novi Sad, Serbia;

⁴Clinic of Nephrology and Clinical Immunology, Clinical Center of Vojvodina, Novi Sad, Serbia;

⁵Department of Technical Mechanics, Faculty of Technical Sciences, University of Novi Sad, Novi Sad, Serbia;

⁶Clinic for Endocrinology, Diabetes and Metabolic Diseases, Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia;

⁷School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Currently there is little information on the effects of prolactin (PRL) on the coagulation and fibrinolytic systems.

Objective The aim of this study was to evaluate the effects of hyperprolactinemia on the parameters of the hemostatic system and activation of the coagulation system.

Methods We studied PRL levels, body mass index (BMI), values of activated partial thromboplastin time (aPTT), prothrombin time (PT), thrombin time (TT), D-dimer level, von Willebrand factor antigen (vWFag) and fibrinogen in 15 young female patients with microprolactinomas before and after therapy and in 15 healthy female controls.

Results As expected, pretreatment PRL levels were significantly higher in patients than in controls (140.90 ± 42.87 vs. 12.53 ± 4.05 ng/ml; $p < 0.001$). PT, although still in the normal range, was prolonged in patients with hyperprolactinemia as compared to the control group (13.53 ± 1.39 vs. 12.65 ± 0.53 s; $p = 0.03$) and normalized after therapy (12.69 ± 0.65 vs. 12.65 ± 0.53 s; $p = 0.88$). TT, although in normal range, was significantly shorter in the hyperprolactinemic patients than in the controls (14.34 ± 4.52 vs. 17.21 ± 1.35 s; $p < 0.025$) and after treatment remained significantly shorter than in the controls (15.17 ± 1.55 vs. 17.21 ± 1.35 s; $p < 0.0001$). D-dimer values before treatment in the patients with hyperprolactinemia were above the normal range (239.47 ± 107.93 vs. 131.27 ± 50.64 ng/ml, $p = 0.002$) and decreased to normal values after therapy (239.47 ± 107.93 vs. 146.60 ± 39.15 ng/ml; $p < 0.001$). D-dimer levels correlated with PRL ($r = 0.30$) and the change in serum D-dimer values significantly correlated with the change in PRL levels during therapy ($r = 0.62$). aPTT, vWFag and fibrinogen were similar in patients and controls.

Conclusion In our study, increased thrombin generation that resulted in elevated D-dimer levels may be one of the contributing factors to the prethrombotic state in patients with hyperprolactinemia.

Keywords: hyperprolactinemia; hemostatic system; coagulation

INTRODUCTION

Changes in the hemostatic system activity that create a state of hypercoagulability, together with the presence of low grade chronic inflammation are involved in the pathogenesis of atherosclerosis/atherothrombosis and its various clinical manifestations, e.g. coronary artery disease, peripheral artery disease and ischemic stroke [1]. The association between atherosclerosis and venous thrombosis has recently been demonstrated [2]. Hemostasis is a complex biological process that maintains the integrity of a closed high-pressure circulatory system after vascular damage and prevents excessive bleeding or thrombotic events. The delicate hemostatic balance can be achieved and maintained by synchronized action of many factors that participate in this process of which the most important are the vessel (endothelial cells), platelets, coagulation and the fibrinolytic system [3]. A wide variety of endocrine disorders have been associated with

disturbances in laboratory tests of coagulation, correlated with the occurrence of thrombotic or bleeding disorders [4].

Prolactinomas are the most common functionally pituitary tumors with prevalence of approximately 100 per 1 million people. The first line of treatment of macroprolactinomas and symptomatic microprolactinomas are dopamine agonists. These drugs lower prolactin (PRL) levels, decrease tumor size and restore gonadal function [5].

Hyperprolactinemia is found to be associated with a low grade chronic inflammation as well as endothelial dysfunction [6, 7]. The association between conditions with high levels of PRL (pregnancy, estrogen therapy, antipsychotic therapy, pituitary prolactin producing adenomas) and increased risk of venous thromboembolism (VTE) and atherothrombosis has been demonstrated [4, 8, 9]. Increased risk of VTE occurrence and higher incidence of coronary and peripheral artery disease and ischemic stroke in the individuals with hyper-

Correspondence to:

Milica MEDİĆ-STOJANOSKA
Clinic for Endocrinology, Diabetes
and Metabolic Diseases
Clinical Center of Vojvodina
Hajduk Veljkova 1, 21000 Novi Sad
Serbia
medsto@eunet.rs

prolactinemia may be causative or simply a coincidence. Whether hyperprolactinemia increases ADP-induced platelet aggregation, not only in vitro but also in vivo, has yet to be confirmed by further investigation. To the best of our knowledge, the influence of hyperprolactinemia on coagulation system activation has not been thoroughly investigated. Under physiologic conditions, the coagulation system is composed of procoagulant factors which are balanced by naturally occurring anticoagulants (antithrombin and protein C). The basic laboratory tests of coagulation are the measurement of prothrombin time and activated partial-thromboplastin time.

OBJECTIVE

The aim of this study was to evaluate the possible effects of hyperprolactinemia on coagulation system activity and to investigate whether there is any difference in the activity of coagulation system parameters before and after the treatment of hyperprolactinemia.

METHODS

Fifteen non-obese female patients of mean age 31.07 ± 6.69 years (range 22-40 years), body mass index (BMI) 25.25 ± 4.00 kg/m² with newly diagnosed microprolactinomas were included in this prospective study. They were diagnosed at the outpatient clinic of the Clinical Center of Vojvodina, Novi Sad. Inclusion criteria were serum PRL level above 90 µg/ml, MRI evidence of pituitary microadenoma, normal basal level of cortisol, free thyroxin (FT4), insulin growth factor I (IGF I), low or normal basal levels of follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH). Patients with other causes of hyperprolactinemia were excluded from the study as well as women with hematologic, cardiovascular and autoimmune diseases, diabetes mellitus, alcohol abuse, pregnancy and current infection. The control group consisted of 15 age matched healthy women. All subjects were free of medications and estrogens prior to investigation.

The study was approved by the institutional Ethic Committee and all participants signed informed written consent to participate.

Study protocol

The study was designed as a prospective, case control clinical trial. Samples for PRL level (at 8 am and 11 am), activated partial thromboplastin time (aPTT), prothrombin time (PT), thrombin time (TT), D-dimer level, von Willebrand factor antigen level (vWFAg) and fibrinogen were obtained at the time of diagnosis, before the commencement of the treatment of hyperprolactinemia. The second sampling time for all mentioned parameters was repeated after PRL level was normalized. All patients were treated with dopamine agonists (four with bromocriptine and 11

with cabergoline). The mean duration of treatment was 17.90 ± 6.20 months (range 11.5 to 29.0 months). The same laboratory parameters were analyzed in the control group. BMI was calculated according to formula: body mass (kg)/(height (m))² × 100.

Laboratory measurements

Plasma samples for hemostatic system investigation were obtained after venepuncture of the cubital vein, using trisodium citrate as an anticoagulant, after centrifugation at 2500 g for 15 minutes. aPTT, PT, TT, D-dimer level, vWFAg level and fibrinogen level were determined using Instrumentation Laboratory (IL, Milan, Italy) commercial kits. All coagulation tests were performed using an automated coagulometer ACL 9000, manufactured by IL, Milan, Italy. Fibrinogen level was determined according to Clauss, using IL reagent and coagulometer ACL 9000. D-dimer was determined using latex immunoassay (suspension of latex polystyrene particles coated with monoclonal antibodies MA-8D3), manufactured by IL, Milan, Italy, and vWFAg was determined using latex immunoassay HE-MOSIL vWF Antigen, manufactured by IL, Milan, Italy. Results of screening tests (aPTT, PT, TT) were compared to the results obtained from the samples of control normal plasma (IL, Milan, Italy) and expressed as ratio (R). The ratio between 0.85-1.29 for all three screening tests was considered to be normal. Reference values for D-dimer, vWFAg and fibrinogen were below 230 ng/ml, from 45% to 140% and from 2.2 to 3.9 g/l, respectively.

The blood samples for PRL level determination were taken by cubital vein venepuncture fasting at 8 am and 11 am (1 hour after meal) and the result was expressed as mean value of two determinations. Serum PRL levels were measured using ECLIA Elecsys Prolactin (Roche Diagnostics, Elecsys 2010 analyzer); reference range (non-pregnant women) were from 5.0 to 24.0 ng/ml. For 30.9 ng/ml, within-run precision, coefficient of variation (CV) was 2.5% and total CV was 4.1%.

All plasma samples were stored at -70°C.

Statistical analysis

Results are expressed as mean values, standard deviation (SD). Results of all investigated parameters in the study group before treatment and the control group were compared, as well as the results of the study group before and after treatment of hyperprolactinemia by using Student's T test. The value of $p < 0.05$ was considered to be statistically significant. The incidence of nonparametric variables was compared using Fisher's Exact test. The correlation between PRL level and hemostatic parameter values as well as the correlation between BMI and hemostatic parameters values obtained before and after therapy were examined; the correlation coefficient $r > 0.3$ either positive or negative was considered moderately and $r > 0.7$ highly statistically significant.

RESULTS

Pretreatment PRL levels were significantly higher in patients than in controls (140.90 ± 42.87 vs. 12.53 ± 4.05 ng/ml; $p < 0.001$) (Table 1). BMIs in the patients before treatment and controls were within the normal range, but significantly higher in the patients (25.25 ± 4.00 vs. 21.06 ± 1.99 kg/m²; $p < 0.001$) (Table 1). We found no correlation between the level of PRL and BMI ($r = 0.21$). There were no differences in age and smoking between the patients and controls. All participants had normal blood pressure, glucose levels and platelet count.

Before treatment of hyperprolactinemia, aPTT was within normal range and with no difference between the patients and controls (26.31 ± 3.29 vs. 25.29 ± 1.81 s; $p = 0.30$) (Table 2).

Pretreatment values of PT in the patients and controls were within referent ranges, but significantly prolonged in the patients compared to controls (13.53 ± 1.39 vs. 12.65 ± 0.53 s; $p = 0.03$) (Table 2). No correlation between PT and PRL ($r = -0.21$) was found. TT was significantly shorter in the hyperprolactinemic patients than in controls (14.34 ± 4.52 vs. 17.21 ± 1.35 s; $p < 0.025$) (Table 2). The correlation between TT and PRL was positive and slightly significant ($r = 0.47$). No correlation between TT and BMI was found ($r = 0.01$).

Mean D-dimer values in the hyperprolactinemic patients before treatment with dopamine agonists were above normal range and significantly higher than in the controls (239.47 ± 107.93 vs. 131.27 ± 50.64 ng/ml, $p = 0.002$) (Table 2). The values of D-dimer and PRL showed positive correlation ($r = 0.30$).

The values of vWFag in the hyperprolactinemic patients were not significantly different from the control group ($100.93 \pm 31.46\%$ vs. $97.20 \pm 22.05\%$; $p = 0.71$) (Table 2). There was no correlation between vWFag and PRL ($r = -0.04$).

The mean values of fibrinogen in the patients before treatment and controls were within the normal range, and were not different between the patients and controls (3.20 ± 1.41 vs. 2.94 ± 1.15 g/l, $p = 0.15$) (Table 2).

Elevated PRL levels before therapy normalized after treatment (140.90 ± 42.87 vs. 16.14 ± 12.36 ng/ml; $p < 0.001$),

Table 1. Clinical characteristics of patients with hyperprolactinemia before therapy and controls

Variable	Patients (n=15)	Controls (n=15)	p
Prolactin (ng/ml)	140.90 ± 42.87	12.53 ± 4.05	0.001**
BMI (kg/m ²)	25.25 ± 4.00	21.06 ± 1.99	0.001**
Age (years)	31.07 ± 6.69	33.27 ± 7.04	0.390
Systolic BP (kPa)	15.47 ± 1.31	14.84 ± 1.02	0.079
Diastolic BP (kPa)	9.87 ± 1.10	9.67 ± 1.20	0.344
No. of smokers (%)	4 (26.66)	5 (33.33)	1.00#

Values are expressed as mean value $\pm$ standard deviation and as number of patients with percent.

* $p < 0.05$ compared patients and controls

** $p < 0.01$ compared patients and controls

Fisher's Exact test

n – number of subjects; BMI – Body Mass Index; BP – blood pressure

(Table 2). After treatment, BMI in the patients was decreased significantly (25.25 ± 4.00 vs. 24.72 ± 4.06 kg/m²; $p < 0.02$) (Table 2). BMI in the patients after therapy and controls was similar (24.72 ± 4.06 vs. 21.06 ± 1.99 kg/m²; $p = 0.29$) (Table 2).

There was no difference in aPTT values neither before (26.31 ± 3.29 vs. 25.25 ± 3.08 s; $p = 0.146$) nor after treatment (25.25 ± 3.08 vs. 25.29 ± 1.81 s; $p = 0.96$) (Table 2) as compared to the controls.

PT was statistically significantly shorter after therapy (13.53 ± 1.39 vs. 12.69 ± 0.65 s; $p < 0.02$) (Table 2). Changes in PT values did not correlate with changes in PRL levels ($r = -0.068$) nor with changes in BMI values ($r = -0.25$). PT values in the patients after therapy and controls were similar (12.69 ± 0.65 vs. 12.65 ± 0.53 s; $p = 0.88$) (Table 2).

TT did not differ before and after treatment (14.34 ± 4.52 vs. 15.17 ± 1.55 s; $p = 0.48$) (Table 2). TT values did not correlate with changes in PRL levels during therapy ($r = -0.094$) nor with changes in BMI values ($r = -0.001$). Although TT was in the normal range in the patients after therapy it remained significantly shorter than in the controls (15.17 ± 1.55 vs. 17.21 ± 1.35 s; $p < 0.0001$) (Table 2).

Mean D-dimer values were above the normal range and they significantly decreased after therapy (239.47 ± 107.93 vs. 146.60 ± 39.15 ng/ml; $p < 0.001$) (Table 2). The change in D-dimer values significantly correlated with the change in PRL levels after therapy ($r = 0.62$) (Graph 1), but not with changes in BMI ($r = -0.09$). No difference was found

Table 2. Prolactin, BMI and hemostatic system values (mean $\pm$ SD) in hyperprolactinemic patients before and after therapy with dopamine agonists and controls

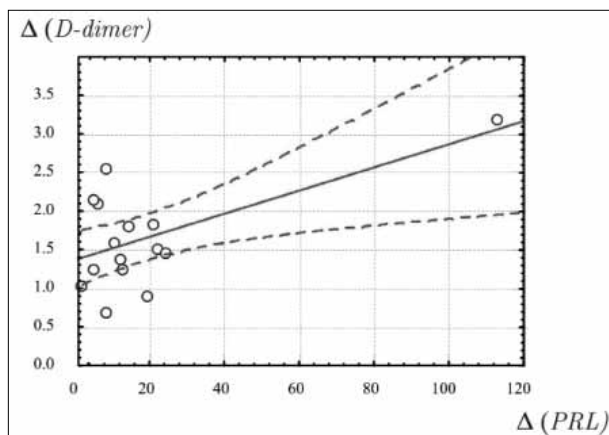
Variable	Patients (n=15)		Controls (n=15)	p#	p##
	Before therapy	After therapy			
Prolactin (ng/ml)	140.90 ± 42.87	16.14 ± 12.36	12.53 ± 4.05	0.000**	0.290
BMI (kg/m ²)	25.25 ± 4.00	24.72 ± 4.06	21.06 ± 1.99	0.017*	0.004**
aPTT (s)	26.31 ± 3.29	25.25 ± 3.08	25.29 ± 1.81	0.146	0.960
PT (s)	13.53 ± 1.39	12.69 ± 0.65	12.65 ± 0.53	0.019**	0.878
TT (s)	14.34 ± 4.52	15.17 ± 1.55	17.21 ± 1.35	0.484	0.001**
D-dimer (ng/ml)	239.47 ± 107.93	146.60 ± 39.15	131.27 ± 50.64	0.001**	0.360
vWFag (%)	100.93 ± 31.46	93.87 ± 23.63	97.20 ± 22.05	0.280	0.690
Fibrinogen (g/l)	3.20 ± 1.41	3.49 ± 0.83	2.94 ± 1.15	0.500	0.150

* $p < 0.05$ compared with pretreatment values

** $p < 0.01$ compared with pretreatment values

$p < 0.05$ compared between patients after therapy and controls

aPTT – activated partial thromboplastin time; PT – prothrombin time; TT – thrombin time; vWFag – von Willebrand factor antigen



Graph 1. The regression curve ($\Delta \text{D-dimer} = 1.38 + 0.02 \times \Delta \text{PRL}$), (solid line) and 95% confidence interval (dotted line) presents the correlation between changes in D-dimer ($\Delta \text{D-dimer}$) and changes in PRL (ΔPRL) in patients with prolactinomas after dopamine agonists therapy

in D-dimer levels between the study group after treatment and controls (146.60 ± 39.15 vs. 131.27 ± 50.64 s, $p = 0.36$), (Table 2).

The level of vWFag remained unaffected by treatment (100.93 ± 31.46 vs. $93.87 \pm 23.63\%$; $p = 0.28$), (Table 2) and was not different compared to the control group (93.87 ± 23.63 vs. $97.20 \pm 22.05\%$; $p = 0.69$), (Table 2).

Fibrinogen level in the patients after therapy remained within the normal range (3.20 ± 1.41 vs. 3.49 ± 0.83 g/l; $p = 0.50$), (Table 2) with no significant difference between the two groups (3.49 ± 0.83 vs. 2.94 ± 1.15 g/l; $p = 0.15$), (Table 2).

DISCUSSION

In our study we showed that D-dimer values were elevated in the patients with hyperprolactinemia and decreased with normalization of PRL levels. A positive correlation was found between PRL changes and D-dimer changes during therapy with dopamine agonists. Elevated D-dimer levels indicate increased coagulation activation, with consecutively increased fibrinolytic system activity, which may represent a factor for thrombotic disease. This may suggest that PRL *per se* may have impact on the coagulation activity.

We also found that PT was significantly prolonged in patients with hyperprolactinemia in comparison with healthy controls and that with normalization of PRL with dopamine agonists, it shortened. However, the absence of correlation between PRL level and PT before therapy, and between changes of PRL levels and changes of PT did not favor the role of high PRL on PT.

Shorter TT in the studied group may contribute to the increased risk for the occurrence of thrombotic complication. After normalization of PRL levels with dopamine agonist therapy, TT did not reach values as in the control group.

No difference in the aPTT values between the patients before and after treatment and healthy controls was found. The levels of vWFag and fibrinogen were similar in patients and controls and did not change after therapy with dopamine agonists.

Increased risk of VTE and coronary and peripheral arterial disease and stroke co-exist in hyperprolactinemic conditions [4, 9]. Wallaschofski et al. [10, 11] have described the association between hyperprolactinemic conditions such as pregnancy, prolactinomas and antipsychotic therapy with increased risk of VTE. The same group has also demonstrated that PRL levels are increased in patients with idiopathic thrombosis [12]. Increased values of PRL in patients with stroke and myocardial infarction have also been found [13, 14]. Platelet activation is involved in the pathogenesis of atherosclerosis and VTE, and might be a possible link between these two entities. Platelets under normal condition adhere to damaged vessel walls through interaction with vWFag promoting aggregation and formation of hemostatic plug. Platelets also support thrombin generation by assembling activated coagulation factors on their surfaces. Several studies showed that PRL may be a novel potent co-factor for platelet aggregation [10, 15-18]. On the other hand, Atmaca et al. [19] investigated whether platelet activity is increased by hyperprolactinemia during pregnancy as reflected by β -thromboglobulin level. They found that platelet activity during pregnancy was comparable to non-pregnant state, therefore no significant effect of PRL on platelet function *in vivo* was observed. Mon SY et al. [20] did not find a significant rate of deep vein thrombosis, pulmonary embolism and cerebrovascular accidents in prolactinoma patients. According to these results they concluded that hyperprolactinemia *per se* did not appear to predispose to hypercoagulable state. Unfortunately, this study had some limitations and further examinations are needed.

A recently published study suggest that hyperprolactinemia presents proinflammatory and procoagulant state [21].

As previously stated, a direct effects of PRL on coagulation has not been investigated thoroughly [4, 9]. Study of Erem et al. [22] suggested a potential mechanism for hypercoagulability in patients with hyperprolactinemia. They found that platelets, fibrinogen, antithrombin III, plasminogen activator inhibitor and the ratio of plasminogen activator inhibitor to tissue plasminogen activator were significantly increased in patients with prolactinoma. However, there are some data on the possible indirect impact of high PRL on the parameters of the hemostatic system. Hyperprolactinemia stimulates hematopoiesis [23-26] and has an impact on growth factors, for example vascular endothelial growth factor (VEGF) [27]. Furthermore, it is known that hyperprolactinemia is associated with a low level of inflammation, dyslipidemia, endothelial dysfunction [7, 8, 21] as well as some disturbances in glucose metabolism [28] all of which indirectly effect the hemostatic system. When studying coagulations in patients treated with dopamine agonists, then the inhibitory effects of bromocriptine on vascular smooth muscle cell proliferation as well as the effect of cabergoline on vascular permeability controlling the secretion of VEGF must be taken into account [29, 30]. The effects of dopamine agonists on the vascular system in prolactinomas have not been systematically studied. Mon et al. [20] did not find significant differences in throm-

boembolic events between prolactinoma patients treated by dopamine agonists or surgery. According to that finding, any influence of dopaminergic therapy on the risk of thromboembolic events was excluded, but further studies are needed.

CONCLUSION

Prethrombotic state in patients with hyperprolactinemia is of complex origin, with increased level of thrombin generation determined by elevated D-dimer levels, along with

endothelial dysfunction and increased platelet reactivity. Possible effects of dopamine agonists themselves have remain unsolved. Furthermore, the role of anticoagulants in the prothrombotic state of hyperprolactinemia needs to be addressed in future studies.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by grants No. 175033 and 174016 from the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia.

REFERENCES

- Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999; 340:115-26.
- Prandoni P, Bilora F, Marchiori A, Bernardi E, Petrobelli F, Lensing AW, et al. An association between atherosclerosis and venous thrombosis. *N Engl J Med*. 2003; 348:1435-41.
- Furie B, Furie BC. 2008 Mechanism of thrombus formation. *N Engl J Med*. 2008; 359:938-49.
- Squizzato A, Gerdes WEA, Ageno W, Büller HR. The coagulation system in endocrine disorders: narrative review. *Intern Emerg Med*. 2007; 2:76-83.
- Melmed S, Casanueva FF, Hoffman AR, Kleiberg DL, Montori VM, Schlechte JA, et al. Diagnosis and treatment of hyperprolactinemia: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metabol*. 2011; 96(2):273-88.
- Serri O, Li L, Mamputu JC, Beuchamp MC, Maingrette F, Renier G. The influences of hyperprolactinemia and obesity on cardiovascular risk markers: effects of cabergoline therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006; 64:366-70.
- Yavuz D, Deyneli O, Akpınar I, Yıldız E, Gözü, H, Sezgin Ö, et al. Endothelial function, insulin sensitivity and inflammatory markers in hyperprolactinemic pre-menopausal women. *Eur J Endocrinol*. 2003; 149:187-93.
- Treadwell SD, Thanvi B, Robinson TG. Stroke in pregnancy and puerperium. *Postgrad Med J*. 2008; 84:238-45.
- Franchini M, Lippi G, Manzato F, Vescovi PP, Targher G. Hemostatic abnormalities in endocrine and metabolic disorders. *Eur J Endocrinol*. 2010; 162:439-51.
- Wallaschofski H, Donné M, Eigenthaler M, Hentschel B, Faber R, Stepan H, et al. PRL as a novel potent cofactor for platelet aggregation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86(12):5912-9.
- Wallaschofski H, Eigenthaler M, Kiefer M, Donné M, Hentschel B, Gertz HJ, et al. Hyperprolactinemia in patients on antipsychotic drugs causes ADP-stimulated platelet activation that might explain the increased risk for venous thromboembolism: pilot study. *J Clin Psychopharmacol*. 2003; 23(5):479-83.
- Wallaschofski H, Kobsar A, Kokschar M, Siegemund A, Hentschel B, Tuschy U, et al. Prolactin receptor signaling during platelet activation. *Horm Metab Res*. 2003; 35:228-35.
- Razz D, Wallaschofski H, Stumpf C, Yilmaz A, Cicha I, Klinghammer L, et al. Increased prolactin in acute coronary syndromes as putative co-activator of ADP-stimulated P-selectin expression. *Horm Metab Res*. 2006; 38:767-72.
- Wallaschofski H, Lohmann T, Hild E, Kobsar A, Siegemund A, Spilcke-Liss E, et al. Enhanced platelet activation by prolactin in patients with ischemic stroke. *Thromb Haemost*. 2006; 96:38-44.
- Anaforoglu I, Ertoer ME, Kozanoglu I, Unal B, Haydardedeoglu FE, Bakiner O, et al. Macroprolactinemia-like hyperprolactinemia may promote platelet activation. *Endocrine*. 2010; 37:294-300.
- Wallaschofski H, Kobsar A, Sokolova O, Siegemund A, Stepan H, Faber R, et al. Differences in platelet activation by prolactin and leptin. *Horm Metab Res*. 2004; 36:453-7.
- Wallaschofski H, Kobsar A, Sokolova O, Eigenthaler M, Lohmann T. Co-activation of platelets by prolactin or leptin - pathophysiological findings and clinical implications. *Horm Metab Res*. 2004; 36:1-6.
- Hutton RA, Mikhailidis DP, Georgiadis E, Barkley AS. Platelet aggregation and serum prolactin. *J Clin Pathol*. 1979; 32(11):1192.
- Atmaca A, Gurlek A, Dagdelen S, Erarslan N, Buyukasik Y, Gultekin M, et al. Hyperprolactinemia of pregnancy is not associated with increased in vivo platelet activity and shortened in vitro bleeding times. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2006; 114:188-91.
- Mon SY, Alkabbani A, Hamrahian A, Thorton JN, Kennedy L, Weil R, et al. Risk of thromboembolic events in patients with prolactinomas compared with patients with nonfunctional pituitary adenomas. *Pituitary*. 2013; 16(4):523-7.
- Reuwer QA, Sondermeijer MB, Battjes S, Zijderdeld R, Stuijver JFD, Bisschop HP, et al. Microcirculation and atherothrombotic parameters in prolactinoma patients: a pilot study. *Pituitary*. 2012; 15:472-81.
- Erem C, Kocak M, Nuhoglu I, Yilmaz M, Ucuncu O. Blood coagulation, fibrinolysis and lipid profile in patients with prolactinoma. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010; 73(4):502-7.
- Bellone G, Astarita P, Artusio E, Silvestri S, Mareschi K, Turietti A, et al. Bone marrow stroma-derived prolactin is involved in basal and platelet activating factor-stimulated in vitro erythropoiesis. *Blood*. 1997; 90:21-7.
- Brenson JL, Jeay S, Gagnerault MC, Kayser C, Beressi N, Wu Z, et al. Growth hormone (GH) and prolactin receptors in human peripheral blood mononuclear cells: relation with age and GH-binding protein. *Endocrinology*. 1999; 140:3203-9.
- Soares MJ, Konno T, Alam SMK. The prolactin family: effectors of pregnancy-dependent adaptations. *Trends Endocrinol Metab*. 2007; 18(3):114-21.
- Ko JY, Ahn YL, Cho BN. Angiogenesis and white blood cell proliferation induced in mice by injection of a prolactin-expressing plasmid into muscle. *Mol Cells*. 2003; 15(2):262-70.
- Goldhar AS, Vonderhaar BK, Trott JF, Hovy JF. Prolactin induced expression of vascular endothelial growth factor via Erg-1. *Mol Cell Endocrinol*. 2005; 232:1-19.
- Ben-Jonathan N, Hugo ER, Brandebourg TD, LaPensee CR. Focus on prolactin as a metabolic hormone. *Trends Endocrinol Metabol*. 2006; 17(3):110-6.
- Zhang Y, Cincotta AH. Inhibitory effect of bromocriptine on vascular smooth muscle cell proliferation. *Atherosclerosis*. 1997; 133:37-44.
- Alvarez C, Marti-Bonmati L, Novella-Maestre E, Sanz R, Gomez R, Fernandez-Sanchez M, et al. Dopamine agonist cabergoline reduces hemoconcentration and ascites in hyperstimulated women undergoing assisted reproduction. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92:2931-7.

Утицај хиперпролактинемije на параметре коагулације код жена са пролактиномом

Милица Медић-Стојаноска^{1,2}, Горана Митић^{2,3}, Игор Митић^{2,4}, Драган Т. Спасић⁵, Никола Ђурић^{2,3},
Сандра Пекић^{6,7}, Бранка Ковачев-Завишић^{1,2}, Вера Поповић^{6,7}

¹Клиника за ендокринологију, дијабетес и болести метаболизма, Клинички центар Војводине, Нови Сад, Србија;

²Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду, Нови Сад, Србија;

³Центар за лабораторијску медицину, Клинички центар Војводине, Нови Сад, Србија;

⁴Клиника за нефрологију и клиничку имунологију, Клинички центар Војводине, Нови Сад, Србија;

⁵Департман за техничку механику, Факултет техничких наука, Универзитет у Новом Саду, Нови Сад, Србија;

⁶Клиника за ендокринологију, дијабетес и болести метаболизма, Клинички центар Србије, Београд, Србија;

⁷Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Утицај пролактина на коагулациони и фибринолитички систем је мало проучаван досад.

Циљ рада Циљ ове студије је био да испита утицај хиперпролактинемije на параметре хемостазног система и активацију коагулационог система.

Методе рада Одређивали смо нивое пролактина у серуму и вредности активисаног парцијалног тромбoplastинског времена (*aPTT*), протромбинског времена (*PT*) и тромбинског времена (*TT*), нивое *D*-димера, антиген Фон Вилебрандовог (*von Willebrand*) фактора (*vWFAg*) и фибриногена у серуму 15 младих жена с пролактиномом пре и после лечења хиперпролактинемije и 15 здравих жена контролне групе.

Резултати Као што се и очекивало, нивои пролактина пре лечења су код испитаница с хиперпролактинемijом били статистички значајно виши него код испитаница контролне групе ($140, \pm 42,87$ према $12,53 \pm 4,05$ *ng/ml*; $p < 0,001$). *PT*, мада и даље у оквиру нормалних вредности, било је продужено код жена с хиперпролактинемijом у поређењу с контролном групом ($13,53 \pm 1,39$ према $12,65 \pm 0,53$ *s*; $p = 0,03$), али се нормализовало после лечења ($12,69 \pm 0,65$ према $12,65 \pm 0,53$

s; $p = 0,88$). Иако у оквиру референтних вредности, *TT* је било статистички значајно краће код жена с хиперпролактинемijом него код испитаница контролне групе, како пре терапије ($14,34 \pm 4,52$ према $17,21 \pm 1,35$ *s*; $p < 0,025$), тако и после ње ($15,17 \pm 1,55$ према $17,21 \pm 1,35$ *s*; $p < 0,0001$). Вредности *D*-димера су пре лечења код жена с хиперпролактинемijом биле изнад горње границе нормалних вредности ($239,47 \pm 107,93$ према $131,27 \pm 50,64$ *ng/ml*; $p = 0,002$), а нормализовале су се после терапије ($239,47 \pm 107,93$ према $146,60 \pm 39,15$ *ng/ml*; $p < 0,001$). Између нивоа *D*-димера и пролактина уочена је позитивна корелација ($r = 0,30$), а промене нивоа *D*-димера у серуму имале су статистички значајну, позитивну, корелацију с променама пролактина у серуму током лечења жена од хиперпролактинемije ($r = 0,62$). Вредности *aPTT*, *vWFAg* и фибриногена биле су сличне код болесница и здравих испитаница.

Закључак Повећано стварање тромбина уочено у нашем испитивању, које се огледало у повишеним вредностима *D*-димера, могло би бити фактор који доприноси протромбозном стању жена с хиперпролактинемijом.

Кључне речи: хиперпролактинемija; хемостатски систем; коагулација

Indications for Repeated Enema Reduction of Intussusception in Children

Dragana Vujović¹, Marija Lukač^{1,2}, Aleksandar Sretenović^{1,2}, Tamara Krstajić¹, Vesna Ljubić³, Sanja Sindjić Antunović^{1,2}

¹University Children's Hospital, Belgrade, Serbia;

²School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

³Clinical Center Zemun, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Intussusception is a common abdominal emergency in early childhood. It is idiopathic in more than 90% of cases with incidence of 1.5-4 per 1,000 live births. The treatment of choice is non-operative hydrostatic or air enema reduction.

Objective The aim of the study was to evaluate the influence of clinical presentation and symptom duration in non-operative treatment, considering the indications for delayed enema reduction and its efficacy.

Methods From the total number of 107 patients with intussusception, aged from 2 months to 14 years (median 9 months), 102 (95%) patients with ileo-colic intussusceptions were treated initially by ultrasound guided saline enema. Records were reviewed for patients with failed initial treatment and delayed repeated enemas or operative procedure. The predictor variable included duration of presenting symptoms.

Results Successful treatment by hydrostatic saline enemas had 58/102 (57%) patients. Success in reduction was greater if symptom duration was <24 hours (54/62 cases; 87%, $p<0.001$), compared with >24 hours, (4/45 cases; 9%). Despite failed initial attempts, enema reduction was reattempted in 12 patients, with success in 7/12 (60%) patients. Children with symptom duration >24 hours had a greater risk of requiring surgery (41/45 cases; 91%, $p<0.001$), including 5 (5%) patients with ileo-ileal intussusceptions.

Conclusion The accuracy of ultrasound guided saline enema in intussusception reduction is high. Delay in presentation decreases success of non-operative treatment. Delayed enema reduction is important therapeutic option for intussusceptions. Surgical treatment is indicated in cases of complications.

Keywords: intussusception; nonsurgical reduction; delayed enema

INTRODUCTION

Intussusception is the most common cause of bowel obstruction in patients aged less than 2 years, with a peak incidence at 3 to 9 months and male-to-female ratio of approximately 2:1. Most cases (about 90%) are idiopathic [1], but identifiable lesion acting as a lead point could be found in the average of about 2-12%. Pathological apex of intussusceptum is noticed in less than 5% in a typical age for intussusception, but it is more frequent later in life, i.e. in about 60% of all patients older than 5 years [2].

According to pathophysiology, intussusception is intestinal obstruction with progressive mesenteric strangulation. Ischemia of the intestinal mucosa and venous stasis cause bleeding and mucous outpouring, that result in a red "currant jelly" stool. The classic triad of vomiting, abdominal pain, and passage of blood per rectum during digital examination is a typical constellation of signs and symptoms of intussusception, although it occurs in only one third of patients. Usually, it is accompanied with a sausage-shaped palpable abdominal mass in the right hypochondrium, which is present in about 60% of cases [3].

The traditional diagnostic approach to childhood intussusception is ultrasonography, which is highly accurate with specificity and

sensitivity of almost 100% [4]. The most specific plain radiographic findings, the target and meniscus signs, are present in only 25-50% of cases, so the role of plain radiography nowadays is to allow the exclusion of complications, such as intestinal perforation [5]. Contrast enema examination requiring x-ray exposure has been the standard of reference for the diagnosis of intussusception for many years, but the superior performance of ultrasound, a high level of patients' comfort and safety, and ability to arrive at alternative diagnosis has led physicians to reserve enemas for therapeutic purposes [6].

The treatment of choice for intussusception is non-operative, hydrostatic or air enema to achieve an exerting pressure on the apex of intussusceptum in the colon until complete reduction pushing it from the pathologic into the original position is achieved [7]. There are several techniques of nonsurgical reduction, but the use of ultrasound guidance instead of fluoroscopy permits an even more liberal approach to enema therapy owing to the lack of radiation exposure. Being a very safe, because the whole procedure is visualized with real time ultrasound, and also a non-invasive method with a high success rate this procedure has emerged as a useful alternative to surgical treatment [8].

Correspondence to:

Sanja SINDJIĆ ANTUNOVIĆ
University Children's Hospital
Tiršova 10, 11000 Belgrade
Serbia
sanja.sindjic@udk.bg.ac.rs

OBJECTIVE

The purpose of this study was to evaluate the influence of clinical presentation and symptom duration on success of non-operative treatment, as compared to the rate of operative management, with evaluation of the indications and efficacy of delayed enema reduction, the number of reattempts and intervals between them.

METHODS

This is a retrospective and partly prospective cross-sectional study of 107 children diagnosed with intussusception who were treated at the University Children's Hospital in Belgrade, during the period from 1995 to 2012, by nonsurgical reduction or operatively, excluding cases of spontaneous reduction. All patients were subjected to unique diagnostic procedure concerning a thorough history, physical and ultrasound examination, but only some of them had a native abdominal radiography. Records were reviewed for patients who had failed initial saline enema reduction attempts under ultrasonographic guidance and subsequent delayed repeated enemas (in 30-60 minutes from the initial attempt) or operative procedure. The primary outcome variable was success of both initial and delayed repeated enema reduction. The predictor variable was evaluated concerning the duration of presenting symptoms and the effect of delay in presentation on outcome of intussusception. Next, the records were statistically analyzed using the methods of descriptive statistics and Chi-square test.

RESULTS

A total of 107 patients with intussusception were identified, aged from 2 months to 14 years, median 9 months, with prevalence of 66 (62%) boys. The majority of 66 (62%) patients were presented with most common symptoms: pain in the abdomen, vomiting and bloody stool (Table 1). The patients were divided into three groups according to symptom duration: majority of them, i.e. 50 (47%) belonged to the group with symptom duration from 12-24 hours, only 12 (11%) of patients expressed symptoms for less than 12 hours, and 45 (42%) patients for more than 24 hours. Success of non-operative hydrostatic reduction was greater if symptom duration was <24 hours, i.e. in 54 of 62 cases (87%, $p<0.001$) (Table 2), while patients with symptom duration >24 hours had a greater risk of requiring surgery, i.e. in 41 of 45 cases (91%, $p<0.001$) (Graph 1). The diagnosis was established by ultrasonography in all patients, with high sensitivity and specificity of 100%. Native abdominal radiography was reliable in only 27 (31%) cases, with 18 (20%) more who were positive but atypical, which indicated the sensitivity of native radiography in only 45 (51%) cases (Table 3). Hundred and two or 95% of patients had ileo-colic intussusceptions. Twenty-seven (25%) of them were confirmed as ileo-cecal, intraoperatively after failed initial

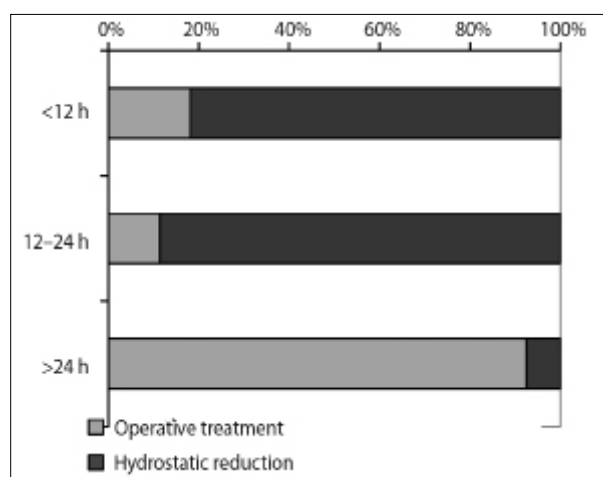
Table 1. Incidence of intussusception according to sex, age and symptoms

Parameter		Number of patients
Sex	Male	66 (62%)
	Female	41 (38%)
	Total	107 (100%)
Age (years)	<2	86 (80%)
	>2	21 (20%)
	Total	107 (100%)
Symptoms	Pain	105 (94%)
	Vomiting	105 (94%)
	Bloody stool	69 (64%)
	All	66 (62%)

Table 2. Influence of symptom duration on the success of treatment modality

Symptom duration (hours)	Operative treatment	Hydrostatic reduction	Total
<12	2 (17%)	10 (83%)	12 (100%)
12-24	6 (12%)	44 (88%)	50 (100%)
>24	41 (91%)*	4 (9%)	45 (100%)
Total	49 (46%)	58 (57%)	107 (100%)

* $p<0.001$



Graph 1. Correlation between symptom duration and modality of treatment

Table 3. Diagnostic procedures for intussusceptions

Procedures		Number of patients
Ultrasound	Sensitive cases	107 (100%)
	Total diagnosed	107 (100%)
Plain radiography	Sensitive cases	45 (51%)
	Total diagnosed	89 (100%)
Contrast enema	Sensitive cases	2 (2%)
	Total diagnosed	107 (100%)

Table 4. Types of intussusceptions and etiology

Type		Number of patients
Intussusceptions	Ileo-ileal	5 (5%)
	Ileo-colic	102 (95%)
	Total	107 (100%)
Etiology	Idiopathic	85 (79%)
	PLP	22 (21%)
	Total	107 (100%)

PLP – pathologic lead point

Table 5. Modalities of successful treatment for intussusceptions

Treatment modalities			Number of patients
Hydrostatic reduction	Attempt	No	5 (5%)
		Yes	102 (95%)
		Total	107 (100%)
	Successful	<24 h	54 (93%)
		>24 h	4 (7%)
		Total	58 (57%)
	Repeated <24 h	Successful	7 (60%)
		Unsuccessful	5 (40%)
		Total	12 (11.2%)
Operative treatment	Surgery	Required	49 (46%)
		Total	107 (100%)
	>24 h		41 (83%)
	PLP		22 (45%)

Table 6. Type of operative procedures in our study

Type of operation	Number of patients
Manual reduction	27 (55%)
Excision of PLP	15 (32%)
Intestinal resection	7 (14%)
Total	49 (49%)

Table 7. Type of pathologic lead point as a cause of intussusceptions

Pathologic issue	Number of patients
Meckel's diverticulum	11 (10%)
Intestinal duplication	4 (4%)
Peutz-Jeghers syndrome	2 (2%)
Lymphoma	2 (2%)
Polyp	1 (1%)
Pyogenic granuloma	1 (1%)
Trichobezoar	1 (1%)
Total	22 (21%)

treatment. Five (5%) infants less than 6 months of age, with ileo-ileal intussusceptions were initially operated because of the delayed onset of symptoms due to atypical presentation (Table 4). Hydrostatic saline enemas under ultrasound guidance were performed with successful reduction in 58 of 102 (57%) patients, 54 (93%) from the group with symptom duration <24 hours, and only 4 (7%) with symptom duration >24 hours. Despite failed prior attempts, delayed enema was repeated in 12 patients with partial reduction initially, all from the group with symptom duration <24 hours, who were in a good general condition, with success in 7 of 12 (60%) patients (Table 5). The rest of 49 (46%) patients still required surgical treatment without any reattempt of delayed enema, because of their severely disturbed condition. After primary resuscitation, 27 (55%) of them underwent manual reduction of intussusception and 7 (14%) bowel resection (Table 6). In this group, intussusceptions were idiopathic in 85 (79%) patients. Pathologic lead points were encountered in 22 (21%) cases, and Meckel's diverticulum as most frequent in 11 (10%) of those patients (Table 7). There were no intestinal perforation and no patient death. The length of stay after nonsurgical reduction was <48 hours, which was significantly shorter than the stay of 3.25 days after operative treatment, especially 6.3 days if bowel resection was required.

DISCUSSION

Symptom duration before diagnosis is a very important predictor value in the treatment of intussusceptions determining the way of reduction and its outcome [9]. The reduction rate of nonsurgical treatment of intussusception in our series significantly depended on symptom duration. A longer delay in presentation results in a more rapid progression of invaginating bowel with its mesentery to the distal portions, leading to edema of intestinal wall and vascular impairment. The absence of blood flow at the Doppler ultrasonography suggests that intussusception cannot be reduced. This lessens the chances for non-surgical treatment and, as a sign of irreducibility, could be of predicting value for the low rate of enema reduction [10].

It was also noticed that the patients with ileo-colic intussusception expressed symptoms earlier than those with ileo-ileal intussusception, who were of a younger age and initially asymptomatic or of atypical presentation but consequently with a significant delay in diagnosis. Bowel resection was required in all patients with ileo-ileal intussusception. This data confirm the direct influence of symptoms duration on the number of surgical interventions and the need for bowel resection [11].

Plain radiography in the evaluation of children suspected to have intussusception has low specificity, but when the clinical suspicion of intussusception is low it is reasonable to perform plain radiography as the initial diagnostic procedure [12]. Barium or liquid contrast enema used to be the method of choice for the diagnosis of intussusception, but nowadays it is not advantageous over ultrasonography. Ultrasound guided saline enema is an optimal, non-invasive and safe, both diagnostic and therapeutic procedure [13].

The non-operative management remains the treatment of choice for intussusception with intension for modifying techniques with attempts to increase the number of successful reductions. In this light, to assess the current enema reduction rate of intussusceptions we have to focus on the value and safety of using delayed repeated reduction attempts [14, 15]. Delay in presentation, especially more than 48 hours, decreases the success of non-operative reduction and increases the risk of operative treatment, but despite initial failure, the enema therapy should be reattempted [16, 17]. Delayed enema was repeated in 12 (11.2%) patients from our series, with less severe signs of intestinal obstruction and dehydration, even with bloody stools, with symptom duration <24 hours, but with a partial reduction after the initial saline enema. The reduction rate was significantly successful in 60 %. No delayed enema attempt was done in other patients who expressed more severe signs of clinical presentation, with symptom duration >24 hours in the majority of them.

Since 1980, when Lanocita and Castiglioni [18] presented the first successful, reattempted enema reduction, the use of delayed repeated reduction attempts have been mentioned in several series, but a more thorough evaluation of its use and impact in larger groups of patients has been reported only by a few authors [19-22]. They have shown that hydrostatic enema associated with the use of

Table 8. The estimated success of delayed, repeated enema reduction of intussusception

Series	Delayed repeat enema reduction				
	Timing in between	Number of patients	Success	Successful reduction	
				Without DRE	With DRE
Navarro et al. [15]	18 min – 12 h	26	50%	84%	91%
González-Spínola et al. [22]	30 min – 24 h	-	-	71%	82%
Gorenstein et al. [20]	45–60 min	19	83%	48%	91%
University Children's Hospital	30–60 min	12	60%	50%	57%

DRE – delayed repeat enema

delayed repeated reduction attempts is a safe and effective technique for intussusception reduction with a high success rate. In our series, the percentage of patients that underwent delayed repeated reduction attempts (11.2%) and the success rate of these attempts (60%) were similar to the series of Navarro et al. [15] (12% and 50%, respectively) (Table 8). Enema therapy is attempted in almost all cases because even patients in shock can be resuscitated with rapid intravenous hydration. Patients who ultimately underwent surgery could also benefit from partial reduction of intussusception, making it prone to complete reduction or lesser resection at surgery. The use of delayed repeated reduction attempts was not complicated with bowel perforation. Although there are not enough data in our review or in the literature to propose a specific number of attempts, some clinicians advocate subsequent attempts within a few minutes to a few hours after the first attempt [23]. Although this procedure has emerged as a useful alternative to a surgical intervention, operative treatment is warranted in the cases of complications, such as peritonitis and intestinal perforation [24].

CONCLUSION

Intussusception can account for the leading cause of abdominal surgical emergencies in children younger than 5 years. Ultrasonography is an optimal, non-invasive and

safe diagnostic and therapeutic procedure. The accuracy of ultrasound guided saline enema in achieving intussusception reduction is high, but delay in presentation decreases success of this treatment.

Delayed repeated enema is the second therapeutic option in the management of intussusceptions, except in the cases of very young infants, long duration of symptoms, especially if over 48 hours, significant bleeding and dehydration, obstruction of the small intestine or absence of blood flow at Doppler ultrasonography. The success rate of delayed repeated enemas is highest when there is initially a partial reduction of intussusceptum. It appears that there is no fixed optimal timing between attempts because success can be achieved with a great variability of intervals. Surgical treatment is indicated in the cases of complications.

ACKNOWLEDGMENTS

The first author declares that the manuscript is part of postgraduate studies, based on master thesis, named “Invaginacije creva kod dece” (“Intestinal invaginations in childhood”) in 2012. The issue of the manuscript is updated with new cases, by a continuing prospective study.

No author has a financial relationship with a commercial entity that has an interest in the subject of this manuscript.

REFERENCES

- Pisacane A, Caracciolo G, de Luca U. Infant feeding and idiopathic intussusception. *J Pediatr.* 1993; 123(4):593-5.
- Weihmiller SN, Buonomo C, Bachur R. Risk stratification of children being evaluated for intussusception. *Pediatrics.* 2011; 127(2):296-303.
- Lehnert T, Sorge I, Till H. Intussusception in children – clinical presentation, diagnosis and management. *Int J Colorectal Dis.* 2009; 24(10):1187-92.
- Hryhorczuk AL, Strouse PJ. Validation of US as a first-line diagnostic test for assessment of pediatric ileocolic intussusception. *Pediatr Radiol.* 2009; 39(10):1075-9.
- del Pozo G, Albillos CJ, Tejedor D. Intussusception in children: Current concepts in diagnosis and enema reduction. *Radiographics.* 1999; 19(2):299-319.
- Byrne AT, Geoghegan T, Govender P. The imaging of intussusception. *Clin Radiol.* 2005; 60(1):39-46.
- Shekherdian S, Lee SL, Sydorak RM, Applebaum H. Contrast enema for pediatric intussusception: is reflux into the terminal ileum necessary for complete reduction? *J Pediatr Surg.* 2009; 44(1):247-50.
- Digant SM, Rucha S, Eke D. Ultrasound guided reduction of an ileocolic intussusception by a hydrostatic method by using normal saline enema in pediatric patients: a study of 30 cases. *J Clin Diagn Res.* 2012; 6(10):1722-5.
- Smoljanić Ž, Živić G, Krstić Z, Milanović D, Vukanić D, Lukač R. Intestinal intussusception in children. *Ultrasonic diagnosis.* *Srp Arh Celok Lek.* 2000; 128(7-8):259-61.
- Hanquinet S, Anooshiravani M, Vunda A, Le Coulter C, Bugmann P. Reliability of color Doppler and power Doppler sonography in the evaluation of intussuscepted bowel viability. *Pediatr Surg Int.* 1998; 13(5-6):360-2.
- Vujović RD. Invaginacije creva kod dece. *Kosovska Mitrovica: Medicinski fakultet Univerziteta u Prištini;* 2012.
- Morrison J, Lucas N, Gravel J. The role of abdominal radiography in the diagnosis of intussusception when interpreted by pediatric emergency physicians. *J Pediatr.* 2009; 155(4):556-9.
- Krishnakumar Hameed S, Maheshwari U. Ultrasound guided hydrostatic reduction in the management of intussusception. *Indian J Paediatr.* 2006; 73(3):217-20.
- Justice FA, Auldist AW, Bines JE. Intussusception: trends in clinical presentation and management. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006; 21(5):842-6.
- Navarro MO, Daneman A, Chae A. Intussusception: the use of delayed, repeated reduction attempts and the management of intussusceptions due to pathologic lead points in pediatric patients. *AJR Am j Roentgenol.* 2004; 182:1169-76.

16. Kaiser AD, Applegate KE, Ladd AP. Current success in the treatment of intussusception in children. *Surgery*. 2007; 142(4):469-75.
17. Pazo A, Hill J, Losek JD. Delayed repeat enema in the management of intussusception. *Pediatr Emerg Care*. 2010; 26(9):640-5.
18. Lanocita M, Castiglioni. Use of glucagons in the reduction of intussusception. Presentation of one case. *Radiol Med*. 1980; 66(7-8):513-6.
19. Saxton V, Katz M, Phelan E, Beasley SW. Intussusception: a repeat delayed gas enema increases the nonoperative reduction rate. *J Pediatr Surg*. 1994; 29:588-9.
20. Gorenstein A, Raucher A, Serour F, Witzling M, Katz R. Intussusception in children: reduction with repeated, delayed air enema. *Radiology*. 1998; 206:721-4.
21. Sandler AD, Ein SH, Connolly B, Daneman A, Filler RM. Unsuccessful air-enema reduction of intussusception: is a second attempt worthwhile? *Pediatr Surg Int*. 1999; 15:214-6.22.
22. González-Spínola J, Del Pozo G, Tejedor D, Blanco A. Intussusception: the accuracy of ultrasound-guided saline enema and the usefulness of a delayed attempt at reduction. *J Pediatr Surg*. 1999; 34:1016-20.
23. Gilmore AW, Reed M, Tenenbein M. Management of childhood intussusception after reduction by enema. *Am J Emerg Med*. 2011; 29(9):1136-40.
24. Niramis R, Watanatittan S, Kruatrachue A. Management of recurrent intussusception: nonoperative or operative reduction? *J Pediatr Surg*. 2010; 45(11):2175-80.

Индикације за понављање клизме у нехируршкој редукцији инвагинација код деце

Драгана Вујовић¹, Марија Лукач^{1,2}, Александар Сретеновић^{1,2}, Тамара Крстајић¹, Весна Љубић³, Сања Синђић Антуновић^{1,2}

¹Универзитетска дечја клиника, Београд, Србија;

²Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

³Клиничко-болнички центар „Земун“, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Инвагинација је чест узрок акутног абдомена у раном детињству. Идиопатска је у више од 90% случајева и јавља се код 1,5–4 на 1.000 живорођене деце. Метода избора у лечењу је нехируршка, хидростатска или пнеуматска дезинвагинација.

Циљ рада Циљ рада је био да се одреде утицај клиничке презентације и трајања симптома на успех нехируршког лечења инвагинација, уз процену индикација за примену поновних, одложених клизми, и њихова ефикасност у погледу постизања редукције.

Методе рада Испитано је 107 болесника узраста од два месеца до 14 година (медијана: девет месеци), од којих су 102 болесника (95%) била са илеоколичном инвагинацијом и иницијално су лечена клизмама физиолошког раствора уз контролу на ултразвуку. Посматран је утицај трајања симптома на успех терапијског поступка, с нагласком на избор одложене, поновљене хидростатске редукције или хируршког лечења.

Резултати Хидростатска клизма је успешно примењена код 58 болесника (57%). Нехируршка редукција је била успешнија уколико су симптоми пре постављања дијагнозе трајали до 24 сата, што је забележено код 54 од 62 болесника (87%; $p < 0,001$), у поређењу са трајањем симптома дуже од 24 сата, када је терапија била успешна код четири детета од 45 болесника (9%). Упркос почетном неуспеху, хидростатска клизма је поновљена код 12 деце, успешно код седам болесника (60%). Четрдесет и једно дете од 45 деце код које су симптоми трајали дуже од 24 сата подвргнуто је хируршкој интервенцији (91%; $p < 0,001$), укључујући и пет болесника (5%) са илеоилеалном инвагинацијом.

Закључак Хидростатска клизма уз контролу ултразвука је метода избора у лечењу инвагинација. Дуже трајање симптома умањује успех нехируршког лечења. Поновна одложена редукција је важна опција лечења инвагинација. Операција је индикована уколико се развију компликације.

Кључне речи: инвагинација; нехируршка редукција; поновна одложена редукција

Early Clinical Results of Surgical Treatment of Patients with Femoroacetabular Impingement

Desimir Mladenović^{1,2}, Zoran Andjelković³, Zoran Vukašinović^{4,5}, Milorad Mitković^{1,2}, Saša Milenković^{1,2}, Ivan Micić^{1,2}, Marko Mladenović¹

¹Orthopedics and Traumatology Clinic, Clinical Center, Niš, Serbia;

²Faculty of Medicine, University of Niš, Niš, Serbia;

³Department of Orthopedics and Traumatology, General Hospital, Leskovac, Serbia;

⁴Institute for Orthopedic Surgery "Banjica", Belgrade, Serbia;

⁵School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Surgical treatment is the treatment of choice in patients with symptoms and radiological signs of femoroacetabular impingement.

Objective Our experience and early results of surgical treatment of patients with signs of femoroacetabular impingement and early hip osteoarthritis are reported.

Methods The results of treatment of 21 patients aged 23-54 years with different types of femoroacetabular impingement are presented. Safe open surgical dislocation of the hip was performed in all patients. Before and after surgery, the WOMAC score was performed, clinical and radiographic data of the operated hips were evaluated and t-tests were used for statistical analyzes of data.

Results The WOMAC score improved from 70.5 points (range 56.3 to 89.8 points) to 90.3 points (range 70.3 to 100 points) at one year of follow-up ($p < 0.0001$), anterior impingement test was negative in all operated cases, average hip internal rotation improved significantly, no complications were found, except trochanteric nonunion at the site of osteotomy, which was reattached.

Conclusion Postoperative results have shown that the surgical approach to treating patients with femoroacetabular impingement is the method of choice. Three operated patients, with advanced osteoarthritis of the hip, had to be converted to total hip replacement.

Keywords: femoroacetabular impingement; open surgery; early results

INTRODUCTION

Femoroacetabular impingement (FAI) is a pathophysiological entity developed as a result of abnormal bone morphology of the acetabulum and femoral head, which causes groin pain in young adults and leads to early hip osteoarthritis [1-7].

Minimal and abnormal bone changes of the proximal femur and /or acetabulum are the primary pathologic substrate of FAI. None-spherical femoral head-neck junction, abnormal bone changes that produce cam-type FAI, are described as a pistol grip [8] or tilt deformity [1]. The non-spherical, anterosuperior femoral head-neck junction underlines the acetabular labrum, pressuring and squeezing the cartilage adjacent to the acetabular labrum, leaving the acetabular labrum itself initially intact and causing the separation of the articular cartilage from the labrum and subchondral bone, which, in advanced cases, represents early degenerative changes of the hip [4, 9, 10]. Extensive significant articular cartilage damage occurs first, while the labrum lesions are secondary, which is why pain occurs later. Therefore, the cam-type FAI is considered as a malignant form of impingement.

Excessive localized or generalized femoral head over coverage in acetabular retroversion

[11], in coxa profunda protrusio acetabuli [12] and less frequently a malrotated acetabular bone fragment in periacetabular osteotomy [9, 13], are acetabular abnormal bone changes which produce the pincer-type FAI. The former femoral head over coverage in the pincer-type FAI acts as a barrier to internal rotation and flexion of the hip impinging the anterosuperior aspect of the femoral neck to the anterior margin of the acetabular edge damaging the acetabular labrum along with a narrow strip of the adjacent acetabular cartilage and creating a hinge mechanism in which the femoral head is being lifted from the acetabulum, and impacts the posteroinferior acetabular cartilage, creating, the so called counter-coup acetabular cartilage damage [14]. Acetabular cartilage damage is circular, located close to its edge, in the form of narrow bands adjacent to the damaged acetabular labrum. These changes are in the form of degeneration, thinning, rupture or even the lack of labrum in the zone of maximum impact. Often, the labrum is ossified, thus further deepening the already deep acetabulum, further reducing the distance between the acetabular edge and femoral neck and thereby exacerbating the impingement mechanism. In the pincer-type FAI, acetabular labrum lesion is dominant, which produces earlier pain in patients with this form of FAI.

Correspondence to:

Desimir MLADENOVIĆ
Bulevar dr Zorana Đinđića 73/29
18000 Niš
Serbia
mladenovicmarko@gmail.com

OBJECTIVE

The aim of this study was to present our experience in surgical treatment of patients with femoroacetabular impingement and early clinical and radiological results of surgical treatment in this group of patients.

METHODS

Open surgical dislocation of the hip, as the method of choice, were conducted by senior authors in 21 patients with FAI between 2008 and 2011 at our hospital. There were 16 females (77%) and 5 males (23%) with an average age of 38.7 years (range 23 to 54). Eight patients (38%) had the cam-type FAI, one patient (4.7%) had the pincer-type FAI and twelve patients (57.3%) had a mixed form of FAI. The right side was involved in 11 (53%) and the left side in 10 patients (47%).

Clinical method

The dominant symptom of all operated FAI patients were anterior groin pain during flexion activities such as sitting and squatting and positive impingement test in all patients [4]. Clinical results were graded with the Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) [6], which was measured preoperatively and one year postoperatively.

Radiographic method

The radiographic assessment was based on the pre- and postoperative measurements of the following parameters on the antero-posterior and lateral radiograms of the hips: Tönnis angle [15], center-edge angle of Wiberg [16], the presence of acetabular retroversion (cross-over sign [17] and the posterior wall sign [11]), femoral neck-shaft angle [18], anterior femoral head-neck offset [19] and the ala-angle by Nötzli [12]. Hip arthritis degree was graded according to the Tönnis criteria [19].

Operative method

The indications for the surgical treatment of FAI were as follows: more than one year duration of symptoms, 2-3 months without response to conservative treatments, positive impingement test and radiographic signs of FAI during the examination. Lateral incision and greater trochanteric flip osteotomy were used to dislocate and debride the hip [20, 21]. In 21 hips, anterior "Z" capsulotomy, surgical dislocation of the hip, and debridement of the hip pathology were done.

The integrity of the acetabular labrum lesion was assessed and classified as a labral tear, degeneration, detachment, calcification or labral absence. The size, character,

and location of the acetabular cartilage damage were graded according to the Outerbridge grading system of hondral lesions [22]. Labral and acetabular cartilage lesions were described using the clock classification system [7, 23]. Damages of the acetabular labrum were located in the anterosuperior acetabular quadrant (12 to 18 o'clock). Labral lesions were resected or reattached (Figures 1 and 2) depending on labral integrity [24, 25]. In 20 of 21 hips, femoral head-neck junction osteochondroplasty was performed to improve femoral head-neck offset. A total amount of bone resection did not exceed 30% of femoral neck thickness (Figure 3) to minimize the risk of femoral neck fracture, so if the diameter of a femoral head-neck junction was 50 mm intraoperatively, a 15 mm deep osteochondroplasty (30% resection) in the anterolateral quadrant was the very highest limit of resection [24-27]. A relative femoral neck lengthening was performed by moving the greater trochanter more distally at the time of reattachment and then debriding the residual bone from the medial aspect of the remaining greater trochanter and from the base of the femoral neck. The greater trochanter was reattached with two cortical screws.

Estimated blood loss was on the average 370 ml (range 120 to 1200 ml). The patients were hospitalized for an average of four days. Anticoagulation included the administration of low molecular heparin during hospital stay and then salicylates for six weeks after hospital discharge. A



Figure 1. Resected acetabular labrum



Figure 2. Acetabular labrum reattached by three anchor sutures



Figure 3. Performed femoral head-neck junction osteochondroplasty

partial weight-bearing with two crutches was encouraged for six weeks, and then full weight-bearing was allowed with one crutch or a cane.

Statistical method

Strength of statistical tests was set at 80% with a possible beta error of 0.20, and the level of significance of the test with a margin of error in the conclusion of less than 5% so that the null hypothesis was rejected if $p < 0.05$. Normality of distribution of the parametric data was checked using the Kolmogorov-Smirnov test. A paired two-way t-test was used to test the significance in difference of arithmetic means. All obtained data were analyzed using a computer program for statistical data analysis (SPSS 8 for Windows).

RESULTS

The anterior impingement test was negative in all remaining operated cases at the last follow-up. The average hip internal rotation improved from the preoperative value of 13.5° (range 0° to 25°) to 31.5° (range 20° to 45°) at one year of follow-up ($p < 0.0001$).

WOMAC score average improved from the preoperative value mean 70.5 points (range 56.3 to 89.8 points) to 90.3 points (range 70.3 to 100 points) at one year of follow-up ($p < 0.0001$). Three (14%) of twenty-one hips, all in female patients, were considered far because of pain/or progressive hip arthritis. These hips were converted to a total hip arthroplasty three years after open hip dislocation surgery. At the time of the arthrotomy, all three hips were found to have severe delamination of the acetabular articular cartilage (Outerbridge grade IV).

Preoperative radiographic results showed a mean of 8.2° (range 6° to 17°) of Tönnis angle (normal value $< 15^\circ$), which was higher than 15° in two cases. The mean center-edge angle of Wiberg (normal value $> 20^\circ$), a helpful measure of femoral head over coverage, was 36.2° (range 26° to 50°). The cross-over and posterior wall signs were observed in five cases. The mean femur neck-shaft an-

gle (normal range 120° to 140°) was 132.1° (range 118° to 142°), in one case it was less than 120° , and in another one it was over 140° . The anterior head neck offset (normal range 8.2 mm), was 10.2 mm (range 6.5-18.1 mm) on the average and less than 8 mm in three cases. The mean of alpha angle of Nötzli was 64.8° (range 54° to 92°) on the anteroposterior view, and 54.6° (range 50° to 64°) on the lateral view (normal value $< 55^\circ$ on the anteroposterior and 45° on the lateral view).

Preoperatively, 19 acetabular margins were retroverted. Os acetabuli [28, 29] was seen on the radiographs of two hips. Postoperatively, the anterior head-neck offset was 12.4 mm (range 8.2 to 18.1 mm). The mean of alpha angle of Nötzli on the anteroposterior radiograms was 45.2° (range 40° to 51°) and on Dunn 90 views it was 35.7° (range 34° to 44°).

Tönnis osteoarthritis grade index was 0 in six hips, grade 1 in ten hips, grade 2 in two hips, and grade 3 in three hips. The osteoarthritis grade did not progress in thirteen of the twenty-one hips. There was one Tönnis grade of progression in eight hips.

Intraoperatively, of 21 hips 18 (86%) had an abnormal labrum: 9 labrums were detached, 3 were torn, one degenerated and 5 labrums were calcified. Twelve of these labrum damages were reattached with anchor suture, and six labrums were partially resected with an antero-superior acetabular margin resection osteoplasty. In five cases of anterior femoral head over coverage, anterior acetabulum edge osteotomy was done after acetabular labrum mobilization and then the labrum was reattached with one to three anchor sutures.

Specific treatment of damaged acetabular articular cartilage varied over the course of the study period. From seven hips with Outerbridge grade III or IV cartilage delamination, six underwent resection of the delaminated articular cartilage and either micro fracture of the acetabular subchondral bone (one hip) or without specific osseous treatment (other hips). Acetabular labrum or underlying articular cartilage damage was located in the anterosuperior acetabular quadrant in the area of the femoral head-neck junction abutment against the acetabulum, on the articular side.

There were no complications, such as femoral head vascular necrosis or early and late infection developed at the last follow-up. However, there were two cases of trochanteric site osteotomy nonunion, which were reattached.

DISCUSSION

Femoroacetabular impingement has been proposed as the major etiological factor in the development of hip osteoarthritis [1-8, 29, 30]. Treatment of FAI is focused on the relief of femoroacetabular abutment and repair or debridement of damaged chondro-labral tissue.

The femoral head-neck junction abnormality has been noted to be the predictor of the cam and mixed type FAI [14]. The non-spherical femoral head, as seen on the antero-posterior and lateral hips radiograms, has been

described as a pistol-grip deformity and correlated, over the years, with idiopathic osteoarthritis [10, 28, 31]. The subclinical slipped capital femoral epiphysis has been suggested as a possible cause of this deformity and thus of secondary osteoarthritis [1, 31, 32].

The surgical treatment of cam-type FAI is directed at restoring femoral head-neck offset by debriding osteochondral prominence at the femoral head-neck junction and debriding or attempting to repair an acetabular labrum damage and acetabular articular cartilage delamination. The acetabular or pincer-type of impingement with an anterior acetabular edge pathology is treated by labrum resection and/or refixation simultaneously with femoral head-neck junction trimming.

The technique of safe surgical dislocation developed by Ganz et al. [20] preserves femoral head blood supply and allows a direct visualization of 360° circumference of acetabular pathology. Our results confirm that surgical dislocation of the femoral head is a safe technique that does not appear to jeopardize the vascularity of the femoral head, as postoperatively we did not observe any cases of femoral head avascular necrosis. The optimum treatment of severe acetabular chondral injury (Outerbridge grade III or IV) is unknown. We performed excision of delaminated articular cartilage with an underlying bone, followed by labral advancement to the newly created anterior aspect of the acetabular rim. The improvement of clinical signs and function after open FAI treatment has been documented by other authors; Beck et al. [11] reported that 14 men and five women with a mean age of 36 years (range 21-52 years) were treated with a surgical dislocation and offset creation of the hip. The follow-up averaged 4.7 years (range 4-5.2 years). Using the Merle d'Aubigne hip score, 13 hips were rated excellent to good, with the pain score improving from 2.9 points to 5.1 points at the latest follow-up. There was no avascular necrosis of the femoral head. Five of the 19 patients, two with grade 2 osteoarthritis, two with grade 1 osteoarthritis but with severe acetabular cartilage damage, and one with untreated ossified labrum underwent a subsequent total hip arthroplasty (THA). Peters et al. [29] pointed out that the average Harris hip score improved from a preoperative value of 70 points (range 20-81 points) to 88 points (range 49-100 points) at one year ($p < 0.0001$). Four (13%) of 30 hips,

all in female patients, were considered failures because of pain and/or progressive arthrosis. Three of these hips were converted to a total hip arthroplasty because of clinical failure. At the time of arthrotomy, all three were found to have severe delamination of the acetabular articular cartilage (Outerbridge grade IV). The fourth hip with a failure had radiographic signs of progressive arthrosis. Espinosa et al. [24] concluded that at one year postoperatively, there was a significant improvement in clinical scores mainly pain, in the group of labral resection and labral refixation 80% of the hips had an excellent result, 14% had a good result, and 6% had a moderate result. But there were no published reports of using the WOMAC score in evaluating pre- and postoperative clinical results in the operated FAI group of patients. In our report, of 21 patients treated with surgical dislocation of the hip, we noted improvement in the WOMAC score from 70.5 to 90.3 points ($p < 0.0001$), and internal rotation from 13.5° to 41.5° ($p < 0.0001$) at one year follow-up.

Peters et al. [29] reported their results; four of the 30 hips (13%) required a total hip arthroplasty. Our results confirmed their results; three of 21 hips (11.5%) were converted to a total hip arthroplasty three years after open hip surgery. In our group trochanteric site osteotomy nonunion occurred as a complication in two cases (9%).

CONCLUSION

In summary, open surgical treatment, as a method of choice, for all type of FAI in young adult hips without substantial femoral head neck osteochondral prominence and acetabular labrum and hyaline cartilage damage, experienced reduced pain and improved function of the hips with a low complication rate. In the cases of advanced osteoarthritis, open treatment of femoroacetabular impingement was certainly not warranted.

ACKNOWLEDGEMENT

This paper was supported by the grants III 41017 and III 41004, Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia.

REFERENCES

1. Murray RO. The etiology of primary osteoarthritis of the hip. *Br J Radiol.* 1965; 38:810-24.
2. Solomon L. Patterns of osteoarthritis of the hip. *J Bone Joint Surg.* 1976; 58:176-83.
3. Tönnis D, Heinecke A. Acetabular and femoral anteversion: relationship with osteoarthritis of the hip. *J Bone Joint Surg Am.* 1999; 81:1747-70.
4. Ganz R, Parvizi J, Beck M, Leuning M, Notzli H, Siebenrock KA. Femoroacetabular impingement: a cause for osteoarthritis of the hip. *Clin Orthop Relat Res.* 2003; 413:112-20.
5. Wagner S, Hofstetter W, Chiquet M. Early osteoarthritic changes of human femoral head cartilage subsequent to femoro-acetabular impingement. *Osteoarthritis Cartilage.* 2003; 11:508-18.
6. Bellamy N, Buchanan WW, Goldsmith CH, Campbell J, Stitt JW. Validation study of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically-important patient-relevant outcomes following total hip or knee arthroplasty in osteoarthritis. *J Orthop Rheumatol.* 1988; 1:95-108.
7. Beck M, Kalhor M, Leuning M, Ganz R. Hip morphology influences the pattern of damage to the acetabular cartilage: femoro-acetabular impingement as a cause of early osteoarthritis of the hip. *J Bone Joint Surg.* 2005; 87:1012-8.
8. Harris WH. Etiology of osteoarthritis of the hip. *Clin Orthop Relat Res.* 1986; 213:20-33.
9. Myers SR, Eijer H, Ganz R. Anterior femoro-acetabular impingement after periacetabular osteotomy. *Clin Orthop Relat Res.* 1999; 363:93-9.
10. Ito K, Minka MAII, Leuning M, Werlen S, Ganz R. Femoro-acetabular impingement and the cam-effect: A MRI-based quantitative anatomical study of the femoral head neck offset. *J Bone Joint Surg.* 2001; 83:171-6.

11. Beck M, Leuning M, Parvizi J, Boutier V, Wyss D, Ganz R. Anterior femoro-acetabular impingement: Part II. Midterm results of surgical treatment. Clin Orthop Relat Res. 2004; 418:67-73.
12. Nötzli HP, Wyss TF, Stoecklin CH, Schmid MR, Treiber K, Hodler J. The contour of the femoral head-neck junction as a predictor for the risk of anterior impingement. J Bone Joint Surg. 2002; 84:556-60.
13. Siebenrock KA, Schoeniger R, Ganz R. Anterior femoro-acetabular impingement due to acetabular retroversion: treatment with periacetabular osteotomy. J Bone Joint Surg Am. 2003; 85:278-86.
14. Parvizi J, Leunig M, Ganz R. Femoroacetabular impingement. J Am Acad Orthop Surg. 2007; 15(9):561-70.
15. Tönnis D. Normal values of the hip joint for the evaluation of x-rays in children and adults. Clin Orthop. 1976; 119:39-47.
16. Wiberg G. Studies on dysplastic acetabular and congenital subluxation of the hip joint. Acta Orthop Scand. 1939; 83(Suppl 58):7-38.
17. Reynolds D, Lucas J, Klauw K. Retroversion of the acetabulum. A cause of hip pain. J Bone Joint Surg. 1999; 81:281-8.
18. Paley D. Normal lower limb alignment and joint orientation. In: Principles of Deformity Correction. New York: Springer-Verlag; 2003. p.1-19.
19. Tönnis D, Heinecke A, Nienhaus R, Thiele J. Predetermination of arthrosis, pain and limitation of movement in congenital hip dysplasia (author's transl.). Z Orthop Ihre Grenzgeb. 1979; 117:808-15.
20. Ganz R, Gill TJ, Gautier E, Ganz K, Krugel K, Berlemann U. Surgical dislocation of the adult hip. A technique with full access to the femoral head and acetabulum without the risk of avascular necrosis. J Bone Joint Surg. 2001; 83:1119-24.
21. Gautier E, Ganz K, Krugel N, Gill T, Ganz R. Anatomy of the medial femoral circumflex artery and its surgical implications. J Bone Joint Surg. 2000; 82:679-83.
22. Outerbridge RE. The etiology of chondromalacia patellae. Clin Orthop Relat Res. 2001; 389:5-8.
23. Leuning M, Werlwin S, Ungersbock A, Ito K, Ganz R. Evaluation of the acetabular labrum by MR arthrography. J Bone Joint Surg. 1997; 79:230-4.
24. Espinosa N, Rothenfluh DA, Beck M, Ganz R, Launig M. Treatment of femoro-acetabular impingement: preliminary results of labral refixation. J Bone Joint Surg Am. 2006; 88:925-35.
25. Peters CL, Erickson JA. Treatment of femoro-acetabular impingement with surgical dislocation and debridement in young adults. J Bone Joint Surg Am. 2006; 88:1735-41.
26. Mardones MR, Gonzales C, Chen Q, Zobitz M, Kaufman KR. Surgical treatment of femoroacetabular impingement: evaluation of the effect of the size of the resection. J Bone Joint Surg Am. 2005; 87:273-8.
27. Lavigne M, Parvizi J, Beck M, Leunig M, Siebenrock KA, Ganz R, et al. Anterior femoro-acetabular impingement. I. Techniques of joint preserving surgery. Clin Orthop Relat Res. 2004; 418:61-6.
28. Eijer H, Leuning M, Mahomed MN, Ganz R. Cross-table lateral radiographs for screening of anterior femoral head-neck offset in patients with femoro-acetabular impingement. Hip International. 2001; 11:37-41.
29. Peters CL, Erickson JA. The etiology and treatment of hip pain in the young adult. J Bone Joint Surg Am. 2006; 88:20-6.
30. Maheshvari VA, Malik A, Dorr DL. Impingement of the native hip joint. J Bone Joint Surg Am. 2007; 89:2508-18.
31. Stulberg SD, Cordell LD, Harris WH. Unrecognized childhood hip disease: a major cause of idiopathic osteoarthritis of the hip. In: The Hip: Proceedings of the Third Open Scientific Meeting of the Hip Society. St. Louis: C.V. Mosby; 1975. p.2112-228.
32. Solomon L. Patterns of osteoarthritis of the hip. J Bone Joint Surg. 1976; 52:176-83.

Рани клинички резултати хируршког лечења болесника са фемороацетабуларним сударом

Десимир Младеновић^{1,2}, Зоран Анђелковић³, Зоран Вукашиновић^{4,5}, Милорад Митковић^{1,2}, Саша Миленковић^{1,2}, Иван Мицић^{1,2}, Марко Младеновић¹

¹Ортопедско-трауматолошка клиника, Клинички центар, Ниш, Србија;

²Медицински факултет, Универзитет у Нишу, Ниш, Србија;

³Одељење за ортопедију и трауматологију, Општа болница, Лесковац, Србија;

⁴Институт за ортопедску хирургију и трауматологију „Бањица“, Београд, Србија;

⁵Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Хируршко лечење је метода избора у лечењу особа с клиничком сликом и радиографским знацима фемороацетабуларног судара (ФАС).

Циљ рада Циљ рада био је да се прикажу наше искуство и рани резултати хируршког лечења болесника са знацима ФАС и раном артрозом кука.

Методе рада Хируршки је лечен 21 болесник узраста од 23 до 54 године с различитим типовима ФАС. Сви болесници су оперисани отвореном методом са сигурном хируршком дислокацијом кука. Пре и после операције рађен је WOMAC тест, процењени су клинички и радиографски параметри оперисаних кукова, а за статистичку обраду података коришћен је Студентов t-тест.

Резултати Резултати на WOMAC тесту су се побољшали

са 70,5 бодова (опсег: 56,3–89,8 бодова) пре операције на 90,3 бода (опсег: 70,3–100 бодова) годину дана касније ($p < 0,0001$). Тест предњег удара је био негативан код свих оперисаних болесника. Побољшан је и просек унутрашње ротације кука код свих оперисаних испитаника. Компликација није било, изузев незарастања места остеотомије великог трохантера који је био поново фиксиран.

Закључак Резултати лечења испитаника са ФАС и артрозом кука показали су да је хируршки приступ код ових болесника метода избора. Код три оперисана болесника лечење је морало да се заврши уградњом тоталне протезе кука, јер су у питању били болесници са узнапредовалим обликом артрозе кука.

Кључне речи: фемороацетабуларни судар; хируршко лечење; рани резултати

The Impact of Education on Adolescents' Sun Behavior: Experiences from Serbia

Suzana Miljković¹, Djordje Baljuzović², Dušanka Krajnović³, Ljiljana Tasić³,
Gorica Sbutega-Milošević⁴

¹Health and Beauty Care Center, Belgrade, Serbia;

²School of Electrical Engineering, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

³Department of Social Pharmacy and Pharmaceutical Legislation, Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

⁴Institute of Hygiene and Medical Ecology, School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction In Serbia, there have been no broad campaigns or educational programs focused on adolescents' sun protection.

Objective The aim of the study was to assess whether an educational program would have impact on changes of attitudes and sun-protective behaviors of high school students. More specific aim was to examine whether sex and age differences in sun behavior exists.

Methods Educational program was designed to provoke changes in attitudes towards sun protection and sun behavior. The investigation was carried out in Belgrade, Serbia in two educational cycles, during spring 2007 and 2008. Sixteen- and 17-year old high schools students were targeted and assessed before and after the educational intervention by means of self-report questionnaire designed for this study (about skin types and sun behavior). The students' attitudes towards sun protection and sun behavior before and after the educational intervention were compared and analyzed by the Pearson's chi-square test and logistic regression analyses. In the second educational cycle (2008) age and gender differences in sun behavior were analyzed.

Results Overall 3205 students in 2007, and 2155 students in 2008 year from 11 high schools participated. A statistically significant behavior change was observed for the use of sunglasses in 2007 – the number of students using them increased from 41.6 % to 45.6% ($p < 0.05$). There were no significant changes in other ways of protection i.e. sunscreen use, protective clothes or staying in shade.

Conclusion Educational program had an impact, but broader activities involving schools, local communities and media are needed for significant changes in sun behavior and attitude.

Keywords: adolescents; education; sun behavior; attitudes; health promotion; primary prevention

INTRODUCTION

There are about 3,500 new cases of skin cancer in Serbia every year, with about 300 cases of melanoma among them. According to the data, the number of skin cancer is almost the same as the number of colon cancers, which is assumed as the most frequent type of cancer in Serbia [1].

It is estimated that 80% of all skin cancers are caused by ultraviolet (UV) radiation regardless of the source of emission (sunlight or sunbed parlors) [2, 3]. Overexposure to UV radiation is a growing health concern for children due to environmental changes and cultural trends [4, 5]. Public education campaigns and media attention are very important for raising awareness of the health risks of UV exposure, and health based educational programs are considerably less successful at motivating behavioral change. However, education on sun protection, particularly in children and youth that usually spend a lot of time outdoors and are at the greatest risk of cumulative UV exposure, is one of the most important measure for prevention of skin cancers and other harmful effects of sun exposure [6, 7].

In Serbia, there were no broad campaigns or educational programs focused on sun protec-

tion so far. This study was designed to fulfill these needs and a specific educational program entitled "Sun bathing – yes or no?" was created. The goal of the program was to increase awareness among young people of harmfulness of excessive exposure to sun or artificial UV sources, to educate them on sun protection measures, motivate them to change their behavior and develop awareness of healthy environment importance. Particular attention was drawn to the problem of sunbeds and indoor sunlamps, since young people, particularly girls, are using them increasingly and there are no laws or regulations regarding the sunbed quality and use control in Serbia.

OBJECTIVE

Since it was the first survey of this kind in Serbia, the study intended to research the predominant skin type among adolescents, their accustomed attitude and behavior on the sun/sunbed parlors and to examine suggested one and/or create new, acceptable educational program. The objective of the study was to determine whether an educational program could have an impact on changes of attitudes and sun be-

Correspondence to:

Correspondence to:
Suzana MILJKOVIĆ
Health and Beauty Care Center
Mutapova 24, 11000 Belgrade
Serbia
suzanam@beotel.rs

havior of high school students in Serbia. The specific aim was to assess age and gender differences in sun behavior.

METHODS

This multi-component, public health educational intervention was designed for high school students in Belgrade from 2007 to 2008. A cross-sectional study of the convenient sample of the first and second grade high-school students was carried out in randomly selected schools in the Belgrade region. Individual classes or the whole generations were included depending on the organizational possibilities in the schools.

Educational intervention comprised of a 90-minute lecture and a workshop which were prepared according to the relevant literature and authors' (SM) previous 10-year experience in sun protection education and health promotion conducted in various groups [6-11].

The lecture covered the following topics: (1) solar radiation – wavelengths, (2) damage of the ozone layer and its health-related effects, (3) beneficial effects of sunbathing, (4) adverse effects of UV exposure from sun and/or sunbeds, (5) proper behavior at the exposure, (6) UV radiation index, (7) sunscreens for beach and daily skin care products, (8) sunbeds – legislation, World Health Organization (WHO) recommendations, (9) artificial skin tanning products, and (10) post-exposure skin care and products.

In the workshop the students were given several everyday situations and asked to apply what they learnt from the lecture; for example, how to select beach sunscreen formulations to match their own skin type, how to protect themselves during the first days of stay at the seaside or when on skiing, what do they think of sunbeds – pro et contra, etc.

The participants were educated and trained in two cycles and their changes in attitude and sun behavior were assessed through a self-report multiple-choice questionnaire, at the beginning of the educational intervention (spring) and after a six-month period (autumn).

Results from the survey were entered into the database and analyzed, comparing answers in the spring and in the autumn in order to establish changes in attitudes and sun behaviors. Data from the behavior questionnaire were analyzed by the Chi-square test and logistic regression analyses. In the second cycle of educational intervention, age and gender differences in sun behavior were analyzed.

The sun protection health promotion intervention was implemented with the Serbian Society for Fight against Cancer and under the patronage of the Ministry of Health of the Republic of Serbia [12] and the Ministry of Education and Sport of the Republic of Serbia [13].

Statistical analysis

In this research, we calculated the sampling weights that took into consideration unequal probabilities of selection due to the design of sample and non-response. Data

management was conducted using Microsoft Access 2007 (Microsoft Corp.), and data analysis and variance estimation were conducted with SUDAAN software version 9.0 (Research Triangle Institute, NC). Using weighted corresponding estimates and SEs, the weighted differences are presented (changes in corresponding estimates) and the 95% confidence intervals (CIs) for the change in the estimates. Univariate chi-square, logistic regression, multivariate logistic regression and t-test analyses were performed using Stata software version 10.0 (StataCorp LP, TX). Analyses were performed to determine correlations between sun-protective behaviors, age and gender. Logistic and multivariate logistic regression analyses were done regarding individual sun-protective behavior included in the model.

RESULTS

In 11 randomly selected high schools in Belgrade, Serbia, a before-and-after (spring-autumn) survey on sun behavior completed 1,660 and 1,545 students in 2007, and 1,138 and 1,017 students in 2008, respectively.

Most of the participants in 2007 were born in 1991 (48%) or 1990 (38%). Those assessed in 2008 were born mostly in 1992 (46%) and 1991 (33%). The profile of the participants was as follows: brown hair (about 55%), brown eyes (46%), skin that moderately burns and moderately tans or rarely burns and easily tans (48% and 44%, respectively). The majority of the students (between 40 and 50% for both years) spend 30 to 50% of their free time outdoors. Only 30% of students try to avoid sun exposure i.e. walks, sports activities or sunbathing in critical hours around noon. However, during summer, more than half of the students (around 55%) are taking care in exposing themselves to the sun gradually and prevent sunburns.

Trends in the prevalence of sun protection behavior practices, sunburn experienced and in attitudes toward sunbeds, with correlations between sun-protective behaviors and age and gender (only Table 2), are presented in Table 1 (Survey 2007) and Table 2 (Survey 2008).

The results before the education were as follows: they protect themselves from the sun exposure by using hats, sunglasses, staying in shade or with sunscreens. For both years, the number of students wearing long sleeves and trousers, as a way of protection was insignificant, even after the education. About 60% of students use sunscreens among other protection measures, the majority (85%) of them with sun protection factor (SPF) over 15. The most significant, positive (using more sunscreens) changes were among the youngest students.

About 40% of the students reported they had sunburns (redness, pain, blisters etc.) before; the oldest group of students was the most affected.

There are about 17% of students using sunbeds; most of them (30%) belong to the oldest tested group of students (1989). As for the number of visits, about half of the students answered that it was less than 10 visits annually.

Table 1. Trends in the prevalence of sun protection behavior practices, experienced sunburns and in attitudes toward sunbeds in Serbian youth – Survey 2007

Survey 2007		Year of birth			
Characteristics*		≤1989	1990	1991	≥1992
Wear hat, cap etc.	Spring, %	24.6	34.0	34.7	39.6
	Autumn, %	13.2	28.1	30.1	46.7
	Change, % (95% CI)	11.4 (1.4 to 25.0)	5.9 (1.4 to 10.4)	4.6 (0.9 to 8.4)	-7.1 (-30 to 15.9)
Wear sunglasses	Spring, %	37.8	39.8	38.6	28.3
	Autumn, %	57.1	49.2	42.8	56.7
	Change, % (95% CI)	-19.3 (-37.1 to -1.5) ^b	-9.4 (-14.3 to -4.4) ^w	-4.2 (-8.2 to -0.2) ^b	-28.4 (-50.7 to -6.1) ^b
Wear long sleeves	Spring, %	2.8	2.9	2.0	5.7
	Autumn, %	5.7	4.0	1.9	3.3
	Change, % (95% CI)	-2.9 (-11.1 to 5.4)	-1.1 (-2.9 to 0.8)	0.1 (-1 to 1.3)	2.4 (-6.9 to 11.5)
Use sunscreen	Spring, %	61.9	60.4	58.0	56.7
	Autumn, %	48.6	60.3	60.6	66.7
	Change, % (95% CI)	13.3 (-4.6 to 31.4)	0.1 (-4.8 to 5)	-2.6 (-6.6 to 1.4)	-10.0 (-32.3 to 12.2)
Seek shade	Spring, %	39.2	45.4	42.6	37.7
	Autumn, %	22.9	37.2	43.9	33.3
	Change, % (95% CI)	16.3 (1.1 to 31.7) ^b	8.2 (3.4 to 13.1) ^w	-1.3 (-5.3 to 2.7)	4.4 (-17.7 to 26.5)
Had sunburns	Spring, %	44.7	40.8	40.1	30.2
	Autumn, %	28.6	42.6	35.1	16.7
	Change, % (95% CI)	16.1 (-0.3 to 32.5)	-1.8 (-6.7 to 3.1)	5.0 (1.1 to 8.9) ^b	13.5 (-5.2 to 32.3)
Visit sunbeds	Spring, %	32.6	16.6	14.0	14.0
	Autumn, %	20.0	15.5	12.7	6.7
	Change, % (95% CI)	12.6 (-2.0 to 27.2)	1.1 (-2.5 to 4.8)	1.3 (-1.4 to 4.1)	7.3 (-2.2 to 17.0)

* Please refer to the Appendix for the detailed information on the questionnaire.

^b p<0.05, ^w p<0.001, 95% CI – 95% confidence interval**Table 2.** Trends in the prevalence of sun protection behavior practices, experienced sunburns and in attitudes toward sunbeds in Serbian youth – Survey 2008

Survey 2008		Year of birth				Gender	
Characteristics*		≤1989	1990	1991	≥1992	Girls	Boys
Wear hat, cap etc.	Spring, %	30.5	33.8	34.3	25.5	32.1	35.4
	Autumn, %	26.8	30.2	31.4	25.0	25.6	37.9
	Change, % (95% CI)	3.7 (-8.8 to 16.1)	3.6 (-1.75 to 8.8)	2.9 (-1.4 to 7.2)	0.5 (-15.8 to 16.9)	6.5 (2.8 to 10.3) ^w	-2.5 (-7.7 to 2.7)
Wear sunglasses	Spring, %	46.2	42.2	42.1	44.7	47.0	36.1
	Autumn, %	46.4	50.1	42.6	52.8	51.6	36.6
	Change, % (95% CI)	-0.2 (-14.2 to 13.7)	-0.9 (-13.6 to -2.2) ^d	-0.5 (-5.0 to 4.0)	-8.1 (-26.8 to 10.6)	-4.6 (-8.7 to -0.3) ^d	-0.5 (-5.7 to 4.7)
Wear long sleeves	Spring, %	3.1	1.5	1.4	2.1	1.3	2.5
	Autumn, %	3.6	1.0	3.7	2.8	2.7	2.7
	Change, % (95% CI)	-0.5 (-5.7 to 4.7)	0.5 (-0.7 to 1.7)	-2.3 (-3.8 to -0.7) ^d	-0.7 (-6.4 to 5.1)	-1.4 (-2.7 to -0.1) ^d	-0.2 (-1.8 to 1.6)
Use sunscreen	Spring, %	58.5	62.9	62.3	68.1	75.5	36.6
	Autumn, %	67.9	70.8	62.0	79.2	82.2	41.7
	Change, % (95% CI)	-9.4 (-22.5 to 3.7)	-0.9 (-13.2 to -2.6) ^d	0.3 (-4.2 to 4.8)	-11.1 (-27.8 to 5.6)	-6.7 (-10.1 to -3.4) ^w	-5.1 (-10.4 to 0.2) ^d
Seek shade	Spring, %	49.6	43.6	41.3	38.3	34.6	56.7
	Autumn, %	50.2	41.3	43.2	40.3	31.2	59.9
	Change, % (95% CI)	-1.6 (-15.4 to 12.4)	2.3 (-3.4 to 7.9)	-1.9 (-6.4 to 2.7)	-2.0 (-20.3 to 16.3)	3.4 (-0.6 to 7.3)	-3.2 (-8.5 to 2.1)
Had sunburns	Spring, %	50.3	45.3	41.6	46.8	40.8	51.6
	Autumn, %	55.4	40.8	37.5	31.9	35.4	45.0
	Change, % (95% CI)	-5.1 (-19.0 to 8.9)	4.5 (-1.1 to 10.2)	4.1 (-0.3 to 8.6)	14.9 (-3.4 to 33.1)	5.4 (1.3 to 9.4) ^d	6.6 (1.2 to 12.0) ^d
Visit sunbeds	Spring, %	22.9	16.1	13.5	19.1	23.5	2.8
	Autumn, %	7.1	13.9	13.8	15.3	20.6	2.7
	Change, % (95% CI)	15.8 (8.1 to 23.4) ^w	2.2 (-1.8 to 6.2)	-0.3 (-3.5 to 2.8)	3.8 (-10.4 to 18.2)	2.9 (-0.6 to 6.4)	0.1 (-1.6 to 1.9)

* Please refer to the Appendix for the detailed information on the questionnaire.

^d p<0.05, ^w p<0.001, 95% CI – 95% confidence interval

Only 1% of the tested students had solar keratoses and skin cancer in the family so far.

The girls use sunglasses and sunscreens more than the boys. Also, they visit sunbeds much more often than the boys. On the contrary, the boys prefer using shade as a measure of sun protection, and had sunburns more often than the girls.

DISCUSSION

Successful health promotion and skin cancer primary prevention efforts must focus on adolescent education about proper sun protection and sun behavior. There were many published studies dealing with programs for skin cancer prevention [5, 14-18].

Most of them are conducted in Australia and USA, very few in UK and the rest of Europe. All of these studies obtained similar results and had similar experiences: it is very hard and time-consuming to transfer knowledge into the positive behavior.

Neither a broad social campaign focused on sun protection, nor any educational programs were undertaken in Serbia, yet. Some media campaigns periodically occurred, but with contradictory and confusing key messages. Suntan is fashionable; the choice of clothes, hats and sunglasses also depends on the current fashion. This underlines the enormous influence of media, with actors, singers and other celebrities often promoting suntan by their behavior and appearance. On the other side, a low public awareness and insufficient knowledge of parents and teachers cannot compete with the media influence and change attitudes among children and youth.

Therefore, health promotion educational programs supported by the broad public campaigns are necessary. Schools could offer structured and organized educational programs to promote „sun smart“ behavior. Legislation is also important, particularly regulations related to sunbeds use. Support from all who can actively encourage the youth to practice appropriate sun protection practices is also important: local community, sport organizations, pediatricians, teen peer advocates etc. Those comprehensive approaches have shown to be much more effective in changing the sun behavior [5, 18, 19, 20].

In creating educational campaigns for adolescents, it is very important to focus on the esthetic effects of sun exposure and risks to physical appearance (wrinkles, dark spots etc), not only on health aspects. In our educational interventions, students were very interested in cosmetic products for sun protection, sun-tan and similar products and their appropriate use, similar to experiences from [15, 21, 22, 23]. Protecting attractive physical appearance can motivate young people to change attitudes and behavior at least in short-term period.

Our results show that students older than 16 usually use sunbeds, similar results were obtained in a study by Cokkinides et al. [24]. Although during the education the adverse effects of UV radiation from the use of indoor tanning equipment was stressed out, it is difficult to evaluate

the observed significant decrease in sunbeds use, since it could be, at least to some extent, attributed to the timing of evaluation by questionnaires (first one in spring, and second one in autumn i.e. after the summer holidays).

It is normal that students were under different influences - society, media, friends, Internet, fashion etc. during the 6-months follow-up (before and after assessment of the educational intervention). They can change their attitudes again. The changes in the behavior of our student cohort after the educational program were small. A statistically significant behavior change was observed for sunglasses use. As data were based on self-reports of the students, one of the explanations for the modest behavior change is that although the majority of the respondents are aware of health risks of sun exposure, they ignore it because they find the suntan fashionable. The increase, although not statistically significant, was observed in a number of students trying to avoid sun exposure in critical hours and preparing their skin for sun exposure by gradual exposure in spring. These results are valuable for further follow-up, and represent small but important sun-behavior changes.

The particular aim of our study was gender differences, which was done by stratified groups. Girls are much more concerned about sun protection – they use sunglasses and sunscreens, but also sunbeds much more often than boys. On the contrary, boys are hiding in the shade to protect skin, but they get more sunburns than girls. Similar results to ours are reported by different research groups [19, 25]. Like in other reports, our data confirmed that girls were far more likely to use tanning bed, especially older girls [19]. Sunscreen use was inversely associated with age for both genders of all subgroups, which is in accordance with other findings [17].

Results and experiences from this program can be used in future health protection /primary prevention educational programs, either as independent programs or as a part of school curricula. Since the experience of the two-year period from Serbia is good, it seems that this Program is adjusted to the target group, attracts students' attention and increases their awareness.

Limitations of the study

There are several limitations of this program:

- this is a non-controlled intervention and there are many hindrances to the validity of study findings;
- the results are based on self-reports of the students, without validation on actually observed behavior change;
- significant changes in sunglasses use could be partially explained by sunglasses being fashionable and/or considered as status symbol;
- decrease in sunbed use can be attributed to the time of the year (autumn) when sun tan is less important;
- two years are relatively a short time to induce relevant and consistent changes in students' behavior, thus a more comprehensive approach is necessary to gain better results.

CONCLUSION

Educational program "Sun bathing – yes or no?" has provoked changes in attitudes and induced minor changes in behavior among high school students in Serbia. Sunglasses use has increased. Gender differences are not statistically significant, but worthwhile of further research, particularly a gradual preparation of the skin for the sun and critical hour avoidance. Experiences from this program will be used in planning further health promotion activities.

REFERENCES

- Center for Prevention and Control of Noncommunicable Diseases. Cancer incidence and mortality in Central Serbia – 2004. Cancer Registry of Central Serbia. Report No. 6. Belgrade: Institute of Public Health of Serbia "Dr Milan Jovanović Batut"; 2007.
- Cokkinides V, Weinstock M, Glanz K, Albano J, Ward E, Thun M. Trends in sunburns, sun protection practices, and attitudes toward sun exposure protection and tanning among US adolescents, 1998–2004. *Pediatrics*. 2006; 118:853–64.
- Carol R. Banning the tan gains momentum. *Dermatology World*. 2011; 5:26–34.
- Maguire-Eisen M, Rothman K, Demierre MF. The ABCs of sun protection for children. *Dermatol Nurs*. 2005; 17(6):419–33.
- Townsend JS, Pinkerton B, McKenna SA, Higgins SM, Tai E, Brooke Steele C, et al. Targeting children through school-based education and policy strategies: comprehensive cancer control activities in melanoma prevention. *J Am Acad Dermatol*. 2011; 5(65):S104.e1–e11.
- World Health Organization. INTERSUN – The Global UV Project. A Guide and Compendium. Radiation and Environmental Health Unit. Protection of the Human Environment. Geneva: 2003. [Internet] Available from: www.who.int/uv/publications/intersunguide/en/index.html.
- World Health Organization. Global solar UV index. A practical guide. Geneva: 2002. [Internet] Available from: www.who.int/uv/publications/globalindex/en/index.html.
- Miljković S. Sun bathing – yes or no? Beograd: Perollo; 1999.
- Mijatović Z, Čonkić Lj, Miljković S. UV rays – sources, features, effects and protection. Novi Sad: Faculty of Science and Mathematics; 2002.
- United Nations Environment Programme. The Ozone Story. 2nd ed. Nairobi: 2000. [Internet] Available from: <http://ozone.unep.org/pdfs/ozone-cartoons.pdf>.
- United Nations Environment Programme, Division of Technology, Industry and Economics. Ozon Action Education Pack. A guide for primary school teachers. Nairobi: 2006. [Internet] Available from: www.unep.org/publications/.
- Agreement of Ministry of Health Republic of Serbia for the Project "Sunbathing, Yes or No?", No:500-01-00522/2006-02, January 24th 2007.
- Agreement of Ministry of Education and Sport Republic of Serbia for the Project "Sunbathing, Yes or No?", No: 601-02-00154/2006-06, December 12th 2006.
- Keeney S, McKenna H, Fleming P, McIlfratrick S. Attitudes, knowledge and behaviours with regard to skin cancer: a literature review. *Eur J Oncol Nurs*. 2009; 13(1):29–35.
- Olson AL, Gaffney CA, Starr P, Dietrich AJ. The impact of an appearance-based educational intervention on adolescent intention to use sunscreen. *Health Educ Res*. 2008; 5(23):763–9.
- Marks R. Campaigning for melanoma prevention, a model for a health education program. *J Eur Acad Dermatol Venerol*. 2004; 18:44–7.
- Olson AL, Gaffney C, Starr P, Gibson JJ, Cole BF, Dietrich AJ. SunSafe in the Middle School Years: a community-wide intervention to change early-adolescent sun protection. *Pediatrics*. 2007; 119:e247–56.
- Davis KJ, Cokkinides V, Weinstock MA, O'Connell MC, Wingo PA. Summer sunburn and sun exposure among US youths ages 11 to 18: national prevalence and associated factors. *Pediatrics*. 2002; 110:27–35.
- Geller AC, Colditz G, Oliveria S, Emmons K, Jorgensen C, Aweh GN, et al. Use of sunscreen, sunburning rates, and tanning bed use among more than 10 000 US children and adolescents. *Pediatrics*. 2002; 109:1009–14.
- Gavin A, Boyle R, Donnelly D, Donnelly C, Gordon S, McElwee G, et al. Trends in skin cancer knowledge, sun protection practices and behaviours in the Northern Ireland population. *Eur J Public Health*. 2011; 3(22):408–12.
- Mahler HIM, Kulik AJ, Harell J, Correa A, Gibbons FX, Gerrard M. Effects of UV photographs, photoaging information, and use of sunless tanning lotion on sun protection behaviors. *Arch Dermatol*. 2005; 141:373–80.
- McClendon BT, Prentice-Dunn S, Blake R, McMath B. The role of appearance concern and response to intervention to reduce skin cancer risk. *Health Education*. 2002; 102(2):76–83.
- Hevey D, Pertl M, Thomas K, Maher L, Craig A, Ni Chuinneagain S. Body consciousness moderates the effect of message framing on intentions to use sunscreen. *J Health Psychol*. 2010; 15:553–9.
- Cokkinides V, Weinstock M, O'Connell MC, Thun MJ. Use of indoor tanning sunlamps by US youth, ages 11–18 years, and by their parent or guardian caregivers: prevalence and correlates. *Pediatrics*. 2002; 109:1124–30.
- Filiz TM, Cinar N, Topsever P, Ucar F. Tanning youth: knowledge, behaviors and attitudes toward sun protection of high school students in Sakarya, Turkey. *J Adolesc Health*. 2006; 38:469–71.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Prof. Djuro Koruga for his mentorship, Prof. Slobodan Čikarić and the Serbian Society for Fight against Cancer for financial support and help in the organization and realization of the educational program, and Beiersdorf doo, Belgrade Representative Office for financial support.

APPENDIX**Behavior test – Questionnaire**

1. Year of birth? _____
2. Gender? _____
3. You have:
 - Light colored hair
 - Light colored eyes
 - Brown colored hair
 - Brown colored eyes
 - Black colored hair
 - Black colored eyes?
4. Your skin is:
 - Fair, with dark spots, easy burns, never tans
 - Moderately burns, moderately tans
 - Rarely burns, fast and easy tans
 - Many dark spots, after every vacation new spots and nevus appears?
5. What % of your free time you spend outdoors?
 - Up to 10%
 - 10-30%
 - 30-50%
 - Over 50%
6. Do you avoid critical hours (10:00–16:00) when you plan sports activities, walks or sunbathing?
 - Yes
 - No
7. Do you prepare your skin for sun, expose it gradually and try to protect from sunburns?
 - Yes
 - No
8. Do you protect yourself from sun by:
 - wearing hats,
 - wearing sunglasses,
 - wearing long sleeves and trousers,
 - staying mostly in shade,
 - using sunscreens?
9. If you use sunscreens, it is with SPF:
 - <15,
 - 15–30,
 - >30?
10. Have you ever had sunburns (redness, pain, blisters...)?
 - Yes
 - No
11. Do you use sunbeds?
 - Yes
 - No
12. If yes, how many times per year?
 - <10
 - 10–20
 - >20
13. Did you have any type of solar keratoses or skin cancer in the family?
 - Yes
 - No

Утицај образовања на понашање адолесцената на сунцу: искуства из Србије

Сузана Миљковић¹, Ђорђе Баљозовић², Душанка Крајновић³, Љиљана Тасић³, Горица Сбутега-Милошевић⁴

¹Центар за негу здравља и лепоте, Београд, Србија;

²Електротехнички факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

³Катедра за социјалну фармацију и фармацеутско законодавство, Фармацеутски факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

⁴Институт за хигијену и медицинску екологију, Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод У Србији није било шире организоване образовне кампање, нити програма образовања средњошколаца о заштити од сунца.

Циљ рада Основни циљ рада био је да се утврди утицај образовног програма на промене ставова и понашања у погледу заштите од сунца код ученика у средњим школама. Посебан циљ је био да се испита има ли родне и старосне разлике у понашању.

Методе рада Образовни програм је дизајниран тако да изазове промене ставова и понашања. Програм је спроведен у Београду у два циклуса – током 2007. и 2008. године. Узорак су чинили ученици узраста од 16 и 17 година. Пре и после овог програма ученици су попуњавали упитник који је осмишљен за потребе студије (о типу коже и понашању на сунцу). Одговори ученика о ставовима у вези са излагањем сунцу и понашању на сунцу пре и после програма упоређивани су и анализирани Пирсоновим (*Pearson*) χ^2 -тестом и

логистичком регресионом анализом. У другом образовном циклусу (2008) анализирана је родна и старосна разлика у понашању.

Резултати У истраживању је учествовало 3.205 средњошколаца у 2007. години и 2.155 у 2008. из укупно 11 школа. Статистички значајна промена понашања уочена је код употребе наочара за сунце у 2007. години, будући да се број ученика који користе наочаре за сунце повећао са 41,6% на 45,6% ($p < 0,05$). Није било значајних промена у примени других средстава заштите (препарата за заштиту од сунца, заштитне одеће или боравак у хладу).

Закључак Образовни програм јесте утицао на промене ставова и понашања ученика у вези са боравком на сунцу, али да би се постигле значајније промене у погледу ставова о заштити и понашању на сунцу, потребне су шире активности које би укључиле школе, локалну заједницу и медије.

Кључне речи: адолесценти; едукација; понашање на сунцу; ставови; промоција здравља; примарна превенција

Примљен • Received: 19/02/2013

Прихваћен • Accepted: 19/12/2013

L-2-Hydroxyglutaric Aciduria: A Case Report

Nebojša J. Jović^{1,2}, Ana Kosać¹, Katarina Koprivšek³

¹Clinic of Neurology and Psychiatry for Children and Youth, Belgrade, Serbia;

²School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

³Imaging Diagnostic Center, Oncology Institute of Vojvodina, Sremska Kamenica, Serbia

SUMMARY

Introduction L-2-Hydroxyglutaric aciduria (L-2-HGA) is an autosomal recessive neurometabolic disease with a slowly progressive course and characterized by increased levels of hydroxyglutaric acid in urine, cerebrospinal fluid and plasma. In this condition clinical features mainly consist of mental deterioration, ataxia and motor deficits.

Case Outline The patient is a 16-year-old girl, the first and only child of healthy, non-consanguineous parents of Serbian origin. At the age of 4 years her walk became unsteady and ataxic. Other signs of cerebellar involvement were soon observed. Head circumference was above two standard deviations (55 cm). Mild mental retardation was revealed by formal intelligence testing (IQ 60). MR examination of the brain showed confluent subcortical white matter lesions spread centripetally, and atrophy of the cerebellar vermis with involvement of dentate nuclei, without deep white matter abnormalities. Laboratory investigation revealed increased amounts and a very large peak of HGA in urine and plasma. Enantiomeric analysis confirmed the L-configuration (>90%) establishing the diagnosis of L-2-HGA. The first epileptic seizure, partial with secondary generalization, occurred at age of 8 years. Favorable seizure control was achieved. A slow progression of neurological impairment was noted. Therapeutic trials with oral coenzyme Q10 and with oral riboflavin showed no biochemical and clinical effects. Recently, the diagnosis was proven by the presence of a mutation in the L-2-HGA gene.

Conclusion To our knowledge, this is the first report of L-2-HGA in Serbia. L-2-HGA must be considered in the differential diagnosis based on specific findings in cranial MRI.

Keywords: hydroxyglutaric aciduria; epilepsy; white matter lesions; ataxia

INTRODUCTION

L-2-Hydroxyglutaric aciduria (L-2-HGA) is an autosomal recessive neurometabolic disease, belonging to the group of organic acidurias with a slowly progressive course. It is characterized by increased levels of L-2-hydroxyglutaric acid in urine, cerebrospinal fluid and plasma [1]. L-2-hydroxyglutarate accumulates as a result of deficiency in flavin-adenine dinucleotide (FAD)-linked L-2-hydroxyglutarate dehydrogenase (L2HGDH), a mitochondrial enzyme converting L-2-hydroxyglutarate to α-ketoglutarate. L-2-HGA is linked to the chromosome 14q22.1 and its gene encodes a putative mitochondrial protein with homology to FAD-dependent oxidoreductases hydroxyglutaric aciduria [2, 3]. So far, more than 30 mutations have been reported in the L2HGDH gene [4].

L-2-HGA was first described in 1980 and since then more than 200 cases have been reported worldwide. The clinical diagnosis is often delayed because of the insidious onset of symptoms [5]. Although the disease is usually of early infantile onset, it may be diagnosed in adults with a somewhat milder phenotype [4, 6]. A solitary large and persistent increase of L-2-hydroxyglutaric acid in urine was reported for the first time in 1980 in a 5-year-old boy from Morocco (Berber), who was investigated for nonspecific mental and motor delay and growth deficiency [7]. Nevertheless, a distinct clinical and neuroradiological picture has

emerged, as the disease has a relatively consistent pattern of presentation.

Patients usually display a delayed mental and motor development in the first years of life. About two-third of them have epilepsy and cerebellar dysfunction with progressive ataxia, dysarthria and moderate to severe mental deterioration. Macrocephaly, pyramidal and extrapyramidal signs and dystonia are present in the majority of patients [8, 9].

Briefly, magnetic resonance imaging (MRI) findings, which seem to be consistently unique of L-2-HGA, are very specific and affect the central white matter, basal ganglia, and cerebellum [10]. Neuroimaging findings include subcortical white matter loss and abnormalities of the dentate nucleus, globus pallidus, putamen, and caudate nucleus [9].

It has been suggested that the deficiency of L2HGDH induces a neoplastic state [11] and that patients with L-2-HGA have a predisposition to cerebral neoplasms of various types, including medulloblastoma and glioblastoma [11, 12, 13]. There is no effective therapy. Isolated cases are reported of successful treatment with riboflavin and FAD sodium and levocarnitine chloride supplements [11, 14].

CASE REPORT

The patient was a 16-year-old girl, the first and only child of healthy, non-consanguineous

Correspondence to:

Nebojša J. JOVIĆ
Clinic of Neurology and Psychiatry
for Children and Youth
Dr. Subotića 6a Str.
11000 Belgrade
Serbia
nebojsa.jovic.npk@gmail.com

parents of Caucasian, Serbian origin. Family history was uninformative. Pregnancy was uneventful. Caesarean section was performed, as an elective procedure, because of the fetal malpresentation. Birth weight was 2800 g, birth length 50 cm and head circumference 36 cm. The neonatal period was normal. A psychomotor delay was evident in the second year of life. She was able to stand up and walk without support at about 26th months of life. Development of her speech was delayed.

At the age of 4 years her gait became worse, she was unsteady, with ataxic walk and other signs of cerebellar involvement as dysmetria, truncal ataxia, intention tremor and dysarthria. Her head circumference was above two standard deviations (55 cm). Psychomotor development, measured with the Brunet-Lezine scale, showed the development quotient of 60. Ocular fundus examination was normal, but high degree myopia had been diagnosed. Electroencephalogram (EEG) showed diffuse non-specific abnormalities. Molecular genetic tests for Friedreich's ataxia were negative. Electroneurographic examination was normal.

Magnetic resonance imaging of the brain performed at age of 4 years, showed diffuse, bilaterally symmetric T2 white matter hyperintensity, with atrophy of the cerebellum suspected to be one of leukoencephalopathies accompanied by macrocephaly as Canavan leukodystrophy (Figure 1). Follow-up MR imaging and MR spectroscopy (done at age 8 years) showed confluent subcortical white matter lesions predominantly of frontal-parietal lobes, atrophy of the cerebellar vermis with involvement of the dentate nuclei, without deep white matter abnormalities (normal appearance of corpus callosum, internal capsule, periventricular white matter) and the diagnosis of L-2-HGA was suggested (Figures 2 and 3). Arcuate U fibers affection and centripetal involvement were seen. The subsequent screening for inborn errors of metabolism included the analysis of amino acids, organic acids, oligosaccharides, mucopolysaccharides, very long-chain fatty acids and lysosomal enzymes. Urine and blood samples were analyzed at the Erasmus University Metabolic Center in Rotterdam. Repeated urinary organic acid analyses performed by gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS) revealed highly increased amounts and a very large peak of 2-hydroxyglutaric acid. L-2-HGA in urine was 1740 mmol/mol of creatinine (controls <18.6) while in plasma it was 32 μ mol/L (controls 0.3-1). Further enantiomeric analysis confirmed the L-configuration (>90% L-2-HG) establishing the diagnosis of L-2-HGA.

The first epileptic seizure, partial with secondary generalization, occurred at age of 8 years. After repeated unprovoked seizures and EEG examination (bilateral paroxysmal activity with focal discharges over the left parietal-temporal region) antiepileptic therapy with valproate (VPA) was started. With VPA 1g/daily (92 μ g/ml) a partial control of seizure was achieved. Comedication with lamotrigine was introduced, resulting in improved seizure control (1 complex partial seizure monthly). EEG records improved in time with nonspecific right-sided abnormalities. Since April 2010 levetiracetam (2 g/daily) was added to lamo-

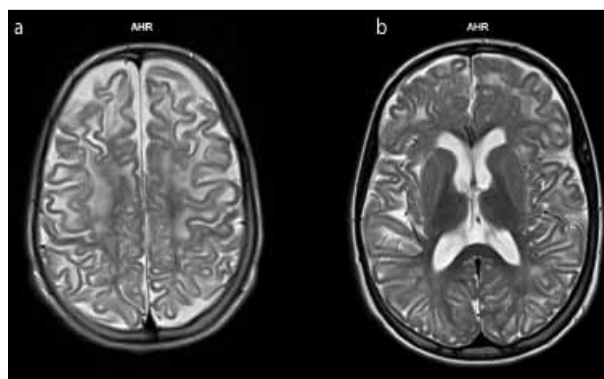


Figure 1. Cerebral MRI of the patient. Axial T2 weighted image. Multiple white matter hyperintensities with a frontal predomination (a) and without major deep and periventricular abnormalities (b). Affection of arcuate U fibers and centripetal involvement are shown (a and b).

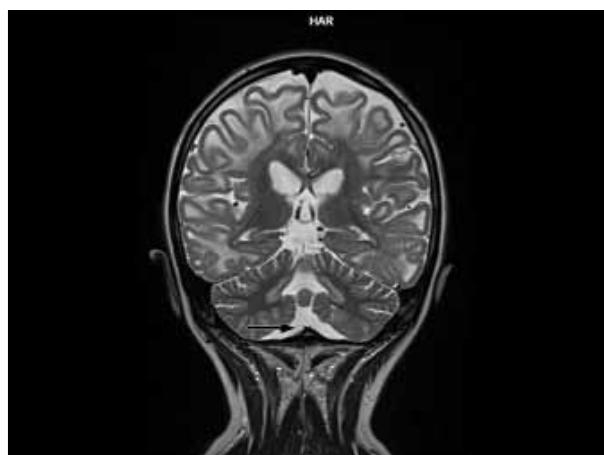


Figure 2. MRI – coronal T2 weighted image: confluent subcortical white matter lesions predominantly of frontal-parietal lobes and atrophy of the cerebellar vermis (black arrow)



Figure 3. MRI – axial T2 weighted image: hyperintensity involving brain stem and cerebellum. Atrophy of the cerebellar vermis (black arrow) and of the dentate nuclei (white arrow).

trigine (300 mg/daily), while VPA was withdrawn. Favorable seizure control was achieved.

Additional neurological signs and symptoms occurred over time, such as increased tremor, distal dystonia, orofacial dyskinesia and pyramidal signs (bilateral clonus, hyperreflexia and spastic hypertonia). At the age of 6 years, a mild mental retardation was revealed by formal intelli-

gence testing (IQ 60) without later deterioration. Her head circumference stopped increasing, but remained significantly above the 97th percentile (60 cm).

Because of spastic pes equinovarus, her walk was possible with assistance only. She developed lumbosacral scoliosis. A retention orthosis was recommended at age of 12. Last year applied therapy with botulinus toxin was beneficial and resulted in decreased spasticity. In 2011 the diagnosis was proven by the presence of a mutation in the L-2-HGA gene (missense mutation c.185C>A located in the exon 2). Therapeutic trials with oral coenzyme Q10 (400 mg/day) during 6 months and with oral riboflavin (200 mg/day) during 4 months showed neither biochemical nor clinical effects.

DISCUSSION

The progression of L-2-HGA and the consequent disability are different among patients. Topçu et al. [15] report the clinical features of 29 patients from 22 families. The mean age at the time of diagnosis was 13.4 years (2.5-32 years). The main clinical findings were mental retardation and cerebellar involvement with ataxic gait and intention tremor. Additional findings were mental retardation, macrocephaly and seizures. During the follow-up period (1.5-16 years), all patients had a static encephalopathy course.

In a group of 7 Italian patients, three patients developed severe motor and mental impairment with epilepsy, and worsened rapidly. One patient was severely demented, with spastic tetraparesis, ataxia and frequent seizures and died at 21 years of age. Other patients had milder cerebellar symptoms and mental retardation. Their clinical follow-up showed a slow progression of the disease [12]. Our patient presented with symptoms of cerebellar involvement at age of 4 years, additionally to the developmental delay, psychomotor regression and macrocephaly, as usually reported.

Macrocephaly is present in almost 50% of patients with L-2-HGA and it can be the first manifestation of the disease [16]. Therefore, it could be seen in other organic acidurias, such as glutaric aciduria type I, HMG-CoA lyase deficiency and 3-methylglutaconyl-CoA-hydratase deficiency [17]. Initial manifestation of severe autism and pervasive developmental disorders has been very rarely described in patients with L-2-HGA [16].

Seizures occur in more than 50% of patients with L-2-HGA, usually late in the course of the disease [8]. Epileptic seizures or even status epilepticus can be found among the presenting symptoms in organic acidurias with a slow course, such as L-2-HGA [17]. A patient with neonatal onset of L-2-HGA showed a burst suppression pattern on EEG, making this disorder another entity, which should be considered in the differential diagnosis of neonatal seizures [18]. The patient, a 9-month-old female infant, homozygous for the p.Lys81Glu (c.241A>G) missense mutation in the L-2-HGA gene, was reported with acute hemiconvulsion-hemiplegia-epilepsy syndrome as a presenting feature [19]. A 5-year-old boy with eyelid myoclonia with absences, bilaterally synchronous EEG polyspike/spike and

wave discharges and L-2-OHG was described. The patient became seizure-free with a combination therapy of clonazepam, levetiracetam, and lamotrigine [20]. Our patient presented with complex partial seizures with secondary generalization. Favorable seizure control was achieved with valproate, lamotrigine and levetiracetam in combinations.

Marked intra- and inter-familial variability in clinical phenotype has been reported [16, 21]. In the majority of cases, as in our patient, the severity of associated neurologic and cognitive impairments appears to progress slowly, with many of them surviving adulthood. However, a sudden deterioration may occur in occasional cases and some patients have a downhill neurologic course at a later age, sometimes as late as at 6-17 years of age [8]. There is one report of a neonate with L-2-HGA and a rapidly fatal outcome [18]. An 11-month-old girl, born to consanguineous parents of Tamil origin suddenly died at 11 months of age, during an intercurrent illness [22]. There was no correlation between the severity of clinical symptoms and the amount of L-2-OHG acid in urine or CSF [12]. Delay of L-2-HGA diagnosis until adulthood has been described [5, 14], because of mild clinical symptoms and lack of typical MRI abnormalities [4].

Neuroimaging findings of L-2-HGA are very specific. Cranial MRI reveals characteristic scattered or diffuse subcortical white-matter abnormalities fading centripetally [14]. A retrospective review of MR images in patients with L-2-HGA disclosed that initially, abnormalities of subcortical white matter were at least partially multifocal, later became more confluent and spread centripetally, but the periventricular rim remained relatively spared. Bilateral involvement of the globus pallidus, caudate nucleus, putamen and dentate nucleus was seen at all stages. The cerebellar white matter was never affected [9]. Confluent subcortical white matter lesions, atrophy of the cerebellar vermis with involvement of the dentate nuclei, without deep white matter abnormalities, were shown on MRI scans in our patients, supporting the diagnosis of L-2-HGA.

In all Turkish patients MRI showed subcortical leukoencephalopathy with bilateral high signal intensity in the dentate nuclei and putamens [15]. Atypical imaging anomalies, such as basal ganglia atrophy were described in an adult patient with L-2-OHG [5]. Moroni et al. [12] observed a good correlation between the severity of the disease and the extent of lesions on MRI. As cranial MRI findings raise suspicion of L-2-HGA, one must consider other diseases that have similar MRI findings for a differential diagnosis. These diseases include Van der Knaap disease, Canavan disease and Alexander disease. We encountered the same initial diagnostic difficulties.

Increased incidence of brain tumors has been noted among patients with L-2-HGA [12]. Meta-analysis of published data identified 14 patients with L-2-HGA associated with cerebral neoplasms, suggesting an approximately 5% prevalence rate of CNS neoplasms in these patients [13]. A male infant with L-2-HGA and Wilms tumor, the most common renal malignancy of childhood, was reported as example of an extracranial tumor associated with L-2-HGA [11].

Neither cerebral nor extracranial neoplasm was found in our patient.

A possible therapeutic role of FAD, cofactor of the enzyme, and of its precursor riboflavin was investigated. Nevertheless, it appears that this approach is only effective in “mild” missense mutations of L2HGDH (supplementation with FAD 30 mg/day) and levocarnitine chloride (900 mg/day)), whereas truncated enzymes (presumed null mu-

tations) are not responsive [1]. Therapeutic trials with oral coenzyme Q10 (400 mg/day) during 6 months and with oral riboflavin (200 mg/day) during 2 months showed no biochemical and clinical effects [22]. We could confirm this observation in our patient. No significant clinical benefit of oral coenzyme Q10 (400 mg/day) during 6 months and with oral riboflavin (200 mg/day) during 4 months was noted.

REFERENCES

- Kranendijk M, Struys EA, Salomons GS, Van der Knaap MS, Jakobs C. Progress in understanding 2-hydroxyglutaric acidurias. *J Inherit Metab Dis*. 2012; 35:571-87.
- Rzem R, Veiga-da-Cunha M, Noel G, Goffette S, Nassogne MC, Tabarki B, et al. A gene encoding a putative FAD-dependent L-2-hydroxyglutarate dehydrogenase is mutated in L-2-hydroxyglutaric aciduria. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101(48):16849-54.
- Topçu M, Jobard F, Halliez S, Coskun T, Yalcinkaya C, Gerceker FO, et al. L-2-hydroxyglutaric aciduria: identification of a mutant gene C14orf160, localized on chromosome 14q22.1. *Hum Mol Genet*. 2004; 13(22):2803-11.
- Sass JO, Romrell JS, Vinson SY, Fernandez HH, Fischer J, Rodriguez RL, et al. Tracing the origin of L-2-hydroxyglutaric aciduria in a family. *Int J Neurosci*. 2009; 119:2118-23.
- Mazzei R, Ungaro C, Garreffa G, Conforti FL, Mollo A, Sprovieri T, et al. Clinical, genetic and magnetic resonance findings in an Italian patient affected by L-2-hydroxyglutaric aciduria. *Neurol Sci*. 2011; 32:95-9.
- Marcel C, Mallaret M, Lagha-Boukhiba O, Kremer S, Echaniz-Laguna A, Tranchant C. L-2-hydroxyglutaric aciduria diagnosed in a young adult with progressive cerebellar ataxia and facial dyskinesia. *Rev Neurol (Paris)*. 2012; 168(2):187-91.
- Duran M, Kamerling JP, Bakker HD, van Gennip AH, Wadman SK. L-2-hydroxy-glutaric aciduria: an inborn error of metabolism? *J Inherit Metab Dis*. 1980; 3:109-12.
- De Klerk LB, Huijman JG, Stroink H, Robben SG, Jakobs C, Duran M. L-2-Hydroxyglutaric aciduria: clinical heterogeneity versus biochemical homogeneity in a sibship. *Neuropediatrics*. 1997; 28:314-7.
- Steenweg ME, Salomons GS, Yapici Z, Uziel G, Scalais E, Zafeiriou DI, et al. L-2-hydroxyglutaric aciduria: pattern of MR imaging abnormalities in 56 patients. *Radiology*. 2009; 251(3):856-65.
- Seijo-Martinez M, Navarro C, Castro del Río M, Vila O, Puig M, Ribes A, et al. L-2-hydroxyglutaric aciduria. Clinical, neuroimaging and neuropathological findings. *Arch Neurol*. 2005; 62:666-70.
- Rogers RE, Deberardinis RJ, Klesse LJ, Boriack RL, Margraf LR, Rakheja D. Wilms tumor in a child with L-2-hydroxyglutaric aciduria. *Pediatr Dev Pathol*. 2010; 13(5):408-11.
- Moroni I, Bugiani M, D'Incerti L, Maccagnano C, Rimoldi M, Bissola L, et al. L-2-hydroxyglutaric aciduria and brain malignant tumors: a predisposing condition? *Neurology*. 2004; 62:1882-4.
- Patay Z, Mills JC, Löbel U, Lambert A, Sablauer A, Ellison DW. Cerebral neoplasms in L-2 hydroxyglutaric aciduria: 3 new cases and meta-analysis of literature data. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2012; 33(5):940-3.
- Karatas H, Saygi S, Bastan B. L-2-hydroxyglutaric aciduria. Report of four Turkish adult patients. *Neurologist*. 2010; 16:44-6.
- Topçu M, Aydın OF, Yalçinkaya C, Haliloğlu G, Aysun S, Anlar B, et al. L-2-hydroxyglutaric aciduria: a report of 29 patients. *Turk J Pediatr*. 2005; 47(1):1-7.
- Zafeiriou DI, Ververi A, Salomonset GS, Vargiami E, Haas D, Papadopoulou V, et al. L-2 Hydroxyglutaric aciduria presenting with severe autistic features. *Brain Dev*. 2008; 30(4):305-7.
- Zafeiriou DI, Sewellb A, Savvopoulou-Augoustidou P, Gombakisa N, Katzoset G. L-2-Hydroxyglutaric aciduria presenting as status epilepticus. *Brain Dev*. 2001; 23(4):255-7.
- Chen E, Nyhan WL, Jakobs C, Greco CM, Barkovich AJ, Cox VA, et al. L-2-Hydroxyglutaric aciduria: neuropathological correlations and first report of severe neurodegenerative disease and neonatal death. *J Inherit Metab Dis*. 1996; 19:335-43.
- Lee C, Born M, Salomons GS, Jakobs C, Woelfle J. Hemiconvulsion-hemiplegia-epilepsy syndrome as a presenting feature of L-2-hydroxyglutaric aciduria. *J Child Neurol*. 2006; 21:538-40.
- Mete A, Isikay S, Sirikci A, Ozkur A, Bayram M. Eyelid myoclonia with absence seizures in a child with L-2 hydroxyglutaric aciduria: findings of magnetic resonance imaging. *Ped Neurol*. 2012; 46:195-7.
- Larnaout A, Amouri R, Kefi M, Hentati F. L-2-hydroxyglutaric aciduria: clinical and molecular study in three Tunisian families. Identification of a new mutation and inter-familial phenotype variability. *J Inherit Metab Dis*. 2008; 31(Suppl 2):S375-9.
- Gygax MJ, Roulet-Perez E, Meagher-Villemure K, Jakobs C, Salomons GS, Boulat O, et al. Sudden unexpected death in an infant with L-2-hydroxyglutaric aciduria. *Eur J Pediatr*. 2009; 168:957-62.

L-2-хидроксиглутаричка ацидурија: приказ болесника

Небојша Ј. Јовић^{1,2}, Ана Косаћ¹, Катарина Копрившек³

¹Клиника за неурологију и психијатрију за децу и омладину, Београд, Србија;

²Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

³Дијагностички имидинг центар, Институт за онкологију Војводине, Сремска Каменица, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод L-2-хидроксиглутаричка ацидурија (L-2-ХГА) је аутозомно рецесивна метаболичка болест са споро прогресивним током, која се одликује повишеним нивоима хидроксиглутаричке киселине (L-2-ХГ) у мокраћи, цереброспиналној течности и плазми. Клиничка слика најчешће укључује менталну нарушеност, атаксију и моторне испаде.

Приказ болесника Шеснаестогодишња болесница рођена је као прво и једино дете здравих родитеља српског порекла и без крвног сродства. У узрасту од четири године њено ходање је постало нестабилно и атаксично. Други знаци захваћености малог мозга, дисметрија, атаксија трупа, интенциони тремор и дизартрија, запажени су врло брзо. Обим главе је био изнад две стандардне девијације (55 cm). Блага умна заосталост показана је формалном проценом интелигенције (IQ је био 60). Магнетна резонанција мозга показала је конфлуентна, супкортикална оштећења беле масе са централним ширењем и атрофију маломожданог вермиса

уз захваћеност дентатних једара, без оштећења дубоке беле масе. Лабораторијска испитивања показала су веома високе вредности L-2-ХГ у мокраћи и плазми. Енантомеричка анализа потврдила је Л-конфигурацију (>90% L-2-ХГ), чиме је постављена дијагноза L-2-ХГА. Први епилептички напад, жарни са секундарном генерализацијом, јавио се у осмој години. Постигнута је повољна контрола напада. Запажено је споро напредовање неуролошке нарушености. Терапијска орална примена коензима Q10 и рибофлавина није довела до биохемијских и клиничких ефеката. Ускоро је дијагноза потврђена налазом мутације L-2-ХГА гена.

Закључак Колико нам је познато, ово је први приказ болесника са L-2-ХГА у Србији. У складу с клиничком сликом и магнетнорезонантним снимком мозга, L-2-ХГА треба да се уврсти у диференцијалну дијагностику неурометаболичких болести.

Кључне речи: хидроксиглутаричка ацидурија; епилепсија; оштећења беле масе; атаксија

Примљен • Received: 23/05/2013

Прихваћен • Accepted: 02/08/2013

Thrombolysis of Occluded Femoropopliteal Graft with Locally Delivered Human Plasmin

Dragoslav Nenezić^{1,2}, Djordje Radak^{1,2}, Dario Jocić^{1,2}, Predrag Gajin^{1,2}, Slobodan Tanasković^{1,2}, Aleksandra Novaković³, Predrag Matić^{1,2}

¹Cardiovascular Institute "Dedinje", Belgrade, Serbia;

²School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

³Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Acute lower limb ischemia results from thrombosis or embolization of diseased native artery or previously implanted bypass graft. When this occurs, several options are available to restore blood flow: catheter-directed thrombolysis, mechanical thrombectomy or open surgery. Fundamental reasons to apply percutaneous interventions are avoiding open procedures in high risk patients, and avoiding difficult dissection through scar tissue.

Case Outline A 67-year-old male was admitted at our Institution for critical limb ischemia. After performed angiography the diagnosis of occluded femoropopliteal graft was established. Occlusion was resolved by catheter-directed thrombolysis with plasmin. Culprit lesions were treated by angioplasty.

Conclusion Our patient underwent a successful thrombolysis of occluded femoropopliteal graft with locally-delivered human plasmin.

Keywords: percutaneous intervention; catheter-directed thrombolysis; human plasmin; femoropopliteal bypass

INTRODUCTION

Peripheral artery occlusive disease is common and potentially serious problem. It is usually caused by atherosclerotic plaques which cause reduction of blood flow in lower extremities. It affects approximately 20% of adults older than 55 years, and increases significantly with age rising to 25%, among those over 80 years of age [1, 2].

Acute lower limb ischemia results from thrombosis or embolization of diseased native artery or previously implanted bypass graft. When such event occurs several options are available to restore blood flow: catheter-directed thrombolysis, mechanical thrombectomy or open surgery which is associated with higher morbidity and mortality compared with the first two methods of revascularization [3, 4].

Fundamental reasons to apply percutaneous interventions thus are avoiding open surgical procedures in high risk patients, and avoiding difficult dissection through scar tissue.

CASE REPORT

A 67-year-old male was admitted to our hospital due to critical limb ischemia. The patient was experiencing rest pain in the right foot with a sudden onset three days earlier. Past medical history included hypertension, dyslipidemia and heavy smoking. Three years prior to this hospitalization the patient underwent transluminal angioplasty and stenting of left iliac artery and redo right femoropopliteal above knee

bypass with a Dacron graft. Clinical examination revealed absent pulses distal from the right groin. Ankle-brachial index on admission on the right leg was 0. CT angiography (Figure 1) and color duplex scan confirmed occlusion of femoropopliteal bypass, and significant stenosis of right iliac artery. The popliteal artery was patent as were all three crural vessels.

After preparation, the patient was transferred to the Radiology Department. After puncturing contralateral common femoral artery, a guidewire was inserted and a six French sheath was placed. Heparin (10000 IU) was given intravenously. The stenotic right iliac artery was resolved by balloon angioplasty. A guidewire was advanced into the occluded femoropopliteal graft. A multi-side-hole infusion catheter (Angiodynamics Unifuse catheter, USA) was positioned into the thrombosed graft. Plasmin (Talecris Biotherapeutics, USA) infusion was started initially with pulse spray (1 ml per min, for 30 ml), for the initiation of thrombolysis, and continued for four and half hours of 45 ml of solution. Total dose of 150 mg (75 ml) of plasmin was administered. Follow-up angiography was performed after 2 hours and at the end of the treatment after 5 hours. Final angiography (Figure 2) revealed resolution of all intraluminal filling defects, and critical stenosis at the level of proximal and distal anastomosis of femoropopliteal bypass.

Former was resolved with stenting and latter by balloon angioplasty. There was no evidence of distal embolization. Double antiplatelet therapy, with aspirin and clopidogrel, was continued after intervention.

Correspondence to:

Predrag MATIĆ
Institut za kardiovaskularne
bolesti „Dedinje“
Heroja Milana Tepića 1
11000 Beograd
Srbija
pmpmatic@gmail.com



Figure 1. CT angiography before thrombolysis: a) anterior view on CT angiography – arrows showing stent in left common iliac artery; stenosis of right iliac artery; occluded femoropopliteal graft and heavily calcified and occluded native right superficial femoral artery; b) posterior view on CT angiography – arrow showing occluded femoropopliteal graft and heavily calcified and occluded native right superficial femoral artery.



Figure 2. Arrow showing patent femoropopliteal graft after thrombolysis

Seven days later the patient was discharged with a patent graft and ankle-brachial index 1.0. One year follow-up showed full patency of femoropopliteal graft on CT angiography with patient leading normal life (Figure 3).

DISCUSSION

In past, several clinical studies have been conducted comparing the effects of locally delivered plasminogen activators (PA) with open surgery in the treatment of acute lower limb ischemia [5-8].

The Rochester trial [5] compared catheter-directed urokinase infusion with surgery for acute limb ischemia. During one year follow-up no difference was found in limb salvage between groups and mortality was significantly reduced with the urokinase group of patients. Bleeding complications were increased in the urokinase group compared to surgery.

The STILE trial (Surgery versus Thrombolysis for Ischemia of the Lower Extremity) [6] randomized patients to surgery or catheter-directed thrombolysis with

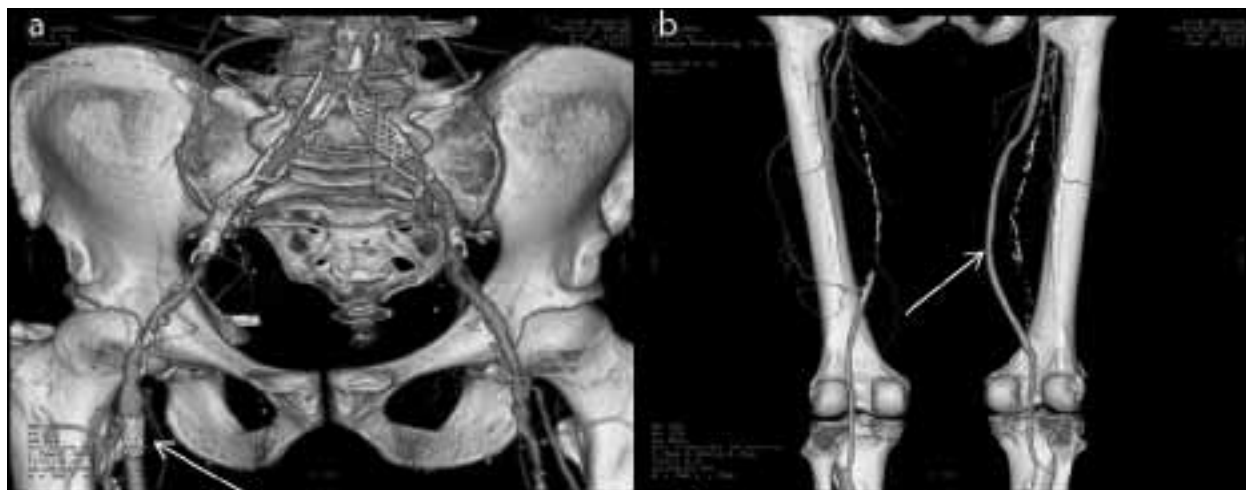


Figure 3. CT angiography after thrombolysis: a) anterior view on CT angiography – arrow showing stent in proximal anastomosis of patent femoropopliteal graft; b) posterior view on CT angiography – arrow showing patent femoropopliteal graft.

urokinase or recombinant tissue plasminogen activator, but it differed in that patients had acute (<14) and chronic (>14) limb ischemia. Intracranial hemorrhage occurred in 1.6% of patients, which is similar to the rate recorded in the TOPAS trial. A large benefit (fewer amputations, increase in amputation-free survival) was achieved for our patients with acute ischemia who were randomized to thrombolysis. However, the patients with chronic ischemia who were randomized to surgery experienced fewer amputations and improved amputation-free survival. These results were maintained at 1-year follow-up.

The TOPAS (Thrombolysis or Peripheral Arterial Surgery) [7, 8] trial randomized patients to recombinant urokinase or surgery, but found no difference in amputation rate (15% vs. 13%) or in amputation-free survival at six months and one year respectively (20% vs. 17%). Bleeding complications, however, were significantly increased in patients randomized to urokinase therapy.

Results from randomized clinical trials suggest that thrombolytic therapy is superior to surgery for treatment of acute (less than 14 days) occlusions regarding bypass graft occlusions and long occlusions without adequate run-off vessel suitable for surgical bypass. However, open surgery should be recommended for subacute or chronic occlusions and in native arteries occlusions [9].

Currently held opinions on the role of catheter-based thrombolysis therapy in the patients with acute leg ischemia, can be considered as complementary with surgical or percutaneous revascularization with an acceptably low complication rate [10, 11].

The goal of catheter-directed intra-arterial thrombolysis is to eliminate occluding thrombus and restore native artery or bypass graft patency. In that way the underlying lesion is revealed and could be treated by angioplasty thus avoiding open surgery and reducing morbidity and mortality [12].

It has been shown that systemic infusion of plasminogen activators is ineffective when compared to catheter-directed intra-thrombus infusion [13, 14]. Catheter-directed thrombolysis provides maximal delivery of agent to a thrombus, thus improving the degree of thrombolysis [15, 16].

The fibrinolytic system is based upon conversion of an inactive pro-enzyme plasminogen, to active form plasmin by plasmin activators. Physiologic dissolution of thrombus occurs by plasmin action on fibrin [17]. Free plasmin is inactivated rapidly by plasma alpha-2-antiplasmin, a naturally occurring protease inhibitor. This results in both a decrease in plasmin production and a decrease in the dissolution of fibrin clots [18]. But when bound to a thrombus, plasmin is protected from inhibition [19], thereby allowing an effective thrombolysis.

The limitations of plasminogen activators (PA) usage is that they are released systemically even when delivered

locally by catheter. This increases a bleeding risk because fibrinolysis is activated at sites of remote vascular injury or malformation [20]. The most severe hemorrhagic complication of catheter-delivered PA is intracranial hemorrhage, occurring in 1-2.8% of patients [21, 22, 23] and higher, correlated with poor hypertensive control [24].

Different studies have suggested that the use of urokinase may be associated with a lower incidence of hemorrhagic complications compared to recombinant tissue plasminogen activator (rtPA) [9].

However, in 2010 Cochrane systematic review stated that the incidence of bleeding complications was not statistically significantly greater with rtPA than with other regimes [20].

The other drawback of PA use is that they need plasminogen in order to express action. Since thrombus-associated plasminogen may be present in limited supply [25], it can result in suboptimal lysis of retracted thrombi and incomplete reperfusion of occluded vessels.

On the contrary, human plasmin biochemistry is favorable because it is rapidly and irreversibly inhibited by alpha-2-antiplasmin and it is a direct-acting fibrinolytic [25, 26] not requiring plasminogen to achieve fibrinolysis. The physiologic relevance of these attributes of plasmin is supported by animal studies [26]. Experimental data indicate that we should recognize plasmin as viable, even preferable thrombolytic agent. The most recent pre-clinical studies and reports confirm that plasmin has marked hemostatic safety advantage over t-PA, and superior-thrombolytic efficiency, when delivered by catheter to occluded arteries [27-31].

After more than 50 years, the field has come full circle, and plasmin as the thrombolytic agent and catheter use for local delivery of agent may represent a step forward in thrombolytic therapy compared to PA [32].

Marder [33] proposed that locally-delivered plasmin could also have a significant role in the treatment of deep vein thrombosis due to its safety and efficacy compared to PA.

First-in-human experiences with locally administered plasmin were gained by Shlansky-Goldberg et al. [27, 34] in the study where thrombosed synthetic hemodialysis access grafts were treated for occlusion. The overall conclusion of this Phase I study was that human plasmin was safe and well tolerated in the hemodialysis graft occlusion subject population, and showed a dose response thrombolytic trend.

Our patient was a part of Phase I PRIORITY (Plasmin Revascularization for the Ischemic Lower Extremity) study - the first human dose-escalation trial of plasmin in patients with acute limb ischemia. Although successful in our case, we should wait end of the study to obtain more valid conclusions.

REFERENCES

- Hankey GJ, Norman PE, Eikelboom JW. Medical treatment of peripheral arterial disease. *JAMA*. 2006; 295(5):547-53.
- Ng EL, Weiland TJ, Jelinek GA, Hadgkiss E, Wilson A. Prevalence of and risk factors for peripheral arterial disease in older adults in an Australian emergency department. *Vascular*. 2014; 22(1):1-12.
- Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG, et al. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2007; 33(Suppl 1):S1-75.
- Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG, et al. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease. *Int Angiol*. 2007; 26(2):81-157.
- Ouriel K, Shortell CK, DeWeese JA, Green RM, Francis CW, Azodo MVU, et al. A comparison of thrombolytic therapy with operative revascularization in the initial treatment of acute peripheral artery ischemia. *J Vasc Surg*. 1994; 19:1021-30.
- The STILE Investigators. Results of a prospective randomized trial evaluating surgery versus thrombolysis for ischemia of the lower extremity. The STILE trial. *Ann Surg*. 1994; 220:251-66.
- Ouriel K, Veith FJ, Sasahara AA. Thrombolysis or Peripheral Arterial Surgery: phase I results. TOPAS investigators. *J Vasc Surg*. 1996; 23:64-75.
- Ouriel K, Veith FJ, Sasahara AA. A comparison of recombinant urokinase with vascular surgery as initial treatment for acute arterial occlusion of the legs. Thrombolysis or Peripheral Arterial Surgery (TOPAS) Investigators. *N Engl J Med*. 1998; 338:1105-11.
- Karnabatidis D, Spiliopoulos S, Tsetis D, Siablis D. Quality improvement guidelines for percutaneous catheter-directed intra-arterial thrombolysis and mechanical thrombectomy for acute lower-limb ischemia. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2011; 34:1123-36.
- Camerota AJ, Gravett MH. Do randomized trials of thrombolysis versus open revascularization still apply to current management: what has changed? *Semin Vasc Surg*. 2009; 22(1):41-6.
- Van den Berg JC. Thrombolysis for acute arterial occlusion. *J Vasc Surg*. 2010; 52(2):512-15.
- Kashyap SV, Gilani R, Bena FJ, Bannazadeh M, Sarac PT. Endovascular therapy for acute limb ischemia. *J Vasc Surg*. 2011; 53:340-46.
- Simpson D, Siddiqui MA, Scott LJ, Hilleman DE. Spotlight on reteplase in thrombotic occlusive disorders. *BioDrugs*. 2007; 21(1):65-8.
- Lippi G, Mattiuzzi C, Favaloro EJ. Novel and emerging therapies: thrombus-targeted fibrinolysis. *Semin Thromb Hemost*. 2013; 39(1):48-58.
- Limtungturakul S, Wongprapuarut N, Pornratanarangsri S, Tresukosol D, Ruansetakit C, Mutirangura P, et al. Early experience of catheter directed thrombolysis for acute limb ischemia of native vessels and bypass graft thrombosis in Thai patients. *J Med Assoc Thai*. 2011; 94(Suppl 1):S11-8.
- Wicky S, Pinto EG, Oklu R. Catheter-directed thrombolysis of arterial thrombosis. *Semin Thromb Hemost*. 2013; 39(4):441-5.
- Novoklatny V. Structure and activity of plasmin and other direct thrombolytic agents. *Thromb Res*. 2008; 122(Suppl 3):S3-8.
- Fortenberry YM. Plasminogen activator inhibitor-1 inhibitors: a patient review (2006-present). *Expert Opin Ther Pat*. 2013; 23(7):801-15.
- Wiman B, Lijnen HR, Collen D. On the specific interaction between the lysine-binding sites in plasmin and complementary sites in alpha 2-antiplasmin and in fibrinogen. *Biochim Biophys Acta*. 1979; 579:142-54.
- Robertson I Kessel DO, Berridge DC. Fibrinolytic agents for peripheral arterial occlusion. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010; (3):CD001099.
- Marder VJ, Stewart D. Towards safer thrombolytic therapy. *Sem Hematol*. 2002; 39:206-16.
- Quriel K, Kandarpa K. Safety of thrombolytic therapy with urokinase of recombinant Tissue plasminogen activator for peripheral arterial occlusion. *J Endovasc Ther*. 2004; 11:436-46.
- Lyden PS. Endovascular treatment of acute limb ischemia: Review of current plasminogen activators and mechanical thrombectomy devices. *Perspect Surg Endovasc Ther*. 2010; 22(4):219-22.
- Agle SC, McNally MM, Powell CS, Bogey WM, Parker FM, Stoner MC. The association of periprocedural hypertension and adverse outcomes in patients undergoing catheter-directed thrombolysis. *Ann Vasc Surg*. 2010; 24(5):609-14.
- Camerota AJ. Development of catheter-directed intrathrombus thrombolysis with plasmin for the treatment of acute lower extremity arterial occlusion. *Thromb Res*. 2008; 122(Suppl 3):S20-6.
- Marder VJ. Pre-clinical studies of plasmin: superior benefit-to-risk ratio of plasmin compared to tissue plasminogen activator. *Thromb Res*. 2008; 122(Suppl 3):S9-S15.
- Shlansky-Goldberg R. Phase 1 study of human plasma-derived plasmin (TAL-05-00018) in haemodialysis graft occlusion. *Thromb Res*. 2008; 122(Suppl 3):S16-9.
- Marder VJ, Jahan R, Gruber T, Goyal A, Arora V. Thrombolysis with plasmin: implications for stroke treatment. *Stroke*. 2010; 41(10 Suppl):S45-9.
- Marder VJ, Blinc A, Gruber T, Tratar G, Sabovic M, Starkman S, et al. Comparison of plasmin with recombinant tissue-type plasminogen activator in lysis of cerebral thromboemboli retrieved from patients with acute ischemic stroke. *Stroke*. 2011; 42(8):2222-8.
- Marder VJ, Comerota AJ, Shlansky-Goldberg RD, Davis JP, Deng C, Hanna K, et al. Safety of catheter-delivered plasmin in patients with acute lower extremity arterial or bypass graft occlusion: phase I results. *J Thromb Haemost*. 2012; 10(6):985-91.
- Yerhamme P, Heye S, Peerlinck K, Cahillane G, Tangelder M, Fourneau I, et al. Catheter-directed thrombolysis with microplasmin for acute peripheral arterial occlusion (PAO): an exploratory study. *Int Angiol*. 2012; 31(3):289-96.
- Marder VJ. Historical perspective and future direction of thrombolysis research: the re-discovery of plasmin. *J Thromb Haemost*. 2011; 9(1):364-73.
- Marder VJ. Thrombolytic therapy for deep vein thrombosis: potential application of plasmin. *Thromb Res*. 2009; 123(Suppl 4):S56-61.
- Shlansky-Goldberg R, Matsumoto AH, Baumbach GA, Siegel JB, Raabe RD, Murphy TP, et al. A first-in-human phase I trial of locally-delivered human plasmin for hemodialysis graft occlusion. *J Thromb Haemost*. 2008; 6(6):944-50.

Тромболиза оклудираниог феморопоплитеалног графта локално примењеним хуманим плазмином

Драгослав Ненезић^{1,2}, Ђорђе Радак^{1,2}, Дарио Јоцић^{1,2}, Предраг Гајин^{1,2}, Слободан Танасковић^{1,2},
Александра Новаковић³, Предраг Матић^{1,2}

¹Институт за кардиоваскуларне болести „Дедиње“, Београд, Србија;

²Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

³Фармацеутски факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Ишемија доњих екстремитета је последица тромбозе или емболизације оболеле нативне артерије или имплантираног графта. Постоји неколико начина лечења ишемије: тромболиза катетером, механичка тромбектомија и хируршко лечење. Основни разлози за примену перкутаних интервенција јесте избегавање класичног хируршког лечења код болесника с високим ризиком, као и избегавање препарисања крвног суда у оžilјуку.

Приказ болесника Мушкарац стар 67 година примљен је

у болницу због критичне ишемије доњих екстремитета. По учињеној ангиографији дијагностикована је тромбоза феморопоплитеалног графта. Оклузија је решена применом плазмина уз употребу интраартеријског катетера. Стенозе које су откривене после тромболизе лечене су ангиопластиком.

Закључак Тромболизом уз примену плазмина и интраартеријског катетера успешно је излечена оклузија феморопоплитеалног графта.

Кључне речи: перкутане интервенције; тромболиза катетером; хумани плазмин; феморопоплитеални графт

Примљен • Received: 29/05/2013

Прихваћен • Accepted: 07/10/2013

Reconstruction of Full Thickness Abdominal Wall Defect Following Tumor Resection: A Case Report

Predrag Kovačević^{1,2}, Asen V. Veličkov¹, Danilo Stojiljković^{1,2}, Aleksandra I. Veličkov¹, Zoran Čeranić³

¹Medical Faculty, University of Niš, Niš, Serbia;

²Clinic of Plastic and Reconstructive Surgery, Clinical Center, Niš, Serbia;

³General Hospital, Leskovac, Serbia

SUMMARY

Introduction Reconstruction of a full thickness abdominal wall defect is a demanding procedure for general and also for plastic surgeons, requiring vigorous planning and reconstruction of three layers.

Case Outline We present a case of a 70-year-old patient with a huge abdominal wall tumor with 40 years evolution. Surgery was performed under general anesthesia. Full thickness abdominal defect appeared after the tumor resection. Reconstruction followed in the same act. The defect was reconstructed using a combination of techniques, including omental flap, fascia lata graft, local skin flaps and skin grafts. After surgery no major complications were noted, only a partial skin flap loss, which was repaired using partial thickness skin grafts. The final result was described by the patient as very good, without hernia formation.

Conclusion Omentoplasty, abdominal wall reconstruction in combination with free fascia lata graft and skin grafts can be one of good options for the reconstruction of full thickness abdominal wall defects.

Keywords: abdominal wall reconstruction; abdominal wall resection; skin cancer

INTRODUCTION

The reconstruction of full thickness abdominal defect is of great significance for patient recovery. Because of the complex and unique musculofascial system it is not easy to maintain the functional integrity of the anterior abdominal wall after resection. The integrity can be compromised by previous surgery, tumor resection or trauma. Vigorous planning is demanded depending on the etiology, location, size and extent of the defect. Besides the structural integrity the esthetic appearance is nowadays also a significant issue both for the patients and for the surgeon [1]. A variety of reconstructive options are available, such as skin grafts, free fascia grafts, component separation technique, tissue expansion, regional flaps, free flaps, synthetic/biologic mesh repair, pedicled omental flap and split skin graft [2]. Although there are several options for reconstruction, each of them is potentially followed by complications. We present a case of full thickness abdominal wall defect reconstruction following tumor resection using a combination of techniques.

CASE REPORT

A 70-year-old patient was admitted to our Clinic for elective surgery of a giant mixed basal/squamous cell carcinoma of the abdominal wall. The tumor appeared 40 years ago and it was not previously treated. It presented as exulcerated tumor 17×15 cm, infiltrating abdominal wall, bleeding when touched and smelly (Figure 1). Surrounding skin was hyperemic. On CT scan the infiltration deep to the peri-

toneum was found. After the diagnostic procedures, surgery under general anesthesia was performed. The tumor was excised, according to the oncological rule for 2 cm healthy margin, en bloc removing the surrounding skin and underlying the rectus abdominis muscles, lateral muscles of anterior abdominal wall, deep fascia and parietal peritoneum (Figure 2). The involvement of intra-abdominal organs was not detected. Following the excision, a pedicled great omental flap was raised to reconstruct the parietal peritoneum (Figure 3). Next, a fascia lata graft was harvested from the left thigh and sutured to the superficial abdominal fascia in order to obtain abdominal wall integrity (Figure 4). To reconstruct the overlying skin defect, local flaps matching the defect were raised and placed. The residual defect was skin-grafted (Figure 5). After several days partial skin flap necrosis was found and the defect was covered using partial thickness skin grafts. Postoperatively, after two months the entire wound healed. We did not register any complications with bowel motility during the follow-up. The patient used a hernia belt support for six months, and according to the general surgical rule physical therapy during that period was contraindicated. Six months after the surgery, the integrity of the abdominal wall and overall cosmetic appearance were rated by the patient as very good (Figure 6).

DISCUSSION

Reconstruction of the abdominal wall following tumor resection is a very demanding procedure. The treatment of abdominal wall tumors

Correspondence to:

Asen V. VELIČKOV
Rentgenova 1/11 Street
18000 Niš
Serbia
asen-amm@medfak.ni.ac.rs



Figure 1. Skin cancer infiltrating abdominal wall

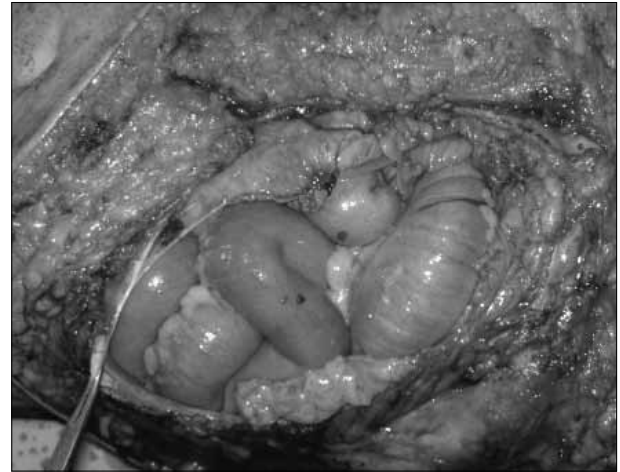


Figure 2. Operative defect after the abdominal wall resection



Figure 3. Omental flap placed in defect



Figure 4. Fascia lata graft sutured in fascial defect



Figure 5. Appearance after skin reconstruction with skin flaps and grafts



Figure 6. Definitive result on 6-month follow-up

still presents a challenging problem for general and also plastic surgeons. Giant abdominal wall defects can appear after extensive tumor resection. Our case presented with a locally advanced skin cancer which invaded the full thickness of the abdominal wall. The goals of abdominal wall reconstruction are to restore the structural support and optimize the esthetic appearance of the patient. Decisions regarding technique for abdominal wall reconstruction are

based on an assessment of the defect by location, extent, and etiology [2]. Available reconstruction options include direct repair, skin grafts, free fascial grafts, component separation, tissue expansion, regional flaps, free flaps and prosthetic mesh repair [2, 3]. Although there are a lot of techniques for reconstruction described in the literature, there are still extensive disagreements among surgeons regarding which one could be most suitable.

Direct repair of the defect is possible only when defects are smaller than 5 cm in diameter with adequate soft tissue coverage, sufficient fascia present to allow a tension-free closure [2]. Mesh repair followed by soft tissue coverage is also described. Compared to the direct repair of the abdominal wall, defect mesh coverage showed superior results, including lower rates of postoperative hernia [2, 4]. The mesh repair is performed using either synthetic mesh or biological grafts, covered by skin. Synthetic mesh repair predisposes the patient to several post implantation complications, such as wound infection, mesh infections, bowel adhesions, and other complications frequently requiring surgical revision and the rate of those complications could be lowered by using biologic grafts [4-9]. When stable skin coverage is present intraperitoneal mesh placement is recommended. Without cutaneous coverage abdominal wall reconstruction generally requires the use of flap [2].

Skin grafts directly applied to the omentum or small bowel surface provide no structural support, which results in hernia and should never be used in that way [3, 10]. Other techniques as components separation technique (CST) are also usable in cases with excess skin on the abdominal wall. The CST is the method of choice in the absence of both rectus muscles [11, 12]. Also, CST is followed by a relatively high rate of wound complications (12-67%) including hematoma, seroma, skin necrosis, and infection, compared to 12-27% in mesh repair [13, 14]. Previously described techniques, including mesh repair but excluding CST, are not indicated for the repair of this type of abdominal wall defects. For large full thickness abdominal wall defects only usage of CST or pedicled/free myocutaneous flaps provides well-vascularised tissue coverage.

There are proposals for the division of the abdomen into various zones with appropriate local myocutaneous flaps for the reconstruction of defects. Lateral and upper

abdominal defects may be reconstructed with a latissimus dorsi myocutaneous flap, and lower defects with a tensor fascia lata myocutaneous flap [2, 10]. Using those techniques various rates of complications were reported from 8.5% [2] to 44% [15]. Nevertheless, harvesting of potentially useful pedicled tensor fascia lata flap in our case was not useful due to the distance to the defect and the extent of the defect. Free flaps generally would be a good choice, but surgery lasts longer, and flap survival is uncertain.

We find that the method used in our case is the simplest and also the most cost effective procedure. It is known that a pedicled great omentum flap is not too difficult to use; in most cases it can reach defects over all quadrants of the abdominal wall. It consists of abundant blood vessels, fat, and lymphatic tissue, which makes it unique in terms of immunologic and angiogenic properties. It can be, therefore, used in infected or/and fields with poor circulation [16, 17]. The fascia lata graft is also a good solution for restoring the abdominal wall integrity. Firstly, it is an autograft material; in comparison to a synthetic mesh it shows a lower level of complications such as infection of the graft, its degradation or possible local or systemic rejection reaction [5-8]. The use of autologous materials, including the fascia lata graft, can be associated with increased pain, risk of hernia formation at the harvesting site and increased operative time [18]. Since the abdominal wall integrity was obtained using two autologous materials (fascia lata graft sutured to the superficial abdominal fascia) a large overlap of these structures was not required because of the type of suture healing. After the abdominal wall integrity was obtained, the skin defect was covered using local skin flaps, while the residual defects were covered using split skin grafts.

Our experience showed that autologous materials, such as pedicled omental flap, fascia lata graft and local skin flaps can be safely used in repair of large, full thickness and probably contaminated abdominal wall defects.

REFERENCES

- Dorai AA, Halim AS. Extended double pedicle free tensor fascia latae myocutaneous flap for abdominal wall reconstruction. *Singapore Med J*. 2007; 48(5):e141-5.
- Mathes SJ, Steinwald PM, Foster RD, Hoffman WY, Anthony JP. Complex abdominal wall reconstruction: a comparison of flap and mesh closure. *Ann Surg*. 2000; 232(4):586-96.
- Hultman CS, Pratt B, Cairns BA, McPhail L, Rutherford EJ, Rich PB, et al. Multidisciplinary approach to abdominal wall reconstruction after decompressive laparotomy for abdominal compartment syndrome. *Ann Plast Surg*. 2005; 54(3):269-75.
- Burger JW, Luijendijk RW, Hop WC, Halm JA, Verdaasdonk EG, Jeekel J. Long-term follow-up of a randomized controlled trial of suture versus mesh repair of incisional hernia. *Ann Surg*. 2004; 240(4):578-83.
- Shah BC, Tiwari MM, Goede MR, Eichler MJ, Hollins RR, McBride CL, et al. Not all biologics are equal! *Hernia*. 2011; 15(2):165-71.
- Harth KC, Broome AM, Jacobs MR, Blatnik JA, Zeinali F, Bajaksouzian S, et al. Bacterial clearance of biologic grafts used in hernia repair: an experimental study. *Surg Endosc*. 2011; 25(7):2224-9.
- Tang R, Gu Y, Gong DQ, Qian YL. Immediate repair of major abdominal wall defect after extensive tumor excision in patients with abdominal wall neoplasm: a retrospective review of 27 cases [corrected]. *Ann Surg Oncol*. 2009; 16(10):2895-907.
- Ghazi B, Deigni O, Yezhelyev M, Losken A. Current options in the management of complex abdominal wall defects. *Ann Plast Surg*. 2011; 66(5):488-92.
- Falagas ME, Kasiakou SK. Mesh-related infections after hernia repair surgery. *Clin Microbiol Infect*. 2005; 11(1):3-8.
- Sharma RK, Singh G, Naidu PM. Abdominal wall defects: anatomic classification and a scheme for management. *Ann Plast Surg*. 1998; 41(2):180-4.
- Ramirez OM, Ruas E, Dellon AL. "Components separation" method for closure of abdominal-wall defects: an anatomic and clinical study. *Plast Reconstr Surg*. 1990; 86:519-26.
- Kaemmer DA, Conze J, Otto J, Schumpelick V. New technical approach for the repair of an abdominal wall defect after a transverse rectus abdominis myocutaneous flap: a case report. *J Med Case Rep*. 2008; 2:108.
- de Vries Reilingh TS, van Goor H, Charbon JA, Rosman C, Hesselink EJ, van der Wilt GJ, et al. Repair of giant midline abdominal wall hernias: "components separation" technique versus prosthetic repair: interim analysis of a randomized controlled trial. *World J Surg*. 2007; 31:756-63.
- DiCocco JM, Magnotti LJ, Emmett KP, Zarzaur BL, Croce MA, Sharpe JP, et al. Long-term follow-up of abdominal wall reconstruction after planned ventral hernia: a 15-year experience. *J Am Coll Surg*. 2010; 210(5):686-95, 695-8.

15. Williams JK, Carlson GW, deChalain T, Howell R, Coleman JJ. Role of tensor fasciae latae in abdominal wall reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 1998; 101(3):713-8.
16. Bleichrodt RP, Malyar AW, de Vries Reilingh TS, Buyn O, Bonenkamp JJ, van Goor H. The omentum-polypropylene sandwich technique: an attractive method to repair large abdominal-wall defects in the presence of contamination or infection. *Hernia.* 2007; 11(1):71-4.
17. Liebermann-Meffert D. The greater omentum. *Anatomy, embryology, and surgical applications.* *Surg Clin North Am.* 2000; 80(1):275-93, xii.
18. Howden NS, Zyczynski HM, Moalli PA, Sagan ER, Meyn LA, Weber AM. Comparison of autologous rectus fascia and cadaveric fascia in pubovaginal sling continence outcomes. *Am J Obstet Gynecol.* 2006; 194:1444-9.

Реконструкција оштећења предњег трбушног зида пуне дебљине након ресекције тумора – приказ болесника

Предраг Ковачевић^{1,2}, Асен В. Величков¹, Данило Стојиљковић^{1,2}, Александра И. Величков¹, Зоран Ћеранић³

¹Медицински факултет, Универзитет у Нишу, Ниш, Србија;

²Клиника за пластичну и реконструктивну хирургију, Клинички центар, Ниш, Србија;

³Општа болница, Лесковац, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Реконструкција оштећења трбушног зида пуне дебљине је захтевна процедура, како за опште, тако и за пластичне хирурге, и захтева енергично планирање и реконструкцију три слоја.

Приказ болесника Код болесника старог 70 година дијагностикован је велики тумор трбушног зида с еволуцијом дугом 40 година. Болесник је оперисан у општој анестезији. Након ресекције тумора заостало је оштећење трбушног зида пуне дебљине. Реконструкција је урађена у истом акту. Оштећење је реконструисано применом комбинације техника, укључујући и режањ великог оментума, графт фа-

сције лате, локалне кожне режњеве и трансплантате коже. Након операције није било компликација, осим парцијалне некрозе режњева, која је лечена слободним кожним трансплантатима. Болесник је описао коначни резултат као врло добар. Није уочено стварање хернија.

Закључак Техника оментопластике, реконструкција трбушног зида оментопластиком у комбинацији са слободним графтом фасције лате и кожним графтом може бити добро решење за велика оштећења трбушног зида са губитком пуне дебљине ткива.

Кључне речи: реконструкција трбушног зида; ресекција трбушног зида; карцином коже

Примљен • Received: 04/03/2013

Прихваћен • Accepted: 22/05/2013

Гинеколошко-акушерске интервенције код жена са Бернар–Сулијеовим синдромом – приказ две болеснице

Мирјана Митровић¹, Иво Елезовић^{1,2}, Предраг Миљић^{1,2}, Дарко Антић^{1,2}

¹Клиника за хематологију, Клинички центар Србије, Београд, Србија;

²Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Бернар–Сулијеов (*Bernard–Soulier*) синдром (БСС) је редак наследни поремећај тромбоцита који се одликује поремећеном функцијом тромбоцита, тромбоцитопенијом с мегатромбоцитима, продуженим временом крварења и честим крварењима са значајним морбидитетом. Подаци о току трудноће и гинеколошким интервенцијама у БСС су ретки и не постоје опште терапијске препоруке.

Прикази болесника У раду су приказане две болеснице са БСС. Прва болесница, стара 29 година, јавила се на преглед у осмој недељи трудноће. Дијагноза БСС постављена је на основу продуженог времена крварења, тромбоцитопеније са мегатромбоцитима и изостанка агрегације тромбоцита на ристоцетин. Порођај је обављен у 38. недељи трудноће царским резом. За интервенцију, која је протекла без компликација, болесница је припремљена трансфузијом пулраних тромбоцита и антифибринолитиком. Постоперациони период је био компликован тронедељним вагиналним крварењем резистентним на трансфузије тромбоцита, антифибринолитике и утеротонике. Број тромбоцита новорођенчета био је нормалан. Друга болесница, стара 28 година, примљена је у болницу ради операције тумора јајника. Припрема за интервенцију је извршена применом трансфузије пулраних тромбоцита и антифибринолитика. Операција је протекла без компликација. Другог дана од операције дошло је до обилног крварења, које није престало ни након трансфузије тромбоцита. Крварење је заустављено применом рекомбинантног активираних фактора VII. Дванаест сати касније, током хипертензивне кризе, јавио се епилептични напад типа гранд мал узрокован субарахноидалним крварењем. Лечење је настављено трансфузијама тромбоцита и антидемагогном и антихипертензивном терапијом. Патохистолошки преглед ткива јајника открио је хеморагичне оваријалне цисте.

Закључак Гинеколошко-акушерске интервенције код жена са БСС могу бити компликоване крварењима која угрожавају живот и стога захтевају мултидисциплинарни приступ уз одговарајућу припрему. Због врло мало података о овоме у литератури, свакој болесници треба приступити понаособ.

Кључне речи: Бернар–Сулијеов синдром; крварење; гинекологија; акушерство

УВОД

Бернар–Сулијеов (*Bernard–Soulier*) синдром (БСС) је ретко аутозомно рецесивно наследно обољење с инциденцијом мањом од 1:1.000.000 [1, 2]. Болест је последица квалитативног или квантитативног поремећаја гликопротеинског (*Gp*) комплекса *Ib-IX-V* на ћелијској мембрани тромбоцита. Наведени комплекс се састоји од четири трансмембранске полипептидне субјединице – *Gp Iba*, *Gp Ibβ*, *Gp IX* и *Gp V*, које су кодиране различитим генима. Комплекс *Gp Ib-IX-V* игра важне улоге у функцији тромбоцита. Везивањем за Фон Вилебрандов (*von Willebrand*) фактор (*vWF*) омогућава адхезију тромбоцита за зид крвног суда на месту повреде. Такође, мења способност тромбина у малим концентрацијама да активира тромбоцит [1, 2]. Досад је описано више од 30 мутација које узрокују БСС [1].

Клиничком сликом БСС доминирају честе појаве крварења различитог интензитета. Најчешће су у питању блага крварења типа епистаксе, гингивалних и кутаних кр-

варења, али су могућа и крварења која угрожавају живот особе, после повреда или хируршких интервенција. Иако мушкарци и жене подједнако често оболевају, клиничка слика код жена је тежа услед појаве менометрорагија и постпарталних крварења [1, 2].

Основна лабораторијска одлика БСС је тромбоцитопенија с великим тромбоцитима у размазу крви (мегатромбоцити). Број тромбоцита је у опсегу од $<30 \times 10^9/l$ до нормалног [1, 2]. Време крварења је продужено више него што би се могло очекивати с обзиром на степен тромбоцитопеније. Изаостаје агрегација тромбоцита на ристоцетин. За разлику од Фон Вилебрандове болести, у којој се агрегација на ристоцетин коригује додавањем плазме здравог даваоца, тај ефекат изостаје у БСС [1, 2]. Имунофенотипизација тромбоцита на *GpIb-IX-V* јесте брз начин постављања дијагнозе болести [1, 2].

Пошто је болест изузетно ретка, препоруке за припрему и извођење гинеколошких и акушерских интервенција су засноване на појединачним саопштењима. У овоме раду биће приказане две болеснице са БСС које

Correspondence to:

Mirjana MITROVIĆ
Klinika za hematologiju
Klinički centar Srbije
Dr Koste Todorovića 2
11000 Beograd
Srbija
mmg@beotel.net

су подвргнуте гинеколошко-акушерским захватима. Ни у једном приказаном случају у породицама није било дијагностикованих чланова са БСС.

ПРИКАЗ ПРВЕ БОЛЕСНИЦЕ

Тромбоцитопенија благог степена је уочена у узрасту од две године при редовном контролном прегледу. Без допунских испитивања постављена је дијагноза имунолошке тромбоцитопеније (ИТП). У неколико наврата болесница је лечена кортикостероидима, али значајног терапијског ефекта није било. Током адолесценције јавиле су се менометрорагије. У 26. години, због анемије и тромбоцитопеније, први пут је упућена на болничко лечење у Клинику за хематологију Клиничког центра Србије. Иницијална крвна слика показала је микроцитну анемију (хемоглобин – Hb 70 g/l, MCV 60, ретикулоцити 11%) и тромбоцитопенију благог степена ($50 \times 10^9/l$) уз појаву циновских тромбоцита (2-6 μm). Време крварења према Дјуку (*Duke*) било је необично продужено у односу на степен тромбоцитопеније (дуже од 20 минута), те је предузето детаљно испитивање хемостазе. Сви тестови коагулације – фибриноген 3,3 g/l, протромбинско време (PT) 75%, активирано парцијално тромбопластинско време (aPTT) 29,3 s, vWF 82%, $FVIII$ 82%, FII 91%, FV 78% и $FVII$ 75% – били су нормални. С друге стране, адхезија тромбоцита (тест стакленим перлама) била је снижена на 13% (нормалне вредности 60–100%), док је агрегација тромбоцита на ристоцетин изостала. Наведени агрегациони поремећај није се кориговао при додавању плазме здравог даваоца. Агрегација тромбоцита на адреналин, колаген и аденозиндифосфат била је нормална. Испитивање века тромбоцита показало је нормалан животни век тромбоцита, уз мешовиту секвестрацију у јетри и слезини уз смањену производњу (30% оптималне). На основу наведених резултата постављена је дијагноза БСС.

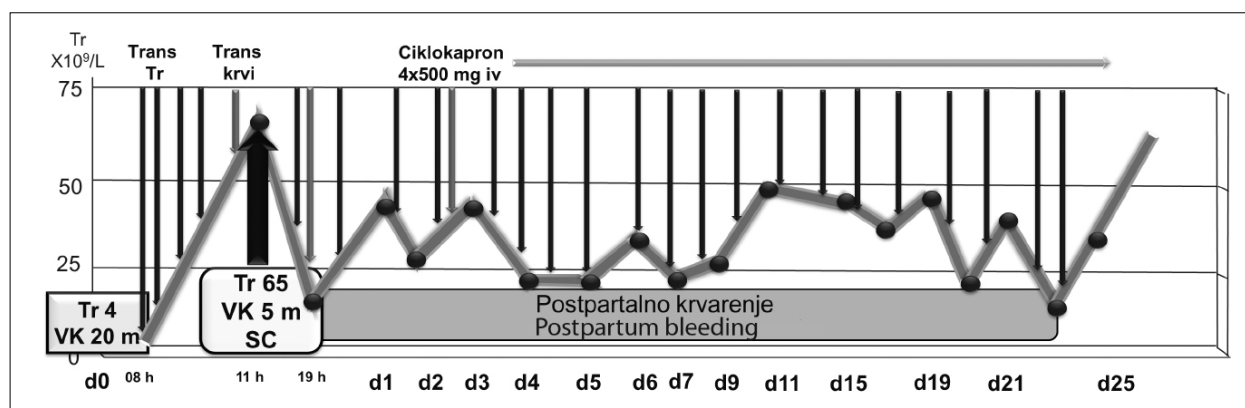
Две године касније болесница се јавља на контролном прегледу у 8. недељи трудноће. Током трудноће број тромбоцита је био у опсегу $5-34 \times 10^9/l$. Знакова хемо-

рагијског синдрома није било, те није примењивана хематолошка терапија. У 38. недељи трудноће одлучено је да се болесница породи елективним царским резом. На дан интервенције број тромбоцита је био $4 \times 10^9/l$, ниво хемоглобина 83 g/l, док је време крварења било дуже од 20 минута. Болесница је непосредно пред интервенцију припремљена трансфузијом четири пула тромбоцита и једном дозом деплазматисаних еритроцита (Слика 1). Наведеном супституцијом број тромбоцита је повећан на $65 \times 10^9/l$, а време крварење је скраћено на пет минута. Царски рез је извршен без компликација и рођена је девојчица Апгар скором 8.

У првим сатима после порођаја јавило се вагинално крварење. Наредне три недеље, упркос свакодневном примени трансфузија тромбоцита, утеротоника и антифибринолитика (циклокапрон *i.v.* 4×500 mg дневно), број тромбоцита је био мањи од $50 \times 10^9/l$, а крварење се одржавало (Слика 1). Двадесет петог дана од порођаја број тромбоцита се повећао, а крварење зауставило. Број тромбоцита новорођенчета током целокупног периода хоспитализације био је нормалан.

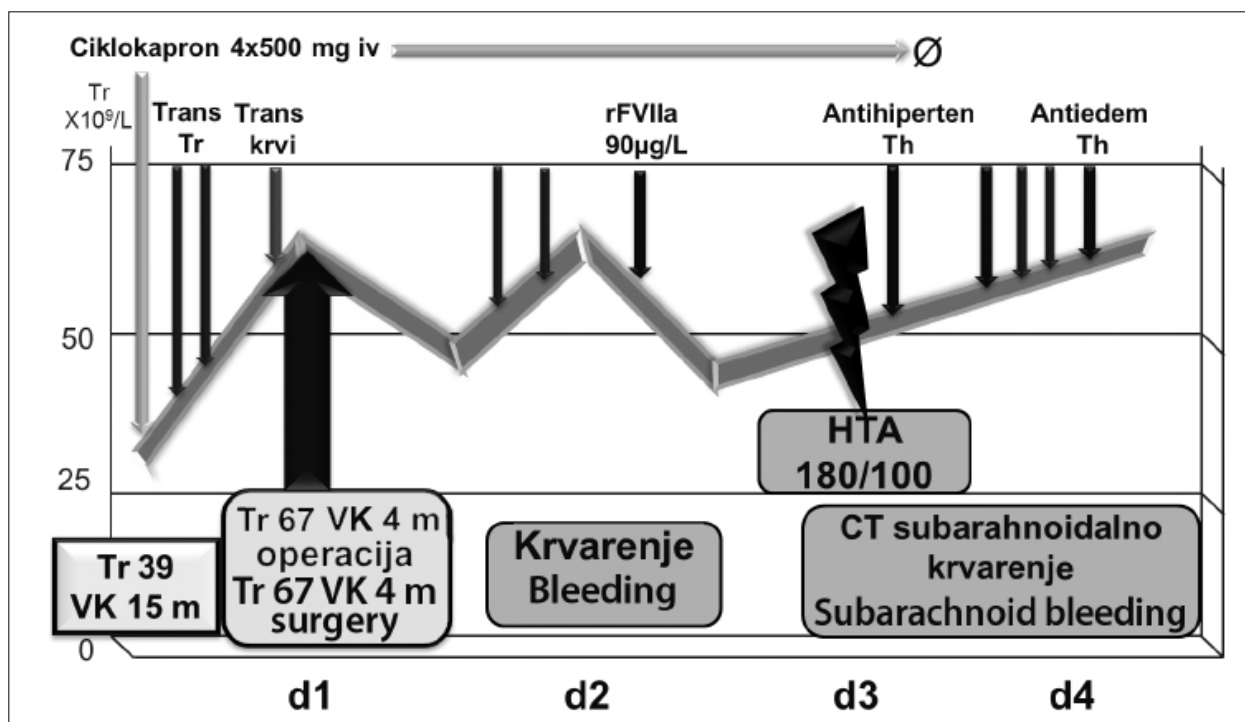
ПРИКАЗ ДРУГЕ БОЛЕСНИЦЕ

Тромбоцитопенија је уочена у узрасту од две године при редовном лекарском прегледу, али није даље испитивана. Током адолесценције болесница је имала обилне менометрорагије које су у једном циклусу довеле до развоја хеморагијског шока (Hb 15 g/l), због чега је примљена на болничко лечење у Клиници за хематологију Клиничког центра Србије. Предузета су испитивања описана у претходном случају: Hb 75 g/l, MCV 68, Tr $27 \times 10^9/l$, пречник 3–8 μm ; време крварења 10 минута; агрегација тромбоцита на ристоцетин је изостала без корекције при додавању плазме здравог даваоца; век тромбоцита је био нормалан (7,5 дана), са секвестрацијом у јетри и слезини и смањеном производњом (20% од оптималне), на основу којих је постављена дијагноза БСС. Болесница је лечена применом трансфузија тромбоцита.



Слика 1. Припрема за царски рез и постпартални ток код болеснице са Бернар-Сулијеовим синдромом
Figure 1. Preparation for Caesarean section and postoperative period in our patient with Bernard-Soulier syndrome

Tr – тромбоцити; *VK* – време крварења; *SC* – царски рез; *d* – дан; *Trans Tr* – трансфузија тромбоцита; *Trans krvi* – трансфузија деплазматисане крви
Tr – platelet; *VK* – bleeding time; *SC* – Caesarean section; *d* – day; *Trans Tr* – platelet transfusion; *Trans krvi* – red blood cells transfusion



Слика 2. Припрема за гинеколошку операцију и постоперациони ток код болеснице са Бернар–Сулијеовим синдромом и тумором јајника
Figure 2. Preparation for gynecological intervention and postoperatum period in our patient with Bernard–Soulier syndrome and ovarian tumor

Tr – тромбоцити; VK – време крварења; d – дан; Trans Tr – трансфузија тромбоцита; Trans krvi – трансфузија деплазматисане крви; HTA – артеријска хипертензија; rFVIIa – рекомбинантни активирани фактор VII; Antihiperten Th – антихипертензивна терапија; Antiedem Th – антиедематозна терапија

Tr – platelets; VK – bleeding time; SC – Cesarean section; Trans Tr – platelet transfusion; Trans krvi – red blood cells transfusion; HTA – arterial hypertension; rFVIIa – recombinant activated factor VII; Antihiperten Th – antihypertensive therapy; Antiedem Th – antiedema therapy

Три године по постављању дијагнозе, на основу ултразвучног и CT прегледа абдомена, утврђене су цистичне масе на оба јајника, због којих је била неопходна гинеколошка интервенција. На дан планиране операције број тромбоцита био је $39 \times 10^9/L$, Hb 86 g/l, а време крварења 15 минута. Болесница је непосредно пре операције припремљена трансфузијом два пула тромбоцита и једном дозом деплазматисаних еритроцита уз примену антифибринолитика (циклокапрон i.v. 4x500 mg дневно), а терапија је настављена и у постоперационом периоду. Наведеном супституцијом постигнут је број тромбоцита од $67 \times 10^9/L$, а време крварења скраћено на четири минута, те је извршена цистектомија. Операција и први постоперациони дан протекли су без компликација (Слика 2).

Другог дана од операције, при броју тромбоцита од $48 \times 10^9/L$, развило се обилно вагинално крварење, са снижењем нивоа Hb за 20 g/l. Примењена је трансфузија два пула концентрованих тромбоцита, али значајног клиничког ефекта није било. Крварење је заустављено применом дозе рекомбинантног активiranог фактора VIIa (rFVIIa, NovoSeven®, 90 µg/kg). Десет сати касније развила се хипертензивна криза (200/110 mm Hg) праћена епилептичним нападом типа гранд мал. Диференцијалнодијагностички посумњало се на интракранијално крварење или тромбозу због претходних трансфузија тромбоцита, антифибринолитичке терапије и давања rFVIIa. Обустављена је примена антифибринолитика и урађен је хитан CT ендокранијума, који је показао мањи субарахноидални хематом. По-

што неурохируршка интервенција није била индикована, лечење је настављено трансфузијама пулираних тромбоцита и антиедематозном и антихипертензивном терапијом (Слика 2). Наставак болничког лечења протекло је без компликација и уз потпуни опоравак болеснице 30. дана након операције. Патохистолошки преглед ткива добијеног интервенцијом показао је хеморагичне цисте, те је болесница пуштена кући с препоруком да прима хормонску контрацепцију.

ДИСКУСИЈА

Наследне тромбоцитопатије су ретка, хетерогена група обољења чија се дијагноза може поставити у високоспецијализованим хематолошким центрима на основу испитивања функције тромбоцита (адхезије, агрегације и секреције), имунофенотипизације, века тромбоцита и генетских анализа. Међутим, сумњу на урођену тромбоцитопатију најчешће поставља педијатар већ у раној дечјој доби [3, 4]. Често се, као и у приказаним случајевима, иницијално дијагностикује ИТП [3, 4, 5]. На урођену тромбоцитопенију требало би посумњати када се тромбоцитопенија дијагностикује у најранијем детињству, ако постоји позитивна породична анамнеза о тромбоцитопенији, несклад између броја тромбоцита и интензитета хеморагичког синдрома и резистенција на терапију [3, 4, 5]. Такође, на постојање БСС указују веће вредности параметра величине тромбоцита. Студија Нориса (Noris) и са-

радника [5] показала је да средњи пречник тромбоцита (MPD) већи од $3,3 \mu\text{m}$ диференцира БСС од ИТП са сензитивношћу од 89% и специфичношћу од 88%, док средњи волумен тромбоцита (MPV) већи од $12,4 \text{ fL}$ има сензитивност од 83% и специфичност од 89%. Комбинација MPD и MPV повећава сензитивност и специфичност на 97%, односно 89%.

Трудноћа и порођај код жена са БСС могу бити компликовани обилним крварењем које води хистеректомији, па и смртном исходу [6, 7]. Досад је у литератури описано 30 порођаја код 18 жена са БСС [6]. Антенаталне хеморагије компликовале су ток трудноће код 17% жена, док су се постпарталне хеморагије јавиле код 73% трудница, и то као: примарне (перипартално и током прва 24 постпартална сата) код 33%, секундарне (током првих шест постпарталних недеља) код 40% и комбиноване примарне и секундарне код 13% жена [6]. Питање начина порођаја и даље је предмет расправа у стручним круговима. Како није доказана већа сигурност царског реза за мајку и плод, начин порођаја треба ускладити искључиво са акушерским индикацијама [1, 6, 7]. Ипак, већина порођаја се заврши царским резом, пре свега због могућности планирања, боље припреме породице и изостанка потребе за евентуалним агресивним инструменталним порођајем вакуумом и форцепсом [6, 7]. Примена епидуралне анестезије контраиндикована је у свим конгениталним тромбоцитопатијама [1, 6, 7].

Припрема за вагинални порођај може се обавити применом трансфузија тромбоцита (4–6 доза концентрованих тромбоцита, односно 1–2 пула тромбоцита пре порођаја, а потом у зависности од интензитета крварења) уз примену антифибринолитика. Хемостатски сигурним се сматра број тромбоцита већи од $50 \times 10^9/\text{l}$ [1, 6, 7]. У литератури су описани случајеви превенције крварења током порођаја, као и заустављања крварења после неуспешне терапије трансфузијама тромбоцита применом $r\text{FVIIa}$ ($90 \mu\text{g/kg}$, на два сата, најчешће 3–4 дозе) [6, 7]. Међутим, искуства су још ограничена, а лек није регистрован за ову индикацију. Ако је царски рез изабрани начин порођаја, препоручују се трансфузије тромбоцита (4–6 доза концентрованих тромбоцита, односно 1–2 пула тромбоцита пре порођаја) уз примену антифибринолитика [1, 6, 7]. И у случају царског реза сигурним се сматра број тромбоцита већи од $50 \times 10^9/\text{l}$ [1, 6, 7].

Примена трансфузије тромбоцита као најефикаснијег начина лечења крварења код жена са БСС удружена је са могућношћу појаве антитела на *HLA* или *Gp* антигене тромбоцита која механизмом алосензибилизације смањују дејство наредних трансфузија [1, 6–9]. Крварења која угрожавају живот жене и условљавају хитну хистеректомију јављају се, по правилу, код жена с антитромбоцитним антителима. Стога се у случају присуства анти-*HLA* или анти-*Gp* антитела препоручује припрема порођаја истовременом применом $r\text{FVIIa}$ и трансфузија тромбоцита [6].

С друге стране, током трудноће антитромбоцитна IgG антитела проласком кроз плаценту могу узрокова-

вати неонаталну тромбоцитопенију, крварење и смрт плода [1, 6, 7]. У студији Пицидиса (*Peitsidis*) и сарадника [6] која је обухватила 30 новорођенчади 20% је било тромбоцитопенично, а 30% деце је умрло. Узрок свих тромбоцитопенија била је алосензибилизација. Ради смањења степена алосензибилизације, препоручује се ограничена примена трансфузија тромбоцита током живота, и то само при појави хеморагијског синдрома или примене $r\text{FVIIa}$, како у превенцији, тако и за збрињавање крварења. У складу с наведеним, иако је током трудноће наше прве болеснице долазило до смањења броја тромбоцита на мање од $10 \times 10^9/\text{l}$, није било хеморагијског синдрома, те болесница није подвргнута трансфузији. За порођај је припремљена трансфузијом две дозе пулраних тромбоцита. Као и код већине приказаних случајева у литератури, порођај је био компликован дуготрајном постпарталном хеморагијом. Број тромбоцита новорођенчета током целог постпарталног периода био је нормалан.

Имајући у виду мали број болесника са БСС, не постоје прецизни протоколи припреме за различите хируршке захвате [1, 6–9]. Иако се примена $r\text{FVIIa}$ показала веома ефикасном и сигурном код особа са Гланцмановим (*Glanzmann*) синдромом, искуства код болесника са БСС су веома ограничена [1, 10, 11, 12]. Стога је препорука да болеснике са БСС треба припремити трансфузијом тромбоцита непосредно пре операције (4–6 доза концентрованих тромбоцита, односно 1–2 пула, ако је могуће *HLA*-подударних тромбоцита) и наставити постоперационо по потреби [1, 6–9]. Хемостатски сигурним се сматра број тромбоцита $50\text{--}80 \times 10^9/\text{l}$ [1]. Антифибринолитике треба применити након операције [1, 6–9].

Према нашем сазнању, приказана трудница са БСС је први објављени случај код којег је урађена операција јајника у БСС. Припрема за интервенцију извршена је трансфузијом тромбоцита. И поред примене тромбоцита и антифибринолитика, јавило се обилно крварење. Перзистирање крварења упркос трансфузијама тромбоцита описано је у БСС, посебно код политрансфундованих болесника с развијеним антитромбоцитним антителима [6, 11]. Приказана болесница је током живота у неколико наврата подвргнута трансфузији како би се зауставила менорагија. Нажалост, анализа анти-*HLA* и анти-*Gp* антитела није нам била доступна. И у приказима у литератури, као и у овом случају, контрола крварења је остварена применом $r\text{FVIIa}$.

Приказани случајеви показују да гинеколошко-акушерске интервенције код жена са БСС могу бити удружене с крварењем опасним по живот. Стога су рана дијагноза, мултидисциплинарни приступ и одговарајућа припрема сваке интервенције изузетно значајни. Због ограничених искустава и непостојања чврстих препорука о збрињавању трудноће, порођаја, постпарталних компликација и припреме за гинеколошке интервенције, неопходан је индивидуални приступ свакој болесници у центрима с искуством у дијагностиковању и збрињавању тромбоцитопатија.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bolton-Maggs PHB, Chalmers EA, Collins PW, Harrison P, Kitchen S, Liesner RJ, et al. A review of inherited platelet disorders with guidelines for their management on behalf of the UKHCDO. *Br J Haematol.* 2006; 135:603-33.
2. Berndt MC, Andrews RK. Bernard-Soulier syndrome. *Haematologica.* 2011; 96(3):355-9.
3. Knöfler R, Streif W. Strategies in clinical and laboratory diagnosis of inherited platelet function disorders in children. *Transfus Med Hemother.* 2010; 37(5):231-5.
4. Glembotsky AC, Marta RF, Pecci AJ, De Rocco D, Gnan C, Espasandin YR, et al. International collaboration as a tool for diagnosis of patients with inherited thrombocytopenia in the setting of a developing country. *Thromb Haemost.* 2012; 10(8):1653-61.
5. Noris P, Klersy C, Zecca M, Arcaini L, Pecci A, Melazzini F, et al. Platelet size distinguishes between inherited macrothrombocytopenias and immune thrombocytopenia. *J Thromb Haemost.* 2009; 7(12):2131-6.
6. Peitsidis P, Datta T, Prafilis I, Otomewo O, Tuddenham EG, Kadir RA. Bernard Soulier syndrome in pregnancy: a systematic review. *Haemophilia.* 2010; 16:584-91.
7. Huq FY, Kadir RA. Management of pregnancy, labour and delivery in women with inherited bleeding disorders. *Haemophilia.* 2011; 17(1):20-30.
8. Seligsohn U. Treatment of inherited platelet disorders. *Haemophilia.* 2012; 18(4):161-5.
9. Alamelu J, Liesner R. Modern management of severe platelet function disorders. *Br J Haematol.* 2010; 149(6):813-23.
10. Tefre KL, Ingerslev J, Sorensen B. Clinical benefit of recombinant factor VIIa in management of bleeds and surgery in two brothers suffering from the Bernard-Soulier syndrome. *Haemophilia.* 2009; 15(1):281-4.
11. Ozelo MC, Svirin P, Larina L. Use of recombinant factor VIIa in the management of severe bleeding episodes in patients with Bernard-Soulier syndrome. *Ann Hematol.* 2005; 84(12):816-22.
12. Okita R, Hihara J, Konishi K. Successful perioperative management for a breast cancer patient with Bernard-Soulier syndrome. *Breast Cancer.* 2012; 19(1):88-92.

Obstetric and Gynecological Intervention in Women with Bernard–Soulier Syndrome: Report of Two Cases

Mirjana Mitrović¹, Ivo Elezović^{1,2}, Predrag Miljić^{1,2}, Darko Antić^{1,2}

¹Clinic of Hematology, Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia;

²School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Bernard–Soulier syndrome (BSS) is a rare inherited bleeding disorder characterized by giant platelets thrombocytopenia, prolonged bleeding time, frequent hemorrhages with considerable morbidity. Data on the outcome of pregnancy and gynecological intervention in BSS are rare and there are no general therapeutic recommendations.

Cases Outline We report two cases of BSS. In the first case a 29-year-old patient with BSS was admitted in 8 weeks of gestation. The diagnosis of BSS was made on the basis of prolonged bleeding time, giant-platelets thrombocytopenia, and absent ristocetin-induced platelet aggregation. In 38 week of gestation Cesarean section, with platelets transfusion preparation, was performed. Obstetric intervention passed without complication. Postoperative course was complicated with a three-week vaginal bleeding resistant to platelet transfusion. Neonate platelet count was normal. Our second case was a 28-year-old patient with BSS, hospitalized for ovarian tumor sur-

gery. The patient was prepared for the intervention with platelets transfusion. The surgery was uncomplicated, but on the second postoperative day a massive vaginal bleeding, resistant to the platelet transfusion, developed. Bleeding control was achieved with activated recombinant factor VII. Twelve hours the patient developed later hypertensive crisis with epileptic seizure due to subarachnoid hemorrhage. Therapy was continued with platelet transfusion, antihypertensive and antiedema drugs. PH examination of tumor tissue showed hemorrhagic ovarian cyst.

Conclusion Obstetric and gynecological intervention in women with BSS may be associated with a life-threatening bleeding thus requiring a multidisciplinary approach with adequate preparation. Because of the limited data in the literature, it is not possible to provide firm management recommendations and each case should be managed individually.

Keywords: Bernard–Soulier syndrome; hemorrhage; gynecology; obstetrics

Примљен • Received: 20/03/2013

Ревизија • Revision: 14/02/2014

Прихваћен • Accepted: 03/03/2014

Buschke–Löwenstein Tumor: Squamous Cell Carcinoma of the Anogenital Region

Ivan Turkalj¹, Dragana Djilas-Ivanović², Nedeljka Boškov³, Branislav Petrov⁴, Laszlo Štajer⁵, Tatjana Ivković-Kapic⁶

¹Centre of Radiology, Clinical Center of Vojvodina, Novi Sad, Serbia;

²Diagnostic Imaging Department, Oncology Institute of Vojvodina, Sremska Kamenica, Serbia;

³Oncology Department, General Hospital "Djordje Joanović", Zrenjanin, Serbia;

⁴Surgery Department, General Hospital "Djordje Joanović", Zrenjanin, Serbia;

⁵Pathology Department, General Hospital "Djordje Joanović", Zrenjanin, Serbia;

⁶Pathology Department, Oncology Institute of Vojvodina, Sremska Kamenica, Serbia

SUMMARY

Introduction Buschke–Löwenstein tumor (BLT), as a rare form of condylomata acuminatum, was firstly described by Buschke in 1886 as a "carcinoma-like condyloma acuminatum of the penis". BLT is generally considered to be a low-grade variant of squamous cell carcinoma of the anogenital region.

Case Outline We describe a case of BLT in a 56-year-old male patient who was referred to our institute due to a large defect in the gluteal region. The biopsy of the lesion was performed and the diagnosis of BLT was made on histopathological examination. Magnetic resonance imaging of the pelvis showed the extensive vegetant lesion that significantly infiltrated pelvic organs accompanied with an enlargement of para-iliac lymph nodes. Sygmoidostomy for fecal diversion was done and chemotherapy with 5-fluorouracil and cisplatin was initiated. Unfortunately, the patient's severe condition caused fatal outcome.

Conclusion Our case points out that BLT should be treated at the initial stage in order to prevent untreatable condition which happened in our patient. Therefore, early diagnostics and staging of the disease using modern technologies are crucial in order to treat patients effectively.

Keywords: MRI scan; rectum; carcinoma

INTRODUCTION

Condylomata acuminata (genital warts) caused by human papillomavirus (HPV) is a common sexually transmitted disease with an estimated prevalence of 1% of sexually active individuals [1]. There are numerous types of HPV and almost 30 are able to infect anogenital region. Considering their malignant potential, in more than 90% condylomata acuminata are benign lesions caused by low risk HPV genotypes – mostly HPV 6 and 11. Unfortunately, patients can be infected by various types of HPV, including oncogenic high risk types - HPV 16, 18, 31, 33, 35, 45 etc. High risk HPV genotypes are responsible for approximately 50% of squamous cell carcinomas of the anal and outer genital region [2].

Giant condyloma acuminatum or Buschke–Löwenstein tumor (BLT), as a rare form of condylomata acuminata, was firstly described by Buschke in 1886, and later by Buschke and Löwenstein in 1925 and 1933 as a "carcinoma-like condyloma acuminatum of the penis" [3]. However, until today there have been a lot of diagnostic and therapeutic controversies about this disease which will be discussed.

In this report, we describe a case of BLT that unfortunately led to fatal outcome.

CASE REPORT

A 56-year-old male patient was referred to our institute due to a large defect in the gluteal region (Figure 1). On admission, the patient was pale, slightly intoxicated and unable to sit. He denied any risk factors for human immunodeficiency virus (HIV) infection. Except anemia, other laboratory findings including cancer antigen (CA) 19-9 and carcinoembryonic antigen (CEA) were unremarkable. Abdominal ultrasound and chest X-ray examinations were also unremarkable. The biopsy of the lesion was performed and the diagnosis of BLT was made by histopathological examination (Figure 2).

Magnetic resonance (MR) imaging of the pelvis showed the extensive vegetant lesion that significantly infiltrated pelvic organs accompanied with an enlargement of parailiac lymph nodes (Figure 3).

Since the disease was unresectable, sygmoidostomy for fecal diversion was done and chemotherapy with 5-fluorouracil (5-FU) and cisplatin (CDDP) was initiated. Nonetheless, the treatment with 5FU/CDDP had to be ceased shortly after the application due to the aggravation of the patient's anemia. The patient was discharged in satisfactory condition with prescribed symptomatic therapy and frequent wound toilet. However, the patient was in extremely poor general condition and soon died.

Correspondence to:

Ivan TURKALJ
Centre of Radiology
Clinical Centre of Vojvodina
Hajduk Veljkova 1-9
21000 Novi Sad
Serbia
turkaljivan@gmail.com



Figure 1. A massive vegetant lesion of the gluteal region with a central defect exposing the rectum is obvious

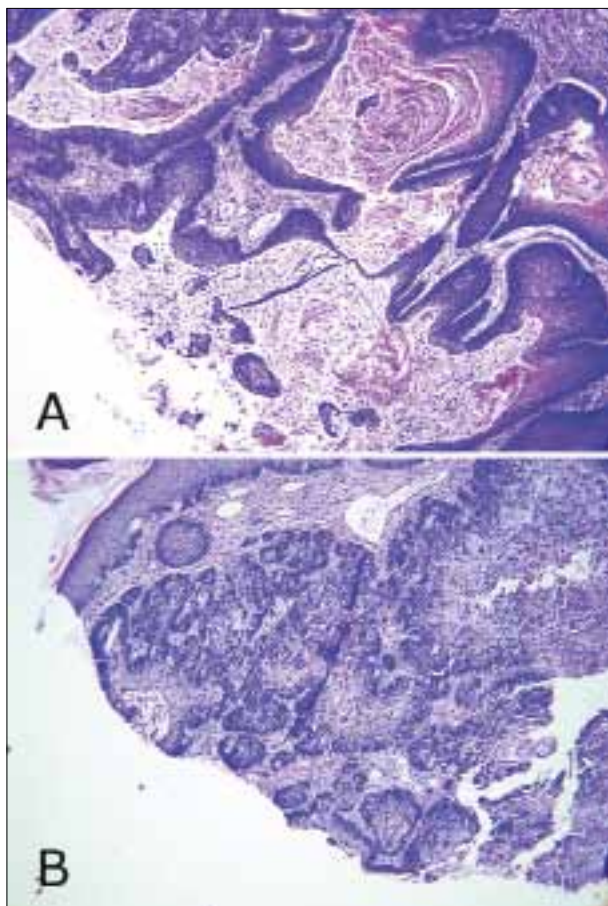


Figure 2. Papillary lesion characterized by a proliferation of squamous epithelium showing orderly maturation (A); well-differentiated invasive squamous carcinoma – infiltrative growth pattern and significant cytologic atypia are evident (B).

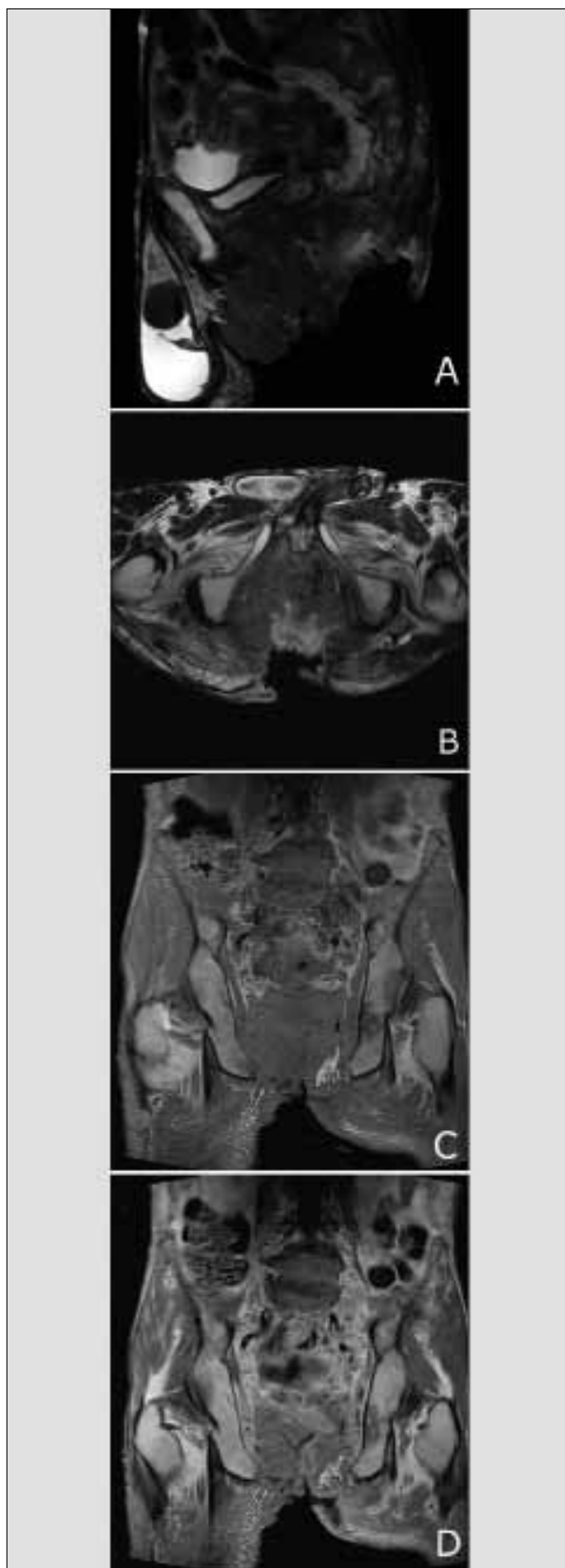


Figure 3. Magnetic resonance imaging of the pelvis, performed with a patient in prone position, shows the extensive vegetant lesion infiltrating the pelvic floor (A – T2W sagittal image), inner gluteal region bilaterally (B – T2W axial image) with invasion of the anus, urinary bladder, scrotum, penis, sacrococcygeal and pubic bone (C – T1W coronal image). Intensive postcontrast enhancement of infiltrating tissue is present (D – contrast enhanced T1W coronal image). Enlarged parailiac lymph nodes are evident (C, D).

DISCUSSION

Despite disagreements, BLT is generally considered to be a low-grade variant of squamous cell carcinoma (SCC) of the anogenital region. BLT, along with the oral florid papillomatosis of Ackerman, palmoplantar epithelioma cuniculatum and cutaneous Gottron's papillomatosis, belongs to the subgroup of SCC named verrucous carcinomas (VC) [4, 5]. On the other hand, some authors assume BLT represents a spectrum between simple genital warts and SCC [6, 7]. The size of the lesion is not a valid criterion in making a distinction between BLT and genital warts. Although genital warts can also gain a large size, the growth always remains superficial and no destruction of the underlying structures takes place. The histopathological picture of BLT is characterized by prominent papillomatosis, acanthosis, thickened rete ridges and increased mitotic activity with the lack of vascular and neural invasion. These altered rete ridges "push", rather than infiltrate, the dermis and subcutis compresses the adjacent structures. Therefore, tissue destruction in BLT could be reflected through compression and displacement, instead of direct infiltration. Conventional SCC of comparable dimensions, in contrast to BLT, often results in metastasis [8].

Clinically, BLT presents as a slowly but relentlessly growing exophytic, cauliflower-like or polypoid malodorous erythematous mass with the tendency to ulcerate and hemorrhage. Secondary bacterial infection with formation of abscesses and fistulas are uncommon. The average age of affected persons with BLT is 42.9 years for males and 46.6 years for females. There is a male predominance that increases from 2.7:1 for those under 50 years to 3.5:1 for patients over 50 [9]. Except HPV infection, other etiologic contributors have been proposed, such as poor hygiene,

lack of circumcision, chronic irritation and immunosuppression including HIV infection [6].

Takezawa et al. [10] were the first who described MR appearance of BLT and underlined the importance of diagnostic imaging in the staging of the disease. Even if computerized tomography is able to show local extent into the periorgan fat tissue, MR is superior in depicting the invasion of the pelvic wall muscles, rectum and prostate [6].

The treatment option for BLT is still the subject of debate, since there are no evidence based facts. However, a wide surgical excision is recommended unless infiltration of the anal sphincter or rectum exists when abdominoperineal resection is advisable. Some authors suggest a radical excision along with careful follow-up examinations as the definite treatment if the resected margins are tumor-free cells [11]. Multimodal treatment approach is reported to be a substitute for extensive surgical excisions. Local control can be achieved by chemoradiotherapy [9]. Previously used topical agents for treating perianal BLT are nowadays regarded as ineffective [12]. Radiation therapy is a controversial issue since it is connected to dedifferentiation of VC [13]. Some authors emphasize the benefit of radiation therapy as neoadjuvant or palliative [14]. Butler et al. [15] reported that otherwise unresectable BLT may be rendered operable with neoadjuvant chemotherapy and radiation. Certainly, the extensiveness of the disease in our patient did not promise such a successful outcome.

In conclusion, our case points out that BLT should be treated at the initial stage in order to prevent untreatable condition which happened in our patient. Therefore, early diagnostics and staging of the disease using modern technologies such as magnetic resonance imaging is crucial in order to treat such patients effectively.

REFERENCES

- Giuliano AR, Tortolero-Luna G, Ferrer E, Burchell AN, de Sanjose S, Kjaer SK, et al. Epidemiology of human papillomavirus infection in men, cancers other than cervical and benign conditions. *Vaccine*. 2008; 26(Suppl 10):K17-28.
- Balik E, Eren T, Bugra D. A surgical approach to anogenital Buschke Loewenstein tumours (giant condyloma acuminata). *Acta Chir Belg*. 2009; 109:612-6.
- Ergun SS, Kural YB, Buyukbabani N, Verim L, Akbulut H, Gurkan L. Giant condyloma acuminatum. *Dermatolog Surg*. 2003; 29:300-3.
- Trombetta LJ, Place RJ. Giant condyloma acuminatum of the anorectum: trends in epidemiology and management: report of a case and review of the literature. *Dis Colon Rectum*. 2001; 44:1878-86.
- Micali G, Nasca MR, Innocenzi D, Schwartz RA. Penile cancer. *J Am Acad Dermatol*. 2006; 54:369-91.
- Bertram P, Treutner KH, Rubben A, Hauptmann S, Schumpelick V. Invasive squamous-cell carcinoma in giant anorectal condyloma (Buschke-Löwenstein tumor). *Langenbecks Arch Chir*. 1995; 380:115-8.
- Papiu HS, Dumnici A, Olariu T, Onita M, Hornung E, Goldis D, et al. Perianal giant condyloma acuminatum (Buschke-Löwenstein tumor). Case report and review of the literature. *Chirurgia (Bucur)*. 2011; 106:535-9.
- Steffen C. The men behind the eponym – Abraham Buschke and Ludwig Löwenstein: giant condyloma (Buschke-Löwenstein). *Am J Dermatopathol*. 2006; 28:526-36.
- Chao MW, Gibbs P. Squamous cell carcinoma arising in a giant condyloma acuminatum (Buschke-Löwenstein tumour). *Asian J Surg*. 2005; 28:238-40.
- Takezawa Y, Shimizu N, Kurokawa K, Suzuki K, Yamanaka H. Appearance on magnetic resonance imaging of Buschke-Löwenstein tumour. *Br J Urol*. 1996; 78:308-9.
- Huang SM, Leung WH, Chen BF. Malignant transformation of perianal giant condyloma acuminatum. *J Soc colon Rectal Surgeon (Taiwan)*. 2007; 18:23-30.
- Alexander RM, Kaminsky DB, Alexander RM, Kaminsky DB. Giant condyloma acuminatum (Buschke-Löwenstein tumor) of the anus: case report and review of the literature. *Dis Colon Rectum*. 1979; 22:561-5.
- Gritsch HA, Randazzo RF, Layfield LJ, deKernion JB. Invasive giant condylomata acuminata: a case report. *J Urol*. 1989; 141:950-2.
- Sobrado CW, Mester M, Nadalin W, Nahas SC, Bocchini SF, Habr-Gama A. Radiation-induced total regression of a highly recurrent giant perianal condyloma: Report of case. *Dis Colon Rectum*. 2000; 43:257-60.
- Butler TW, Geffer J, Kleto D, Shuck EH 3rd, Ruffner BW. Squamous-cell carcinoma of the anus in condyloma acuminatum. Successful treatment with preoperative chemotherapy and radiation. *Dis Colon Rectum*. 1987; 30:293-5.

Бушке–Левенштајнов тумор – сквамоцелуларни карцином аногениталне регије

Иван Туркаљ¹, Драгана Ђилас-Ивановић², Недељка Бошков³, Бранислав Петров⁴, Ласло Штајер⁵, Татјана Ивковић-Капиц⁶

¹Центар за радиологију, Клинички центар Војводине, Нови Сад, Србија;

²Центар за имунизацију дијагностику, Институт за онкологију Војводине, Сремска Каменица, Србија;

³Одељење онкологије, Општа болница „Ђорђе Јоановић“, Зрењанин, Србија;

⁴Одељење опште хирургије, Општа болница „Ђорђе Јоановић“, Зрењанин, Србија;

⁵Одељење патологије, Општа болница „Ђорђе Јоановић“, Зрењанин, Србија;

⁶Одељење патологије, Институт за онкологију Војводине, Сремска Каменица, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Бушке–Левенштајнов (*Buschke–Löwenstein*) тумор (БЛТ), редак облик шилјастог кондилома, први је описао немачки дерматолог Бушке 1886. године као „шилјаст кондилом пениса налик карциному“. БЛТ се сматра нискоградусним обликом сквамоцелуларног карцинома аногениталне регије.

Приказ болесника Педесетшестогодишњи мушкарац са БЛТ упућен је у наш институт због великог оштећења глутеусне регије. Начињена је биопсија лезије и патохистолошки је постављена дијагноза БЛТ. Магнетном резонанцијом карлице уочена је екстензивна вегетантна лезија која је значајно инфилтрирала карличне органе уз увећање паран-

лијачних лимфних чворова. Начињена је сигмоидостомија ради фекалне деривације и започета хемиотерапија 5-флуороурацилом и цисплатином. Нажалост, болесник је услед тешког стања преминуо.

Закључак Овај приказ треба да подигне клиничку свест о могућем потенцијалу БЛТ ка локалној инвазивности, што може драстично да ограничи терапијске могућности. Стога су рана дијагностика и утврђивање стадијума болести коришћењем савремених технологија веома важни у лечењу болесника.

Кључне речи: магнетнорезонантно снимање; ректум; карцином

Примљен • Received: 19/09/2012

Ревизија • Revision: 22/01/2014

Прихваћен • Accepted: 24/03/2014

Смрт услед топлотног удара – приказ случаја

Слободан Савић, Снежана Павлекић, Ђорђе Алемпијевић, Драган Јечменица

Институт за судску медицину, Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Топлотни удар је најопаснији поремећај узрокован повишеном спољашњом температуром. Одликује се порастом телесне температуре преко 40°C, дисфункцијом централног нервног система и развојем синдрома вишеорганске слабости. Циљ рада је да се укаже на проблеме у клиничкој и постморталној дијагностици смртног топлотног удара.

Приказ случаја Двадесетогодишњи младић нађен је на улици без свести. На пријему у Ургентни центар Клиничког центра Србије у Београду био је у коми. Телесна температура од 40°C одржавала се упркос терапији, менингеални знаци били су негативни, тахикардија је била с ритмом галоба, а установљени су и хипотензија, крварење из носа и уста и крвни подливи коже. Лабораторијски налази су открили изразито повишене вредности *LDH* и креатин-киназе, повишене вредности креатинина и *AST* и знаке дисеминоване интраваскуларне коагулације. Смрт је наступила шест сати након пријема, а случај је остао клинички неразјашњен. Обдукцијом су установљени знаци хеморагијске дијатезе и едем мозга и плућа, а микроскопским прегледом општа многокрвност, крварења по органима, едем мозга, масивна аспирација крви и едем плућа. Токсиколошки и бактериолошки налази били су негативни. На основу наведених налаза и података о условима на месту где је младић привремено радио, закључено је да је насилна смрт наступила услед топлотног удара.

Закључак За спречавање смртног исхода и тешких и трајних оштећења органа код преживелих, значајно је што брже поставити дијагнозу топлотног удара и применити одговарајуће лечење. Непостављање дијагнозе топлотног удара, следствено неодговарајуће лечење и смртни исход болесника могу бити разлог за оптуживање лекара за кривично дело несавесног пружања медицинске помоћи.

Кључне речи: топлотни удар; изненадна неочекивана смрт; судскомедицинска дијагноза

УВОД

Мада је код нас дијагноза смртоносног топлотног удара ретка, овај ентитет заузима значајно место међу узроцима смрти у свету. У Кини је у јулу 1743. године, због изузетно топлог времена, преминуло око 11.000 људи [1]. У крајевима Сједињених Америчких Држава неприпремљеним на велике врућине током 1980. године страдало је 1.700 особа [2, 3]. У августу 2003. од последица великих врућина у Француској преминуло је 15.000 људи, већином старијег животног доба [4]. И данас стања изазвана поремећајем терморегулације узрокују у САД око 240 смрти годишње [2, 5]. Циљ рада је био да се укаже на проблеме у клиничкој и постморталној дијагностици топлотног удара као узрока смрти.

ПРИКАЗ СЛУЧАЈА

Дана 22. јуна у 14.45 часова возилом Службе хитне медицинске помоћи у Ургентни центар Клиничког центра Србије у Београду доведен је двадесетогодишњи младић који је нађен на улици без свести, са спонтаним дисањем и тризмусом и високофебрилан. Подаци о току лечења болесника наведени су из медицинске документације Ургентног центра која је након наступања смртног исхода достављена обдуцентима. На пријему је био у коми (скор 3 према Глазговској ко-

ма-скали), сужених зеница, без реакције на светлост; забележени су корнеални рефлекс, а менингеални знаци били су негативни. Екстремитети су били без спонтаних покрета, атонични, а рефлексни снижени. Телесна температура од 40°C одржавала се упркос антипиретичкој терапији, пулс је био 160 удара у минути са ритмом галоба, а артеријски крвни притисак 90/50 mm Hg. Физикални, рендгенски и ултразвучни налази на грудном кошу и трбуху били су нормални. ЕКГ је био без значајних промена. Налаз компјутеризоване томографије (СТ) открио је благи едем мозга. Лумбална пункција је показала бистар ликвор под повишеним притиском и благо плеоцитозу. Током прегледа забележени су епилептиформни напад, крварење из носа и уста и крвни подливи коже у левом хипохондријуму.

Лабораторијске анализе показале су изразито повишене вредности *LDH* (1830 U/l) и креатин-киназе (1222 U/l), повишене вредности креатинина (206 μ mol/l) и *AST* (152 U/l) и знаке дисеминоване интраваскуларне коагулације – ДИК (тромбоцитопенија $50 \times 10^9/l$; *INR* 1,30; *D*-димер 2242).

Смрт је наступила шест сати након пријема. Завршне дијагнозе у отпусној листи гласиле су: *Coma (causa ignota)*. *St. febrilis*. *Sy haemorrhagicum (susp. DIC)*. *Thrombocytopaenia*. *Pneumonia lat. dex. susp.*

Обдукциони налаз: гојазан; тачкаста крварења по кожи, слузницама и серозама,

Correspondence to:

Slobodan SAVIĆ
Institut za sudsku medicinu
Daligradska 31a, 11000 Beograd
Srbija
slobodan.savic@mfub.bg.ac.rs

крв у носу и устима; едем мозга (1520 g), крварења слузнице горње трећине једњака, масивна аспирација и деглутација крви благог степена.

Микроскопски налаз: општа многокрвност, микроскопска крварења по органима, едем мозга, проређеност маломожданих Пуркинијевих ћелија, фокалне некрозе кардиомиоцита, масивна аспирација крви, едем плућа. Токсиколошком анализом није установљено присуство алкохола, дрога, ни лекова. Бактериолошки преглед крви: Грам-негативни неферментирајући бацили као неконклузиван налаз.

Подаци које је дала мајка: студент, здрав, никада није радио тешке физичке послове. Месец дана пре наступања смрти „изгорео“ на плажи, следећих дана поцрвенела кожа се „згулила“. Током наредних дана отицале су му ноге. Десетак дана пред смрт запослио се преко студентске задруге у бродоградилишту. У условима високе температуре радио је девет часова дневно тешке физичке послове (преносио челичне профиле тежине 20 kg) са шлемом на глави. По доласку кући жалио се да је веома уморан. Критичног дана у 13.30 часова, током рада у хали, пожалио се да му није добро и изгубио је свест. Када се освестио, био је малаксао и црвен у лицу. Изнели су га у хладовину, дали му да пије воде и речено му је да иде да се истушира, да би га одвели код лекара. Није се вратио са туширања, а један човек га је видео како излази са бродоградилишта. Сат касније на 2 km од бродоградилишта виђен је како посрће и пада на улици. Бунцао је, тражио воду и покушавао да се заклони од сунца. Спољашња температура ваздуха била је 32°C.

На основу прикупљених података закључено је да је насилна смрт наступила услед топлотног удара и компликација на унутрашњим органима.

ДИСКУСИЈА

Један од првих радова о топлотном удару објављен је 1887. године [6]. Амерички комитет дефинисао је да су смртни случајеви узроковани топлотом (енгл. *heat-related death*) они у којима је висока спољашња температура директно узроковала смрт или је значајно допринела наступању смртог исхода [7]. У Међународној класификацији болести наведено је десет типова оштећења здравља узрокованих топлотом, од којих је најзначајнији топлотни удар [8]. Он се одликује порастом телесне температуре преко 40°C, дисфункцијом централног нервног система, с појавом делиријума, грчева, коме и развојем синдрома вишеорганске слабости (енгл. *multiple organ dysfunction syndrome – MODS*) [9, 10]. Пре овог терминалног стадијума дејство повишене спољашње температуре може се испољити у виду топлотног едема, топлотних грчева, топлотне синкопе и топлотне исцрпљености, који могу следити један за другим до настанка топлотног удара [2], што је утврђено и у приказаном случају, јер су топлотном удару претходили отоци ногу и прогресивна исцрпљеност.

Постоје два типа топлотног удара [8]:

- класични (енгл. *nonexertional heat stroke – NEHS*), који зависи од услова спољашње средине; среће се током продужених топлотних таласа, обично су погођене особе старије од 60 година [4] или деца дуже време остављена у прегрејаном аутомобилу [11, 12]; и
- топлотни удар узрокован физичким напрезањем (енгл. *exertional heat stroke – EHS*), који настаје током исцрпљујућих вежби које се изводе у условима високе температуре и велике влажности [3, 13]. Најчешће су погођене младе здраве особе, спортисти током исцрпљујућих тренинга (атлетичари, маратонци) и војници за време дугих летњих маршева [14]. Одликује се наглим настанком и може се испољити након кратког временског периода физичке активности, дајући мало времена за разликовање од јаке физичке исцрпљености код колабираних особа. Епштајн (*Epstein*) и сарадници [14] су код 60% војника (од 82 испитана) учили појаву *EHS* у прва два сата вежбања.

Фактори ризика за настанак топлотног удара су боравак у топлој и влажној средини, дуже директно излагање сунцу, неодговарајућа одевеност, гојазност, слаба физичка кондиција, недостатак аклиматизације, дехидратација (са губитком течности од 6% до 10% телесне тежине један је од најзначајнијих фактора код *EHS*), постојање претходних напада топлотних оштећења, неиспаваност, употреба неких лекова (диуретица и антидепресива), алкохолисаност, поремећај рада знојних жлезда, извесни генетички полиморфизам са смањеном експресијом тзв. *heat-shock* протеина [3, 9, 15]. У приказаном случају постојало је неколико предиспонирајућих фактора: гојазност, тежак физички рад у условима високе температуре и велике влажности, неутренираност и претходно оштећење дејством високе спољашње температуре. Топлотни удар настао на радном месту, везаном са физичким активностима у топлој и влажној средини, као у приказаном случају, представља повреду на раду [16].

Топлотни удар настаје због слома могућег терморегулационог система, када способности организма да се расхлади не могу више да компензују повећано оптерећење топлотом. Хиперпирексија има цитотоксично дејство, узрокује деградацију и агрегацију унутарћелијских протеина, што доводи до промена у стабилности ћелијских мембрана, оштећује трансмембрански транспорт протеина и изазива различите промене цитоскелета. У патолошко-физиолошкој основи, топлотни удар је сличан сепси, јер ендотоксемија и цитокини играју значајну улогу у патогенези. Прекомерно нагомилавање цитотоксичних слободних радикала и оксидативно оштећење могу настати у могућем ткиву, а слободни радикали значајно утичу и на настанак циркулаторног шока и церебралне исхемије. Цитотоксични ефекат топлоте, праћен системским инфламаторним одговором, оксидативним оштећењем и ослабљеним одговором на топлотни стрес, узрокује развој *MODS*, са смањењем артериј-

ског крвног притиска, интракранијалном хипертензијом, церебралном хипоперфузијом и исхемијом, те појачаним унутарћелијским метаболизмом [9, 17]. С друге стране, тзв. *heat-shock* протеини, који се стварају у ћелијама изложеним високој температури, играју значајну улогу у процесу одржавања термотолеранције и делују заштитно.

Клиничке манифестације топлотног удара могу бити веома разноврсне [1, 2]. Први симптоми, као што су слабост и вртоглавица, често се не препознају и болесници се најчешће виде тек у фази колапса, када долази и до знатног повишења телесне температуре (преко 40°C), која не реагује на стандардне антипиретичке третмане [9, 18], што је забележено и у приказаном случају.

Због оштећења централног нервног система, јављају се конфузност, дезоријентисаност, вртоглавица, мучнина, повраћање, некоординисани покрети, епилептиформни напади, делиријум, колапс и кома [9, 19], као у приказаном случају. Код дужег надживљавања долази до атрофије ткива малог мозга и кичмене мождине [20], што, уколико болесник преживи, оставља трајне неуролошке поремећаје [1, 19]. Губитак маломожданих Пуркинијевих ћелија, уочен и у приказаном случају, значајна је неуропатолошка промена [20]. Менталне последице могу варирати од благих поремећаја пажње до тешких општих деменција.

Значајна је и дисфункција кардиоваскуларног система, с убрзањем рада срца и хипотензијом, венским застојем, знацима плућног едема и у најтежим случајевима шоком, што је забележено у приказаном случају. Због поремећаја проводљивости, настају различити поремећаји ритма и ЕКГ ненормалности. Могућа је

појава акутног инфаркта миокарда, наглог застоја и слабости срца [21].

Развој синдрома акутног респираторног дистреса (енгл. *acute respiratory distress syndrome* – ARDS) углавном је изазван претходно насталим поремећајима коагулације (ДИК) [22].

Често настаје некроза хепатоцита, углавном са благим порастом нивоа трансаминаза, што је забележено и у приказаном случају, а ређе се јавља тешко оштећење јетре с хепатичном енцефалопатијом. У најтежим случајевима неопходна је хитна трансплантација јетре, која не гарантује преживљавање оболелог [23].

Због рабдомиолизе, може настати акутно миоглобинурично оштећење бубрега с акутном инсуфицијенцијом бубрега [24].

Поремећај коагулације с хеморагијском дијатезом, дијагностикован и у приказаном случају, мултифакторски је узрокован тромбоцитопенијом, оштећењем хепатоцита, активацијом фибринолизе и у најтежим случајевима појавом ДИК [25]. Испољава се крварењима различите локализације, укључујући интрацеребралну хеморагију и хематурију. Хематемеза може бити последица крварења слезнице једњака [26], која су обдукцијом установљена у приказаном случају. Обилно крварење из носа и уста може настати и због оштећења крвних судова слезнице носа директним дејством топлоте [27].

Чести су електролитни дисбаланс и поремећај ацидобазног статуса; углавном настаје метаболичка ацидоза због повећања концентрације млечне киселине [19].

У приказаном случају резултати лабораторијских анализа били су у складу с подацима из литературе:

Табела 1. Клиничка дијагноза топлотног удара [2]

Table 1. Clinical diagnosis of heat stroke [2]

Тест Test	Налази повезани с топлотним ударом Findings related to heat stroke
Рендген плућа Chest x-ray	Едем и конгестија плућа, ARDS Pulmonary edema, pulmonary congestion, ARDS
ЕКГ ECG	Поремећаји спровођења, неспецифичне промене ST-T таласа, аритмије, инфаркт миокарда Conduction abnormalities, nonspecific ST-T wave changes, arrhythmias, myocardial infarction
Гасне анализе Arterial blood gas	Респираторна алкалоза, оксигенациони статус Respiratory alkalosis, oxygenation status
Срчани ензими Cardiac isoenzymes	Оштећење миокарда Myocardial injury
Крвна слика Complete blood count	Леукоцитоза, пораст хематокрита Leukocytosis, elevated hematocrit
Фибриноген, распадни производи фибрина Fibrinogen, fibrin split products	Коагулопатија, ДИК Coagulopathy, DIC
LDH, AST, ALT, CK, калијум, азотне материје LDH, AST, ALT, CK, potassium, blood urea nitrogen	Повишени код оштећења бубрега или јетре Elevated in renal or hepatic injury
Лактат Lactate	Обично повишен код EHS, показатељ лоше прогнозе код класичног топлотног удара Commonly elevated in EHS, predicts poor prognosis in classic heat stroke
Калцијум, фосфор Calcium, phosphorus	Снижени Decreased
Налази мокраће Urin analysis	Миоглобински цилиндри, еритроцити Myoglobin casts, red blood cells

LDH – лактат-дехидрогеназа; AST – аспартат-аминотрансфераза; ALT – alanin-аминотрансфераза; CK – креатин-киназа; ARDS – синдром акутног респираторног дистреса; ДИК – дисеминована интраваскуларна коагулација; EHS – топлотни удар узрокован физичким напрезањем

LDH – lactate dehydrogenase; AST – aspartate aminotransferase; ALT – alanine aminotransferase; CK – creatine kinase; ARDS – acute respiratory distress syndrome; DIC – disseminated intravascular coagulation; EHS – exertional heat stroke

изразито повећање вредности креатин-киназе и *LDH*, умерено повећање трансаминаза и азотемија.

У клиничком раду дијагноза топлотног удара заснива се на утврђивању физикалних и лабораторијских показатеља *MODS*, а типична је телесна температура преко 40°C, која се одржава и поред уобичајене антипиретичке терапије [12]. Критеријуми за клиничко дијагностиковање топлотног удара и за разликовање *EHS* од *NEHS* дефинисани су још 1998. године (Табела 1) [2]. Акутна инсуфицијенција бубрега, рабдомиолиза, ДИК и лактичка ацидоза значајна су обележја *EHS*, а ретко се јављају код *NEHS*.

У диференцијалној дијагнози најчешће се посумња на сепсу, а од осталих стања у литератури наводе се инфекције ЦНС, малигни неуролептички синдром, нека тровања (кокаин, метамфетамин, салицилати), тиреотоксична криза, феохромоцитом, маларија и тромбцитопенија [9].

Стопа смртности од топлотног удара је између 17% и 70%, у зависности од тежине клиничке слике и узраста болесника, а највећа је код деце [28]. Смртни исход је могућ и код благовремене и правилно примењене терапије [9], а вероватноћа његовог настанка се веома повећава када се с лечењем закасни више од два сата [19]. Клинички показатељи лоше прогнозе и претећег смртног исхода су: значајно повећање нивоа креатин-киназе (>1000 IU/l), *LDH* и трансаминаза (више него двоструко), метаболичка ацидоза (лактат >3 mmol/l), кома која траје дуже од два сата, хипотензија и продужење протромбинског времена [2]. Скоро сви наведени показатељи лоше прогнозе постојали су код приказаног младића.

За спречавање смртног исхода и тешких и трајних оштећења унутрашњих органа преживелих особа значајно је што хитније поставити дијагнозу топлотног удара и применити одговарајуће лечење, које може бити делотворно чак и у најтежим ситуацијама [10]. Описано је преживљавање топлотног удара код особе с телесном температуром од 46,5°C [18]. Терапија је усмерена на хитно и интензивно смањење повишене телесне температуре и лечење тешких системских компликација.

У нашем приказу изненадне, неочекиване смрти младића, са свим обележјима *EHS*, током шесточасовног болничког лечења није постављена дијагноза топлотног удара и поред типичних клиничких показатеља, првенствено високе телесне температуре резистентне на уобичајену терапију. Ово се највећим делом може објаснити изостанком релевантних анамnestичких података, а могући додатни фактор јесте чињеница да су фатални облици топлотног удара у нашим климатским условима ретко забележени. Пракса је показала да се клиничко препознавање топлотног удара дешава и код веома искусних лекара [29]. Непостављање дијагнозе топлотног удара, следствено неодговарајуће лечење и смрт болесника могу бити разлози за оптуживање лекара за кривично дело несавесног пружања медицинске помоћи.

Постмортална дијагноза смртоносног топлотног удара није лака због изостанка специфичних макроскопских и микроскопских промена [12]. Принципи постморталне дијагнозе топлотног удара као узрока смрти јасно су наведени у препорукама америчких аутора, а примењени су и у приказаном случају [7]:

- 1) Подаци о околностима случаја, о изложености високој спољашњој температури – у приказаном случају у време обдукције располагали смо подацима о високој спољашњој температури критичног дана, а накнадно су добијени подаци о високој температури и влажности ваздуха у хали у којој је младић радио;
- 2) Подаци из медицинске документације – уколико је особа лечена;
- 3) Обдукциони налаз зависи од времена које је протекло од настанка топлотног удара до наступања смрти [30]. Углавном је неконклузиван за постављање дијагнозе, што је констатовано и у приказаном случају. Уколико постмортални интервал није исувише дуг, значајно је мерење ректалне температуре леша;
- 4) Микроскопски преглед органа;
- 5) Токсиколошка, евентуално и бактериолошка анализа.

Неспецифичан обдукциони и микроскопски налаз и негативан токсиколошки и бактериолошки налаз омогућавају искључивање других узрока хипертермије, као и свих других узрока смрти [12].

С обзиром на дуготрајне таласе великих врућина у нашој земљи 2012. и 2013. године, са спољашњим температурама већим од 45°C, убудуће се може очекивати чешћа појава тешких облика топлотног удара, што лекарима намеће обавезу да се упознају с принципима његове брзе дијагностике и правилног лечења.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sharma HS. Heat-related deaths are largely due to brain damage. *Indian J Med Res*. 2005; 121:621-3.
2. Barrow MW, Clark KA. Heat-related illnesses. *Am Fam Physician*. 1998; 58(3):749-56, 759.
3. Coris EE, Ramirez AM, Van Durme DJ. Heat illness in athletes: the dangerous combination of heat, humidity and exercise. *Sports Med*. 2004; 34(1):9-16.
4. Vandentorren S, Bretin P, Zeghnoun A, Mandereau-Bruno L, Croisier A, Cochet C, et al. August 2003 heat wave in France: risk factors for death of elderly people living at home. *Eur J Public Health*. 2006; 16(6):583-91.
5. Wolfe MJ, Kaiser R, Naughton MP, Mirabelli MC, Yoon SS, Hanzlick R, et al. Heat-related mortality in selected United States cities, summer 1999. *Am J Forensic Med Pathol*. 2001; 22(4):352-7.
6. Hunter GD. Notes on heat and "heat-stroke" at Assouan in the summer of 1886. *Br Med J*. 1887; 2(1384):65.
7. Donoghue ER, Graham MA, Jentzen JM, Lifschultz BD, Luke JL, Mirchandani HG. Criteria for the diagnosis of heat-related deaths: National Association of Medical Examiners. Position paper. National Association of Medical Examiners Ad Hoc Committee on the Definition of Heat-Related Fatalities. *Am J Forensic Med Pathol*. 1997; 18(1):11-4.

8. Becker JA, Stewart LK. Heat-related illness. *Am Fam Physician*. 2011; 83(11):1325-30.
9. Yan YE, Zhao YQ, Wang H, Fan M. Pathophysiological factors underlying heatstroke. *Med Hypotheses*. 2006; 67(3):609-17.
10. Trujillo MH, Bellorin-Font E, Fragachan CF, Perret-Gentil R. Multiple organ failure following near fatal exertional heat stroke. *J Intensive Care Med*. 2009; 24(1):72-8.
11. Guard A, Gallagher SS. Heat related deaths to young children in parked cars: an analysis of 171 fatalities in the United States, 1995-2002. *Inj Prev*. 2005; 11(1):33-7.
12. Schuliar Y, Savourey G, Besnard Y, Launey JC. Diagnosis of heat stroke in forensic medicine. Contribution of thermophysiology. *Forensic Sci Int*. 2001; 124(2-3):205-8.
13. Casa DJ, Armstrong LE, Ganio MS, Yeargin SW. Exertional heat stroke in competitive athletes. *Curr Sports Med Rep*. 2005; 4(6):309-17.
14. Epstein Y, Moran DS, Shapiro Y, Sohar E, Shemer J. Exertional heat stroke: a case series. *Med Sci Sports Exerc*. 1999; 31(2):224-8.
15. Green H, Gilbert J, James R, Byard RW. An analysis of factors contributing to a series of deaths caused by exposure to high environmental temperatures. *Am J Forensic Med Pathol*. 2001; 22(2):196-9.
16. Roccatto L, Modenese A, Occhionero V, Barbieri A, Serra D, Miani E, et al. Heat stroke in the workplace: description of a case with fatal outcome. *Med Lav*. 2010; 101(6):446-52.
17. Leon LR, Helwig BG. Heat stroke: role of the systemic inflammatory response. *J Appl Physiol*. 2010; 109(6):1980-8.
18. Slovis CM, Anderson GF, Casolaro A. Survival in a heat stroke victim with a core temperature in excess of 46.5 C. *Ann Emerg Med*. 1982; 11(5):269-71.
19. Yeo TP. Heat stroke: a comprehensive review. *AACN Clin Issues*. 2004; 15(2):280-93.
20. Bazille C, Megarbane B, Bensimhon D, Lavergne-Slove A, Baglin AC, Loirat P, et al. Brain damage after heat stroke. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2005; 64(11):970-5.
21. Chen WT, Lin CH, Hsieh MH, Huang CY, Yeh JS. Stress-induced cardiomyopathy caused by heat stroke. *Ann Emerg Med*. 2012; 60(1):63-6.
22. El-Kassimi FA, Al-Mashhadani S, Abdullah AK, Akhtar J. Adult respiratory distress syndrome and disseminated intravascular coagulation complicating heat stroke. *Chest*. 1986; 90(4):571-4.
23. Garcin JM, Bronstein JA, Cremades S, Courbin P, Cointet F. Acute liver failure is frequent during heat stroke. *World J Gastroenterol*. 2008; 14(1):158-9.
24. Tan W, Herzlich BC, Funaro R, Koutelos K, Pagala M, Amaladevi B, et al. Rhabdomyolysis and myoglobinuric acute renal failure associated with classic heat stroke. *South Med J*. 1995; 88(10):1065-8.
25. Bouchama A, Bridey F, Hammami MM, Lacombe C, al-Shail E, al-Ohali Y, et al. Activation of coagulation and fibrinolysis in heatstroke. *Thromb Haemost*. 1996; 76(6):909-15.
26. Villarin AJL, Alonso GC, Kassem A, Villarroja RP, Marcos NM, Sanz RR. Bruising of the esophagus as a cause of gastrointestinal bleeding in a case of heatstroke. *Rev Esp Enferm Dig*. 2005; 97(8):596-9.
27. Anim JT, Baraka ME, al-Gamdi S, Sohaibani MO. Morphological alterations in the nasal mucosa in heat stroke. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 1988; 8(7 Spec No):39-47.
28. Bytowski JR, Squire DL. Heat illness in children. *Curr Sports Med Rep*. 2003; 2(6):320-4.
29. Druyan A, Janovich R, Heled Y. Misdiagnosis of exertional heat stroke and improper medical treatment. *Mil Med*. 2011; 176(11):1278-80.
30. Hiss J, Kahana T, Kugel C, Epstein Y. Fatal classic and exertional heat stroke - report of four cases. *Med Sci Law*. 1994; 34(4):339-43.

Death Caused by Heat Stroke: Case Report

Slobodan Savić, Snežana Pavlekić, Djordje Alempijević, Dragan Ječmenica

Institute of Forensic Medicine, School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Heat stroke is the most dangerous among numerous disorders caused by elevated environmental temperature. It is characterized by an increased body temperature of over 40°C, the dysfunction of the central nervous system and the development of multiple organ failure. The aim of this paper was to highlight problems in the clinical and post-mortal diagnosis of fatal heat stroke.

Case Outline A 20-year-old male was found unconscious on the street; on admission at the Emergency Center, Clinical Center of Serbia, Belgrade, he was in a coma. The body temperature of 40°C was maintained despite the applied therapy, meningeal signs were negative, tachycardia with gallop rhythm, hypotension, bleeding from the nose and mouth, and presence of skin bruises. Laboratory findings: highly elevated LDH and creatine kinase, elevated serum creatinine, AST, and signs of DIC. Lethal outcome occurred 6 hours after admission, and the case remained clinically unsolved. Autopsy showed signs of hemor-

rhagic diathesis, brain and pulmonary edema, and microscopic examination revealed general congestion, internal bleeding in various organs, cerebral edema, massive blood aspiration and pulmonary edema. Toxicological and bacteriological examinations were negative. Based on these findings and subsequently obtained data on the conditions at the workplace where the young man had a part-time job, it was concluded that the violent death was caused by heat stroke.

Conclusion Since heat stroke is associated with a high mortality rate and high incidence of serious and permanent organ damage in survivors, it is important to make the diagnosis of heat stroke as quickly as possible and apply appropriate treatment. Misdiagnosis of heat stroke, and consequently inadequate treatment, with a potential fatal outcome for the patient, can be the reason for blaming doctors for the legal offense of medical malpractice in failing to administer first aid.

Keywords: heat stroke; sudden unexpected death; forensic medicine diagnosis

Минимално инвазивна препарација чврстих зубних ткива савременим полимерним ротирајућим инструментима и ласером

Милош Белоица, Зоран Р. Вулићевић, Зоран Мандинић, Ивана Радовић, Оливера Јовичић, Момир Царевић, Јасмина Текић

Клиника за децу и превентивну стоматологију, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Савремена стоматологија тежи ка што мањој трауматизацији пацијента приликом рада уз максимални учинак. Савремени материјали уз нове видове препарације кавитета пружају могућност санације каријесних лезија у најкраћем временском року. Видови препарације кавитета су се знатно променили откако је уведено прво машински направљено сврдло за уклањање каријеса. Технолошки напредак материјала за испуне и начина препарације довели су до савремених карбидних и дијамантских сврдла која се користе уз обавезно водено хлађење. Иновацију на пољу ротирајућих инструмената представљају полимерна „паметна“ сврдла, која уклањају каријесну лезију без могућности повређивања и уклањања здраве зубне структуре. Ово је могуће захваљујући чврстоћи коју поседују, која је мања од чврстоће здравог дентина. Захваљујући природи материјала од којих су израђена, ова сврдла омогућују безболнији рад уз мање вибрација и слабије загревање зубне супстанце. Ласери су релативно ново технолошко средство у стоматологији, а њихова клиничка употреба почела је осамдесетих година двадесетог века. Ласери функционишу по принципу аблације, за шта је неопходно присуство воде. Највећи потенцијал међу испитиваним ласерима показали су ербијумски ласери, којима је могуће урадити ефикасну аблацију чврстих зубних ткива. За коришћење ласера у стоматологији неопходни су посебна обука и одговарајуће мере заштите. Предности ласера у поређењу са другим методама препарације чврстих зубних ткива су непостојање вибрација, безболан рад, могућност рада без анестезије и лакше прилагођавање пацијента стоматолошким интервенцијама, што је веома значајно у дејој стоматологији.

Кључне речи: препарација кавитета; ротирајући инструменти; полимерна „паметна“ сврдла; ласер

УВОД

Савремена стоматологија стреми ка што мањој трауматизацији пацијента приликом рада уз максимални учинак, док савремени материјали уз нове видове препарације кавитета пружају могућност санације каријесних лезија у најкраћем временском року [1]. Самим тим, очување здравог зубног ткива један је од основних циљева савремене стоматологије [2, 3].

Препарација кавитета у стоматологији се значајно променила 1891. године, када је амерички произвођач S. S. White увео прво машински направљено челично сврдло за уклањање каријеса, који је уклањао захваљујући испреплетаним сечивима која су се налазила на центру ових сврдла [4]. Иако се челик ових сврдла није знатно разликовао од челика који се употребљава данас, сечива су се брзо трошила, а препарација кавитета се није могла обавити довољно ефикасно. Иако револуционарна, челична сврдла нису имала великих могућности, што је довело до нових открића. Велики напредак у односу на ова сврдла догодио се 1917. године, када је Фурке (Furke) развио начин ојачања сврдла тунгстен-карбидом [5]. Ова сврдла су имала боља механичка својства од челичних, али,

нажалост, прва карбидна сврдла нису била довољно ефикасна и производила су се у само четири облика (округло, обрнути конус, цилиндрично фисурно и конично фисурно).

Развој насадних инструмената је диктирао и развој савременијих сврдла. Увођењем воденог хлађења 1955. године и светла 1980. у насадне инструменте, омогућено је знатно брже, лакше и прегледније уклањање каријеса. Развојем насадних инструмената, стоматолошких материјала и ротирајућих инструмената (челичних, карбидних и дијамантских сврдла) омогућен је савремен начин препарације кавитета који се користи и данас. Захваљујући новим технологијама, сврдла за препарацију кавитета су постала мања у обиму и доступна у неколико облика. Последња иновација на пољу препарације кавитета ротирајућим машинским инструментима је изум полимерних „паметних“ сврдла, која разликују чврстоћу здравог и дентина захваћеног каријесом.

Даље унапређење видова препарације кавитета довело је до једног од најзанимљивијих видова уклањања каријесних лезија у савременој стоматологији – употребу ласера. Ласери у стоматологији почели су да се експериментално користе шездесетих година двадесетог века, а у клиничкој

Correspondence to:

Miloš BELOICA
Klinika za dečju i preventivnu
stomatologiju
Stomatološki fakultet
Dr Subotića 11, 11000 Beograd
Srbija
beloica.milos@gmail.com

практи осамдесетих. У савременој стоматологији употребају се за препарацију чврстих зубних ткива, хируршке интервенције, полимеризацију композитних материјала, бељење зуба и друго [6, 7]. Данашња употреба ласера у стоматологији на чврстим зубним ткивима заснива се на пионирском истраживању др Леа Голдмана (*Leo Goldman*) [8] из 1964. године. У ово истраживање, као и истраживања која су следила наредних година, били су укључени ласери различите таласне дужине. Испитивани су угљен-диоксидни, неодимијум:YAG, аргонски, диодни, холмијум:YAG, аргон-флуоридни, неодимијум:итријум-литијум-флуоридни и ербијум:итријум-алуминијум-гарнет [9-13]. Услед повећања температуре, што је лоше утицало на пулпу, стварања микропукотина и карбонизације, испитивања Nd:YAG ($1,065 \mu\text{m}$), CO₂ ($9,6 \mu\text{m}$) и Ho:YAG ($2,12 \mu\text{m}$) су обустављена [14]. Крајем осамдесетих година развијени су ултраљубичасти и ербијумски ласери (инфрацрвени), који су показали бољу контролу температуре и мању продорност у чврста зубна ткива [14]. Највећи потенцијал међу испитиваним ласерима показали су ербијумски ласери, помоћу којих је могла да се обави ефикасна аблација чврстих зубних ткива [11, 15-20].

С обзиром на то да се тежи што мањој трауматизацији пацијената током рада у свакодневној стоматолошкој пракси, циљ овог чланка био је поређење ротирајућих инструмента (као класичне методе) и ласера (као савремене методе) за препарацију чврстих зубних ткива који би требало да обезбеде безболнији и пријатнији рад пацијентима и стоматолозима.

СВОЈСТВА ПОЛИМЕРНИХ РОТИРАЈУЋИХ ИНСТРУМЕНАТА И ЛАСЕРА ЗА ЧВРСТА ЗУБНА ТКИВА

Остваривање сарадње, примена анестезије и препарација кавитета у стоматологији уопште, а нарочито у дечјој стоматологији, посебан су проблем [21]. Приступ пацијенту треба нарочито прилагодити деци с посебним потребама услед већ отежане сарадње [22]. Препарација кавитета класичним ротирајућим инструментима код узнемирене деце доводи до осећаја нелагодности и отежане сарадње због стварања вибрација и непријатног звука при раду [23-26]. Можда је највећи недостатак приликом препарације кавитета сврдлима загревање услед трења. Поређење уклањања каријеса ротирајућим инструментима, абразијом, хемијским агенсима и ручно показало је да су ротирајући инструменти знатно ефикаснији и бржи, али и да уклањају здрава чврста ткива, као и да стварају топлоту која може неповратно утицати на пулпу [27]. Још 1965. године Зах (*Zach*) и Коен (*Cohen*) [28] су показали да повећање температуре од $5,5^\circ\text{C}$ приликом препарације утиче неповратно на пулподентински комплекс. Захваљујући овом истраживању, установљено је да повећање температуре мање од $5,5^\circ\text{C}$ неће довести до хистолошки неповратних промена [28].

Без обзира на то која сврдла се користе за препарацију кавитета, размазни слој ће бити формиран [29]. Размазни слој представља мешавину глеђи, дентина, цемента, пљувачке и микроорганизама [30], а на његово стварање и морфологију утиче начин препарације кавитета, тј. тип сврдла који се користи. Разлика у препарацији челичним, карбидним и дијамантским сврдлима је последица њихове различите намене и финоће. Челична и карбидна сврдла се препоручују за уклањање каријеса у дентину, док се дијамантска сврдла препоручују за рад у глеђи с обавезним воденим хлађењем. Карбидна сврдла уклањају каријес помоћу сечива која одламају делове тврдих зубних ткива. Већи број сечива на карбидним сврдлима омогућује већу глаткоћу зидова кавитета након препарације [29]. Дијамантска сврдла абрадирају површину која се препарише и том приликом се троше. Трошењем дијамантских сврдла ствара се дебрис који је количински већи у поређењу с оним који настаје при коришћењу карбидних сврдла [29]. Препарација турбинским дијамантским сврдлима с великим бројем обртаја довешће до стварања размазног слоја који је тањи и гушћи у поређењу с оним који настаје препарацијом дијамантском шајбном [31].

Алтернатива препарацији кавитета челичним, карбидним и дијамантским сврдлима је препарација полимерним „пааметним“ сврдлима. Док челична, карбидна и дијамантска сврдла уклањају каријесни и здрав дентин подједнако, полимерна сврдла уклањају само размекшали каријесни дентин. Могућност уклањања само размекшног дентина се заснива на различитој чврстоћи зубних ткива. Здрава, интактна глеђ има чврстоћу 400 на Кнуповој (*Кнуп*) скали, здрави дентин 70–90, а дентин захваћен каријесом 0–30 [32]. Имајући у виду претходне вредности, полимерна сврдла су дизајнирана са чврстоћом 50 на Кнуповој скали, што им омогућује да разликују дентин захваћен каријесом од здравог дентина. На овај начин, коришћењем ових сврдла, уклања се дентин захваћен каријесом, док се сврдло троши приликом контакта са здравим дентином. Захваљујући својим својствима, ова сврдла не би требало да изазивају болне сензације приликом рада уколико не дође до претераног загревања, што се може избећи воденим хлађењем и паузама током рада [33]. Недостатак полимерних сврдла јесте у томе што су намењена за једнократну употребу, те се тиме у питање доводи њихова економичност.

Напретком технологије могуће је да ће се употреба сврдла за минимално инвазивне третмане у стоматологији напустити, јер ласери, микроабразија и ваздушна абразија пружају много више погодности током рада у поређењу с класичним начином препарације кавитета. Ласери различитих таласних дужина се могу употребљавати као алтернатива ротирајућим инструментима за препарацију чврстих зубних ткива. Таласне дужине ербијумских ласера (*Er:YAG* $2,94 \mu\text{m}$ и *Er,Cr:YSGG* $2,78 \mu\text{m}$) убрајају се у средње вредности електромагнетног спектра, близу апсорпционе вредности воде и хидроксиапатита, што доводи до добре аблације чврстих зубних ткива [34]. Иако се претпоставља да је

препарација кавитета спорија ласером, истраживања показују да је након одговарајуће обуке могуће уклањати каријесне лезије подједнако брзо као и ротирајућим инструментима помоћу колењака и турбине [35]. Својства *Er: YAG* ласера омогућавају уклањање танких слојева зубног ткива без болних сензација, те се ова врста ласера може користити у минимално инвазивној стоматолозији [13]. Препарацију чврстих зубних ткива ласером такође одликују изостанак вибрација током рада и незнатно повећање температуре. Загревање током препарације тврдих зубних ткива ласером мање од 3°C [15, 16, 36] веома је важно својство ербијумских ласера, јер не изазива хистолошки неповратне промене на пулподентинском комплексу, за разлику од ротирајућих инструмената.

Недостаци рада ласером се односе на обавезну обуку терапеута, цену апаратуре и неопходност дужег времена нагризања препарисаних глеђи и дентина [37]. Утицај ласера на чврста зубна ткива доводи до промена структуре која се обрађује. Након препарације ласером, на глеђи се уочавају слабо повезани, лоше кристализовани и слепљени остаци глеђи, док у дентину нема воде, колагена влакна су слепљена и немају нормалну структуру. Уклањањем измењених површинских слојева глеђи и дентина механички (екскаватором) и продужавањем времена нагризања (40 секунди глеђ, 30 секунди дентин) могуће је постићи подједнаку или јачу везу материјала и тврдих зубних ткива у поређењу с конвенционалним методама адхезије [37].

КЛИНИЧКА ПРИМЕНА

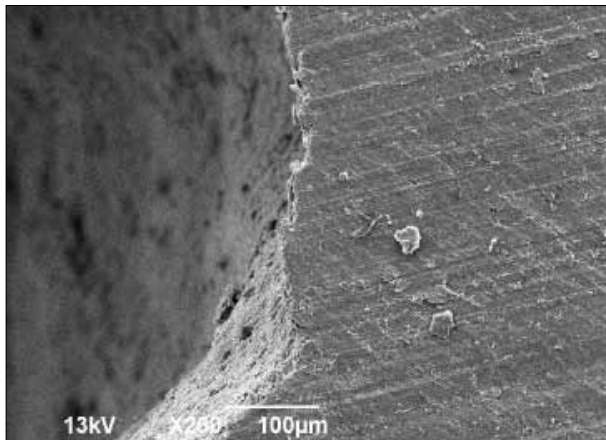
Блекови (*Black*) принципи, установљени пре више од сто година, готово су потпуно напуштени захваљујући развоју и својствима савремених стоматолошких материјала. Профилактичка рестаурација и профилактичка одонтотомија напуштене су потпуно. Ипак, одређени принципи, као што је уклањање каријесне лезије, опстају.

Савремени стоматолошки материјали омогућавају модификовани „крушколики“ облик кавитета ради што већег очувања здраве зубне супстанце [38, 39]. Техника препарације без превентивне екстензије обједињује превенцију и терапију применом минималне препарације каријесне површине и технике заливања фисура [40]. Према мишљењу Симонсена (*Simonsen*) [38, 39], овакав третман подразумева препарацију сврдлима најмање величине (0,5–1 mm) у зависности од величине каријесне лезије (А, В, С). Препарација тип А ограничена је на јамице и фисуре у глеђи, а врши се сврдлима величине 0,5–0,6 mm. Препарација тип В обухвата ограничену почетну каријесну лезију у дентину и глеђи која се обрађује сврдлима величине 0,8–1 mm. Препарација тип С је већа лезија која се препарише сврдлима величине 1 mm или већим. Клиничка примена минимално инвазивних ротирајућих инструмената је слична употреби ротирајућих инструмената за класичне препарације.

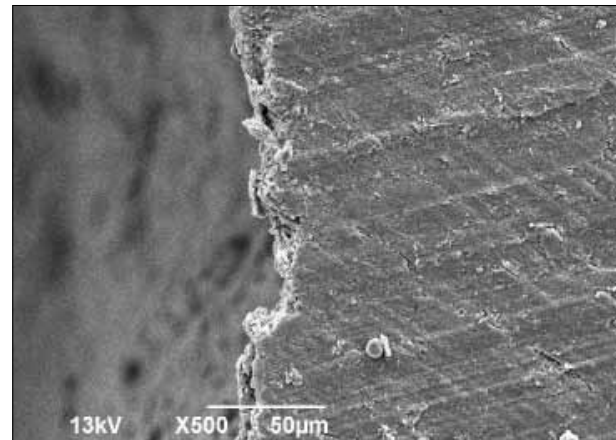
Пре почетка препарације неопходно је установити где се каријес налази и одредити положај контактних тачака помоћу артикулационог папира. Каријес је могуће утврдити инспекцијом, сондирањем и помоћу савремених дијагностичких средстава. Одређивање контактних тачака је важно јер се за минимално инвазивне испуне релативно често употребљава течни композит, који не може да издржи притисак приликом жвакања у бочној регији. Након утврђивања контактних тачака приступа се препарацији кавитета. Код кавитета тип А препарација је у глеђи, а врши се округлим дијамантским сврдлом за турбину величине 0,5–0,6 mm. Испун се завршава постављањем само материјала за испун или материјала за испун у комбинацији с материјалом за заливање фисура. Код кавитета тип В препарација се налази у глеђи и дентину. Започиње округлим дијамантским сврдлом величине до 1 mm до контакта са дентином. За рад у дентину се препоручује употреба карбидних сврдла величине до 1 mm. Након уклањања каријеса поставља се одговарајући материјал за испуне. Код кавитета тип С препарација се налази у глеђи и дентину. Разлика у односу на препарацију тип В је у величини кавитета и величини сврдла које се користи. Препарација започиње дијамантским округлим сврдлима за турбину величине 1 mm или већим до контакта са дентином. За рад у дентину би требало користити карбидна сврдла величине 1 mm или већа до потпуног уклањања каријеса. Након завршене препарације у кавитет се поставља одговарајући материјал за испуне. Закошавање глеђи на рубовима кавитета је неопходно уколико се као материјал за испуне користе композити, без обзира на то која је величина кавитета. Закошавање рубова кавитета је неопходно због повећања ретенционе површине, бољег естетског изгледа и спречавања прелома глеђних призми [41].

У односу на ротирајуће инструменте, употреба ласера захтева посебну обуку с обзиром на то да је осећај приликом рада другачији него приликом рада с турбином и колењаком. Сам начин рада ласером захтева употребу заштитних наочара за пацијента, лекара и стоматолошку сестру, што нарочито може бити интересантно деци која долазе код стоматолога, јер се претпоставља да ће млађи пацијенти лакше прихватити овакав вид третмана него класичан, који подразумева употребу сврдла. Иако је за препарацију кавитета потребно више времена, употребом ласера је умањена могућност болне сензације, што такође олакшава рад у дејој стоматолозији [42, 43].

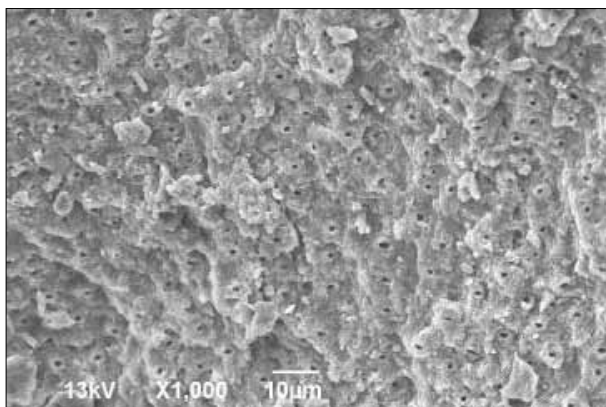
Ласери имају већ подешене режиме рада у зависности од интервенције која ће се вршити, тако да је довољно одабрати програм. Препарација кавитета се врши помоћу ручног дела који пропушта ласерски зрак а изгледом подсећа на колењак или турбину. На месту препарације је видљив контакт зрака са зубом, што руководи облик и величину кавитета под контролом ока. За стоматологе који су навикли на класичан начин препарације кавитета ротирајућим инструментима може се поставити наставак на ручни део који



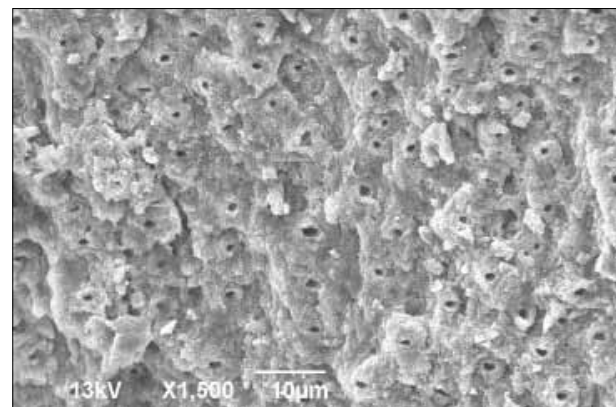
Слика 1. Изглед глеђи након аблације (увећање $\times 200$)
Figure 1. Enamel after ablation (magnification $\times 200$)



Слика 2. Изглед глеђи након аблације (увећање $\times 500$)
Figure 2. Enamel after ablation (magnification $\times 500$)



Слика 3. Изглед дентина након аблације (увећање $\times 1000$)
Figure 3. Dentin after ablation (magnification $\times 1000$)



Слика 4. Изглед дентина након аблације (увећање $\times 1500$)
Figure 4. Dentin after ablation (magnification $\times 1500$)

је у контакту с површином која се препарише. На овај начин привикавање на рад ласером је знатно једноставније.

Принцип препарације тврдих зубних ткива ласером заснива се на аблацији површинског дела зуба. Површина глеђи након препарације ласером је неравна, оштро ограничена и испуњена микропросторима, што је последица аблације (Слике 1 и 2). Будући да је за аблацију неопходно присуство воде, водени млаз помаже регулисање температуре приликом рада и повећава успешност аблације [15, 17, 44]. Поредити структуру глеђи и дентина, где дентин има већи удео воде, промене на дентину након препарације ласером су израженије. Дентин је нераван, отвори дентинских каналића су видљиви и широко отворени, а размазни слој не постоји, што подсећа на површину дентина након нагризања ортофосфорном киселином (Слике 3 и 4) [45]. Претходно наведена својства глеђи и дентина након препарације ласером омогућавају већу снагу везе адхезива са дентином након нагризања киселином [45] и смањену микропропустљивост [46, 47].

ЗАКЉУЧАК

Нови начини препарације кавитета су истовремено неминовност и потреба. Брзи напредак техника препа-

рације чврстих зубних ткива се заснива на минимално инвазивној стоматологији, која подразумева очување здравог ткива у што већој мери. Препарација кавитета класичним ротирајућим инструментима има недостатке у односу на нове технолошке методе на тржишту, као што су „паметна“ сврдла, ласер, ваздушна абразија итд. (Табела 1). Тзв. паметна сврдла представљају велики напредак у односу на класична самим тим што омогућују несметан рад уз мање вибрација, мање загревања зубне супстанце и доносе право откровење немогућношћу уклањања здравог ткива. С друге стране, ласери су нова метода у стоматологији, било да се говори о чврстим или меким ткивима. Ипак, ласери су нашли своје место у свакодневной стоматолошкој пракси захваљујући могућности рада без анестезије, без вибрација и без могућности повређивања пулпо-дентинског комплекса. Обе методе препарације су веома занимљив концепт рада, нарочито у дечјој стоматологији, с обзиром на то да је привикавање пацијента на стоматолошке интервенције знатно лакше.

НАПОМЕНА

Рад је финансиран средствима с пројекта број 46009 Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

Табела 1. Предности и недостаци препарације чврстих зубних ткива различитим сврдлима и ласером**Table 1.** Advantages and disadvantages of hard dental tissue preparation using different rotating instruments and laser

Метода Method	Предности Advantages	Недостаци Disadvantages
Челична сврдла Steel burr	Ефикасност; брзина Efficacy; speed	Загревање; уклањање здравог ткива; брзо трошење; стварање размазног слоја Increase in temperature; removal of healthy tissue; wear; smear layer build-up
Карбидна сврдла Carbide tungsten burr	Ефикасност; брзина; дуготрајност у односу на челична сврдла Efficacy; speed; durability compared to steel burr	Загревање; уклањање здравог ткива; стварање размазног слоја Increase in temperature; they remove healthy tissue; smear layer build-up
Полимерна сврдла Polimer burr	Ефикасност; брзина; не уклањају здраво ткиво Efficacy; speed; they do not remove healthy tissue	Брзо трошење; цена; стварање размазног слоја Wear; price; smear layer build-up
Дијамантска сврдла Diamant burr	Ефикасност; брзина; рад у глеђи Efficacy; speed; they remove enamel	Немогућност уклањања каријесног дентина; трошење; стварање размазног слоја Impossible to remove carious dentine; wear; smear layer build-up
Ласер Laser	Уклањање танких слојева ткива; без болних сензација; одсуство вибрација; не изазива иреверзибилне промене на пулподентинском комплексу Removal of thin layers; painless; without vibrations; without irreversible changes on pulp dentine complex	Неопходност обуке; цена апаратуре; продужено време адхезивне процедуре Requires training; price; longer adhesive procedure

REFERENCES

- Vulićević ZR. Klinička primena materijala u dečjoj stomatologiji. Novi Beograd: Beobook; 2010.
- Dawson AS, Makinson OF. Dental treatment and dental health. Part 2. An alternative philosophy and some new treatment modalities in operative dentistry. Aust Dent J. 1992; 37(3):205-10.
- Tekić J. Dijagnostika rizika za pojavu karijesa kod trudnica. Stomatološki glasnik Srbije. 2004; 51:188-93.
- Yip HK, Samaranayake LP. Caries removal techniques and instrumentation: a review. Clin Oral Investig. 1998; 2(4):148-54.
- Crawford PR. The birth of the bur (and how a Canadian changed it all!). J Can Dent Assoc. 1990; 56(2):123-6.
- Beloica M, Mandinić Z, Vulićević ZR. Led aparati za inicijaciju polimerizacije kompozitnih materijala. Stomatolog. 2010; 4:42-6.
- Vulićević Z, Mandinić Z, Beloica M, Vukotić A, Ćorbić D. The influence of carbamide peroxide on dental tissues in night white bleaching treatment. The first Congress of the Serbian Dental Society with international participation; 2010 Oct 20-23; Belgrade, Serbia.
- Goldman L, Hornby P, Meyer R, Goldman B. Impact of the laser on dental caries. Nature. 1964; 203:417.
- Stern RH, Vahl J, Sognnaes RF. Lased enamel: ultrastructural observations of pulsed carbon dioxide laser effects. J Dent Res. 1972; 51(2):455-60.
- Neev J, Liaw LH, Raney DW, Fujishige JT, Ho PD, Berns MW. Selectivity, efficiency, and surface characteristics of hard dental tissues ablated with ArF pulsed excimer lasers. Lasers Surg Med. 1991; 11(6):499-510.
- Wigdor HA, Walsh JT Jr, Featherstone JD, Visuri SR, Fried D, Waldvogel JL. Lasers in dentistry. Lasers Surg Med. 1995; 16(2):103-33.
- Niemz MH. Cavity preparation with the Nd:YLF picosecond laser. J Dent Res. 1995; 74(5):1194-9.
- Keller U, Hibst R. Effects of Er:YAG laser in caries treatment: a clinical pilot study. Lasers Surg Med. 1997; 20(1):32-8.
- De Moor RJ, Delme KL. Laser-assisted cavity preparation and adhesion to erbium-lased tooth structure: part 1. Laser-assisted cavity preparation. J Adhes Dent. 2009; 11(6):427-38.
- Visuri SR, Walsh JT Jr, Wigdor HA. Erbium laser ablation of dental hard tissue: effect of water cooling. Lasers Surg Med. 1996; 18(3):294-300.
- Paghdwala AF. Does the laser work on hard dental tissue? J Am Dent Assoc. 1991; 122(1):79-80.
- Burkes EJ Jr, Hoke J, Gomes E, Wolbarsht M. Wet versus dry enamel ablation by Er:YAG laser. J Prosthet Dent. 1992; 67(6):847-51.
- Hibst R, Keller U. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: I. Measurement of the ablation rate. Lasers Surg Med. 1989; 9(4):338-44.
- Li ZZ, Code JE, Van De Merwe WP. Er:YAG laser ablation of enamel and dentin of human teeth: determination of ablation rates at various fluences and pulse repetition rates. Lasers Surg Med. 1992; 12(6):625-30.
- Walsh JT Jr, Deutsch TF. Er:YAG laser ablation of tissue: measurement of ablation rates. Lasers Surg Med. 1989; 9(4):327-37.
- Carević M. Stomatološki pregled deteta. In: Beloica D, Vulićević ZR, editors. Dečja stomatologija – praktikum. Beograd: Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu; 2010. p.26-43.
- Stevanović R, Jovičić O. Oral health in children with cerebral palsy. Srp Arh Celok Lek. 2004; 132(7-8):214-8.
- Willershausen B, Azrak A, Wilms S. Fear of dental treatment and its possible effects on oral health. Eur J Med Res. 1999; 4(2):72-7.
- Banerjee A, Watson TF, Kidd EA. Dentine caries excavation: a review of current clinical techniques. Br Dent J. 2000; 188(9):476-82.
- Mandinić Z, Beloica M, Vulićević Z, Pavlović V, Stamenković J. Research of the impact of air-abrasion, ultrasound preparation and high-speed rotary instruments on the structure of enamel in vitro conditions. The first Congress of Serbian Dental Society with international participation; 2010 Oct 20-23; Belgrade, Serbia.
- Živojinović V, Vulićević ZR. Minimalno invazivna terapija karijesa. In: Beloica D, Vulićević ZR, editors. Dečja stomatologija – praktikum. Beograd: Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu; 2010. p.78-82.
- Banerjee A, Kidd EA, Watson TF. In vitro evaluation of five alternative methods of carious dentine excavation. Caries Res. 2000; 34(2):144-50.
- Zach L, Cohen G. Pulp response to externally applied heat. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1965; 19:515-30.
- Al-Omari WM, Mitchell CA, Cunningham JL. Surface roughness and wettability of enamel and dentine surfaces prepared with different dental burs. J Oral Rehabil. 2001; 28(7):645-50.
- Brannstrom M, Glantz PO, Nordenvall KJ. The effect of some cleaning solutions on the morphology of dentin prepared in different ways: an in-vivo study. ASDC J Dent Child. 1979; 46(4):291-5.
- Tao L, Pashley DH. Shear bond strengths to dentin: effects of surface treatments, depth and position. Dent Mater. 1988; 4(6):371-8.
- Fusayama T. Two layers of carious dentin; diagnosis and treatment. Oper Dent. 1979; 4(2):63-70.
- Freedman G, Goldstep F. Polymer preparation instruments. New paradigm in selective dentin removal. Dent Today. 2003; 22(4):58-61.
- Miserendino LJ, Neiburger EJ, Pick RM. Current status of lasers in dentistry. Ill Dent J. 1987; 56(4):254-7.
- Cozean C, Arcoria CJ, Pelagalli J, Powell GL. Dentistry for the 21st century? Erbium:YAG laser for teeth. J Am Dent Assoc. 1997; 128(8):1080-7.

36. Geraldo-Martins VR, Tanji EY, Wetter NU, Nogueira RD, Eduardo CP. Intrapulpal temperature during preparation with the Er:YAG laser: an in vitro study. *Photomed Laser Surg.* 2005; 23(2):182-6.
37. Obeidi A, McCracken MS, Liu PR, Litaker MS, Beck P, Rahemtulla F. Enhancement of bonding to enamel and dentin prepared by Er,Cr:YSGG laser. *Lasers Surg Med.* 2009; 41(6):454-62.
38. Simonsen RJ. Preventive resin restorations (I). *Quintessence Int Dent Dig.* 1978; 9(1):69-76.
39. Simonsen RJ. Preventive resin restorations (II). *Quintessence Int Dent Dig.* 1978; 9(2):95-102.
40. Vulićević ZR, Beloica M. Minimalne invazivne preparacije kaviteta rotirajućim instrumentima. In: Kobašlija S. i sar., editors. *Minimalno invazivna terapija.* Sarajevo: Dobra knjiga; 2012. p.369-77.
41. Radović I, Beloica M. Materijali u minimalno invazivnoj stomatologiji. In: Kobašlija S. i sar., editors. *Minimalno invazivna terapija.* Sarajevo: Dobra knjiga; 2012. p.379-408.
42. Liu JF, Lai YL, Shu WY, Lee SY. Acceptance and efficiency of Er:YAG laser for cavity preparation in children. *Photomed Laser Surg.* 2006; 24(4):489-93.
43. Genovese MD, Olivi G. Laser in paediatric dentistry: patient acceptance of hard and soft tissue therapy. *Eur J Paediatr Dent.* 2008; 9(1):13-7.
44. Loertscher H, Shi WQ, Grundfest WS. Tissue ablation through water with erbium:YAG lasers. *IEEE Trans Biomed Eng.* 1992; 39(1):86-8.
45. Visuri SR, Gilbert JL, Wright DD, Wigdor HA, Walsh JT Jr. Shear strength of composite bonded to Er:YAG laser-prepared dentin. *J Dent Res.* 1996; 75(1):599-605.
46. Ribeiro CF, Anido AA, Rauscher FC, Yui KC, Goncalves SE. Marginal leakage in class V cavities pretreated with different laser energy densities. *Photomed Laser Surg.* 2005; 23(3):313-6.
47. Moldes VL, Capp CL, Navarro RS, Matos AB, Youseff MN, Cassoni A. In vitro microleakage of composite restorations prepared by Er:YAG/Er,Cr:YSGG lasers and conventional drills associated with two adhesive systems. *J Adhes Dent.* 2009; 11(3):221-9.

Hard Dental Tissue Minimal-Invasive Preparation Using Contemporary Polymer Rotating Instruments and Laser

Miloš Beloica, Zoran R. Vulićević, Zoran Mandinić, Ivana Radović, Olivera Jovičić, Momir Carević, Jasmina Tekić

Clinic for Pediatric and Preventive Dentistry, School of Dental Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Goal of contemporary dentistry is to decrease the patient's discomfort during treatment. Dentists aim to achieve maximum with the newly developed dental materials as well as with new cavity preparation techniques in the shortest time span. Since the development of the first constructed borer (drilling machine) for caries removal, the preparation techniques have considerably changed. The progress of dental materials as well as the cavity preparation techniques has led us to contemporary carbide tungsten and diamond borers that are used with obligatory water cooling. The innovation within this field represents newly developed polymer borers that can detect the difference between carious lesions and healthy tooth structure. In this way the cavity preparation may be performed without damaging dental healthy tissue. This is possible owing to their hardness

which is lower than the hardness of intact dentin. Polymer borer preparation is painless with less vibration, while the increase in temperature is negligible. Lasers have been used in clinical dentistry since 1980s so it can be said that they represent a new technology. The function of lasers is based on ablation which requires water. Erbium lasers have shown the highest potential with their ability to produce effective ablation of hard dental tissues. Laser application in dentistry requires special training as well as some protective measures. Laser advantages, compared to traditional preparation techniques, involve the absence of vibration, painless preparation, possibility of preparation without anesthetic and easier patient's adjustment to dental intervention which is of importance, especially in pediatric dentistry.

Keywords: cavity preparation; rotating instruments; polymer "smart borers"; laser

Примљен • Received: 05/07/2012

Прихваћен • Accepted: 07/12/2012

Акутно оштећење бубрега код деце

Амира Пецо-Антић^{1,2}, Душан Париповић²

¹Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

²Нефролошко одељење, Универзитетска деčја клиника, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Акутно оштећење бубрега (АОБ) је последица наглог смањења (за више од 25%) или престанка функције бубрега. Овај термин заменио је ранији назив „акутна инсуфицијенција бубрега“, јер је доказано да и мали степен АОБ може проузроковати далекосежне последице по здравље људи. Савремене класификације АОБ се заснивају на промени нивоа креатинина у серуму и диурезе. У развијеним земљама АОБ најчешће настаје због реналне исхемије, нефротоксина и сепсе, а не због (примарних) дифузних болести бубрега, као што су гломерулонефритис, интерстицијски нефритис, реноваскуларне болести и хемолитичко-уремички синдром. Главни фактори ризика за АОБ изазвано у болничким условима су механичка вентилација, примена вазоактивних супстанци, трансплантација матичних ћелија и хиперволемија резистентна на диуретике. Преренално АОБ и паренхимско АОБ (раније познато као акутна тубулска некроза) заједно чине две трећине свих узрока АОБ. Одређивање диурезе и концентрације креатинина у серуму нису рани показатељи АОБ. Потенцијални рани биомаркери АОБ су: липокалин везан за желатиназу неутрофила (NGAL), цистатин Ц, молекул-1 акутног оштећења бубрега (KIM-1) и интерлеукини 6, 8 и 18, те везујући протеин масних киселина у јетри (L-FABP). Рана дијагноза болести, пре пораста нивоа креатинина у серуму, важна је за правовремену терапију и излечење болесника. Лечење АОБ усмерено је на нормализацију водено-електролитног статуса, корекцију ацидозе и крвног притиска. С обзиром на то да је хиперволемија резистентна на диуретску и инотропну стимулацију удружена с лошим исходом, не треба одлагати почетак дијализе. Стопа смртности од АОБ је највећа код критично болесне деце која имају слабост више органа и код хемодинамски нестабилних болесника.

Кључне речи: акутно оштећење бубрега; акутна тубулска некроза; деца

УВОД

Акутно оштећење бубрега (АОБ) је клиничко стање које је последица наглог, потенцијално реверзибилног смањења или престанка функције бубрега, које се развија током 48 часова од штетног дејства на оба бубрега или на једини функционалан бубрег. Овај термин је заменио ранији, крајње рестриктиван назив „акутна инсуфицијенција бубрега“, јер је доказано да и мали степен АОБ може проузроковати далекосежне последице по здравље људи [1, 2]. Повећање концентрације креатинина у серуму од само 26,5 $\mu\text{mol/l}$ (0,3 mg/l) код деце са декомпензованом слабошћу срца повећава ризик од смртог исхода седам пута [2].

Савремене класификације АОБ (RIFLE и AKIN) заснивају се на промени нивоа креатинина у серуму и диурезе у односу на њихове почетне, односно нормалне вредности [3, 4]. Значајна модификација критеријума AKIN у односу на класификацију RIFLE укључује следеће: а) критеријуми исхода – губитак функције и терминална инсуфицијенција бубрега (ТИБ) – не наводе се, а тежина АОБ се означава стадијумима од 1 до 3; б) стадијум 1 је проширен увођењем повећања нивоа креатинина у серуму за најмање 0,3 mg/dl (26,5 $\mu\text{mol/l}$) онда када је повећање креатинина у серуму мање од 50% у односу на његове почетне вредности; в) временски

интервал за прву процену било којег стадијума АОБ је 48 сати; и г) болесници лечени било којим видом замене функције бубрега сврставају се међу болеснике с обољењем стадијума 3 без обзира на вредности креатинина у серуму или диурезе [5]. За децу се користе модификовани критеријуми *pRIFLE* и *AKIN* (Табела 1) [5, 6], а функција бубрега се процењује на основу концентрација креатинина у серуму или израчунатог клиренса креатинина по Шварцовој (*Schwartz*) формули [7]. Тежина АОБ се означава скоровима зависно од повећања нивоа креатинина у серуму (стадијум 1, 2 или 3), односно смањења клиренса креатинина (ризик <25%; оштећење <50%; слабост <75%). Слабост бубрега која траје дуже од три недеље, односно четири месеца означава се као губитак функције бубрега, односно као ТИБ.

ЕПИДЕМИОЛОГИЈА

Епидемиологија АОБ код деце зависи од узраста, од тога да ли је испитана у општој педијатријској популацији (оАОБ) или код хоспитализованих болесника (хАОБ), те од региона и временског раздобља у којем је изучавана. Највећа је у првом месецу, односно у првој години по рођењу, тј. прогресивно се смањује са повећањем узраста детета [8]. У неразвијеним земљама инциденција

Correspondence to:

Amira PECO-ANTIĆ
Univerzitetска деčја клиника
Tiršova 10, 11000 Beograd
Srbija
amirapecoantic@yahoo.com

Табела 1. Класификације акутног оштећења бубрега код деце [5, 6]
Table 1. Classification of acute kidney injury in children [5, 6]

Класификација Радне групе за акутно оштећење бубрега (AKIN) Acute Kidney Injury Network classification (AKIN)	Критеријуми за креатинин у серуму Serume creatinine criteria	Критеријуми за диурезу Urine output criteria
Стадијум 1 Stage 1	$\geq 0,3 \text{ mg/dl}$ ($26,5 \text{ }\mu\text{mol/l}$) или пораст $1,5\text{--}1,99 \times$ базални $\geq 0,3 \text{ mg/dl}$ ($26,5 \text{ }\mu\text{mol/l}$) or increased $1.5\text{--}1.99 \times$ basal	$< 0,5 \text{ ml/kg/h}$ за 6 часова $< 0.5 \text{ ml/kg/h}$ during 6 hours
Стадијум 2 Stage 2	$\geq 2\text{--}2,99 \times$ базални $\geq 2\text{--}2.99 \times$ basal	$< 0,5 \text{ ml/kg/h}$ за 12 часова $< 0.5 \text{ ml/kg/h}$ during 12 hours
Стадијум 3 Stage 3	$\geq 3 \times$ базални или $\geq 4 \text{ mg/dl}$ ($354 \text{ }\mu\text{mol/l}$) с акутним порастом од најмање $0,5 \text{ mg/dl}$ ($44 \text{ }\mu\text{mol/l}$) $\geq 3 \times$ basal or $\geq 4 \text{ mg/dl}$ ($354 \text{ }\mu\text{mol/l}$) with acute rise of $\geq 0.5 \text{ mg/dl}$ ($44 \text{ }\mu\text{mol/l}$)	$< 0,3 \text{ ml/kg/h}$ за 24 часа или анурија за 12 часова $< 0.3 \text{ ml/kg/h}$ during 24 hours or anuria during 12 hours
Педијатријска модификација RIFLE (pRIFLE) Pediatric RIFLE (pRIFLE)	Критеријуми за израчунати клиренс креатинина Estimated glomerular filtration rate criteria	Критеријуми за диурезу Urine output criteria
Ризик Risk	Смањен за 25% Decreased $> 25\%$	$< 0,5 \text{ ml/kg/h}$ за 8 часова $< 0.5 \text{ ml/kg/h}$ during 8 hours
Оштећење Injury	Смањен за 50% Decreased $> 50\%$	$< 0,5 \text{ ml/kg/h}$ за 16 часова $< 0.5 \text{ ml/kg/h}$ during 16 hours
Слабост Failure	Смањен за 75% или $< 35 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ Decreased $> 75\%$ or $< 35 \text{ ml/min/1.73 m}^2$	$< 0,3 \text{ ml/kg/h}$ за 24 часа или анурија за 12 часова $< 0.3 \text{ ml/kg/h}$ during 24 hours or anuria during 12 h
Губитак Loss	Стална слабост дуже од четири недеље Complete loss for more than four weeks	
Терминална инсуфицијенција бубрега End-stage renal disease	Стална слабост дуже од четири месеца Complete loss for more than four months	

оАОБ је већа од инциденције хАОБ, а узроци су најчешће инфекције (попут тропских инфекција маларије и лептоспирозе), гастроинтестинални дијарејални поремећаји, штетни утицаји спољашње средине (уједи змија) и акутни гломерулонефритис [9, 10]. У развијеним земљама инциденција хАОБ је вишеструко већа код болесника који се болнички лече; у јединицама интензивне неге (ЈИН) учесталост АОБ је 2,5–4,5% [11, 12], а код критично болесне деце која су на механичкој вентилацији и примају барем један вазоактивни лек она достиже 82% [5]. Инциденција најтежих облика АОБ, због којих је потребна примена дијализе, код критично болесне деце је 10–15% [6, 8], а код деце која су подвргнута кардиопулмоналној операцији 5–33%, зависно од тежине примарне болести, односно операције која се примењује [13]. За разлику од периода пре двадесет и више година, када су најзначајнији узроци били хемолитичко-уремијски синдром (ХУС), друге примарне болести бубрега, сепса и опекотине [14, 15], данас у развијеном делу света АОБ најчешће настаје због реналне исхемије, нефротоксина, сепсе, тј. последица је системске болести или њеног лечења, а не примарне болести бубрега [8, 16, 17, 18]. Учесталост АОБ стеченог у болничким условима, а нарочито у ЈИН, у периоду 1980–2004. године повећала се више од девет пута, највероватније услед интензивнијег лечења критично болесне деце [17]. Главни фактори ризика за АОБ су механичка вентилација, употреба вазоактивних супстанци, трансплантација матичних ћелија и хиперволемија резистентна на диуретике [19]. АОБ после примене контрастних радиолошких процедура је често код хоспитализованих болесника [20].

ВРСТЕ АКУТНОГ ОШТЕЋЕЊА БУБРЕГА

Према вредностима диурезе, АОБ се дели на олигуријско (диуреза $< 1 \text{ ml/kg/h}$ код деце млађе од годину дана, а $< 0,5 \text{ ml/kg/h}$ код старије деце) и неолигуријско (очувана диуреза, јавља се код око 20% АОБ), а према етиопатогенези на преренално, ренално и постренално (Табела 2). Преренално АОБ је патофизиолошки подељено на фазу хипоперфузије и фазу успостављене исхемије бубрега. Захваљујући васкуларним и ћелијским механизмима адаптације, интегритет ћелија и функције тубула су очувани током пререналне азотемије. Ренално АОБ одликује морфолошко и функционално оштећење бубрега. Настаје услед дејства нефротоксичних или исхемијских етиолошких агенаса и других дифузних паренхимских болести бубрега (гломерулонефритиси, реноваскуларне болести, тромботичка микроангиопатија, тубулоинтерстицијумски нефритиси, итд). Најчешћи представник (90%) реналног АОБ је паренхимско АОБ, у којем ренална исхемија или нефротоксини изазивају морфолошко и функционално оштећење тубула, због чега је традиционално познато под називом „акутна тубулска некроза“. Преренално и паренхимско АОБ заједно доприносе две трећине свих узрока АОБ код деце.

Исхемијско-паренхимско акутно оштећење бубрега

Исхемијско-паренхимско АОБ је најчешћи облик реналног АОБ код деце. Резултат је сложеног процеса у

Табела 2. Подела акутног оштећења бубрега према етиопатогенези
Table 2. Classification of acute kidney injury based on etiopathogenesis

Акутно оштећење бубрега Acute kidney injury	Подела Classification
Преренално (хипоперфузија бубрега), код 60% болесника Prerenal (renal hypoperfusion), in 60% of patients	Хиповолемија због екстрареналних губитака (гастроинтестинални губици, опекотине, крварења, трећи простор) и реналних губитака (<i>diabetes insipidus</i> , реналне тубулске болести) Hypovolemia due to extrarenal losses (gastrointestinal loss, burn, bleeding, third space) and renal losses (<i>diabetes insipidus</i> , renal tubular disorders)
	Смањен минутни волумен срца (слабост срца, перикардитис, кардијална тампонада) Decreased cardiac output (heart failure, pericarditis, cardiac tamponade)
	Хипоалбуминемија (акутна фаза нефротског синдрома, инсуфицијенција јетре) Hypoalbuminemia (acute phase of nephrotic syndrome, liver failure)
Ренално, код 35% болесника Renal, in 35% of patients	Паренхимско акутно оштећење бубрега Parenchymal acute kidney injury
	Хемолитичко-уремијски синдром Hemolytic uremic syndrome
	Гломерулонефритис/рапидно прогресивни гломерулонефритис (постинфективни гломерулонефритис, лупус нефритис, Хенох–Шенлајнов нефритис, мембранопролиферативни гломерулонефритис, <i>IgA</i> нефропатија, грануломатозни полиангиитис, микроскопски полиангиитис, Гудпастуров синдром) Glomerulonephritis/rapid progressive glomerulonephritis (postinfective glomerulonephritis, lupus nephritis, Henoch–Schönlein nephritis, membranoproliferative glomerulonephritis, <i>IgA</i> nephropathy, granulomatosis with polyangiitis, microscopic polyangiitis, Goodpasture syndrome)
	Тубулоинтерстицијски нефритиси Tubulointerstitial nephritis
	Реноваскуларно обољење – оба бубрега или солитарног бубрега (стеноза, ренална или артеријска венска тромбоза) Renovascular diseases, bilateral or in solitary kidney (stenosis, renal or arterial venous thrombosis)
	Тромботичка микроангиопатија Thrombotic microangiopathy
Постренално (опструкција), код 5% болесника Postrenal (obstruction), in 5% of patients	Опструкција солитарног бубрега (урођена стеноза, нефролитијаза, крварење, тумор) Solitary kidney obstruction (congenital stenosis, nephrolithiasis, bleeding, tumor)
	Обострана опструкција уретера (тумор, калкулус) Bilateral ureteral obstruction (tumor, calculus)
	Опструкција уретре (валвула, фимоза, тумор, стеноза, после операције) Urethral obstruction (posterior valve, phimosis, tumor, stenosis, after surgery)
	Опструкција бешике (камен, крвни угушци, неурогена бешика, тумор) Bladder outlet obstruction (calculus, blood clots, neurogenic bladder, tumor)

којем су поремећена ренална хемодинамика (ренална хипоперфузија и хипоксија), оштећење тубула и запаљење међусобно снажно условљени. Мада је оштећење тубула главни догађај у исхемијско-паренхимском АОБ, све је већи број доказа да додатни механизми, укључујући оштећење и дисфункцију васкуларног ендотела, доприносе патогенези овог облика АОБ [21]. С клиничког становишта, паренхимско АОБ се може поделити на почетну и екстензивну фазу исхемије, фазу одржавања и фазу опоравка. Почетна фаза настаје када иницијални исхемијски догађај доведе до критичног смањења аденозинтрифосфата у ћелијама тубула бубрега с последичним брзим развојем деструктивних структурних, функционалних и инфламаторних промена. Ћелије тубула пролазе кроз деполаризацију, латална или сублатална оштећења цитоскелета, одвајају се од базалне мембране и могу да запуше лумен тубула. Ове промене су највише испољене у S1–S3 сегменту проксималних тубула, метаболички најактивнијем и, према потрошњи кисеоника, најзахтевнијем делу тубула. Активација епителних и ендотелних ћелија у раној почетној фази стимулише активност хемокина и цитокина, попут интерлеукина (*IL-1*, *IL-6*, *IL-8*), хемотактичних цитокина (*MCP-1*, *IL-8* и *RANTES*) и туморског фактора некрозе алфа (*TNF-α*), што доводи

до развоја инфламационе каскаде на месту исхемије. У екстензивној фази, мада је престао почетни исхемијски догађај, настављају се исхемија и запаљење са даљим пропадањем тубулских ћелија некрозом или апоптозом и погоршањем јачине гломерулске филтрације [21]. Ови догађаји су највише испољени у кортикомедуларној регији, а доминантно су погођене ћелије S3 сегмента проксималних тубула и ћелије дебелог сегмента узлазног крака Хенлеове петље. Кључну улогу у екстензивној фази има васкуларни ендотел малих крвних судова који, услед хипоксије, губи нормалне функције [21]. Последице тога су поремећај васкуларне реактивности са конгестијом перитубулских капиlara у медули бубрега, повећана васкуларна пермеабилност с развојем хемоконцентрације и интерстицијског едема, повећана адхеренција и екстравазација леукоцита и поремећај коагулације с настанком тромбоза и стимулацијом запаљења. Реперфузиони, оксидоредукциони процеси преко хидроген-пероксида, супероксида, реактивних хидрогених радикала и пероксинитрита, такође доприносе оштећењу ткива. За време фазе одржавања ћелије пролазе кроз фазу дедиференцијације, миграције и пролиферације. У фази опоравка се редиференцијацијом и реполаризацијом успоставља ћелијски и функционални интегритет тубулских ћелија.

Паренхимско акутно оштећење бубрега услед дејства нефротоксина

Различити нефротоксични лекови могу изазвати паренхимско АОБ зависно од узраста детета, фармакокинетики, основне болести, дозе и удружене терапије (Табела 3) [22]. АОБ као последица нефротоксина бележи се у 16% свих облика АОБ код деце, а чешће је код деце старијег узраста и адолесцената. Најчешћи узроци су нестероидни антиинфламаторни лекови, антибиотици, амфотерицин Б, антивирусни лекови, инхибитори ангиотензин-конвертирајућег ензима, блокатори калцијумских канала, контрастна средства и цитостатици. За оштећење бубрега су одговорни: констрикција интраареналних крвних судова, оштећење тубулских ћелија, акутни интерстицијумски нефритис и опструкција тубула. Може настати и због рабдомиолизе. Главна терапијска мера је обустава примене нефротоксичног лека. Уз то се врши одговарајућа корекција водено-електролитног дисбаланса. Неуслађени су ставови у погледу ефикасности *N*-ацетилцистеина у превенцији нефропатије изазване радиолошким контрастним средством [23, 24]. Најбоља превенција овог облика нефропатије постиже се интензивном рехидратацијом физиолошким раствором. У лечењу интерстицијумског нефритиса могу се применити кортикостероиди, мада њихова корист није потврђена рандомизираним контролисаним студијама. У већини случајева нефротоксично АОБ је потпуно или делимично реверзibilно.

КЛИНИЧКА СЛИКА АКУТНОГ ОШТЕЋЕЊА БУБРЕГА

Клиничка слика АОБ зависи од основног обољења и тежине АОБ, односно од водено-електролитног поремећаја и азотемије. Чести су: хиперволемија и артеријска хипертензија, хиперкалијемија, хипокалцемија, хиперфосфатемија и метаболичка ацидоза. Код болесника с најтежим облицима АОБ бележе се: хипотермија, хипотензија, хемодинамска нестабилност која слабо реагује на вазопресорне лекове, олигоанурија која не одговара на диуретику, хиперволемија са више од 10% повећања целокупне воде у телу и врло често дисфункција више органа.

ДИЈАГНОЗА АКУТНОГ ОШТЕЋЕЊА БУБРЕГА

Традиционално се АОБ дијагностикује одређивањем диурезе и концентрација креатинина у серуму, који, нажалост, нису поуздани показатељи АОБ из следећих разлога: а) олигурија није обавезан знак АОБ јер је оно у више од 25% случајева неолигуријско; б) ниво креатинина у серуму може да варира у зависности од узраста, пола, мишићне масе, метаболизма и статуса хидратације детета; в) у првих 48 часова нивои креатинина у серуму новорођенчета одражавају мајчине вредности; г) концентрације креатинина у серуму се често неће променити до тренутка када је више од 50% функције бубрега изгубљено; д) при ниским нивоима гломерулске филтрације количина тубулске секреције

Табела 3. Механизам дејства нефротоксичних лекова [20]

Table 3. Nephrotoxic drugs mechanisms of action [20]

Патофизиолошки механизам Pathophysiologic mechanism	Лекови Drugs
Преренално акутно оштећење бубрега Prerenal acute kidney injury	НСАИЛ, АСЕ-инхибитори, циклоспорин А, норепинефрин, АТРБ, диуретици, интерлеукини, кокаин, митомоцин Ц, естроген, кинин NSAID, ACE inhibitors, cyclosporine A, norepinephrine, ARB, diuretics, interleukins, cocaine, mitomycin C, estrogen, kinin
Паренхимско акутно оштећење бубрега Parenchymal acute kidney injury	Антибиотици (аминогликозиди, цефалоспорици, амфотерицин Б, рифампицин, ванкомицин), НСАИЛ, контрастна средства, ацетаминофен, циклоспорин А, цисплатин, имуноглобулини <i>i.v.</i> , декстран, малтоза, тешки метали Antibiotics (aminoglycosides, cephalosporins, amphotericin B, rifampicin, vancomycin), NSAID, radiocontrast dye, acetaminophen, cyclosporine A, cisplatin, <i>i.v.</i> immunoglobulin, dextran, maltose, heavy metal
Акутни тубулоинтерстицијумски нефритис Acute tubulointerstitial nephritis	Антибиотици (ципрофлоксацин, метицилин, пеницилин Г, ампицилин, цефалоспорици, оксацилин, рифампицин), НСАИЛ, ацетилсалицилна киселина, фенопрофер, напроксен, фенилбутазон, контрастна средства, сулфонамиди, тиазиди, фенитоин, фуросемид, алопуринол, циметидин, омепразол, фениндион Antibiotics (ciprofloxacin, meticillin, penicillin G, ampicillin, cephalosporins, oxacillin, rifampicin), NSAID, acetylsalicylic acid, fenoprofen, naproxen, phenylbutazone, contrasts, sulfonamides, thiazides, fenotoin, furosemide, allopurinol, cimetidine, omeprazole, phenindione
Тубулска опструкција Tubular obstruction	Сулфонамиди, метотрекат, метоксифуран, глафенин, триамтерен, ацикловир, етилен-гликол, инхибитори протеаза Sulfonamides, metotrexate, metoxyflurane, glafenine, triamterene, acyclovir, ethylene glycol, protease inhibitors
Хиперсензитивни ангиитис Hypersensitive angitis	Пеницилин Г, ампицилин, сулфонамиди Penicillin G, ampicillin, sulfonamides
Тромботична микроангиопатија Thrombotic microangiopathy	Митомоцин, циклоспорин А, орална контрацептивна средства Mitomycin, cyclosporine A, oral contraceptives

НСАИЛ – нестероидни антиинфламаторни лекови; АСЕ – ангиотензин-конвертујући ензим; АТРБ – антагонисти рецептора 1 ангиотензина 2
NSAID – non-steroidal anti-inflammatory drugs; ACE – angiotensin-converting enzyme; ARB – angiotensin II receptor antagonist

креатинина се повећава, што доприноси прецењивању функције бубрега. Коначно, током акутних промена у гломерулској филтрацији нивои креатинина у серуму не описују тачно функцију бубрега док се не постигне стални еквilibrium, што захтева период од неколико дана. Експериментална испитивања на животињама су јасно показала да једино рана терапија, започета доста пре пораста концентрације креатинина у серуму, пружа добре изгледе трајног излечења болесника [25]. Потенцијални кандидати раних биомаркера АОБ су: липокалин везан за желатинозу неутрофила (NGAL), цистатин Ц, молекул-1 акутног оштећења бубрега (KIM-1), IL-6, IL-8 и IL-18 и везујући протеин масних киселина у јетри (L-FABP) [26-30].

ЛЕЧЕЊЕ

Болесници са благим АОБ се могу лечити у локалним болницама уз консултацију с дечјим нефрологом. Индикације за пријем у регионални центар су олигоанурија, хипертензија, хиперкалијемија, хипонатремија, ацидоза, потреба за трансфузијом крви, односно потреба за брзом дијагностиком (биопсија бубрега) и заменом функције бубрега дијализом [31, 32, 33]. Новорођенчад и прематуре са АОБ треба увек упутити у регионални центар [34]. Болесници с инсуфицијенцијом више органа се лече у ЈИН [33].

Почетна терапија је усмерена на нормализацију водено-електролитног статуса, корекцију ацидозе, хипокалцемије, хиперфосфатемије и крвног притиска. Што пре треба отклонити примарни узрок АОБ, успоставити перфузију бубрега, поспешити оксигенацију, лечити инфекцију и успоставити одговарајућу исхрану коју треба прилагодити узрасту детета, степеном катаболизма, удруженим болестима, нутритивном статусу и модалитетима дијализе. Најбоља исхрана је ентерална, али ако она није могућа, врши се одговарајућа парентерална исхрана.

Најуспешнија је терапија која се започне у првим сатима развоја АОБ [19, 33]. Дијализа се примењује када интензивне конзервативне мере нису у стању да контролишу хиперволемију, хиперкалијемију, метаболичку ацидозу и азотемију, односно ако је АОБ последица дејства дијализабилног токсина. Предности и недостаци појединих типова дијализе су приказани у табели 4. Континуирана дијализа (перитонеална или хемодијафилтрација) олакшава контролу водено-електролитног дисбаланса, хемодинамског статуса и исхране ануричног болесника [29]. Мада се хемодијафилтрација и хемодијафилтрација све више користе код критичних болесника са сепсом и инсуфицијенцијом више органа, нису сасвим усаглашени ставови о њиховој користи у смањењу инфламаторних цитокина [35, 36].

НАДЗОР БОЛЕСНИКА

Током АОБ неопходно је брижљиво надгледати болесника, а надзор се за критичне болеснике најбоље врши у ЈИН. Ради процене стања хидратације, примењују се: праћење биланса течности из сата у сат (уносу-губици), свакодневно праћење промене телесне масе (првих дана два пута дневно), праћење индекса резистенције помоћу биоимпеданције, индекса колабирања доње шупље вене, односно централног венског и артеријског крвног притиска, као и централне и периферне телесне температуре. Електролитни и ацидобазни статус се процењује у почетку сваких шест сати, а затим једанпут дневно. Неопходна је свакодневна контрола хематолошког, кардијалног и неуролошког стања, као и чести прегледи мокраће [37].

ИСХОД ЛЕЧЕЊА

И поред савремене конзервативне и дијализне терапије, стопа морталитета од АОБ је и даље висока (25–79%) [13].

Табела 4. Предности појединих облика дијализе
Table 4. Advantages of particular dialysis modalities

Врста дијализе Type of dialysis	Континуирана замена функције бубрега Continuous renal replacement therapy	Перитонеумска дијализа Peritoneal dialysis	Интермитентна хемодијализа Intermittent hemodialysis
Континуирана Continuous	Да Yes	Да, код CAPD Yes, in CAPD	Не No
Хемодинамска стабилност Hemodynamical stability	Да Yes	Да Yes	Не No
Нормалан волуменски статус Normal volume status	Да Yes	Да Yes	Да, интермитентно Yes, intermittent
За примену потребна скупа опрема и обучен медицински тим Required expensive equipment and educated medical team	Да, примењује се у ЈПИН или центру за дијализу Yes, applied in PICU or hemodialysis center	Не No	Да, примењује се у центру за дијализу Yes, applied in dialysis center
Антикоагулантна терапија Anticoagulant therapy	Да (цитрат или хепарин) Yes (citrate or heparin)	Не No	Да (цитрат или хепарин) Yes (citrate or heparin)
Метаболичка контрола Metabolic control	Да Yes	Да Yes	Да, интермитентно Yes, intermittent
Могућа оптимална исхрана Possible optimal nutrition	Да Yes	Не No	Не No

CAPD – циклична перитонеумска дијализа; ЈПИН – јединица педијатријске интензивне неге
CAPD – continuous ambulatory peritoneal dialysis; PICU – pediatric intensive care unit

Највећа је код деце критичног стања која болују од инсуфицијенције више органа, имају сепсу, на механичкој су вентилацији и код хемодинамски нестабилних, хиперволемичних болесника [36].

Посебна пажња је данас усмерена на проучавање дугорочних компликација АОБ. Поремећаји функције бубрега се јављају код 40% преживеле дијализиране деце [18]; 56,8% преживе 3–5 година, а смртност је највећа у прве две године од развоја АОБ [38]. Највећа преваленција ТИБ (91%) се бележи код оних који су имали примарну бубрежну или уролошку болест [38, 39]. Метаанализа болесника са ХУС показала је морталитет у 0–23% случајева, ТИБ у 0–17%, а комбиновани летални исход и ТИБ у 12% [40]. Учесталост резидуалне протеинурије била је 15%, а хипертензије 10% [40]. У целини, 25% преживелих после ХУС имало је реналне секвеле [40]. Слично је и са онколошким болесницима који су примили вишеструку нефротоксичну терапију. Код 25,2% преживеле деце (од 108) утврђени су поремећаји бубрега или хипертензија [41]. У другој студији скоро половина болесника имала је бар један знак хроничне болести бубрега са смањеном или повећаном јачином гломерулске филтрације [42]. Такође, код 41% болесника после трансплантације матичних ћелија јавља се оштећење бубрега након прве године,

код 31% након друге, а код 11% након седме године [43]. Чак 27% болесника има хроничну болест бубрега после десет година од трансплантације матичних ћелија и тоталне зрачне терапије [44]. Из наведених чињеница јасно проистиче да је неопходно дуготрајно клиничко праћење болесника којима је у детињству дијагностиковано АОБ.

ЗАКЉУЧАК

АОБ код деце најчешће настаје због реналне исхемије, нефротоксина и сепсе, тј. последица је системске болести или њеног лечења, а не примарне болести бубрега. Стопа смртности од АОБ је висока код критично болесне деце која болују од инсуфицијенције више органа или сепсе, која су на механичкој вентилацији, као и код хемодинамски нестабилних, хиперволемичних болесника. Рана дијагноза болести, пре повећања нивоа креатинина у серуму, важна је за правовремену терапију и излечење болесника. Нови биомаркери АОБ помажу у постављању ране дијагнозе АОБ и правовременом лечењу деце од овог обољења. Неопходно је дуготрајно праћење функције бубрега код преживелих болесника.

ЛИТЕРАТУРА

- Kellum JA, Levin N, Bouman C, Lameire N. Developing a consensus classification system for acute renal failure. *Curr Opin Crit Care*. 2002; 8:509-14.
- Price JF, Mott AR, Dickerson HA, Jefferies JL, Nelson DP, Chang AC, et al. Worsening renal function in children hospitalized with decompensated heart failure: evidence for a pediatric cardiorenal syndrome? *Pediatr Crit Care Med*. 2008; 9:279-84.
- Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P; Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. Acute renal failure – definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care*. 2004; 8:R204-12.
- Bagga A, Bakaloglu A, Devarajan P, Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, et al. Acute Kidney Injury Network. Improving outcomes from acute kidney injury: report of an initiative. *Pediatr Nephrol*. 2007; 22:1655-8.
- Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care*. 2007; 11:R31.
- Akcan-Arikan A, Zappitelli M, Loftis L, Washburn K, Jefferson L, Goldstein S. Modified RIFLE criteria in critically ill children with acute kidney injury. *Kidney Int*. 2007; 71:1028-35.
- Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children and adolescents. *Pediatr Clin North Am*. 1987; 34:571-90.
- Hui-Stickle S, Brewer ED, Goldstein SL. Pediatric ARF epidemiology at a tertiary care center from 1999 to 2001. *Am J Kidney Dis*. 2005; 45:96-101.
- Olowu WA, Adelusola KA. Pediatric acute renal failure in southwestern Nigeria. *Kidney Int*. 2004; 66:1541-8.
- Sinha R, Nandi M, Tullus K, Marks SD, Taraphder A. Ten-year follow-up of children after acute renal failure from a developing country. *Nephrol Dial Transplant*. 2009; 24:829-33.
- Medina VA, Lopez-Herce CJ, Lopez FY, Anton GM, Concha TA, Rey GC, et al. Acute renal failure in critically ill children. A preliminary study. *An Pediatr (Barc)*. 2004; 61:509-14.
- Bailey D, Phan V, Litalien C, Ducruet T, Merouani A, Lacroix J, et al. Risk factors of acute renal failure in critically ill children: A prospective descriptive epidemiological study. *Pediatr Crit Care Med*. 2007; 8:29-35.
- Pedersen KR, Povlsen JV, Christensen S, Pedersen J, Hjortholm K, Larsen SH, et al. Risk factors for acute renal failure requiring dialysis after surgery for congenital heart disease in children. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2007; 51:1344-9.
- Andreoli SP. Acute renal failure. *Curr Opin Pediatr*. 2002; 14:183-8.
- Flynn JT. Choice of dialysis modality for management of pediatric acute renal failure. *Pediatr Nephrol*. 2002; 17:61-9.
- Williams DM, Sreedhar SS, Mickell JJ, Chan JC. Acute kidney failure: a pediatric experience over 20 years. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2002; 156:893-900.
- Vachvanichsanong P, Dissaneewate P, Lim A, McNeil E. Childhood acute renal failure: 22-year experience in a university hospital in southern Thailand. *Pediatrics*. 2006; 118:e786-91.
- Ball EF, Kara T. Epidemiology and outcome of acute kidney injury in New Zealand children. *J Paediatr Child Health*. 2008; 44: 642-6.
- Bresolin N, Silva C, Hallal A, Toporovski J, Fernandes V, Góes J, et al. Prognosis for children with acute kidney injury in the intensive care unit. *Pediatr Nephrol*. 2009; 24:537-44.
- Nash K, Hafeez A, Hou S. Hospital-acquired renal insufficiency. *Am J Kidney Dis*. 2002; 29:930-6.
- Suthon TA, Fisher CJ, Molitoris BA. Microvascular endothelial injury and dysfunction during ischemic acute renal failure. *Kidney Int*. 2002; 62:1539-49.
- Ludwig P. Nephrotoxicity as a cause of acute kidney injury in children. *Pediatr Nephrol*. 2008; 23:2159-73.
- McCullough PA. Contrast-induced acute kidney injury. *J Am Coll Cardiol*. 2008; 51:1419-28.
- Investigators ACT. Acetylcysteine for prevention of renal outcomes in patients undergoing coronary and peripheral vascular angiography: main results from the randomized Acetylcysteine for Contrast-induced nephropathy Trial (ACT). *Circulation*. 2011; 124:1250-9.
- Coca SG, Parikh CR. Urinary biomarkers for acute kidney injury: perspective on translation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008; 3:481-90.
- Al Ismaili Z, Palijan A, Zappitelli M. Biomarkers of acute kidney injury in children: discovery, evaluation, and clinical application. *Pediatr Nephrol*. 2011; 26:29-40.
- Du Y, Zappitelli M, Milan A, Bennett M, Ma Q, Devarajan P, et al. Urinary biomarkers to detect acute kidney injury in the pediatric emergency center. *Pediatr Nephrol*. 2011; 26:267-74.

28. Portilla D, Dent C, Sugava T, Nagothu KK, Kundi I, Moore P, et al. Liver fatty acid-binding protein as a biomarker of acute kidney injury cardiac surgery. *Kidney Int.* 2008; 73:465-72.
29. Basu RK, Chawia LS, Wheeler DS, Goldstein SL. Renal angina: an emerging paradigm to identify children at risk for acute kidney injury. *Pediatr Nephrol.* 2012; 27:1067-78.
30. Ivanišević I, Peco-Antić A, Vuličević I, Hercog Đ, Milovanović V, Kotur-Stevuljević J, et al. L-FABP can be an early marker of acute kidney injury in children. *Pediatr Nephrol.* 2013; 28:963-9.
31. Paripović D, Kostić M, Krušić D, Spasojević B, Lomić G, Marković-Lipkovski J, et al. Indications and results of renal biopsy in children: a 10-year review from a single center in Serbia. *J Nephrol.* 2012; 25:1054-9.
32. Peco-Antić A. Akutno oštećenje bubrega. In: Bogdanović R, Radlović N, editors. *Pedijatrijska škola Srbije, Zbornik predavanja.* Beograd: Udruženje pedijatara Srbije; 2012. p.169-174.
33. Strazdins V, Watson AR, Harvey B. Renal replacement therapy for acute renal failure in children: European Guidelines. *Pediatr Nephrol.* 2004; 19:199-207.
34. Pejović B, Peco-Antić A, Dunjić R. Acute oliguric renal failure in hypoxic neonates born at full term. *Srp Arh Celok Lek.* 2002; 130:367-70.
35. Ronco C, Ricci Z, Bellomo R. Importance of increased ultrafiltration volume and impact on mortality: sepsis and cytokine storm and the role of continuous veno-venous hemofiltration. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2001; 10:755-61.
36. Goldstein S, Currier H, Graf C. Outcome in children receiving continuous venovenous hemofiltration. *Pediatrics.* 2001; 107:1309-12.
37. Peco-Antić A. Akutna insuficijencija bubrega. In: *Pedijatrija.* Beograd: Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu; 2010. p.451-4.
38. Askenazi DJ, Feig DI, Graham NM, Hui-Stickle S, Goldstein SL. 3-5 year longitudinal follow-up of pediatric patients after acute renal failure. *Kidney Int.* 2006; 69:184-9.
39. Peco-Antić A, Bogdanović R, Paripović D, Paripović A, Kocev N, Golubović E, et al.; on behalf of the Serbian Pediatric Registry of Chronic Kidney Disease (SPRECKID). Epidemiology of chronic kidney disease in children in Serbia. *Nephrol Dial Transplant.* 2012; 27:1978-84.
40. Garg AX, Suri RS, Barrowman N, Rehman F, Matsell D, Rosas-Arellano MP, et al. Long-term renal prognosis of diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *JAMA.* 2003; 290:1360-70.
41. Arjmandi-Rafsanjani K, Hooman N, Vosoug P. Renal function in late survivors of Iranian children with cancer: single centre experience. *Indian J Cancer.* 2008; 45:154-7.
42. Jetton JG, Ocku F, Dreyer ZE, Goldstein SL. Pediatric cancer survivors are at high risk for CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2009; 20:748A.
43. Gronroos MH, Bolme P, Winiarski J, Berg UB. Long-term renal function following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 39:717-23.
44. Frisk P, Bratteby LE, Carlson K, Lonnerholm G. Renal function after autologous bone marrow transplantation in children: a longterm prospective study. *Bone Marrow Transplant.* 2002; 29:129-36.

Acute Kidney Injury in Children

Amira-Peco-Antić^{1,2}, Dušan Paripović²

¹School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

²Nephrology Department, University Children's Hospital, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Acute kidney injury (AKI) is a clinical condition considered to be the consequence of a sudden decrease (>25%) or discontinuation of renal function. The term AKI is used instead of the previous term acute renal failure, because it has been demonstrated that even minor renal lesions may cause far-reaching consequences on human health. Contemporary classifications of AKI (RIFLE and AKIN) are based on the change of serum creatinine and urinary output. In the developed countries, AKI is most often caused by renal ischemia, nephrotoxins and sepsis, rather than a (primary) diffuse renal disease, such as glomerulonephritis, interstitial nephritis, renovascular disorder and thrombotic microangiopathy. The main risk factors for hospital AKI are mechanical ventilation, use of vasoactive drugs, stem cell transplantation and diuretic-resistant hypervolemia. Prerenal and parenchymal AKI (previously known as acute tu-

bular necrosis) jointly account for 2/3 of all AKI causes. Diuresis and serum creatinine concentration are not early diagnostic markers of AKI. Potential early biomarkers of AKI are neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), cystatin C, kidney injury molecule-1 (KIM-1), interleukins 6, 8 and 18, and liver-type fatty acid-binding protein (L-FABP). Early detection of kidney impairment, before the increase of serum creatinine, is important for timely initiated therapy and recovery. The goal of AKI treatment is to normalize the fluid and electrolyte status, as well as the correction of acidosis and blood pressure. Since a severe fluid overload resistant to diuretics and inotropic agents is associated with a poor outcome, the initiation of dialysis should not be delayed. The mortality rate of AKI is highest in critically ill children with multiple organ failure and hemodynamically unstable patients.

Keywords: acute kidney injury; acute tubular necrosis; children

Упорна инфекција хуманим папилома вирусом у настанку карцинома грлића материце: улога имунолошких, генетских, вирусолошких и ћелијских фактора

Радомир Живадиновић¹, Александра Петрић¹, Горан Лилић¹, Векослав Лилић¹, Биљана Ђорђевић²

¹Клиника за гинекологију и акушерство, Клинички центар, Ниш, Србија;

²Институт за патологију, Клинички центар, Ниш, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Циљ овог рада био је да сагледа улогу хуманог папилома вируса (ХПВ) у карциногенези грлића материце с неколико аспекта. Кроз објашњење животног циклуса ХПВ и његове структуре приказан је његов утицај на ћелијски циклус и субверзију имунског одговора. Рана или Е регија овог вируса кодира протеине који су директно укључени у процес карциногенезе. Производ гена Е6 се везује за протеин p53 (који је производ тумор-супресорског гена TP53), блокира га и деградира, олакшава интеграцију вирусне ДНК, делује антиапоптозно, доводи до имортализације ћелија дејством на теломеразу, реагује и с протоонкогеном домаћина (c-jun) одговорним за транскрипцију, скраћује G1 фазу ћелијског циклуса и убрзава прелазак ћелија заражених ХПВ из фазе G1 у S фазу. Производ вирусног гена Е7 се везује за ретинобластомски протеин (pRB), који је производ тумор-супресорског гена RB, и инактивира га, може да учини неактивним инхибиторе циклуса p21 и p27 и поремети заштитни ефекат pRB и p53. Имуни систем не може да изазове рану имунолошку реакцију на вирус јер је вирус нелимитичан, а концентрација вирусних протеина – антигена мала и смештена првенствено у ћелији. Презентација преко Лангерхансових (Langerhans) ћелија је слаба, јер је број ових ћелија под утицајем ХПВ низак, а Е7 ХПВ смањује експресију Е-кадхерина, од којег зависи адхезија Лангерхансових ћелија за кератиноците трансформисане услед ХПВ. После свих разматрања представљених овим прегледним радом, може се закључити да су у процес карциногенезе грлића материце укључени: вирусолошки, генетски, ћелијски, молекуларнобиолошки, ендокрини, егзокрини и имунолошки фактори.

Кључне речи: хумани папилома вирус (ХПВ); цервикална карциногенеза; ћелијски циклус

УВОД

Повезаност инфекције хуманим папилома вирусом (ХПВ) с преканцерским и канцерским лезијама грлића материце први су описали патолози Кос (Koss) и Дарфи (Durfee) [1] 1956. године. Немачки професор Цур Хаузен (zur Hausen) је 2008. године добио Нобелову награду за откриће различитих типова вируса и објашњење њихове улоге у карциногенези [2]. Данас се зна да је ХПВ инфекција чврсто повезана с развојем карцинома грлића материце. Међутим, постоји неслагање између високе учесталости ХПВ инфекција код младих жена и релативно ретког јављања лезија грлића материце у овој популацији, што указује на то да ХПВ није једини узрок неоплазије грлића материце.

Праву распрострањеност ХПВ инфекција је тешко одредити јер су ове инфекције пролазне, а у великом проценту и латентне, без јасне клиничке презентације. Процењује се да ће 50–70% сексуално активних људи бити инфицирано с ХПВ најмање једном у животу. Укупна распрострањеност ХПВ у свету је 11,7–24% [3].

Дугачак период латенције између иницијалне ХПВ инфекције и појаве карцинома показује да само ХПВ није довољан за малигну трансформацију. За настанак карцинома грлића материце од првог ненормалног размаза потребно је некад и око 15 година. Очигледно је да су неопходни додатни фактори (пушење, пад имунитета, орални контрацептиви, авитаминоза), како би ћелије заражене овим вирусом прерасле у канцерогени фенотип [4].

Према данашњим схватањима, карцином грлића материце се развија кроз различите фазе лезија познате као интраепителне неоплазије цервикса (енгл. *cervical intraepithelial neoplasia* – CIN) и сквамозне интраепителне лезије (енгл. *squamous intraepithelial lesions* – SIL). Традиционално се сматрало да су CIN-1, CIN-2 и CIN-3 морфолошка и биолошка прогресија једног пренеопластичног континуума који током година прераста у инвазивни карцином. Теорије прогресије су углавном биле засноване на контролним прегледима Папаниколауовог бриса. Постојање лезија ниског степена (L-SIL) уз лезије високог степена (H-SIL) у истом делу ткива се такође сматрало директним доказом на-

Correspondence to:

Radomir ŽIVADINOVIĆ
Klinika za ginekologiju i
akušerstvo
Klinički centar Niš
Radoja Dakića 24, 18000 Niš
Srbija
zivadinovicrasa@gmail.com

предовања *SIL*. Међутим, неколико студија у којима се испитивало да ли такав континуум заиста постоји показало је да *H-SIL* може да се развије иницијално као лезија тешког степена и да није неопходно да му *L-SIL* претходи [5].

Морфолошки развој *SIL* није увек исти као биолошки због тога што су *SIL* које коегзистирају (*L-SIL* и *H-SIL*) изазване различитим типовима ХПВ, па стога представљају клонове различитих ћелија. Сматра се да су *L-SIL* и *H-SIL* две различите категорије промена с различитим потенцијалом за прогресију. То је засновано на чињеници да се 90% *L-SIL* спонтано повлачи. Чак и код жена с имуносупресијом које су позитивне на вирус хумане имунодефицијенције (*HIV*) *L-SIL* се ретко развије у теже лезије. Фактори ризика *L-SIL* и *H-SIL* се суштински разликују. Око 1% *CIN-1*, 5% *CIN-2* и 12% *CIN-3* прераста у инвазивне карциноме [6]. Неке студије су чак забележиле да ће се код једне до две трећине жена са *CIN-3* развити инвазивни карцином. Јасно је да тзв. преканцерогене лезије не следе праволинијски образац прогресије. Термин „преканцером“ је неодређен јер се користи за описивање изразито хетерогене групе правих и лажних преканцерозних лезија које се морфолошки не разликују. Лезије с истом цитолошком и хистолошком дијагнозом могу да покажу различито биолошко понашање. Важно је запамтити да је развој преканцерогених лезија у карцином, у ствари, редак исход ХПВ инфекције [5].

Разумевање природе ХПВ инфекције и фактора ризика за њен развој у интраепителну неоплазију је важно због бољег, индивидуалног оријентисаног терапијског приступа младим женама које нису завршиле репродукцију. Ово је веома битно јер непотребне преагресивне хируршке методе лечења у будућности могу повећати проценат превремених порођаја (20% превремених порођаја након конизације грлића материце) [7].

Већина ХПВ инфекција је пролазна и сматра се да само код жена које имају упорну ХПВ инфекцију повезану са специфичним типовима ХПВ може да се развије карцином грлића материце. Али ова два фактора (перзистенција и онкогени типови ХПВ) још нису довољни. Осим опстајања специфичних онкогених типова ХПВ, за развој карцинома грлића материце потребни су еколошки, генетски, биолошки и/или хормонски фактори који могу да изазову неповратну генотоксичност и размножавање ћелија [6].

Све је више доказа да оштећења ДНК имају пресудну улогу у трансформацији ћелија заражених ХПВ и могу да објасне клиничко понашање *CIN*. У нормалним условима ћелије могу да елиминишу оштећење ДНК или оштећене ћелије на различите начине, као што су поправка ДНК, заустављање ћелијског циклуса и апоптоза. Међутим, ћелијска ДНК налази се под сталним егзогеним и ендогеним генотоксичним стресом или факторима који доводе до акумулације оштећења ДНК и малигне трансформације [4].

Карцином је резултат вишеструких промена у генима који контролишу разне аспекте размножавања,

диференцијације или програмиране смрти ћелија. Другим речима, карцином представља неконтролисано размножавање ћелија којим се управља на нивоу молекула. Стога је разумевање механизма који контролишу ћелијски циклус од суштинског значаја за проучавање биологије папилома вируса [5].

УТИЦАЈ ХПВ НА ЋЕЛИЈСКИ ЦИКЛУС

Да би се разумело како то ХПВ утиче на ћелијски циклус, мора се познавати структура овог вируса, чији је геном организован у три посебне регије: рана, касна и некодирајућа регија. Рана или *E* регија (енгл. *early*) кодира протеине који су укључени у транскрипцију и репликацију вирусне ДНК, а може и да изазове трансформацију ћелије домаћина. Гени ове регије означени су као *E1-E8*. *E3*, *E5* и *E8* се обавезно налазе у свим геномима ХПВ. Касна или *L* регија (енгл. *late*) кодира структурне протеине вируса, и то у завршној фази стварања вируса. Ген *L1* кодира *L1* „главни протеин капсида“, који чини 80% вирусног омотача. Некодирајућа дугачка контролна регија или *LCR* (енгл. *long control region*) налази се између *L1* и *E6* региона, а одговорна је за контролу транскрипције и репликације нискохних секвенци ране регије [8].

E1 и *E2* гени преко својих производа учествују у репликацији вируса и контроли транскрипције. Када се ХПВ ДНК интегрише у ДНК домаћина, обично долази до прекида у гену *E2*, што ремети експресију *E6* и *E7*. Прекид у *E2* ствара ХПВ-измењене ћелије које могу да избегну апоптозу. Онкогени ХПВ имају *E2* који се налази и у једру и у цитоплазми, док је код бенигних само у једру [8].

E4 утиче на разградњу цитокератина и ослобађање вируса. *E5* може да активира епидермални фактор раста и инхибира експресију тумор-супресорског гена *p21*. Сматра се да само онкогени ХПВ типови кодирају *E5*.

E6 се везује за протеин *p53*, блокира га и деградира; такође олакшава интеграцију вирусне ДНК, има антиапоптозно дејство и активира теломеразу ћелија домаћина реагујући с протоонкогеном домаћина *c-myc*, чиме се спречава скраћивање теломера и продужава век ћелије [9]. Слично дејство има хламидија [10]. *E6* такође реагује с протоонкогеном домаћина (*c-jun*) одговорним за транскрипцију и на тај начин скраћује *G1* фазу ћелијског циклуса и убрзава прелазак ћелија заражених ХПВ из фазе *G1* у *S* фазу [11]. *TP53* се налази на 17. хромозому и помоћу других инхибирајућих циклина *p16*, *p27* и *p21* на контролним тачкама ћелијског циклуса *G1/S* и *G2/M* зауставља деобу инхибицијом фактора транскрипције *E2F*, омогућава поправку оштећења ДНК или преко *c-myc* и *bcl-2* изазива апоптозу.

E7 се везује за комплекс (који супримира раст) *RB-E2F*, заузима место *RB* и истискује *E2F* (транскрипциони фактор), чиме се супримира транскрипција циклина *D1*, који има улогу супресије раста. Самим тим се ослобађа *E2F*, који врши транскрипцију, и покрећу

се синтеза ДНК и пролиферација ћелија. Ретинобластомски тумор-супресорски протеин (*pRB*) је активан у хипофосфорилисаном облику, и то на прелазу фазе *G1* у *S* фазу ћелијског циклуса. На овај активан хипофосфорилисан облик управо делује *E7* и инактивира га, чиме омогућује улазак ћелије у *S* фазу. Осим тога, *E7* може да учини неактивним инхибиторе циклина *p21* и *p27*. *E6* и *E7* могу да повећају пластичност/гибкост генома, да поремете контролне тачке ћелијског циклуса уз губитак заштитног ефекта *pRB* и *p53* [12]. Нискоризични ХПВ-6 и ХПВ-11 *E7* протеини везују *pRB* с мањом ефикасношћу него високоризични ХПВ-16 и ХПВ-18 *E7* протеини. *H-SIL* са концентрацијом *p53* већом од 15% и концентрацијом *pRB* већом од 40% регретираће, тј. има добру прогнозу [13].

ЦИКЛИЧНИ ТОК ХПВ ИНФЕКЦИЈЕ И СУБВЕРЗИЈА ИМУНСКОГ ОДГОВОРА

Ради разумевања имунолошке реакције на вирус сем ћелијског циклуса домаћина, неопходно је познавати циклични ток ХПВ инфекције. ХПВ инфекција почиње везивањем вириона за ћелијске рецепторе (синдекан-хепарин сулфатирани протеини). Број ових рецептора се повећава код абразија, повреда, на месту зацељивања раница и на месту пролиферације кератиноцита. Након везивања за рецепторе вирус улази у ћелију домаћина клатрин-посредованим путем. У лизозомима базалних ћелија вирус одбацује омотач, инкорпорира се и дели заједно са ћелијом домаћина. Изврши се дистрибуција ДНК између ћерки ћелија, од којих једна мигрира ка површини, а друга остаје базално као резервоар вирусне ДНК.

За процес карциногенезе неопходна је перзистенција вируса која се дефинише као позитивност на вирус два или више пута у периоду који обично траје годину-две. Да би перзистенција била могућа, неопходна је инфекција базалног слоја (повреде, абразије, метаплазије); у супротном се ћелија инфицирана ХПВ у површним слојевима само десквамира.

Фазе ХПВ инфекције су:

- латентна фаза (непермисивна инфекција) – инфекција базалних ћелија које мирују, вирусна ДНК у слободном епизомалном стању, доказује се једино ХПВ типизацијом;
- супклиничка и клиничка фаза (пермисивна – продуктивна инфекција) – деоба и миграција ћелија ка површини уз цитопатогено дејство и инкапсидацију. Промене се откривају колпоскопијом и цитологијом, а у клиничкој фази су видљиве голим оком.

Продуктивна инфекција може имати два пута: експресија вирусних гена у више слојева епитела и дерегулисана инфекција с експресијом *E6* и *E7* у базалним слојевима [14].

ХПВ не изазива јак имунолошки одговор. Анти тела на капсиде протеина се јављају 6–12 месеци након инфекције [15]. Имуноски систем тако не може да

изазове рану имунолошку реакцију. Ћелије заражене ХПВ имају ниске нивое вирусних протеина – антигена који се налазе унутар ћелије. ХПВ вирус је не-литичан, напушта ћелију у површном слоју с мањим ћелијским поремећајима, али без виремије, те на тај начин и избегава имуноски систем. Концентрација *E5*, *E6* и *E7* протеина у базалним ћелијама је ниска да би их Т-лимфоцити препознали, а презентација преко Лангерхансових (*Langerhans*) ћелија (ЛЋ) слаба (јер је број ЛЋ, такође под утицајем ХПВ, мали). Сем тога, *E7* ХПВ смањује експресију Е-кадхерина, од којег зависи адхезија ЛЋ за ХПВ-трансформисане кератиноците, чиме се још више отежава презентација антигена ЛЋ, што на крају и доводи до опстанка вируса [16]. С друге стране, концентрација *IgA* је смањена и у оралној и вагиналној слузокожи код инфицираних ХПВ. Орална ХПВ се бележи код 37,14% болесника са гениталном инфекцијом и 4,2% без инфекције [17].

Сви претходно описани механизми имунолошке субверзије вирусом доводе до тога да је мали број вирусом инфицираних ћелија изложен имунолошком одговору, па су имунолошки фактори слузокоже врло значајни у одбрани. Контролу раста кератиноцита захваћених ХПВ инфекцијом контролишу цитокини – интерферони алфа и гама, туморски фактор раста бета, фактор некрозе тумора, интерлеукин 1. Међутим, ХПВ кодира протеине који врше субверзију и ових имуногенних фактора слузокоже, како би обезбедио упорну инфекцију. Механизми су следећи: *E6* и *E7* високоризичних вируса смањују експресију гена за интерфероне алфа и гама, коче производњу интерферона гама, који настаје под утицајем интерлеукина 18 (стимулише одговор Т помажућих ћелија), смањују број *MHC* молекула на површини ћелије, чиме се смањује цитотоксичност ћелија природних убица (*NK*-ћелија), активирају *P13-K* у ЛЋ и инхибирају њихову улогу.

ЗНАЧАЈ ГЕНЕТСКЕ ПРЕДИСПОЗИЦИЈЕ ЗА НЕПОВОЉНИ ИСХОД ХПВ ИНФЕКЦИЈЕ

У карциногенези, сем вирусолошких и имунолошких фактора, велики значај има и генетска предиспозиција: хетерозиготност, губитак отисака и систем репарације микросателита ДНК домаћина.

Губитак отисака је моноалелска експресија с утишавањем експресије алела једног родитеља или његовим јачим отиском. Тако је доказано да се експресија у нормалним ткивима фактора раста сличног инсулину (*IGF-II*) врши само преко очевих алела, док је код карцинома грлића материце заступљена биалелска експресија [18]. У прилог значају генетске предиспозиције домаћина говоре и подаци да је код жена с хуманим леукоцитним антигеном *HLA-DRB1*13* алела (који се среће у популацији до 29%) регресија интраепителних неоплазија била до 72% [19]. Све ово говори и о значају индивидуалне генетске предиспозиције у карциногенези.

Посматрајући све механизме којима ХПВ инфекција утиче на ћелију домаћина, може се закључити да је карциногенеза грлића материце комплексна и да зависи од неколико фактора. Какав ће крајни исход ова инфекција имати у карциногенези зависиће од фактора прогресије:

- постојање онкогенних ХПВ типова – више од 97% код карцинома;
- перзистентна и континуирана експресија;
- интеграција вирусне ДНК – није обавезна;
- вирусно оптерећење – количина ДНК вируса;
- хиперметилација вирусне ДНК;
- други егзогени и ендогени фактори: генетски, имунолошки, социоекономски, малнутриција, пушење, придружене инфекције, хронична запаљења, примена оралних контрацептивних средстава.

ЗНАЧАЈ ОТКРИВАЊА ХПВ У СКРИНИНГУ КАРЦИНОМА ГРЛИЋА МАТЕРИЦЕ

Ако је најважнији фактор цервикалне карциногенезе ХПВ инфекција, намеће се питање: Каква је онда улога откривања ХПВ током прегледа грлића материце за рак грлића материце?

Инциденција ХПВ инфекције до 30. године је висока. Због тога ХПВ типизација има ниску специфичност у откривању премалигних и малигних промена на грлићу материце, па се саветује њено коришћење тек након 35. године. Све се више говори о томе да и дијагностику и лечење *CIN* промена треба одложити након 25–30. године, јер и *CIN-II* позитивне промене имају другачији клинички ток код младих жена и већма често спонтано регресирају (што је у вези са биолошком и имунолошком природом ХПВ инфекције и перзистенцијом). С друге стране, ХПВ позитивност и након 30. године треба третирати као патолошки цитолошки налаз, јер је ризик од *CIN-II* позитивних промена 1:10. Ако код жена ове старосне доби уз ХПВ позитивност постоји и почетна цитолошка промена *ASCUS* (енгл. *atypical squamous cells undetermined significance*), ризик за *CIN-II* позитивност је већа од 25%, како се наводи у студији *ATHENA* [20]. ХПВ типизација има важно место у цитолошкој дијагностици грлића материце. Посебно је од велике помоћи у процени даљег приступа жена са граничним *ASCUS* размазом. Позитиван налаз ХПВ теста код жена са *ASCUS* размазом захтева активнији приступ у даљој дијагностици, јер се у 90% ХПВ позитивних *ASCUS* налаза биопсијом установи *CIN* [21].

Једно од најважнијих индикационих подручја ХПВ типизације јесте откривање рецидива *CIN* након лечења (конизације). Сензитивност цитолошке дијагностике, а поготово колпоскопије, након хируршких захвата на грлићу материце је значајно смањена. У прилог оваквој констатацији говори чињеница да је након операције у великом проценту прелазна зона недоступна прегледу (незадовољавајући колпоскопски налаз). С друге стране, ХПВ типизација има високу

сензитивност у откривању рецидива *CIN* од 90,47%, док је специфичност 93,3%. Ова сензитивност је већа и од цитолошке дијагностике, која износи 80,95% [22].

Посебан значај ХПВ типизација има у процени даљег лечења болесница код којих се након третмана *CIN* јављају позитивне ивице конуса. Ово је посебно важно јер је након поновне интервенције код више од 27,66% младих болесница налаз био нормалан. Примена ХПВ типизације смањује ризик од доношења погрешне одлуке и непотребног поновног хируршког захвата [23].

Друго питање које се намеће јесте: Да ли ће убудуће за процену ризика и дијагнозу *CIN* и карцинома грлића материце бити довољна само ХПВ типизација или ће она морати да се допуни још неким дијагностичким параметрима?

За одређивање ризика за развој карцинома грлића материце није довољно само постојање ХПВ, већ су потребни одређивање њеног типа, перзистенција и молекуларне околности ћелија домаћина. Управо зато клиничка искуства показују да лезије с истом цитолошком и хистолошком дијагнозом имају различито биолошко понашање. Тако стопа прогресије лезија изазваних ХПВ у тежи (виши) стадијум или инвазивни канцер може да буде 7–59% [24].

Карциногенеза је сложен, дуготрајан процес који не зависи само од дуготрајности инфекције, већ од вишеструких и узастопних оштећења ДНК изазваних сталним егзогеним и ендогеним стресовима на молекуларном нивоу. Управо на том нивоу треба трагати за биомаркерима који ће боље од саме ХПВ типизације утврдити биолошко понашање и трансформацију ћелија. Биомаркери које треба издвојити су: амплификација хуманог гена за теломеразу (*TERC*), инхибитор цикллина на прелазу из фазе *G1* у *S* фазу *p16INK4a*, *Ki-67*, пролиферативни ћелијски нуклеарни антиген (*PCNA*), *VEFG*, *p53*, *pRB*, *E6*, *E7*. Маркер *p16INK4a* је досад највише проучаван. Везивање *E7* за *pRB* врши његову деградацију. Пошто је *pRB* инхибитор *p16ink4a*, долази до повећања *p16ink4a*, који је маркер прогресије за *L-SIL*. Међутим, и *p16ink4a* има нека ограничења, јер може бити лажно позитиван код ендометријалних, метапластичних и атрофичних ћелија, па је зато важно погледати и цитоморфологију ћелија. Употреба овог маркера је лакша у хистологији него у цитологији. У хистологији је дифузна пребојеност епитела маркером *p16INK4A* довољан дијагностички параметар, за разлику од цитологије, где је неопходна индивидуална морфометријска анализа сваке ћелије. Комбиновање овог маркера с маркером пролиферације *Ki-67* (*CINtec*) повећава сензитивност и олакшава диференцијалну дијагнозу и у цитолошким препаратима.

ЗАКЉУЧАК

Цервикална карциногенеза је резултат дејства бројних фактора: онкогеног потенцијала ХПВ, утицаја ове инфекције на поремећај ћелијског циклуса, субверзије

ћелијских механизма репарације и апоптозе, имортализације и умножавања патолошки измењених ћелијских клонова, субверзије имунског одговора ћелије домаћина, генетске предиспозиције, као и многих других егзокриних и ендокриних фактора (малнутриција и недостатак пробетакаротена, пушење, коегзистентне инфекције – хламидија, хронична запаљења, број порођаја, број спонтаних и намерних побачаја, примена оралних контрацептивних средстава итд.).

Управо због оваквог мултифакторског дејства ХПВ, убудуће ће сем откривања овог вируса бити неопходан истовремени већи број допунских налаза (утврђивање биомаркера, инфективних агенаса, експресија специфичних гена, метилације, делеције и хетерозиготности) кроз образовање тзв. специфичних биочипова, који ће нам омогућити индивидуални приступ болесницима инфицираних овим вирусом и адекватну процену ризика од ХПВ инфекције.

ЛИТЕРАТУРА

- Koss LG, Durfee GR. Unusual patterns of squamous epithelium of the uterine cervix: cytologic and pathologic study of koilocytotic atypia. *Ann NY Acad Sci.* 1956; 63:1245-61.
- Friese K. Nobel Prize conferring to Professor H. zur Hausen. Recognition of the one frequently met with hostility. *MMW Fortschr.* 2008; 150:51-2.
- Lai B, Mireia D, Xavier C. HPV in women with normal cytology. *J Infect Dis.* 2010; 202(12):1789-99.
- Živadinović R, Lilić G, Petrić G. Recurrence of cervical intraepithelial neoplasias with negative cone margins: risk factors. *J BUON.* 2011; 16:498-504.
- Kiviat NB. Natural history of cervical neoplasia: overview and update. *Am J Obstet Gynecol.* 1996; 175:1099-104.
- Pinto AP, Crum CP. Natural history of cervical neoplasia: defining progression and its consequence. *Clin Obstet Gynecol.* 2000; 43:352-62.
- Živadinović R, Lilić V, Petrić A. Outcome of the pregnancies after uterine cervix conization. *Facta Universitatis.* 2007; 14:88-91.
- Blachon S, Bellanger S, Demert C, Thierry F. Nucleo-cytoplasmic shuttling of high risk human Papillomavirus E2 proteins induces apoptosis. *J Biol Chem.* 2005; 280:36088-98.
- Veldman T, Lu X, Yuan H, Schlegel R. Human papillomavirus E6 and Myc proteins associate in vivo and bind to and cooperatively activate the telomerase reverse transcriptase promoter. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003; 100:8211-6.
- Lii TT, Zhao LN, Liu ZG, Han Y, Fan DM. Regulation of apoptosis by the papillomavirus E6 oncogene. *World J Gastroenterol.* 2005; 11:931-7.
- Cordova-Alarcon E, Centeno F, Reyes-Esparza R, Garcia-Carranca A. Effects of HRAS oncogene on cell cycle progression in cervical cancer-derived cell line. *Arch Med Res.* 2005; 36:311-6.
- Song S, Gulliver GA, Lambert PF. Human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncogenes abrogate radiation-induced DNA damage responses in vivo through p63-dependent and p53-independent pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; 95:2290-5.
- Duensing S, Munger K. The human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins independently induce numerical and structural chromosome instability. *Cancer Res.* 2002; 62:7075-82.
- Živadinović R. Značaj tipizacije humanog papiloma virusa u praćenju pacijentkinja lečenih zbog intraepitelnih neoplazija grlića materice [doktorska disertacija]. Niš: Medicinski fakultet; 2009.
- Stanley M. Immune responses to human papillomavirus. *Vaccine.* 2006; 24(Suppl 1):S16-22.
- Caberg JH, Hubert PM, Begon DY, Herfs MF. Silencing of E7 oncogene restores functional E-cadherin expression in human papillomavirus 16-transformed keratinocytes. *Carcinogenesis.* 2008; 29:1441-7.
- Gonçalves AK, Giraldo P, Barros-Mazon SB, Gondo ML, Amaral RL, Jacyntho C. Secretory immunoglobulin A in saliva of women with oral and genital HPV infection. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006; 124:227-31.
- Wong YF, Cheung TH, Poon KY, Wang VW, Li JC, Lo KW, et al. The role of microsatellite instability in cervical intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol.* 2003; 89:434-9.
- Sastre-Garau X, Cartier I, Jourdan-Da Silva N, De Cremoux P, Lepage V, Charron D. Regression of low-grade cervical intraepithelial neoplasia in patients with HLA-DRB1*13 genotype. *Obstet Gynecol.* 2004; 104:751-5.
- Stoler MH, Wright TC Jr, Sharma A, Apple R, Gutekunst K, Wright TL; ATHENA (Addressing THE Need for Advanced HPV Diagnostics) HPV Study Group. High-risk human papillomavirus testing in women with ASC-US cytology: results from the ATHENA HPV study. *Am J Clin Pathol.* 2011; 135:468-75.
- Živadinović R, Lilić V, Djordjević B, Stanojević Z, Petrić A, Lilić G. The role of colposcopy and typization of human papillomavirus in further diagnostic proceedings in patients with ASC-US cytological finding of the uterine cervix. *Vojnosanit Pregl.* 2009; 66:651-5.
- Živadinović R, Lilić V, Djordjević B, Stanojević Z, Petrić A, Lilić G. The role of human papillomavirus typization and cytology in early detection of relapse of cervical intraepithelial neoplasia. *Vojnosanit Pregl.* 2011; 68:314-20.
- Živadinović R, Lilić V, Petrić A, Tubić A. Prognostic and therapeutic implication of residual tumorous tissue in cervix conization. *Vojnosanit Pregl.* 2007; 64:31-6.
- Insinga RP, Dasbach EJ, Elbasha EH. Epidemiologic natural history and clinical management of Human Papillomavirus (HPV) Disease: a critical and systematic review of the literature in the development of an HPV dynamic transmission model. *BMC Infect Dis.* 2009; 9:119-45.

Persistent Human Papillomavirus Infection in the Etiology of Cervical Carcinoma: The Role of Immunological, Genetic, Viral and Cellular Factors

Radomir Živadinović¹, Aleksandra Petrić¹, Goran Lilić¹, Vekoslav Lilić¹, Biljana Djordjević²

¹Clinic of Gynecology and Obstetrics, Clinical Center, Niš, Serbia;

²Institute for Pathology, Clinical Center, Niš, Serbia

SUMMARY

The aim of this paper was to present the role of human papillomavirus (HPV) in cervical carcinogenesis from several aspects. By explaining the HPV virus lifecycle and structure, its effect on cervical cell cycle and subversion of immune response can be better understood. Early E region of the viral genome encodes proteins that are directly involved in carcinogenesis. The E6 protein binds to p53 protein (product of tumor-suppressor gene) blocking and degrading it, which in turn prevents cell cycle arrest and apoptosis induction. E6 is also capable of telomerase activation, which leads to cell immortalization; it also reacts with host proto-oncogene c-jun, responsible for transcription, shortens G1 phase and speeds up the transition from G1 to S phase of the cells infected by HPV. E7 forms bonds with retinoblastoma protein (product of tumor-suppressor gene)

and inactivates it. It can inactivate cyclin inhibitors p21, p27, and abrogate the mitotic spindle checkpoint with the loss of protective effect of pRB and p53. The immune system cannot initiate early immunological reaction since the virus is non-lytic, while the concentration of viral proteins - antigens is low and has a basal intracellular position. Presentation through Langerhans cells (LC) is weak, because the number of these cells is low due to the effect of HPV. E7 HPV reduces the expression of E-cadherin, which is responsible for LC adhesion to HPV-transformed keratinocytes. Based on these considerations, it may be concluded that the process of cervical carcinogenesis includes viral, genetic, cellular, molecular-biological, endocrine, exocrine and immunological factors.

Keywords: human papillomavirus (HPV); cervical carcinogenesis; cell cycle

Примљен • Received: 24/01/2013

Прихваћен • Accepted: 17/06/2013

Повећање сигурности крви: анализа грешака у трансфузијској пракси

Невенка Бујандрић, Јасмина Грујић, Мирјана Крга-Милановић

Завод за трансфузију крви Војводине, Нови Сад, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Концепт сигурне трансфузије обухвата цео ланац трансфузијских догађаја, од прикупљања крви од даваоца крви до трансфузије крви и крвних производа болеснику. Поред управљања системом квалитета, овај концепт укључује и систематско праћење тешких нежељених и неочекиваних реакција код даваоца крви или примаоца трансфузије. Допринос концепту даје и надзор над догађајима који не представљају значајне грешке, али указују на критичне тачке у процесу рада.

Циљ рада Циљ рада били су приказ и анализа нежељених и неочекиваних догађаја у трансфузијској пракси који носе ризик по здравље даваоца крви и болесника.

Методе рада Изведена је ретроспективна једногодишња студија у којој су прикупљене, анализирани и интерпретирани пријаве грешака у Заводу за трансфузију крви Војводине.

Резултати Грешке су анализирани према врсти, учесталости и делу радног процеса у којем су се догодиле. За сваку грешку описани су могући узроци и мере корекције. Студија је показала да није било грешака с последицом по здравље даваоца крви, односно болесника, али да су грешке с могућим штетним последицама за болесника биле заступљене током читавог ланца трансфузије. Највећи број грешака утврђен је у преаналитичкој фази. За највећи број грешака био је одговоран људски фактор.

Закључак Систем извештавања о грешкама има значајну улогу у управљању грешкама и смањењу ризика од појаве нежељених догађаја у трансфузијској пракси. Непрестана анализа открива слабости целокупног процеса и указује на неопходне измене. У трансфузијској медицини грешке се у великој мери могу избећи, а сама превенција је системска и примењива и оправдава уложена средства.

Кључне речи: сигурна трансфузија; даваоци крви; болесници; медицинска грешка

УВОД

Концепт сигурне трансфузије обухвата цео ланац трансфузијских догађаја који почиње прикупљањем крви од даваоца крви, а завршава трансфузијом крви и крвних производа примаоцу [1]. Системски надзор трансфузијског лечења (хемовигиланса) ефикасно доприноси остварењу овог концепта и смањењу тзв. клиничког ризика повезаног с трансфузијом [2, 3, 4]. Сам назив „хемовигиланса“ потиче од грчке речи *haemo*, што значи крв, и латинске речи *vigilans*, која значи будан, опрезан. Подразумева организовани надзор (посматрање, записивање, извештавање, анализу) над свим тешким нежељеним догађајима у трансфузијском ланцу, укључујући не само оне које се односе на сигурност крвних производа (контаминација бактеријама, пренос инфекција које се преносе трансфузијом), већ и неочекиване нежељене реакције код давалаца или прималаца крви. Савремени приступ укључује и посматрање нежељених догађаја који нису имали последице по болесника, као и грешака које су избегнуте јер су на време откривене и исправљене [5, 6, 7]. Успостављање доброг система извештавања о нежељеним догађајима значајно је за идентификацију слабих тачака у радним процесима и предузимање акција за спречавање њихове поновне појаве. Критичне тачке у процесу рада могу бити раз-

личите: неодговарајуће написане процедуре, организационе слабости, лоша комуникација, неадекватно одржавање опреме и др. [8-11]. Оптимизација процеса са успостављеним правилима рада, повећање вештина и знања запослених, одговарајућа техничка и организациона подршка, пријављивање и критичка анализа грешака доприносе смањењу ризика настанка грешке.

Систем извештавања о нежељеним догађајима у трансфузиолошким установама обухвата систематско прикупљање података, анализу, тумачење и повратну информацију о нежељеним догађајима. Захтева попуњавање обрасца „Пријава грешке“, препознавање активне и латентне грешке, поделу догађаја према типу, анализирање основног узрока, израчунавање индекса ризика, анализу података и извештавање [12]. Концепција извештавања мора дати подстицај запосленима за пријављивање свих нежељених догађаја, осигурати тајност добијених података и истаћи могућа побољшања система квалитета [13, 14].

ЦИЉ РАДА

Циљ рада био је да се прикажу и анализирају нежељени и неочекивани догађаји у трансфузијској пракси с проценом њиховог потенцијалног ризика по здравље болесника и

Correspondence to:

Nevenka BUJANDRIĆ
Zavod za transfuziju krvi
Vojvodine
Hajduk Veljkova 9A
21000 Novi Sad
Srbija
nevenkabuj@yahoo.com

даваоца крви, те дају препоруке за смањивање ризика њиховог јављања.

МЕТОДЕ РАДА

У ретроспективној студији анализирано је 100 извештаја (Пријава грешке) о нежељеним догађајима у Заводу за трансфузију крви Војводине (ЗЗТКВ) који су прикупљени током једногодишњег периода. Поступак анализе података и утврђивања ризика обухватио је следеће кораке:

1. Утврђивање и бележење грешака

Откривање и пријављивање догађаја коришћењем обрасца „Пријава грешке“, која укључује:

- податке о откривању грешке: време откривања, фазу радног процеса у којој је грешка откривена, опис грешке, контролни механизам којим је грешка откривена, име особе која извештава;
- податке о настанку грешке: фазу радног процеса у којем се грешка појавила, опис догађаја;
- хитну процену могућих узрока грешке и последица од стране одговорне особе;
- предузете корекције;
- извештај контроле квалитета након завршеног поступка процене и анализе.

2. Процена и селекција пријава према:

- усмерености ризика (по даваоца крви/по болесника);
- особинама ризика: активан (узрокован људском грешком) или латентан (узрокован организационим, техничким и другим грешкама);
- вероватноћи понављања догађаја: не (скоро никад – изолован), да (могуће је да се понови);
- издавању производа: не/да;
- корекцији догађаја: не/да.

Све процене вршене су појединачно, на основу сваког случаја.

3. Истраживање догађаја

- рутинско истраживање;
- истраживање у проширеном обиму: реконструкција процеса рада, утврђивање претходних и пратећих догађаја и фактора који су им допринели.

Потпуном реконструкцијом догађаја утврђени су основни узроци.

4. Класификација догађаја и њихових узрока

Догађаји су класификовани према својој природи и месту настанка у процесу. Према исходу, догађаји су сврстани у четири категорије:

- актуелни догађаји с оштећењем здравља болесника;
- актуелни догађаји без оштећења здравља болесника;
- потенцијални догађаји неплански исправљени;
- потенцијални догађаји решени планираном корекцијом.

Узроци догађаја сврстани су такође у четири категорије:

- технички (опрема, информациони систем, репроматеријал);

- организациони (документација, преоптерећеност кадра, пренос информација, организација рада);
- људски (непажња, незнање, необученост, непоштовање правила);
- остали.

5. Анализа и интерпретација података

Анализом података сагледан је образац настанка догађаја и утврђено подручје највећег ризика.

6. Примена мера корекције

За спречавање поновног јављања нежељених догађаја, у складу с последицама које су проузроковали, примењене су следеће мере корекције:

- праћење процеса рада;
- разматрање промена у процесу рада;
- измене процеса рада.

У студији нису анализирани извештаји о одбаченим производима крви због неусаглашености са захтевима квалитета.

РЕЗУЛТАТИ

Истраживањем је највећи број грешака утврђен у преаналитичкој фази рада (57%), од чега изван трансфузиолошке установе 7%, а у трансфузиолошкој установи (ЗЗТКВ) 50%. На другом месту по учесталости су грешке настале у аналитичкој фази, током процеса тестирања. Учесталост појаве грешака, расподељених према фазама рада, приказана је на графикону 1. Класификација догађаја према њиховој природи и месту појаве приказана је у табели 1.

Одабиром и проценом пријава грешке утврђене су следеће вредности учесталости: а) усмереност опасности грешке – 80% на даваоца крви, 100% на болесника; б) особине ризика – 66% активан, 34% латентан; в) вероватноћа понављања догађаја – 64% могуће понављање, 36% изолован догађај; г) издавање производа – 14% издат, 86% није издат; д) корекција догађаја – 11% није извршена, 89% извршена. Код 61% пријављених

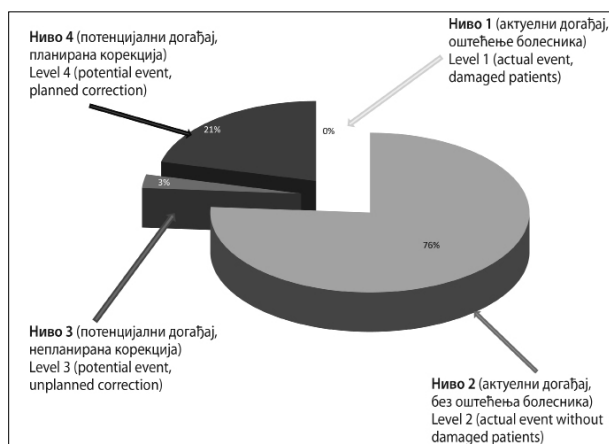


Графикон 1. Расподела грешака према фазама рада у којима су настале

Graph 1. Distribution of errors by the phases of the process

Табела 1. Класификација догађаја према њиховој природи и месту појаве у процесу
Table 1. Distribution of errors according to the type, frequency and occurrence in the working process

Врста грешке и фаза процеса у којој је настала Type of error and the part of working process in which the error occurred		%
Преаналитичка фаза изван трансфузиолошке установе Preanalytical phase – out of Blood Transfusion Institute	Погрешна идентификација болесника Misidentification of patients	3
	Нетачни или непотпуни подаци на узорку крви Inaccurate or incomplete information on a blood sample	1
	Нетачни или непотпуни подаци о болеснику на упутници Inaccurate or incomplete patient information on blood request forms	1
	Погрешно извађен узорак крви болеснику Incorrectly taken blood samples from the patient	2
	Укупно Total	7
Преаналитичка фаза у трансфузиолошкој установи Preanalytical phase – in Blood Transfusion Institute	Погрешна идентификација даваоца крви Misidentification of blood donors	2
	Погрешно одређена крвна група на пријему даваоца крви Wrong ABO blood type at reception of the blood donor	12
	Неадекватна селекција даваоца крви Inadequate selection of blood donors	8
	Неадекватно узет узорак за тестирање јединице крви Incorrectly taken blood samples for testing blood units	13
	Неадекватно узета јединица крви Inadequate blood units collected	1
	Погрешно уписана крвна група у информациони систем Entering incorrect data on blood type in the information system	14
	Укупно Total	50
Аналитичка фаза Analytical phase	Неадекватно изведено тестирање јединице крви Inadequate testing of blood units	21
	Лош квалитет реагенса теста Inadequate quality of test reagents	4
	Лажно негативни резултати теста False-negative test results	0
	Пропуст при испитивању узорка или издавању резултата Failure of sample testing and reporting of results	5
	Укупно Total	30
Производна фаза Production phase	Неадекватно транспортована доза крви Inadequate transported blood units	0
	Неадекватно припремљен крвни производ Inadequate prepared blood product	2
	Неадекватно чуван крвни производ Inadequate storage of blood product	1
	Неадекватно означен крвни производ Inadequately labeled blood product	1
	Погрешно издат крвни производ Wrongly issued blood products	1
	Укупно Total	5
Постаналитичка фаза Postanalytical phase	Грешка при издавању резултата Incorrect reporting of test result	1
	Грешка у захтеву за крвне производе Errors in the requesting of blood components	0
	Издавање погрешног крвног производа Issue of wrong blood products	0
	Грешке у вези с информационим системом Error associated with the information system	5
	Пропуст у идентификацији болесника или крвног производа Errors related to identification of patient or blood products	0
	Недовољна едукација особља које примењује крвне производе Insufficient training and education of staff who apply blood products	2
	Неадекватан транспорт крвних производа Inadequate transport of blood products	0
	Неадекватно чување крвних производа Inadequate storage of blood products	0
	Укупно Total	8
Укупно Total		100



Графикон 2. Класификација догађаја према исходу
Graph 2. Classification of events according to outcome

грешака била је довољна рутинска истрага догађаја, док је у 39% истрага била проширена.

Класификација догађаја према исходу приказана је у графикону 2. Додатне последице догађаја биле су: узимање новог узорка крви од седам особа, 31 јединица крви и крвних производа искључених из терапијске употребе, 30 поновљених тестирања, 32 исправке података у информационом систему. Анализом узрока догађаја утврђено је учешће: људског фактора у 66% случајева, организационих фактора у 6%, а техничких фактора у 28% догађаја.

Подела грешака према фази процеса рада и радном месту на којем су настале приказана је у табели 2. У ланцу трансфузијских догађаја процењене су критичне тачке на којима би настанак грешке довео до оштећења здравља болесника, односно даваоца крви: 1) погрешна идентификација болесника; 2) погрешна идентификација даваоца крви; 3) неодговарајући одабир даваоца крви; 4) неадекватно узет узорак за тестирање јединице крви; 5) неадекватно тестирање узорка јединице крви; 6) лош квалитет реагенса теста. Мере корекције код 18% догађаја биле су усмерене ка даљем праћењу процеса, код 18% дати су предлози могућих измена, а код 64% догађаја извршене су промене у процесу рада.

ДИСКУСИЈА

Основни задатак трансфузиолошких установа јесте да обезбеде довољне количине сигурне крви намењене оболелима и повређенима. Нажалост, грешке се могу десити у читавом ланцу трансфузије, од узимања крви од даваоца до трансфундовања крви болеснику [15]. Успостављањем система управљања квалитетом смањује се број штетних догађаја [13, 16]. Ако су се нежељени догађаји већ десили, управљање њима спречава њихово понављање. У првој фази се одговарајућим препорукама и водичима утиче на искорењивање лоше праксе. У следећој фази, уз подршку руководећег кадра, очекује се чешће пријављивање нежељених догађаја и утврђивање критичних тачака у систему [17, 18]. Запосленима се пружа могућност да откривањем узро-

Табела 2. Подела грешака према фази процеса рада и радном месту на којем су настале

Table 2. Distribution of errors according to the workplace where the error occurred

Процес рада Working process	Радно место на којем је настала грешка Workplace where the error occurred	%
Изван трансфузиолошке установе Out of Blood Transfusion Institute	Медицинска сестра на одељењу Hospital ward nurses	5
	Особа која захтева крвни производ Person requesting blood product	1
	Особа која рукује узорцима Person handling blood samples	1
	Особа која проверава и трансфундује крв болеснику Person responsible for the final bedside check before transfusion	2
Одељење за прикупљање крви Blood collection department	Техничар на пријему даваоца крви Blood collection technician	28
	Техничар пункције даваоца крви Phlebotomy technician	14
	Лекар Transfusion medicine physician	8
Одељење за тестирање крви Blood testing department	Техничар Medical laboratory technician	26
	Лекар Transfusion medicine physician	4
Одељење производње крвних компоненти Blood processing department	Техничар Blood-processing technician	5
	Лекар Transfusion medicine physician	0
Клиничка трансфузиологија Clinical transfusion department	Особа која прима узорке болесника Person receiving samples in laboratory	6
	Техничар клиничке трансфузиологије Medical laboratory technician	0
	Лекар Transfusion medicine physician	0
Укупно Total		100

ка штетног догађаја тај узрок одстране из процеса [19]. Обим и квалитет прикупљених информација о штетном догађају у повратној су спреси с извештавањем учесника догађаја о предузетим мерама за побољшање процеса [20, 21].

Пријаве грешака, прикупљене у студији, омогућиле су да се у свакој фази процеса рада препознају узроци грешака и омогуће мере корекције. Уочено је да су најчешћи (најчешће пријављени) догађаји у ЗЗТКВ грешке које су се десиле у преаналитичкој фази. У овој фази највећи број грешака утврђен је током пријема даваоца крви у ЗЗТКВ. Мали број пријављених грешака односио се на личне податке болесника и клиничке информације (дијагноза обољења, требовани крвни производ и др.) иако ове грешке могу бити узроци издавања неодговарајућих јединица крви, односно крвних производа болеснику. Повезивањем клиника и трансфузиолошких установа помоћу јединственог информационог система омогућава се избегавање грешака овога типа [22, 23, 24]. На другом месту по учесталости налазе се грешке настале у аналитичкој фази, при раду на аутоматској

опреми за тестирање давалаца крви на показатеље инфекција које се могу пренети трансфузијом. Побољшање квалитета техничке опреме и додатна обука запослених допринели би смањењу ове грешке [25, 26]. Потенцијално опасни догађаји, као што је неадекватно означен или погрешно издат крвни производ, били су ретки. Није било актуелних догађаја који су завршили оштећењем здравља болесника. Тешке последице избегнуте су захваљујући вишеструким контролама спроведеним рутински, према задатом алгоритму рада.

Анализа узрока грешке у студији урађена је за све догађаје, без обира на њихову учесталост. Подаци о узроцима грешака који нису били у директној вези с радом ЗЗТКВ били су ретки и случајни (нпр. откривање погрешне идентификације болесника након утврђивања неслагања налаза крвне групе болесника у узорку крви и постојећих података у информационом систему). У литератури је, напротив, добро позната знатна учесталост грешке која се појављује током узимања узорка (замена болесника, погрешно означавање узорка) или током трансфузије крви, односно крвног производа (неадекватно чување и транспорт крви, односно крвног производа) [27, 28]. Инструмент којим се у свету решава проблем идентификације болесника представљен је налепницама с јединственим бројем болесника [22, 23, 24]. Побољшана комуникација клиника и ЗЗТКВ такође би смањила ризик од оваквих грешака. Успостављањем вишестепеног система контрола и сталним побољшањем система квалитета у ЗЗТКВ највећи део грешака је откривен пре издавања крви за употребу и био је само латентни безбедносни ризик за примаоца. Регистрација и анализа грешака дају нови концепцијски приступ грешкама и воде повећању сигурности крви [29, 30].

Побољшање квалитета, сигурности, ефикасности и ефективности здравствене заштите мисија је бројних међународних организација за бригу о здрављу, као што су *The Agency for Healthcare Research and Quality's (AHRQ)* у САД, *The National Health Service UK* у Великој Британији, *Canadian Patient Safety Institute (CPSI)* у Канади и других [31]. Рад трансфузиолошких здравствених установа, због постојања одређеног ризика по даваоца крви и болесника, такође подлеже контроли. Значајну улогу у сигурности крви имају транспарентан и систематичан начин организације процеса рада, доследност у раду, одговорност особља и други елементи управљања квалитетом, утемељени, пре свега, на стандардизованим процесима [13]. Побољшања праксе попут увођења водича за трансфузијску праксу и аутоматизација тестирања давалаца крви већ су нашла примену у ЗЗТКВ, а побољшање информационе технологије и аутоматизација претрансфузијских тестирања реални су део плана за будућност.

Последњих тридесет година објављени су многи радови у којима су истраживани ризици како у области здравствене заштите уопште, тако и у области трансфузије. Они су показали да је трансфузија крви значајно сигурнија у односу на друге активности или производе који се користе у здравственој заштити. Као поуздан начин за израчунавање ризика у трансфузиј-

ској пракси показало се коришћење података добијених евиденцијом нежељених догађаја [5, 6, 7].

Студија је показала да човек учествује у настанку грешке током целокупног трансфузиолошког ланца догађаја. Високо учешће људског фактора (66%) у настанку грешака, утврђено током истраживања, у складу је с подацима из литературе. Наиме, према извештајима експертске групе која даје годишње извештаје о системском надзору трансфузијског лечења у Великој Британији, административне (људске) грешке учествују са 50% у укупном броју грешака (енгл. *serious hazards of transfusion – SHOT*) [31]. Поређење резултата међу државама или појединачним трансфузиолошким установама тешко је због значајних разлика у бројним факторима, као што су законске обавезе (не) пријављивања грешака, тежина реакција које се пријављују, концепт и организација пријављивања и др. Упркос разним ограничењима, анализом добијених података могуће је оценити и општи и индивидуални ризик по здравље давалаца, односно прималаца крви [10, 16, 25]. Трансфузиолошке установе и национални ауторитети из ове области предузимају бројне активности у отклањању ризика и побољшању сигурности трансфузије. Примена савремене технологије показала је позитиван učinak, како у отклањању ризика трансфузијом преносивих инфекција, тако и у превенцији имунолошких реакција на примљене производе крви (нпр. филтрација крви). Подаци из литературе упућују на значај превенције људских грешака, које су одговорне за већину нежељених, потенцијално клинички значајних догађаја. Кључне активности у њиховом спречавању јесу унапређење вештина и знања, успостављање система одговорности, увођење болничких комитета за надзор над коришћењем крви и др. [20].

Израчунати ризик неодговарајуће трансфузије је 1:10.000 трансфундованих јединица крви. У финалној (постаналитичкој) фази, која претпоставља „трансфузију праве крви правом болеснику“, јавља се 40% свих грешака. Анализа систематски праћених грешака показала је да је највећи број грешака узрокован људским фактором [26, 32]. Многе студије указују на чињеницу да се нежељени догађаји јављају с учесталошћу од 1:1.000 у делу трансфузиолошког ланца који се односи на обележавање узорака, идентификацију болесника и примену јединице крви или крвних производа [25]. Чак трећина свих грешака јавља се при узорковању крви од даваоца, односно примаоца крви [30]. Коришћење савремених информатичких технологија примењено је ради повећања сигурности трансфузије крви у делу процеса у којем се врше препознавање болесника, узимање и обележавање узорака крви за претрансфузијска тестирања, наручивање крвних производа и завршна провера пре примене трансфузије [18, 22].

Трансфузиолошка регулатива не даје препоруке о томе које нежељене догађаје треба надзирати а које не. Надзор нежељених догађаја чија је последица директно нарушавање здравља болесника захтева дужи период, јер они нису чести у трансфузиолошкој пракси. Нежељени догађаји изазвани истим узроком као

претходни, али спреченог нежељеног исхода, чешћи су у пракси и као такви погоднији за надзор. Откривају критичне тачке у систему, а за њихово прикупљање и анализу најчешће је довољно годину дана. Значајно је и утврдити да ли су откривени случајно или на контролним тачкама предвиђеним алгоритмом процеса рада. Такође је важно утврдити контролне тачке на којима је установљаване грешке пропуштено. Истраживање грешака у ЗЗТКВ упутило је на шест критичних тачака у систему, па су мере корекције са променама у процесу извршене код 64% догађаја.

Услед недостатка доказа да су све грешке пријављене, није израчуната релативна грешка (број грешака у односу на број изведених акција), што се може сматрати ограничењем студије. Индекс оцене ризика по болесника (производ квантификоване оцене оштећења болесника и квантификоване оцене вероватноће понављања догађаја) није израчунат због непостојања грешака с последицом по здравље болесника.

Намера нам је била да допринесемо увиду у сигурност рада трансфузиолошке службе у Србији, а трансфузио-

лошким установама код нас скренемо пажњу на ову тему и дамо подстицај за изналажење алатки чијом применом ће бити повећана сигурност примењене крви.

ЗАКЉУЧАК

Систем извештавања о грешкама има значајну улогу у управљању грешкама и смањењу ризика од појаве нежељених догађаја и несрећа у трансфузијској пракси, од добровољног даваоца крви до болесника који prima трансфузију. Континуирана анализа грешака треба да открије мане и слабости целокупног трансфузијског процеса и да укаже на неопходне измене у самом процесу рада. Образовање особља, стриктна примена радних упутстава, аутоматизација у преаналитичкој фази, одговарајућа идентификација болесника и обезбеђивање узорака спречили би настајање грешака. У трансфузијској медицини грешке се у великој мери могу избећи, а сама превенција је системска и примењива и оправдава уложена средства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aprili G. Safety in transfusion medicine *Blood Transfus.* 2008; 6(3):121-6.
2. International Forum. Haemovigilance. *Vox Sang.* 2006; 90:207-41.
3. Stainsby D, Jones H, Asher D, Atterbury C, Boncinelli A, Brant L, et al; SHOT Steering Group. Serious hazards of transfusion: a decade of hemovigilance in the UK. *Transfus Med Rev.* 2006; 20:273-82.
4. de Vries RR, Faber JC, Trengers PFW; for the Members of the Board of the International Haemovigilance Network. Haemovigilance: an effective tool for improving transfusion practice. *Vox Sang.* 2011; 100:60-7.
5. Kaplan HS. Getting the right blood to the right patient: the contribution of near-miss event reporting and barrier analysis. *Transfus Clin Biol.* 2005; 12:380-4.
6. Ardenghi D, Martinengo M, Boccardo L, Nardi P, Tripodi G. Near miss errors in transfusion medicine: the experience of the G. Gaslini Transfusion Medicine Service. *Blood Transfus.* 2007; 5(4):210-6.
7. Lundy D, Laspina S, Kaplan H, Rabin Fastman B, Lawlor E. Seven hundred and fifty-nine (759) chances to learn: a 3-year pilot project to analyse transfusion-related near-miss events in the Republic of Ireland. *Vox Sang.* 2007; 92:233-41.
8. Kaplan HS, Callum JL, Rabin Fastman B, Merkley LL. The Medical Event Reporting System for Transfusion Medicine: will it help get the right blood to the right patient? *Transfus Med Rev.* 2002; 16(2):86-102.
9. Callum JL, Merkley LL, Coovadia AS, Lima AP, Kaplan HS. Experience with the medical event reporting system for transfusion medicine (MERS-TM) at three hospitals. *Transfus Apher Sci.* 2004; 31(2):133-43.
10. Franchini M. Error reporting in transfusion medicine: an important tool to improve patient safety. *Clin Chem Lab Med.* 2012; 50(11):1871-2.
11. Pravilnik o sistemu praćenja, načinu označavanja i drugim pitanjima od značaja za identifikaciju svakog pojedinačnog uzimanja krvi, odnosno pojedinačne jedinice krvi, kao i o načinu, postupku i sadržaju obrasca za prijavljivanje ozbiljnih neželjenih događaja, odnosno ozbiljnih neželjenih reakcija. *Sl. glasnik RS, broj 89/12.*
12. Lippi G, Blanckaert N, Bonini P, Green S, Kitchen S, Palicka V, et al. Causes, consequences, detection, and prevention of identification errors in laboratory diagnostics. *Clin Chem Lab Med.* 2009; 47:143-53.
13. Jovanović R. Izazovi kvaliteta u transfuziološkoj delatnosti. *Bilten za transfuziologiju.* 2010; 56(1-2):36-43.
14. Fastman BR, Kaplan HS. Errors in transfusion medicine: have we learned our lesson? *Mt Sinai J Med.* 2011; 78(6):854-64.
15. Pagliaro P. Errors in transfusion medicine are not only misidentifications of the recipients, but also pre-analytical and analytical errors. *Clin Chem Lab Med.* 2010; 48:1053-4.
16. Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related mortality: the ongoing risks of allogeneic blood transfusion and the available strategies for their prevention. *Blood.* 2009; 113:3406-17.
17. Elhence P, Veena S, Sharma RK, Chaudhary RK. Root cause analysis of transfusion error: identifying causes to implement changes. *Transfusion.* 2010; 50(12):2772-7.
18. Franchini M. Errors in transfusion: causes and measures to avoid them. *Clin Chem Lab Med.* 2010; 48(8):1075-7.
19. Vamvakas EC, Blajchman MA. Blood still kills: six strategies to further reduce allogeneic blood transfusion-related mortality. *Transf Med Rev.* 2010; 24:77-124.
20. Paxton JH, Rubinfeld IS. Medical errors education: a prospective study of a new educational tool. *Am J Med Qual.* 2010; 25(2):135-42.
21. Plebani M, Lippi G. Closing the brain-to-brain loop in laboratory testing. *Clin Chem Lab Med.* 2011; 49:1131-3.
22. Dzik WH. New technology for transfusion safety. *Br J Haematol.* 2007; 136(2):181-90.
23. Pagliaro P, Turdo R, Capuzzo E. Patients' positive identification systems. *Blood Transfus.* 2009; 7(4):313-8.
24. Uriz MJ, Antelo ML, Zalba S, Ugalde N, Pena E, Corcoz A. Improved traceability and transfusion safety with a new portable computerised system in a hospital with intermediate transfusion activity. *Blood Transfus.* 2011; 9(2):172-81.
25. Da Rin G. Errors in laboratory medicine and patient safety. *Clin Chim Acta.* 2009; 404(1):68-74.
26. Ottomano C. Errors in medicine and errors in laboratory medicine: what is the difference? *Blood Transfus.* 2010; 8:79-81.
27. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. *Clin Chem Lab Med.* 2006; 44:358-65.
28. Lippi G, Chance JJ, Church S, Dazzi P, Fontana R, Giavarina D, et al. Preanalytical quality improvement: from dream to reality. *Clin Chem Lab Med.* 2011; 49:1113-26.
29. Royal College of Pathologists. Serious Hazards of Transfusion. Annual SHOT Report 2011. Available from: www.shotuk.org.
30. Vuk T, Barišić M, Očić T, Mihaljević I, Sarlija D, Jukić I. Error management in blood establishments: results of eight years of experience (2003-2010) at the Croatian Institute of Transfusion Medicine. *Blood Transfus.* 2012; 10(3):311-20.
31. The Serious Hazards of Transfusion (SHOT) Steering Group. Annual Report 2008. Research date 12.10.2009. Available from: www.shotuk.org.
32. Bielby L, Stevenson L, Wood E. The role of the transfusion nurse in the hospital and blood centre. *ISBT Science Series.* 2011; 6:270-6.

Improving Blood Safety: Errors Management in Transfusion Medicine

Nevenka Bujandrić, Jasmina Grujić, Mirjana Krga-Milanović

Blood Transfusion Institute of Vojvodina, Novi Sad, Serbia

SUMMARY

Introduction The concept of blood safety includes the entire transfusion chain starting with the collection of blood from the blood donor, and ending with blood transfusion to the patient. The concept involves quality management system as the systematic monitoring of adverse reactions and incidents regarding the blood donor or patient. Monitoring of near-miss errors show the critical points in the working process and increase transfusion safety.

Objective The aim of the study was to present the analysis results of adverse and unexpected events in transfusion practice with a potential risk to the health of blood donors and patients.

Methods One-year retrospective study was based on the collection, analysis and interpretation of written reports on medical errors in the Blood Transfusion Institute of Vojvodina.

Results Errors were distributed according to the type, frequency

and part of the working process where they occurred. Possible causes and corrective actions were described for each error. The study showed that there were not errors with potential health consequences for the blood donor/patient. Errors with potentially damaging consequences for patients were detected throughout the entire transfusion chain. Most of the errors were identified in the preanalytical phase. The human factor was responsible for the largest number of errors.

Conclusion Error reporting system has an important role in the error management and the reduction of transfusion-related risk of adverse events and incidents. The ongoing analysis reveals the strengths and weaknesses of the entire process and indicates the necessary changes. Errors in transfusion medicine can be avoided in a large percentage and prevention is cost-effective, systematic and applicable.

Keywords: blood safety; blood donors; inpatients; medical errors

Примљен • Received: 27/08/2013

Прихваћен • Accepted: 10/02/2014

Корисни линкови

www.srp-arh.rs
www.sld.org.rs
www.sld-rs.org
www.doiserbia.nb.rs
scindeks.ceon.rs
www.nlm.nih.gov
www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html
www.icmje.org
www.wame.org
publicationethics.org
thomsonreuters.com
www.whonamedit.com
www.mpn.gov.rs
www.zdravlje.gov.rs
www.nb.rs
mfub.edu.rs
www.medical.uns.ac.rs
www.medf.kg.ac.rs
www.medfak.ni.ac.rs
www.med.pr.ac.rs
www.stomf.bg.ac.rs
www.stomatoloskifakultet.rs
locatorplus.gov
www.wma.net

Општа упутства. Текст рада куцати у програму за обраду текста *Word*, латиницом (*Serbian Latin* кодни распоред), са двоструким проредом, искључиво фонтом *Times New Roman* и величином слова 12 тачака (12 pt). Све маргине подесити на 25 mm, величину странице на формат А4, а текст куцати са левим поравнањем и увлачењем сваког пасуса за 10 mm, без дељења речи (хифенације). Не користити табулаторе и узастопне празне карактере (спејсове) ради поравнања текста, већ алатке за контролу поравнања на лењиру и *Toolbars*. После сваког знака интерпункције ставити само један празан карактер. Ако се у тексту користе специјални знаци (симболи), користити фонт *Symbol*. Подаци о коришћеној литератури у тексту означавају се арапским бројевима у угластим заградама – нпр. [1, 2], и то оним редоследом којим се појављују у тексту. Странице нумерисати редом у оквиру доње маргине, почев од насловне стране.

Користити кратке и јасне реченице. Превод појмова из стране литературе треба да буде у духу српског језика. Све стране речи или синтагме за које постоји одговарајуће име у нашем језику заменити тим називом. За називе лекова користити искључиво генеричка имена. Уређаји (апарати) се означавају фабричким називима, а име и место произвођача треба навести у облим заградама. Уколико се у тексту користе ознаке које су спој слова и бројева, прецизно написати број који се јавља као експонент или као индекс (нпр. ⁹⁹Tc, II-6, O₂, B₂, CD8).

Уколико је рад део магистарске тезе, односно докторске дисертације, или је урађен у оквиру научног пројекта, то треба посебно назначити у напомени на крају текста. Такође, уколико је рад претходно саопштен на неком стручном састанку, навести званичан назив скупа, место и време одржавања.

Рукопис рада доставити одштампан једнострано на белој хартији формата А4 у три примерка. С обзиром на то да се рад куца латиницом, а чланак у часопису штампа ћирилицом, важно је да се у једном примерку рукописа који се предаје за штампу црвеном оловком подвуку речи (фразе, називи, скраћенице итд.) које ће остати у латиници (нпр. јединице мера, називи лекова, хемијске формуле, скраћенице које потичу од страних израза и слично).

Клиничка истраживања. Клиничка истраживања се дефинишу као истраживања која се односе на испитанике обухваћене једном здравственом интервенцијом или више њих, ради испитивања утицаја на здравствени исход. Регистарски број истраживања треба да се наведе у последњем реду Кратког садржаја.

Етичка сагласност. Рукописи о хуманим медицинским истраживањима или историјама болести пацијената треба да садрже изјаву у виду писаног пристанка испитиваних особа у складу са Хелсиншким декларацијом, одобрење локалног етичког одбора да се истраживање може извести и да је оно у складу са правним стандардима. Експериментална истраживања на хуманом материјалу и испитивања вршена на животињама треба да садрже изјаву етичког одбора институције и треба да су у сагласности с локалним правним стандардима.

Изјава о сукобу интереса. Уз рукопис се прилаже изјава свих аутора којом се изјашњавају о сваком могућем интересу или изјаву да немају сукоб интереса. За додатне информације о различитим врстама сукоба интереса видети на интернет страници Светског удружења уредника медицинских часописа (*World Association of Medical Editors – WAME*; www.wame.org) под „Политика изјаве о сукобу интереса”.

Ауторство. Све особе које су наведене као аутори рада треба да се квалификују за ауторство. Сваки аутор треба да је учествовао довољно у раду на рукопису како би могао да преузме одговорност за целокупан текст и резултате изнесене у раду. Ауторство се заснива само на: битном доприносу концепцији рада, добијању резултата или анализи и тумачењу резултата; планирању рукописа или његовој критичкој ревизији од знатног интелектуалног значаја; у завршном дотеривању верзије рукописа који се припрема за штампање (http://www.icmje.org/ethical_1author.html).

Аутори треба да приложе опис доприноса у рукопису за сваког коаутора појединачно. Финансирање, сакупљање података или генерално надгледање истраживачке групе сами по себи не могу оправдати ауторство. Сви други који су допринели изради рада, а који нису аутори рукописа, требало би да буду наведени у захвалници с описом њиховог рада, наравно, уз писани пристанак.

Насловна страна. На посебној, првој страници рукописа треба навести следеће: наслов рада без скраћеница; пуна имена и презимена аутора (без титула) индексирана бројевима; званичан назив установа у којима аутори раде, место и државу (редоследом који одговара индексираним бројевима аутора); на дну странице навести име и презиме, адресу за контакт, број телефона, факса и *e-mail* адресу аутора задуженог за кореспонденцију.

Кратак садржај. Уз оригинални рад, саопштење, преглед литературе, приказ болесника, рад из историје медицине, рад за рубрику „Језик медицине” и рад за праксу, на посебној страници треба приложити кратак садржај рада обима 100-250 речи. За оригинале радове кратак садржај треба да има следећу структуру: Увод, Циљ рада, Методе рада, Резултати, Закључак; сваки од наведених сегмената писати као посебан пасус који почиње болдованом речи. Навести најважније резултате (нумеричке вредности) статистичке анализе и ниво значајности. За приказе болесника кратак садржај треба да има следеће: Увод, Приказ болесника, Закључак; сегменте такође писати као посебан пасус који почиње болдованом речи. За остале типове радова кратак садржај нема посебну структуру.

Кључне речи. У Кључним речима не треба да се понављају речи из наслова, а треба да буду релевантне или описне. Испод кратког садржаја навести кључне речи (од три до шест). У избору кључних речи користити *Medical Subject Headings – MeSH* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh>).

Превод на енглески језик. На посебној страници приложити наслов рада на енглеском језику, пуна имена и презимена аутора (без титула) индексирана бројевима, званичан назив установа на енглеском језику, место и државу. На следећој посебној страници приложити сажетак на енглеском језику (*Summary*) са кључним речима (*Keywords*), и то за радове у којима је обавезан кратак садржај на српском језику, који треба да има 100-250 речи. За оригиналне радове (*Original articles*) сажетак на енглеском треба да има следећу структуру: *Introduction, Objective, Methods, Results, Conclusion*; сваки од наведених сегмената писати као посебан пасус који почиње болдованом речи. За приказе болесника (*Case reports*) сажетак на енглеском треба да садржи следеће: *Introduction, Case outline, Conclusion*; сегменте такође писати као посебан пасус који почиње болдованом речи. Превести називе табела, графикана, слика, схема, целокупни српски текст у њима и легенду.

Треба се придржавати језичког стандарда *American English*. Радови који се у целини доставе на енглеском језику имају приоритет у објављивању.

Структура рада. Сви поднаслови се пишу великим словима и болдовано. Оригинални рад треба да има следеће поднаслов: Увод, Циљ рада, Методе рада, Резултати, Дискусија, Закључак, Литература. Преглед литературе чине: Увод, одговарајући поднаслови, Закључак и Литература. Аутор прегледног рада мора да наведе бар пет аутоцитата (референце у којима је био први аутор или коаутор рада) радова публикованих у часописима с рецензијом. Коаутори, уколико их има, морају да наведу бар један аутоцитат радова такође публикованих у часописима с рецензијом. Приказ болесника чине: Увод, Приказ болесника, Дискусија, Литература. Не треба користити имена болесника или иницијале, бројеве историје болести, нарочито у илустрацијама. Прикази болесника не смеју имати више од седам аутора.

Скраћенице. Користити само када је неопходно, и то за веома дугачке називе хемијских једињења, односно називе који су као скраћенице већ препознатљиви (стандардне скраћенице, као нпр. ДНК, сида, ХИВ, АТП). За сваку скраћеницу пун термин треба навести при првом навођењу у тексту, сем ако није стандардна јединица мере. Не користити скраћенице у наслову. Избегавати коришћење скраћеница у кратком садржају, али ако су неопходне, сваку скраћеницу поново објаснити при првом навођењу у тексту.

Децимални бројеви. У тексту рада на српском децималне бројеве писати са зарезом, а у тексту на енглеском, у табелама, на графиконима и другим прилозима, будући да се и у њима наводи и превод на енглеском језику, децималне бројеве писати са тачком (нпр. у тексту ће бити 12,5±3,8, а у табели 12.5±3.8). Кад год је то могуће, број заокружити на једну децималу.

Јединице мера. Дужину, висину, тежину и запремину изражавати у метричким јединицама (метар – *m*, килограм – *kg*, литар – *l*) или њиховим деловима. Температуру изражавати у степенима Целзијуса ($^{\circ}\text{C}$), количину супстанце у молима (*mol*), а притисак крви у милиметрима живиног стуба (*mm Hg*). Све резултате хематолошких, клиничких и биохемијских мерења наводити у метричком систему према Међународном систему јединица (*SI*).

Обим рукописа. Целокупни рукопис рада – који чине насловна страна, кратак садржај, текст рада, списак литературе, сви прилози, односно потписи за њих и легенда (табеле, слике, графикони, схеме, цртежи), насловна страна и сажетак на енглеском језику – мора износити за оригинални рад, саопштење, рад из историје медицине и преглед литературе до 5.000 речи, а за приказ болесника, рад за праксу, едукативни чланак и рад за „Језик медицине” до 3.000 речи; радови за остале рубрике морају имати до 1.500 речи.

Провера броја речи у документу може се извршити у програму *Word* кроз подмени *Tools–Word Count* или *File–Properties–Statistics*.

Табеле. Свака табела треба да буде сама по себи јасно разумљива. Наслов треба откуцати изнад табеле, а објашњења испод ње. Табеле се означавају арапским бројевима по редоследу навођења у тексту, са називом на српском и енглеском језику (*Table*). Табеле радити искључиво у програму *Word*, кроз мени *Table–Insert–Table*, уз дефинисање тачног броја колона и редова који ће чинити мрежу табеле. Десним кликом на мишу – помоћу опција *Merge Cells* и *Split Cells* – спајати, односно делити ћелије. У једну табелу, у оквиру исте ћелије, унети и текст на српском и текст на енглеском језику – никако не правити две табеле са два језика! Куцати фонтом *Times New Roman*, величином слова 12 *pt*, са једноструким проредом и без увлачења текста. Коришћене скраћенице у табели треба објаснити у легенди испод табеле на српском и енглеском језику. Сваку табелу одштампати на посебном листу папира и доставити по један примерак уз сваку копију рада (укупно три примерка табеле за рад који се предаје).

Слике. Слике се означавају арапским бројевима по редоследу навођења у тексту, са називом на српском и енглеском језику (*Figure*). За сваку слику доставити три примерка или три сета у одвојеним ковертама. Примају се искључиво оригиналне фотографије (црно-беле или у боји), на сјајном (глатком, а не мат) папиру, по могућству формата 9×13 *cm* или 10×15 *cm*. На полеђини сваке слике ставити налепницу са редним бројем слике и стрелицом која означава горњи део слике. Водити рачуна да се фотографије не оштете на било који начин. Сlike снимљене дигиталним фотоапаратом доставити на *CD* и одштампане на папиру, водећи рачуна о квалитету (оштрини) и величини дигиталног записа. Резолуција треба да буде 300 *dpi*, формат слике 10×15 *cm*, а формат записа *JPG* или *.TIFF*. Уколико аутори нису у могућности да доставе оригиналне фотографије, треба их скенирати као *Grayscale* у резолуцији 300 *dpi* и у оригиналној величини и снимити на *CD*.

Сlike се могу објавити у боји, али додатне трошкове штампе сноси аутор.

Графикони. Графикони треба да буду урађени и достављени у програму *Excel*, да би се виделе пратеће вредности распоређене по ћелијама. Исте графиконе линковати и у *Word*-ов документ, где се графикони означавају арапским бројевима по редоследу навођења у тексту, са називом на српском и енглеском језику (*Graph*). Сви подаци на графикону куцају се у фонту *Times New Roman*, на српском и енглеском језику. Коришћене скраћенице на графикону треба објаснити у легенди испод графикона на српском и енглеском језику. Сваки графикон одштампати на посебном листу папира и доставити по један примерак уз сваку копију рада (укупно три примерка за рад који се предаје).

Схеме (цртежи). Схеме радити у програму *Corel Draw* или *Adobe Illustrator* (програми за рад са векторима, кривама). Сви подаци на схеми куцају се у фонту *Times New Roman*, на српском и енглеском језику (*Scheme, Drawing*), величина слова 10 *pt*. Коришћене скраћенице на схеми треба објаснити у легенди испод схеме на српском и енглеском језику. Сваку схему одштампати на посебном листу папира и доставити по један примерак уз сваку копију рада (укупно три примерка за рад који се предаје).

Захвалница. Навести све оне који су допринели стварању рада а не испуњавају мерила за ауторство, као што су особе које обезбеђују

техничку помоћ, помоћ у писању рада или руководе одељењем које обезбеђује општу подршку. Финансијска и материјална помоћ, у облику спонзорства, стипендија, поклона, опреме, лекова и друго, треба такође да буде наведена.

Литература. Списак референци је одговорност аутора. Цитирани чланци треба да буду лако приступачни читаоцима часописа. Референце нумерисати редним арапским бројевима према редоследу навођења у тексту. Број референци не би требало да буде већи од 30, осим у прегледу литературе, у којем је дозвољено да их буде до 50. Број цитираних оригиналних радова мора бити најмање 80% од укупног броја референци, односно број цитираних књига, поглавља у књигама и прегледних чланака мањи од 20%. Уколико се домаће монографске публикације и чланци могу уврстити у референце, аутори су дужни да их цитирају. Већина цитираних научних чланака не треба да буде старија од пет година. Избегавати коришћење апстрактa као референце, а апстрактe старије од две године не цитирати. Референце чланака који су прихваћени за штампу треба означити као „у штампи” (*in press*) и приложити доказ о прихватању рада.

Референце се цитирају према Ванкуверском стилу (униформисаним захтевима за рукописе који се предају биомедицинским часописима), који је успоставио Међународни комитет уредника медицинских часописа (<http://www.icmje.org>), чији формат користе *U.S. National Library of Medicine* и базе научних публикација. Примере навођења публикација (чланака, књига и других монографија, електронског, необјављеног и другог објављеног материјала) можете пронаћи на интернет-страници http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html. Приликом навођења литературе веома је важно придржавати се поменутог стандарда, јер је то један од три најбитнија фактора за индексирање приликом класификације научних часописа. Правилним навођењем литературе Српски архив би добио на квалитету и боље би се котирао на листи светских научних часописа.

Пропратно писмо. Уз рукопис обавезно приложити писмо које су потписали сви аутори, а које треба да садржи: изјаву да рад претходно није публикован и да није истовремено поднет за објављивање у неком другом часопису, те изјаву да су рукопис прочитали и одобрили сви аутори који испуњавају мерила ауторства. Такође је потребно доставити копије свих дозвола за: репродуковање претходно објављеног материјала, употребу илустрација и објављивање информација о познатим људима или именовање људи који су допринели изради рада.

Чланарина и претплата. Да би рад био објављен у часопису *Српски архив за целокупно лекарство*, сви аутори лекари морају бити чланови Српског лекарског друштва, а први аутор и претплатник на часопис за годину у којој се рад предаје Уредништву. Уз рукопис рада треба доставити копије уплатница за чланарину и претплату као доказ о уплатама. Иностране аутори нису дужни да буду чланови СЛД, нити претплатници на часопис. Додатне информације о чланарини и претплати могу се добити на телефоне 011/3245-149 и 011/3346-963, односно на интернет-страници *Српског архива* (www.srp-arh.rs).

Слање рукописа. Рукопис рада и сви прилози уз рад могу се доставити препорученом поштом, имејлом (srparhiv@bvcom.net), електронски преко система за пријављивање на сајту *Српског архива* (www.srp-arh.rs) или лично, доласком у Уредништво. Уколико се рад шаље поштом или доноси у Уредништво, текст се доставља одштампан у три примерка и нарезан на *CD* (снимљени материјал треба да је идентичан оном на папиру).

Напомена. Рад који не испуњава услове овог упутства не може бити упућен на рецензију и биће враћен ауторима да га допуне и исправе. Придржавањем упутства за писање рада за *Српски архив* знатно ће се скратити време целокупног процеса до објављивања рада у часопису, што ће позитивно утицати на квалитет и редовност излажења свезака.

Адреса:

Српско лекарско друштво
Уредништво часописа „Српски архив за целокупно лекарство”
ул. Џорџа Вашингтона 19
11000 Београд, Србија

E-mail: srparhiv@bvcom.net

Интернет-адреса: www.srp-arh.rs

General instructions. The text of the manuscript should be typed in *Word* format, Roman alphabet (*Serbian Latin*), with double spacing, using exclusively the *Times New Roman* font, and font size 12 pt. The text should be prepared with margins set to 25 mm and onto A4 paper size, aligned left and the initial lines of all paragraphs indented 10 mm, without hyphenation. Tabs and successive blank spaces are not to be used for text alignment; instead, ruler alignment control tool and toolbars are suggested. Only one space follows after any punctuation mark. If special signs (symbols) are used in the text, use the *Symbol* font. References cited in the text are numbered with Arabic numerals in the parenthesis (for example: [1, 2]), in order of appearance in the text. Pages are numbered consecutively within the bottom margin, beginning from the title page.

Write short and clear sentences. The terms taken from foreign literature should be translated into comprehensible English. All foreign words or syntagms that have a corresponding term in English should be replaced by that term. Generic names should be exclusively used for the names of drugs. Devices (apparatuses, instruments) are termed by trade names, while their name and place of production should be indicated in the brackets. If a letter-number combination is used, the number should be precisely designated in superscript or subscript (i.e., ^{99}Tc , IL-6, O_2 , B_{12} , CD8).

If the paper is a part of the master's or doctoral thesis, or a research project, that should be designated in a separate note at the end of the text. Also, if the article was previously presented at any scientific meeting, write the name, venue and time of the meeting.

The manuscript should be printed on one side of the white A4 sheet of paper, and submitted in three (3) copies.

Clinical trials. Clinical trial is defined as any research related to human subjects involving one or more health related interventions in order to evaluate the effects on health outcomes. The trial registration number should be included as the last line of the abstract.

Ethical approval. Manuscripts with human medical research, or patients case histories should contain a statement that the subjects written consent was obtained, according to the Declaration of Helsinki, the study has been approved by local ethics committee and conforms to the legal standards. Experimental studies with human material and animal studies should contain statement of the institutional ethics committee and meet local legal standards.

Conflict of interest statement. A disclosure statement from all authors declaring any potential interest or stating that the authors have no conflict of interest. For additional information on different types conflict of interest, see World Association of Medical Editors (WAME, www.wame.org) policy statement on conflict of interest.

Authorship. All individuals listed as authors should be qualified for authorship. Every author should have participated sufficiently in writing the article in order to take responsibility for the whole article and results presented in the text. Authorship is based only on: crucial contribution to the article conception, obtaining of results or analysis and interpretation of results; design of manuscript or its critical review of significant intellectual value; final revision of the manuscript being prepared for publication (http://www.icmje.org/ethical_1author.html).

The authors shall enclose the description of contribution to the manuscript of any co-author individually. Funding, collection of data or general supervision of the research group alone cannot justify authorship. All other individuals having contributed to the preparation of the article shall be mentioned in the *Acknowledgment* section, with description of their activities, and their written consent.

Title page. The separate, cover sheet, of the manuscript should include the following: title of the article without any abbreviations; each author's full names and family names (no titles), indexed by numbers; name and institutional address of the author(s), in order corresponding to the indexed numbers of the authors; name and family name, corresponding address, phone and fax number, and e-mail address of one of the authors should be typed at the bottom of the page.

Summary. Along with the original article, communication, review article, case report, article on history of medicine, article for "Language of medicine" and article for practitioners, the abstract not exceeding 100-250 words should be typed on a separate sheet of paper. In the original article, the summary shall have the following structure: Introduction, Objective, Methods,

Results and Conclusion. Each segment shall be typed in a separate paragraph using boldface. The most significant results (numerical values), statistical analysis and level of significance are to be included. In case reports, the summary shall consist of the following: Introduction, Case outline and Conclusion. Each segment shall be typed in a separate paragraph using boldface. In other types of articles, the summary has no special outline.

Keywords. The keywords need not repeat words in the title and should be relevant or descriptive. Keywords shall be typed below the abstract (3 to 6 words). *Medical Subject Headings – MeSH* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh>) are to be used for selection of the keywords.

Structure of the article. All section headings should be in capital letters using boldface. Original articles shall have the following section headings: Introduction, Objective, Methods, Results, Discussion, Conclusion and References. The review article includes: Introduction, corresponding section headings, Conclusion, and References. The author of a review article should cite at least five auto-citations (references of which he was the author or co-author of the paper) of papers published in peer-reviewed journals. Co-authors, if any, should cite at least one auto-citation of papers also published in peer-reviewed journals. The case report should consist of: Introduction, Case outline, Discussion and References. No names of patients, initials or numbers of medical records, particularly in illustrations, should be mentioned. Case Reports should not have more than seven authors.

Abbreviations. To be used only if appropriate, for very long names of chemical compounds, or as well-known abbreviations (standard abbreviations such as DNA, AIDS, HIV, ATP etc.). Full meaning of each abbreviation should be indicated when it is first mentioned in the text unless it is a standard unit of measure. No abbreviations are allowed in the title. Abbreviations in the abstract should be avoided, but if they have to be used, each of them should be explained when first mentioned in the text.

Units of measure. Length, height, weight and volume should be expressed in metric units (metre – *m*, kilogram – *kg*, litre – *l*) or subunits. Temperature should be in Celsius degrees ($^{\circ}\text{C}$), quantity of substance in moles (*mol*), and blood pressure in millimetres of mercury column (*mm Hg*). All results of haematological, clinical and biochemical measurements should be expressed in the metric system according to the International System of Units (SI units).

Length of the manuscript. The entire text of the manuscript – title page, summary, the whole text, list of references, all enclosures including captions and legends (tables, photos, graphs, schemes, sketches) – must have maximum 5,000 words for original articles, communications, review articles and articles on history of medicine, and 3,000 words for case reports, articles for practitioners, educational articles and articles for "Language of medicine"; for any other section maximum is 1,500 words.

To check the required number of words in your manuscript, you may use the menu *Tools–Word Count*, or *File–Properties–Statistics*.

Tables. Each table, with its legend, should be self-explanatory. The title should be typed above the table and any explanatory information under the table. Tables should be numbered in Arabic numerals in order of citation in the text. Use *Word* format, the menu *Table–Insert–Table*, inserting the adequate number of rows and columns. By the right click of the mouse, use the options *Merge Cells* and *Split Cells*. Use *Times New Roman*, font size 12 pt, with single spacing and no indent to draw the tables. Abbreviations used in tables should be explained in the legend below the respective table. Each table should be printed on a separate sheet of paper and submitted in one copy for each copy of the manuscript (i.e., three copies of tables for each manuscript submitted).

Photographs. Photographs are numbered in Arabic numerals in order of citation in the text. Each photograph is submitted in three copies or three sets in separate envelopes. Only original photographs (black and white or colour), on smooth (shiny, and not matt) paper are acceptable, in $9\times 13\text{ cm}$ or $10\times 15\text{ cm}$ in size, if possible. Each photograph should be labelled on the back. The label should contain the ordinal number of the photo and an arrow designating the top of the photograph. Take care not to damage the photographs in any way. Photographs taken by digital camera should be written on CD and printed on paper, as well, and submitted as such, taking care of the quality (sharpness) and size of digital recording. Resolution of

300 *dpi*, photograph format of 10×15 *cm* and format of the picture *.JPG* or *.TIF* are advisable. If authors are not able to provide original photographs, then the photos should be scanned as *Grayscale* with resolution of 300 *dpi*, in original size and written on CD.

Photographs may be printed and published in colour, but the expenses shall be covered by the author.

Graphs. Graphs should be plotted in *Excel* in order to see the respective values distributed in the cells. The same graphs should be linked to *Word* document, numbered in Arabic numerals by order of citation in the text. Abbreviations used in graphs should be explained in the legend below the respective graph. Each graph should be printed on a separate sheet of paper and submitted in one copy for each copy of the manuscript (i.e., three copies of tables for each manuscript submitted).

Schemes (sketches). Schemes should be drawn in *Corel Draw* or *Adobe Illustrator* (programmes for drawing vectors, curves, etc.). The text in the schemes is to be typed in *Times New Roman*, font size 10 *pt*. Each scheme should be printed on a separate sheet of paper and submitted in one copy for each copy of the manuscript (i.e., three copies of schemes for each manuscript submitted). The abbreviations used in the scheme should be explained in the legend below it.

Acknowledgment. List all those individuals having contributed to preparation of the article but having not met the criteria of authorship, such as individuals providing technical assistance, assistance in writing the paper or running the department securing general support. Financial and all other support in the form of sponsorship, grants, donations of equipment and medications, etc., should be mentioned, too.

References. The reference list is the responsibility of the authors. Cited articles should be readily accessible to the journals readership. References should be numbered in Arabic numerals in order of citation in the text. The overall number of references should not exceed 30, except in literature reviews, where maximum 50 is acceptable. The number of citations of original articles must be at least 50% of the total number of references, and the number of citations of books, chapters and literature reviews less than 20%. The majority of the cited articles should not be older than five years. Abstracts should be avoided as references, and those older than two years should not be included in citations. The references of articles accepted for publication should be designated as "*in press*" with the enclosed proof of approval for publication.

The references are cited according to the Vancouver style (*Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals*), rules and formats established by the International Committee of Medical Journal Editors (<http://www.icmje.org>), used by the U.S. National Library of Medicine and scientific publications data bases. Examples of citing publications (journal

articles, books and other monographs, electronic, unpublished and other published material) could be found on the web site http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html. In citation of references the defined standards should be strictly followed because it is the essential factor of indexing for classification of scientific journals. Proper citation of references would render *Serbian Archives of Medicine* a journal of higher quality and rating in the list of world scientific journals.

Cover letter. The cover letter should be enclosed with the manuscript, which is signed by all authors and includes the following: statement that the paper has never been published and concurrently submitted for publication to any other journal; and statement that the manuscript has been read and approved by all authors who have met the criteria of authorship. In addition, the authors shall submit the following copies of all permits for: reproduction of formerly published material, use of illustrations and publication of information on known people or disclosure of the names of people having contributed to the work.

Membership fee and subscription rates. Foreign authors are under no obligation to be members of the Serbian Medical Society or to be subscribed to the *Serbian Archives of Medicine* in order to have their article published in the journal. However, if it is their wish to do so, all the relevant information may be obtained at the email address of the Editorial Board: srparhiv@bvcom.net.

Submission of papers. Papers and all enclosures may be sent by registered mail (in three printed copies and on CD, with the version identical to that on paper), by email (srparhiv@bvcom.net) or electronically via the Serbian Archives site (www.srp-arh.rs).

Note. The papers not complying with these instructions shall not be reviewed and shall be returned to the authors for revision. Observing the instructions for preparation of papers in *Serbian Archives of Medicine* will shorten the time of the entire process of publication and will have a positive effect on the quality and timely release of the journal.

For further information, please contact us at the following address:

Address:

Srpsko lekarsko društvo
Uredništvo časopisa "Srpski arhiv za celokupno lekarstvo"
ul. Džordža Vašingtona 19
11000 Beograd
Serbia

E-mail: srparhiv@bvcom.net

Web site: www.srp-arh.rs

ОПШТА УПУТСТВА

- ☐ *Word*
- ☐ *latinica*
- ☐ *Times New Roman*
- ☐ 12 pt
- ☐ све маргине 2,5 cm
- ☐ страница A4
- ☐ лево поравнање
- ☐ увлачење пасуса 10 mm
- ☐ литература у тексту у заградама [...]

ПРВА СТРАНИЦА

- ☐ Наслов рада без скраћеница
- ☐ Пуна имена и презимена аутора
- ☐ Званичан назив установа, место, држава
- ☐ Контакт-адреса, телефон, e-mail

ПОСЕБНА СТРАНИЦА

Кратак садржај (100-250 речи)

Оригиналан рад:

- ☐ Увод
- ☐ Циљ рада
- ☐ Методе рада
- ☐ Резултати
- ☐ Закључак
- ☐ Кључне речи (3-6)

Приказ болесника:

- ☐ Увод
- ☐ Приказ болесника
- ☐ Закључак
- ☐ Кључне речи (3-6)

Остали типови радова:

- ☐ нема сегмената

ТЕКСТ РАДА

Оригиналан рад (до 5.000 речи):

- ☐ Увод
- ☐ Циљ рада
- ☐ Методе рада
- ☐ Резултати
- ☐ Дискусија
- ☐ Закључак
- ☐ (Захвалница)
- ☐ Литература (Ванкуверски стил)

Приказ болесника (до 3.000 речи):

- ☐ Увод
- ☐ Приказ болесника
- ☐ Дискусија
- ☐ (Захвалница)
- ☐ Литература (Ванкуверски стил)

Преглед литературе, саопштење,

рад из историје медицине,
рад за „Језик медицине” (до 5.000 речи):

- ☐ Увод
- ☐ Одговарајући поднаслови
- ☐ Закључак
- ☐ (Захвалница)
- ☐ Литература (Ванкуверски стил, пет аутоцитата
првог аутора, један аутоцитат коаутора)

ПОСЕБНА СТРАНИЦА

- ☐ Наслов рада на енглеском
- ☐ Пуна имена и презимена аутора
- ☐ Званичан назив установа на енглеском, место,
држава

ПОСЕБНА СТРАНИЦА**Summary (100-250 words)**

Original article:

- ☐ Introduction
- ☐ Objective
- ☐ Methods
- ☐ Results
- ☐ Conclusion
- ☐ Keywords (3-6)

Case report:

- ☐ Introduction
- ☐ Case outline
- ☐ Conclusion
- ☐ Keywords (3-6)

Articles for other columns:

- ☐ нема сегмената

ПРИЛОЗИ

Табеле (Word):

- ☐ Табела 1. (српски)
- ☐ Table 1. (English)

Графикони (Excel, линк у Word):

- ☐ Графикон 1. (српски)
- ☐ Graph 1. (English)

Слике (оригинал, скенирано)

- ☐ Слика 1. (српски)
- ☐ Figure 1. (English)

Схеме (CorelDraw или Adobe Illustrator)

- ☐ Схema 1. (српски)
- ☐ Scheme 1. (English)

ОСТАЛО

- ☐ скраћенице на латиници подвући
- ☐ децимални бројеви у српском тексту са зарезом,
у енглеском и прилозима са тачком
- ☐ јединице SI

СЛАЊЕ РАДА

- ☐ поштом или лично доласком три идентична
примерка одштампана и снимљена на CD;
email; преко сајта „Српског архива”
- ☐ изјаве с потписима свих аутора
- ☐ опис доприноса у раду свих аутора
- ☐ пропратно писмо
- ☐ потврде о плаћеној чланарини за СЛД за све
ауторе и претплати на часопис првог аутора за
текућу годину

GENERAL INSTRUCTIONS

- ☐ Word format
- ☐ Roman alphabet
- ☐ Times New Roman
- ☐ 12 pt
- ☐ All margins set to 2.5 cm
- ☐ A4 paper size
- ☐ Left adjustment
- ☐ Initial lines of paragraph indented 10 mm
- ☐ References in text placed in parenthesis

TITLE PAGE

- ☐ Title of paper excluding abbreviations
- ☐ Full names and surnames of author(s)
- ☐ Name of the institution(s), address
- ☐ Corresponding address, phone number, e-mail

SEPARATE SHEET**Summary (100-250 words)**

Original article:

- ☐ Introduction
- ☐ Objective
- ☐ Methods
- ☐ Results
- ☐ Conclusion
- ☐ Keywords (3-6)

Case report:

- ☐ Introduction
- ☐ Case outline
- ☐ Conclusion
- ☐ Keywords (3-6)

Articles for other columns:

- ☐ No sections

TEXT OF MANUSCRIPT

Original article (maximum 5,000 words):

- ☐ Introduction
- ☐ Objective
- ☐ Methods
- ☐ Results
- ☐ Discussion
- ☐ Conclusion
- ☐ (Acknowledgment)
- ☐ References (Vancouver style)

Case report (maximum 3,000 words):

- ☐ Introduction
- ☐ Case report
- ☐ Discussion
- ☐ (Acknowledgment)
- ☐ References (Vancouver style)

Review articles, Communications, History of Medicine, Language of Medicine (maximum 5,000 words):

- ☐ Introduction
- ☐ Main body of the text
- ☐ Conclusion
- ☐ (Acknowledgment)
- ☐ References (Vancouver style, five auto-citations of the first author, one auto-citation of co-authors)

ENCLOSURES

- ☐ Tables (Word)
- ☐ Graphs (Excel, link to Word)
- ☐ Figures (original, scanned)
- ☐ Schemes (CorelDraw or Adobe Illustrator)

OTHER

- ☐ SI units

SUBMISSION OF PAPERS

- ☐ registered mail (three identical printed copies and CD); email; via Serbian Archives site
- ☐ Statement signed by all authors
- ☐ Description of authors' contribution to work
- ☐ Cover letter

CIP - Каталогизација у публикацији
Народна библиотека Србије, Београд

61(497.1)861

СРПСКИ архив за целокупно лекарство =
Serbian Archives of Medicine / главни и
одговорни уредник Павле Миленковић. - Год. 1,
бр. 1 (1874)- . - Београд (Цорџа
Вашингтона 19) : Српско лекарско друштво,
1872- (Београд : Службени гласник). - 29 cm

Доступно и на :

<http://www.srp-arh.rs>. - Двомесечно

ISSN 0370-8179 = Српски архив за целокупно лекарство
COBISS.SR-ID 3378434

