

СРПСКИ АРХИВ

ЧАСОПИС СРПСКОГ ЛЕКАРСКОГ ДРУШТВА ОСНОВАН 1872. ГОДИНЕ

ЗА ЦЕЛОКУПНО ЛЕКАРСТВО

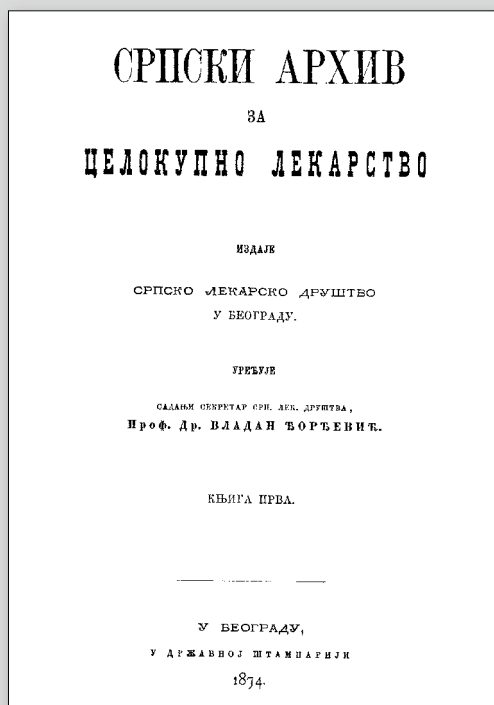


ГОДИШТЕ 142.
НОВЕМБАР–ДЕЦЕМБАР 2014.
СВЕСКА 11-12

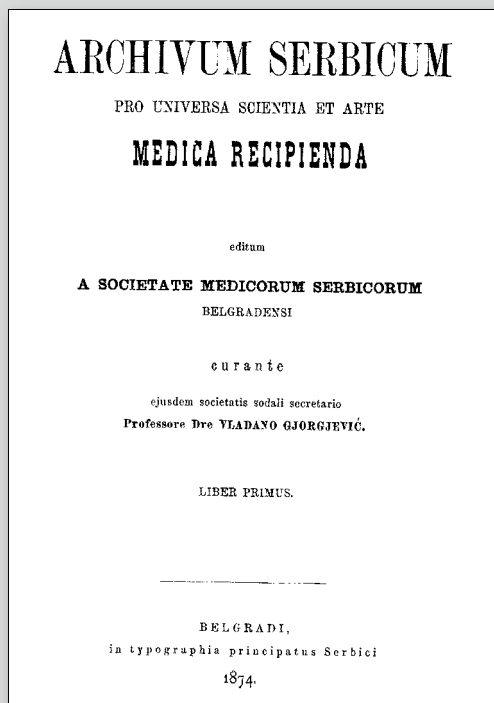
VOLUME 142
NOVEMBER–DECEMBER 2014
NUMBER 11-12

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 помогло
је Министарство просвете, науке и
технолошког развоја 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, пренима-
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;
ISSN Online 2406-0895

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 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 Радуновић, 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

МЕЋУНАРОДНИ 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 Tatjana Ille (УАЕ)
Prof. dr Dorothy Keefe (Аустралија)
Prof. dr Bernhard Maisch (Немачка)
Prof. dr Gordana Matijašević-Cavrić (Боцвана)
Prof. dr Veselin Mitrović (Немачка),
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 NOVEMBER–DECEMBER 2014 NUMBER 11-12

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. 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. Tatjana Ille, MD, PhD (UAE)

Prof. Dorothy Keefe, MD, PhD (Australia)

Prof. Bernhard Maisch, MD, PhD (Germany)

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

Prof. Veselin Mitrović, MD, PhD (Germany)

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 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;
ISSN Online 2406-0895

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

САДРЖАЈ • CONTENTS

РЕЧ УРЕДНИКА • EDITORIAL	654-655
ОРИГИНАЛНИ РАДОВИ • ORIGINAL ARTICLES	
VOCAL THERAPY OF HYPERKINETIC DYSPHONIA	656-662
Gordana Mumović, Mila Veselinović, Tanja Arbutina, Renata Škrbić	
ВОКАЛНА ТЕРАПИЈА ХИПЕРКИНЕТИСКЕ ДИСФОНИЈЕ	
Гордана Мумовић, Тања Арбутина, Мила Веселиновић, Рената Шкрбић	
FREQUENCY AND QUALITY OF ROOT CANAL FILLINGS IN AN ADULT SERBIAN POPULATION	663-668
Jugoslav Ilić, Mirjana Vujašković, Ljiljana Tihaček-Šojić, Aleksandra Milić-Lemić	
УЧЕСТАЛОСТ И КВАЛИТЕТ ПУЊЕЊА КАНАЛА КОРЕНА ЗУБА КОД ОДРАСЛИХ ОСОБА У СРБИЈИ	
Југослав Илић, Мирјана Вујашковић, Љиљана Тихачек-Шојић, Александра Милић-Лемић	
EUGENOL-BASED TEMPORARY LUTING CEMENT POSSESSES ANTIOXIDATIVE PROPERTIES	669-674
Dragan Ilić, Kosovka Obradović-Djuričić, Djordje Antonijević, Tatjana Todorović	
ПРИВРЕМЕНИ ЦЕМЕНТИ НА БАЗИ ЕУГЕНОЛА ИМАЈУ АНТИОКСИДАТИВНО ДЕЈСТВО	
Драган Илић, Косовка Обрадовић-Ђуричић, Ђорђе Антонијевић, Татјана Тодоровић	
SURGICAL TREATMENT RESULTS OF CARPAL TUNNEL SYNDROME IN PATIENTS WITH AND WITHOUT TYPE 2 DIABETES MELLITUS	675-679
Melih Malkoc, Özgür Korkmaz, Ismail Oltulu, Ali Seker, Ferhat Say, Ahmet Murat Bulbul	
РЕЗУЛТАТИ ХИРУРШКОГ ЛЕЧЕЊА СИНДРОМА КАРПАЛНОГ ТУНЕЛА КОД БОЛЕСНИКА	
СА ДИЈАБЕТЕС МЕЛИТУСОМ ТИП 2 И БЕЗ ЊЕГА	
Мелих Малкоц, Озгур Коркмаз, Исмаил Олтулу, Али Секер, Ферхат Сај, Ахмет Мурат Булбул	
ОДЛИКЕ ПАРАПНЕУМОНИЧНИХ ИЗЛИВА И НАШЕ ДИЈАГНОСТИЧКО-ТЕРАПИЈСКЕ МОГУЋНОСТИ	680-687
Мирна Ђурић, Дејан Ђурић, Тамара Ђулибрк, Ђорђе Поважан	
PARAPNEUMONIC EFFUSIONS: FEATURES, DIAGNOSTICS AND TREATMENT OPTIONS	
Mirna Djurić, Dejan Djurić, Tamara Čulibrk, Djordje Považan	
COST-EFFECTIVENESS ANALYSIS OF DIFFERENT TYPES OF LABOR FOR SINGLETON PREGNANCY: REAL LIFE DATA	688-694
Dragana Lakić, Branko Petrović, Guenka Petrova	
АНАЛИЗА ТРОШКОВНЕ ИСПЛАТИВОСТИ РАЗЛИЧИТИХ ВРСТА ПОРОЂАЈА КОД ЈЕДНОПЛОДНИХ	
ТРУДНОЋА – ПОДАЦИ ИЗ ПРАКСЕ	
Драгана Лакић, Бранко Петровић, Гуенка Петрова	
ADEQUATE WEIGHT GAIN IN PREGNANCY: AN ANALYSIS OF ITS DETERMINANTS IN A CROSS-SECTIONAL STUDY	695-702
Alina Delia Popa, Raluca Maria Popescu, Gina Eosefina Botnariu	
ОДГОВАРАЈУЋЕ ПОВЕЋАЊЕ ТЕЛЕСНЕ ТЕЖИНЕ ТОКОМ ТРУДНОЋЕ: АНАЛИЗА ДЕТЕРМИНАНТИ	
УНАКРСНИМ ИСТРАЖИВАЊЕМ	
Алина Делија Попа, Ралука Марија Попеску, Ђина Еосефина Ботнарију	
EXPERIENCE WITH LAMIVUDINE TREATMENT FOR SEVERE ACUTE HEPATITIS B	703-707
Antonija Verhaz	
ИСКУСТВО С ЛАМИВУДИНОМ У ЛЕЧЕЊУ ТЕШКИХ ОБЛИКА АКУТНОГ ХЕПАТИТИСА Б	
Антонија Верхаз	
IDENTIFICATION OF CAMPYLOBACTER SPECIES ISOLATES WITH PHENOTYPIC METHODS AND POLYMERASE CHAIN REACTION	708-712
Biljana Miljković-Selimović, Tatjana Babić, Branislava Kocić, Aleksandra Matkić, Ljiljana Ristić	
ПРЕПОЗНАВАЊЕ ИЗОЛАТА CAMPYLOBACTER SPP. ПРИМЕНОМ ФЕНОТИПСКИХ МЕТОДА И	
ЛАНЧАЊЕ РЕАКЦИЈЕ ПОЛИМЕРАЗЕ	
Биљана Миљковић-Селимовић, Татјана Бабић, Бранислава Коцић, Александра Маткић, Љиљана Ристић	
ПРИКАЗИ БОЛЕСНИКА • CASE REPORTS	
SPINAL METASTASIS OF MEDULLOBLASTOMA IN ADULTS: A CASE REPORT	713-716
Nenad Živković, Iva Berisavac, Marko Marković, Sanja Milenković	
СПИНАЛНА МЕТАСТАЗА МЕДУЛОБЛАСТОМА КОД ОДРАСЛИХ ОСОБА: ПРИКАЗ БОЛЕСНИКА	
Ненад Живковић, Ива Берисавац, Марко Марковић, Сања Миленковић	
RETINAL DETACHMENT IN THE EYE WITH THE CHOROIDAL COLOBOMA	717-720
Dragan Vuković, Sanja Petrović Pajić, Predrag Paović	
АБЛАЦИЈА МРЕЖЊАЧЕ У ОКУ С ХОРОИДАЛНИМ КОЛОБОМОМ	
Драган Вуковић, Сања Петровић Пајић, Предраг Паовић	
PEDUNCULATED OBSTRUCTIVE LIPOMA OF THE ILEOCECAL VALVE: A CASE REPORT	721-723
Berislav Vekić, Rastko Živić	
ПЕТЕЉКАСТИ ОПСТРУКТИВНИ ЛИПОМ ИЛЕОЦЕКАЛНЕ ВАЛВУЛЕ: ПРИКАЗ БОЛЕСНИКА	
Берислав Векић, Растко Живић	

DYSFUNCTIONAL ECTOPIC THYROID GLAND: A CASE REPORT	724-727
Edita Stokić, Vladimir Kljajić, Stevan Idjuški, Damir Benc, Djordje Popović, Mladjan Protić, Veljko Crnobrnja	
ДИСФУНКЦИОНАЛНА ЕКТОПИЧНА ШТИТАСТА ЖЛЕЗДА – ПРИКАЗ БОЛЕСНИКА	
Едита Стокић, Владимир Кљајић, Стеван Иђушки, Дамир Бенц, Ђорђе Поповић, Млађан Протић, Вељко Црнобрња	
LOW ESTRADIOL LEVELS IN THE MATERNAL MARKER SCREEN AS A PREDICTOR OF X-LINKED ADRENAL HYPOPLASIA CONGENITA: CASE REPORT	728-731
Jasmina Durković, Tatjana Milenković, Nils Krone, Silvia Parajes, Bojana Mandić	
НИЗАК НИВО ЕСТРИОЛА У СЕРУМУ МАЈКЕ ОДРЕЂЕН У ОКВИРУ ПРЕНАТАЛНОГ СКРИНИНГА	
КАО ПРЕДИКТОР Х-ВЕЗАНЕ КОНГЕНИТАЛНЕ АДРЕНАЛНЕ ХИПОПЛАЗИЈЕ – ПРИКАЗ БОЛЕСНИКА	
Јасмина Дурковић, Татјана Миленковић, Нилс Кроне, Силвиа Парајес, Бојана Мандић	
OLIGOMEGANEPHRONIA: CASE REPORT AND LITERATURE REVIEW	732-735
Xiang-dong Yang, Weiwei Shi, Dengren Li, Tao Peng	
ОЛИГОМЕГАНЕФРОНИЈА: ПРИКАЗ БОЛЕСНИКА И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ	
Сјанг-донг Јанг, Веивеи Ши, Денгрен Ли, Тао Пенг	
CASE REPORT OF ACUTE VITAMIN D INTOXICATION IN AN INFANT	736-739
Nedeljko Radlović, Zoran Leković, Dragana Ristić, Vladimir Radlović, Goran Djuričić, Aleksandar Dimitrijević, Biljana Vuletić	
ПРИКАЗ ОДОЈЧЕТА С АКУТНИМ ТРОВАЊЕМ ВИТАМИНОМ Д	
Недељко Радловић, Зоран Лековић, Драгана Ристић, Владимир Радловић, Горан Ђуричић, Александар Димитријевић, Биљана Вулетић	
ПРЕГЛЕДИ ЛИТЕРАТУРЕ • REVIEW ARTICLES	
ИНФЛАМАТОРНИ МЕХАНИЗМИ КОД НОСНО-СИНУСНЕ ПОЛИПОЗЕ	740-746
Александар Перић, Данило Војводић	
INFLAMMATORY MECHANISMS IN NASAL POLYPOSIS	
Aleksandar Perić, Danilo Vojvodić	
ЗАСТОЈНА ИНСУФИЦИЈЕНЦИЈА СРЦА КОД БОЛЕСНИКА С ОШТЕЋЕНОМ ФУНКЦИЈОМ БУБРЕГА	747-755
Милета Поскурица, Дејан Петровић	
CONGESTIVE HEART FAILURE IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE	
Mileta Poskurica, Dejan Petrović	
THE RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM AND ITS BLOCKERS	756-763
Rajko Igić, Ranko Škrbić	
СИСТЕМ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИН И ЊЕГОВИ БЛОКАТОРИ	
Рајко Игић, Ранко Шкрбић	
ИСТОРИЈА МЕДИЦИНЕ • HISTORY OF MEDICINE	
НЕАДЕКВАТНО САХРАЊИВАЊЕ КАО ВАЖАН ФАКТОР У ЕПИДЕМИЈАМА КУГЕ КОД СРБА У ХАБЗБУРШКОЈ МОНАРХИЈИ КРАЈЕМ 18. ВЕКА – ИСТОРИЈСКА АНАЛИЗА	764-767
Горан Васин, Снежана Божанић, Милица Кисић Божић	
INADEQUATE BURIALS AS AN IMPORTANT FACTOR IN PLAGUE EPIDEMIC AMONGST SERBS IN THE HABSBURG MONARCHY BY THE END OF THE 18TH CENTURY: A HISTORICAL ANALYSIS	
Goran Vasin, Snežana Božanić, Milica Kisić Božić	
ДОПРИНОС ФАРМАЦЕУТА РАЗВОЈУ ЗДРАВСТВЕНЕ КУЛТУРЕ У ВРАЊУ КРАЈЕМ 19. И У ПРВОЈ ПОЛОВИНИ 20. ВЕКА	768-776
Јасмина Арсић, Душанка Крајновић, Србољуб Арсић, Андријана Милошевић Георгиев, Валентина Маринковић	
CONTRIBUTION OF PHARMACISTS TO THE DEVELOPMENT OF HEALTHCARE CULTURE IN VRANJE BY THE END OF THE 19TH CENTURY AND IN THE FIRST HALF OF THE 20TH CENTURY	
Jasmina Arsić, Dušanka Krajnović, Srboљub Arsić, Andriјana Milošević Georgiev, Valentina Marinković	
ОД УРЕДНИШТВА • FROM THE EDITORIAL OFFICE	
ERRATUM	777
СПИСАК РЕЦЕНЗЕНАТА	778-780
НОВО УПУТСТВО АУТОРИМА • NEW INSTRUCTIONS FOR AUTHORS	782-787

Поштовани чланови Уређивачког одбора, рецензенти и сарадници „Српског архива за целокупно лекарство“,

У протеклој години смо успешно радили на остваривању стандарда у обради радова који се публикују у међународним часописима. Видно је побољшан ниво рецензирања радова и делимично скраћен период од пријема до објављивања прихваћених рукописа. Међутим, смањен је „фактор утицајности“ часописа за 2013. у односу на 2012. годину. Председништво Српског лекарског друштва је на седници одржаној 5. новембра 2014. размотрило Извештај о раду часописа и, ради побољшања могућности да радови из „Српског архива“ буду цитирани, донело одлуку (бр. 2239/2014) да се од јануара 2015. сви стручни и научни радови достављају и публикују искључиво на енглеском језику уз обавезни исцрпни саже-так на српском, а сви остали прилози, као и до сада, штампају на српском или енглеском језику. Уредништво ће предузети и друге мере за побољшање тзв. видљивости часописа у договору са Српским лекарским друштвом, као издавачем, укључујући и израду новог веб-сајта часописа, боље организовање процедуре обраде радова и припреме за штампу, праћење приказа радова у међународним базама података и др. Међутим, за успех су сва-како првенствено потребни објављивање квалитетних радова и њихова актуелност.

Захваљујем свим рецензентима, члановима Уређивачког одбора и сарадницима Уред-ништва на преданом и савесном раду, уз жељу да оправдамо поверење аутора.

У нову 2015. годину, уз срдачне честитке, улазимо с новим ентузијазмом и надом за даљи напредак „Српског архива за целокупно лекарство“.

*Проф. др Павле Миленковић,
главни и одговорни уредник*

Honored members of the Editorial Board, reviewers and co-workers of the Serbian Archives of Medicine,

During the last year we have successfully worked on the implementation of the standard in the editing of manuscripts that are published in international journals. The level of the editing of manuscripts has been evidently improved, and the period from the time of received manuscript until it is accepted and published has been partially shortened. However, the Impact Factor of the journal has been decreased in 2013 in relation to 2012. At the meeting held on November 5th, 2014, the Presidency of the Serbian Medical Society considered the report on the journal's activities. In order to improve the possibility of papers published in the Serbian Archive to be cited, the decision (No. 2239/2014) has been reached that all expert and scientific papers should be submitted and published exclusively in the English language with an obligatory all-inclusive abstract in the Serbian language, while all other attachments will be published, as until now, in the Serbian or English language. The Editorial Office will also undertake other measures in order to improve the so-called visibility of the journal, as agreed with the Serbian Medical Society, as the publisher, which will also include the creation of a new website, better organization of the procedure of manuscripts proofreading and preparation of manuscript publication, follow-up of manuscript presentation in the international databases and other. However, the success is certainly primarily dependent on the publication of high-quality up-to-date papers.

Please let me express my gratitude to all reviewers, the Editorial Board members and the Editorial Office co-workers on their devoted and conscientious work, with the wish to justify authors' trust.

We are entering the New Year 2015 with the expression of cordial greetings, and new enthusiasm and hope for further progress of the Serbian Archives of Medicine.

Prof. Pavle Milenković, MD, PhD
Editor-in-Chief

Vocal Therapy of Hyperkinetic Dysphonia

Gordana Mumović¹, Mila Veselinović¹, Tanja Arbutina¹, Renata Škrbić²

¹Phoniatric Department, ENT Clinic, Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Novi Sad, Serbia;

²Department of Special Education and Rehabilitation, Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Novi Sad, Serbia

SUMMARY

Introduction Hyperkinetic (hyperfunctional) dysphonia is a common pathology. The disorder is often found in vocal professionals faced with high vocal requirements.

Objective The objective of this study was to evaluate the effects of vocal therapy on voice condition characterized by hyperkinetic dysphonia with prenodular lesions and soft nodules.

Methods The study included 100 adult patients and 27 children aged 4-16 years with prenodular lesions and soft nodules. A subjective acoustic analysis using the GIRBAS scale was performed prior to and after vocal therapy. Twenty adult patients and 10 children underwent objective acoustic analysis including several acoustic parameters. Pathological vocal qualities (hoarse, harsh and breathy voice) were also obtained by computer analysis.

Results The subjective acoustic analysis revealed a significant ($p < 0.01$) reduction in all dysphonia parameters after vocal treatment in adults and children. After treatment, all levels of dysphonia were lowered in 85% (85/100) of adult patients and 29% (29/100) had a normal voice. Before vocal therapy 9 children had severe, 13 had moderate and 8 slight dysphonia. After vocal therapy only 1 child had severe dysphonia, 7 had moderate, 10 had slight levels of dysphonia and 9 were without voice disorder. The objective acoustic analysis in adults revealed a significant improvement ($p \leq 0.025$) in all dysphonia parameters except SD F0 and jitter %. In children, the acoustic parameters SD F0, jitter % and NNE (normal noise energy) were significantly improved ($p = 0.003-0.03$). Pathological voice qualities were also improved in adults and children ($p < 0.05$).

Conclusion Vocal therapy effectively improves the voice in hyperkinetic dysphonia with prenodular lesions and soft nodules in both adults and children, affecting diverse acoustic parameters.

Keywords: vocal nodules; GIRBAS scale; objective acoustic analysis

INTRODUCTION

Hyperkinetic (hyperfunctional) dysphonia is a common pathology in the clinical practice of phoniatric departments. Different studies report the frequency of voice disorders in the general population to be between 3-12%. According to different authors, various forms of hyperkinetic dysphonia compose up to 50% of overall vocal pathology. In children the frequency of hyperkinetic dysphonia disorders ranges from 3-37% [1, 2]. About 25% of occupations impose high vocal requirements on their employees, thus making hyperkinetic voice disorders a common disorder, particularly among people with voice intensive occupations [3].

Diverse classifications of hyperkinetic voice disorder have been formulated by Hribar, Perello, Cvejić, Kosanović, and Milutinović [4, 5]. Early classifications sharply separated organic from functional voice disorders. However, Kotby [6] has emphasized that "prerequisites of normal voice production are directly related to the "instrument" (vocal folds), but also to "the way the player (the subject) uses the instrument". He supported the theory that a functional disorder that lasts for a long time leads to organic changes, such as minimal pathological lesions (MAPLs).

The Phoniatric Department of the ENT Clinic in Novi Sad (Serbia) has been using the etiological classification formulated by Majdevac, the founder of the Phoniatric Department of the ENT Clinic in Novi Sad, for many years, particularly to differentiate between diverse types of hyperkinetic disorder. This classification pays special attention to children's hyperkinetic dysphonia and hyperkinetic dysphonia of vocal professionals [7, 8]. According to the primary ethiological factor, this classification includes eight main types of dysphonia: 1. dysphonia due to functional disorder, 2. dysphonia due to neurological disorder, 3. dysphonia due to psychological disorder, 4. dysphonia due to somatic disorder, 5. dysphonia due to hormonal disorder, 6. dysphonia due to hard professional requirements, 7. dysphonia due to dysplastic disorder, and 8. dysphonia due to larynx tumors.

Dysphonia due to functional disorder includes: hypokinetic dysphonia, hyperkinetic dysphonia, dysodia and contact hyperplastic dysphonia. According to this special classification, hyperkinetic dysphonias are classified into: 1) juvenile hyperkinetic dysphonia (*dysphonia hyperkinetica juvenilis*), characterized by functional or organic changes in the middle of the vocal fold (*punctum maximum* of the vibration in childhood); 2) juvenile hyperkinetic dysphonia prolonged into adulthood

Correspondence to:

Renata ŠKRBIĆ
Department of Special Education
and Rehabilitation
Faculty of Medicine
University of Novi Sad
Hajduk Veljkova 3
21000 Novi Sad
Serbia
iklamat@gmail.com

(*dysphonia hyperkinetica juvenilis prolongata*), characterized by changes in the middle of the vocal fold persisting into adulthood; and 3) hyperkinetic dysphonia in adults (*dysphonia hyperkinetica*) characterized by changes in the juncture of the anterior and medium third of the cords (punctum maximum of the cord vibration in adults).

Each of these dysphonias is classified into three stages, depending on its duration and severity: 1) stage I – organic changes are not apparent, but a hyperkinetic vibration form is detected by stroboscopy; 2) stage I/II – prenodular forms exist, with an hourglass form of the glottic occlusion or a tiny triangular gap between the posterior glottis; and 3) stage II – presence of soft or hard nodules on the vocal cords.

This classification, which is different from others, provides several useful informations: the type and duration of pathological etiological factors, the age of appearance, and the form of the glottic occlusion, thus allowing therapeutic approaches to be more targeted. Therefore, we strongly support the use of this classification system.

Hyperkinetic (hyperfunctional) dysphonia stage I

During respiration, the larynx has no special features, or only minor ectasia. During phonation, indirect laryngoscopy may reveal a prominent adduction of the cords and a tendency of false vocal folds to mutual approximation. On stroboscopy, hyper adduction of the cords and reduced vibration amplitude are detected, sometimes accompanied by mucosal wave asymmetry. False vocal folds slightly cover the true vocal folds, but do not vibrate. The voice is tight, tense, louder, often deeper and accompanied by vocal fatigue. Many studies report good effects from vocal treatment in this type of dysphonia [8, 9]. The treatment includes elimination of predisposing factors, altered phonation mechanisms, avoidance of firm attacks, reimposition of voice regarding its pitch, intensity and color [10]. Andrews proposes a 9-stage course of practical exercises to reduce interior muscle tension [11]. The voice exercises are carried out with soft, calm, moderate-intensity phonation.

Hyperkinetic dysphonia stage I/II (prenodular lesions)

In this type of dysphonia, prenodular forms exist with slight edema and an hourglass gap, or a tiny triangular gap between the posterior part of the glottis. The degree of dysphonia depends on the degree of disturbance in vibration and vocal cord insufficiency. Vocal treatment similar to that for hyperkinetic dysphonia stage I is effective.

Hyperkinetic stage II dysphonia (nodules)

The presence of chronic abuse, misuse and overuse syndrome induces the development of edematous nodules [12]. If vocal trauma is strong enough to impair micro-

circulation, angiectatic nodules will develop. If harmful factors are eliminated and vocal treatment is introduced, lesions are reversible. If this does not occur, the nodules may turn fibroedematous and then fibrous. The vocal mechanism does not disturb the “body” function but only the “cover” of the vocal folds. The lesions are bilateral, preventing a good coaptation of the vocal folds, with a small anterior and large posterior gap present. On stroboscopy, higher amplitude is noticed in front of the nodules. The voice is characterized by deepening, pneumophonia and reduced range. Vocal treatment is aimed at improving vocal efficiency to the maximum and reducing the impact of the vocal disorder on social aspects of life. Sataloff et al. [13] recommend a minimum of 6-12 weeks of vocal treatment, even when a surgical resection is planned, in order to prevent relapse. A long-lasting vocal treatment is needed not only to resolve the dysphonia, but also to correct prolonged bad vocal habits. Nodules play a prominent role in the singing voice damage [14]. Hirano citing Gould et al. [15] reports that the epithelial callus is the consequence of long-lasting phonotrauma in hard nodules. This condition is not reversible and must be microsurgically treated.

OBJECTIVE

The objective of this study was to evaluate the effects of six weeks of vocal therapy on hyperkinetic (hyperfunctional) dysphonia with prenodular lesions and soft nodules in adults and children.

METHODS

The study was designed as a retrospective study under normal working conditions in recent years in the Phoniatric Department of the ENT Clinic at the University of Novi Sad. We wanted to evaluate the results of vocal therapy in the treatment of serious hyperkinetic disorders such as prenodular lesions and nodules on the vocal folds. Hyperkinetic dysphonia grade I was treated with vocal hygiene. Hard nodules were treated with surgical procedures and vocal hygiene. The study included 100 adult patients (18-55 years) and 27 children (4-16 years) with prenodular lesions and soft nodules. The diagnosis was confirmed by several diagnostic procedures [16]:

1. Case history data

Case history data included gender, age and duration of symptoms. The main inclusion criteria was the presence of any of type of vocal overuse (more than 4 hours of speaking voice use, the normal professional standard for teachers in Serbia, or more than 2 hours of singing voice use per day) [17]; vocal abuse (shouting, excessive coughing and throat clearing) and vocal misuse (inefficient respiration, pitch and intensity of voice, or inefficient voice techniques) [6].

2. Criteria for exclusion were comorbidity factors: laryngopharyngeal reflux, infection, allergy and hormonal disorder [18, 19]. These factors were determined by careful phoniatric examination and laboratory findings.

3. Each patient underwent videostroboscopic examination using the Storz Pulsar Model 20 140020-2002 videostroboscopic system with a Sony video screen. After recording on a compact disc the vibrations of the vocal folds were analyzed frame by frame using a well-known videostroboscopic protocol analyzing amplitude, symmetry, periodicity, homogeneity, glottic gap, open and closed phase of vibration, and mucosal wave [20, 21].

4. Vocal treatment

Following diagnosis, patients underwent a 6-week vocal treatment, three times a week, with daily home voice exercises, including relaxation, respiration, phonation and reimposition voice exercises, adjusted to individual needs. The phonation exercises were carried out gradually, paying special attention to reducing the hard onset of phonation, vowel purification, elevating the voice pitch to the purest voice level, as well as to the regulation of the speech rate, rhythm and melody. In this treatment stage, we used different forms of Serbian language accents and exercises with automated sequences (days of the week, counting to 10 and similarly) and hyper-melodic text (lyrical poetry, etc.) [22]. We assessed the effects of vocal treatment after six weeks using subjective and objective acoustic voice analysis.

Subjective acoustic voice analysis

A well-trained human ear is the best judge of hoarseness. A subjective acoustic voice analysis was performed prior to and after six weeks of vocal treatment, applying the GIRBAS scale, assessing phonation of all vowels, prolonged vowel A phonation, as well as phonetically balanced sentences and text [23]. Based on the perceptual assessment, the following parameters were measured: G – grade – overall dysphonia level; I – instability of the voice; R – roughness of the voice; B – breathiness of the voice; A – asthenicity of the voice; S – strain of the voice.

All parameters were assessed by one of four grades: 0 (no voice pathology), 1 (mild disorder), 2 (moderate disorder), and 3 (severe disorder). The assessment was independently performed by a phoniatician and a phonotherapist, calculating the mean values obtained by both examiners. The assessment was performed at the start of the vocal treatment and then again after six weeks of treatment.

According to the available data, objective acoustic voice analysis was performed in 20 adult patients and 10 children with prenodular or nodular lesions of vocal folds after six weeks of voice treatment. The voice sample (a prolonged, at least three-second phonation of the vowel A, and the best of three attempts) was provided in a sound-proof room, produced in a comfortable sitting posture, at the usual pitch and intensity of the speaking voice. The voice was recorded at 5 cm distance from the mouth using a microphone (model Boehringer ultra voice XM 8500) with a mixer (Eurorack UB 520 ultra low-noise design 5 – input 2 bus mixer). The most stable segment of the voice sample was analyzed using a TIGER DRS computer system with Dr. Speech (4) Vocal Assessment software, which enabled the following parameters to be analyzed:

- Mean fundamental vocal frequency – mean F0 (Hz);
- Standard deviation of fundamental vocal frequency – SD F0;
- Minimal and maximal fundamental vocal frequency – Min F0 and Max F0;
- Maximum and minimum habitual phonation intensity (dB);
- Jitter % – the parameter representing the variability of vibration frequency in short intervals;
- Shimmer % – the parameter representing the amplitude variability in short intervals;
- Harmonic to noise ratio – HNR (dB) – the parameter representing the ratio between the harmonic and noise elements of the voice;
- Signal to noise ratio – SNR (dB) – the parameter representing the ratio between the overall sound signal and noise components of the voice;
- Normalized noise energy – NNE (dB) – the noise energy magnitude of the voice.

Due to the software capacities of the computer system Dr. Speech, which enables the comparison of the actual voice with 900 pathological and 2,400 healthy voices, three pathological categories of the voice were identified: hoarse voice, harsh voice and breathy voice. Each category was classified for four intensity stages: 0 – normal voice condition, 1 – mild deterioration, 2 – moderate deterioration, and 3 – severe deterioration. The computer voice analysis was performed prior to vocal therapy, and 6 weeks after initiation of the treatment.

Statistical data processing

Data collected during the study were stored in a database designed for this purpose. After the data had been loaded and checked, they were processed using descriptive and inferential statistics. The following parameters were calculated and presented: sample scope, arithmetical mean, median, range of values, and standard deviation. Absolute and relative numbers represented the attributive features, and these data were compared using the chi square homogeneity test. The mean values for the numerical features with normal distribution before and after treatment were compared by the t-test for matched samples, i.e. by Wilcoxon's test for the features measured by the ordinal scale. Variance analysis was applied, i.e. the Cruskal-Wallis test, depending on the type of data. Statistical data processing was performed using the SPSS 14 program for Windows.

RESULTS

Regarding the sex of the adult patients in the study, females were predominant: of 100 patients, 88 (88%) were female and 12 (12%) were male. Regarding age structure, the patients ranged from 18-55 years of age.

The ages of the 27 children with prenodular and nodular lesions were between 4-16 years, affecting 13 boys and 14 girls.

Subjective acoustic analysis by the GIRBAS scale (100 patients)

Applying the nonparametric Wilcoxon's test, a significant difference was registered in all GIRBAS Scale parameters before and after vocal treatment ($p < 0.01$):

- Parameter G (grade): $Z = -9.007$; $p < 0.01$;
- Parameter I (instability): $Z = -8.095$; $p < 0.01$;
- Parameter R (roughness): $Z = -7.399$; $p < 0.01$;
- Parameter B (breathiness): $Z = -7.399$; $p < 0.01$;
- Parameter A (asthenicity): $Z = -5.738$; $p < 0.01$;
- Parameter S (strain): $Z = -8.397$; $p < 0.01$.

The overall dysphonia level – parameter G is presented (Table 1).

Pretreatment, all of the patients presented with dysphonia. After treatment, 29% of them no longer presented dysphonia. Before vocal treatment, 34 patients had mild dysphonia. After treatment, 27 (79.4%) of them were without dysphonia. In 49 cases of moderate dysphonia, after treatment: 2 patients (4.1%) were without dysphonia, 42 (85.7%)

patients had mild dysphonia, and 5 (10.2%) of them still presented with moderate dysphonia. Severe dysphonia was present in 17 patients. After treatment, only one patient had severe dysphonia. In most of these patients (11 or 64.7%) dysphonia became moderate and in 5 cases (29.4%) there was mild dysphonia. Most of the cases (85%) showed improvement. Analyzing the GIRBAS parameters before and after 6 weeks of vocal treatment in 27 children, a significant ($p < 0.01$) improvement was found in all parameters. Before vocal therapy, 9 had severe, 13 had moderate and 8 had mild dysphonia (G). After vocal therapy only one child had severe dysphonia, 7 had moderate dysphonia, 10 had a mild level of dysphonia and 9 were without voice disorder.

Objective acoustic analysis

Objective acoustic analysis of the pathological voice types showed a significant improvement in hoarse, harsh and breathy voice scores ($p < 0.01$) (Tables 2, 3 and 4).

Table 1. Parameter G (Grade) values (N=100)

G		Post-treatment					Total
		No	Mild	Moderate	Severe	Aphonia	
Pre-treatment	No	0	0	0	0	0	0
	Mild	27	7	0	0	0	34
	Moderate	2	42	5	0	0	49
	Severe	0	5	11	1	0	17
	Aphonia	0	0	0	0	0	0
Total		29	54	16	1	0	100

Table 2. Hoarse voice (N=20)

Hoarse voice		Post-treatment					Total
		No	Mild	Moderate	Severe	Aphonia	
Pre-treatment	No	1	0	0	0	0	1
	Mild	11	3	0	0	0	14
	Moderate	1	3	0	0	0	4
	Severe	0	1	0	0	0	1
	Aphonia	0	0	0	0	0	0
Total		13	7	0	0	0	20

Table 3. Harsh voice (N=20)

Harsh voice		Post-treatment					Total
		No	Mild	Moderate	Severe	Aphonia	
Pre-treatment	No	14	1	0	0	0	15
	Mild	0	0	0	0	0	0
	Moderate	3	0	0	0	0	3
	Severe	2	0	0	0	0	2
	Aphonia	0	0	0	0	0	0
Total		19	1	0	0	0	20

Table 4. Breathy voice (N=20)

Breathy voice		Post-treatment					Total
		No	Mild	Moderate	Severe	Aphonia	
Pre-treatment	No	0	1	0	0	0	1
	Mild	0	1	0	0	0	1
	Moderate	5	1	0	0	0	6
	Severe	2	5	2	3	0	12
	Aphonia	0	0	0	0	0	0
Total		7	8	2	3	0	20

Table 5. Objective acoustic analysis of numerical parameters

Parameter		t-test	p
F0	Mean	-3.076	0.006*
	SD	0.837	0.413
	Max	-2.771	0.012*
	Min	-3.413	0.003*
Jitter %		1.737	0.099
Shimmer %		2.429	0.025*
NNE		7.105	0.000*
HNR		-3.741	0.001*
Intensity	Min	-2.719	0.014*
	Max	-2.631	0.016*

* p<0.05

F0 – fundamental vocal frequency; SD – standard deviation; Max – maximum value; Min – minimum value; NNE – normalized noise energy; HNR – harmonic to noise ratio

Table 6. Acoustic parameters in children

Parameter		t-test	p
F0	Habitual	-1.135	0.300
	Mean	-1.069	0.326
	SD	2.815*	0.031*
	Max	-0.510	0.628
	Min	-1.173	0.285
Jitter %		3.782*	0.009*
Shimmer %		0.745	0.484
NNE		4.857*	0.003*
HNR		-1.675	0.145
Intensity	Min	-1.099	0.314
	Max	-1.263	0.254

* p<0.05

Hoarse voice was present in 19 patients (Table 2). After treatment, the voice was without hoarseness in 68.4% of them. Improvement was seen in 84.2% of cases (16/19). Applying the nonparametric Wilcoxon's test, a significant difference was registered in the hoarse voice parameter before and after vocal treatment ($Z=-3.819$; $p<0.01$)

Five patients had harsh voice, which improved to normal after treatment (Table 3). Applying the nonparametric Wilcoxon's test, a significant difference was registered in the harsh voice type before and after the vocal treatment ($Z=-2.020$; $p<0.05$).

Most patients (12; 63.2%) had a severe degree of breathy voice (Table 4). After treatment, 75% showed improvement. In 6 patients with a moderate degree of breathy voice, one (16.6%) became mild and 5 (83.3%) were without breathiness after treatment. Applying the nonparametric Wilcoxon's test, a significant difference was registered in the breathy voice parameter before and after vocal treatment ($Z=-3.491$; $p<0.01$).

The t-test was applied in the analysis of the acoustic parameters (Table 5). A statistically significant difference ($p\leq 0.025$) was registered for all parameters values, except for the values of SD F0 and Jitter % parameters.

Analysis of the computer assessment of hoarse, harsh and breathy voice in 10 children showed a significant ($p<0.05$) reduction in all pathological voice types.

In the children group, a statistically significant difference ($p=0.031-0.003$) was registered for the SD F0, Jitter % and NNE acoustic parameters (Table 6).

DISCUSSION

The analysis of the subjects gender structure reveals that adult hyperkinetic dysphonia with prenodule lesions or soft nodules predominantly affect females, which suggests that females may have certain predisposing factors for the development of hyperkinesias. These may possibly include gender conditioned anatomical features, such as the difference in the length and mass of the vocal folds and a larger angle between the vocal folds in females requiring a greater abductor-adductor activity; the hyaluronic acid quantity in the intercellular matrix is three times higher in males than in females, while there is a longer open vibration phase and greater susceptibility to pneumophonia in females. Sodersten et al. [24] have reported that females have difficulties in achieving loudness in a noisy environment, possibly leading to a phono-traumatic effect. It is also probable that females are professionally more oriented to vocally demanding jobs.

Analyzing the age structure of the children group, we noted that hyperkinetic lesions could be found very early in childhood, pointing to genetic factors such as the structure of the basement membrane lining the vocal folds [25]. However, environmental factors (family factors, school, and noise) can be also etiologic factors. A similar number of boys and girls in the children group suggest that puberty brings anatomical and functional differences between the sexes due to hormonal changes and differences in the selection of occupation. Therefore, it is very important to treat dysphonia before puberty and professional orientation.

Subjective acoustic analysis has demonstrated that vocal therapy has good effects on all subjectively evaluated hoarseness parameters in adults and children. A trained human ear can assess voice quality very well and this has also been confirmed by objective acoustic analysis [26, 27].

The objective acoustic analysis of prenodule and nodule lesions in adults has shown the good effects of vocal therapy on a variety of acoustic parameters, including the Mean F0, Max F0, Min F0, Shimmer %, NNE, HNR, SNR, and pathological voice types (hoarse, harsh and breathy voice). The results of our objective acoustic analysis are very similar to the results of Maia et al. [28] suggesting that the shimmer parameter is improved during vocal treatment by reducing vibration amplitude instability. The good effects of vocal therapy on numerous acoustic parameters suggest that the treatment favorably affects numerous pathophysiological phonation mechanisms, resulting in normalization of voice pitch, reduced vibration amplitude instability, reduced noise components of the voice, and elevated harmonic components contributing to voice pureness. Reduction in noise components is probably due to an improved occlusion, reducing the turbulence of airflow during phonation. Elevation of the harmonic voice components is probably due to a better

resonant function of the subglottic and supraglottic structures. Comparing the current voice with the database of both normal and pathological voices, improvement was registered in all pathological voice types (hoarse, harsh and breathy voice) following the applied vocal treatment. Vocal therapy seems to contribute to normalization of several pathological voice types, regardless of the subjective or objective assessment applied.

Objective acoustic analysis in the children group suggests that vocal therapy improves different acoustic parameters (SD F0, Jitter %, and NNE) than those in the adults, or rather affects the frequency of vibrations and glottic competence more than the amplitude of vibrations and resonant function of the larynx. This could be due to the different shape and size of the child's larynx.

Even if there are different effects of vocal therapy in adults and children, six weeks of vocal treatment is effective

for prenodular and nodular lesions in both groups. Other authors have also reported that vocal treatment is an important modality in the treatment of hyperfunctional voice disorders [28-34].

CONCLUSION

The results obtained from both the subjective and objective acoustic analysis confirm the beneficial effects of vocal treatment on hyperfunctional dysphonia with prenodular and nodular lesions in adults and children affecting diverse pathophysiological phonation mechanisms. Vocal treatment is an important modality in the treatment of these voice disorders. A variety of phonopedic methods are available, but individual adjustments are always required.

REFERENCES

1. Takeshita KT, Aguiar-Ricz L, Isaac M, Ricz H, Anselmo-Lima W. Vocal behavior in preschool children. *Intl Arch Otorhinolaryngol*. 2009; 13(3):252-8.
2. Oliveira RC, Teixeira LC, Gama AC, Medeiros AM. Auditory-perceptive, acoustic and vocal self-perception analyses in children. *J Soc Bras Fonoaudiol*. 2011; 23(2):158-63.
3. Amorim GO, Bommarito S, Kanashiro CA, Chiari BM. The vocal behavior of telemarketing operators before and after a working day. *J Soc Bras Fonoaudiol*. 2011; 23(2):170-6.
4. Cvejić D, Kosanović M. Fonijatrija I deo. Glas. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 1982.
5. Milutinović Z. Klinički atlas poremećaja glasa. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 1997.
6. Kotby MN. The Accent Method of Voice Therapy. San Diego: Singular Publishing Group Inc; 1995.
7. Majdevac Ž. Dečja hiperkinetska disfonija. *Med Pregl*. 1977; 30(9-10):505-8.
8. Majdevac Ž, Mitrović S, Jović R. Klasifikacija disfonija prema primarnom etiološkom faktoru (I deo). *Med Pregl*. 2001; 54(1-2):39-44.
9. Ramig LO, Verdolini KJ. Treatment efficacy: voice disorders. *J Speech Lang Hear Res*. 1998; 41(1):101-16.
10. Mumović MG. Konzervativni tretman disfonija. Monografija. Novi Sad: University of Novi Sad, Faculty of Medicine; 2004.
11. Andrews LM. Manual of Voice Treatment. Pediatrics Through Geriatrics. 2nd ed. San Diego: Singular Publishing Group; 1999.
12. Kosztyla-Hojna B, Moskal D, Kuryliszyn-Moskal A, Andrzejewska A, Falkowski D. Morphological changes of the vocal fold mucosa in hyperfunctional dysphonia diagnosed by psychoacoustic and videostroboscopic methods. *Adv Med Sci*. 2011; 56(2):343-51.
13. Sataloff TR, Spiegel RJ, Hawkshaw M. Voice disorders. *Otolaryngol Clin North Am*. 1993; 77:551-70.
14. Cvejić B, Cvejić D. Umetnost pevanja. Beograd: „Slobodan Jović“; 1994.
15. Gould JW, Rubin SJ, Yanagisawa E. Benign vocal fold pathology through the eyes of the laryngologist. In: Rubin SJ, Sataloff TR, Korovin SG, Gould JW. *Diagnosis and Treatment of Voice Disorders*. New York, Tokyo: Igaku-Shoin Medical Publishers Inc; 1995. p.137-51.
16. Mumović G. Dijagnostika profesionalnih oštećenja glasa. In: Djukić V, i saradnici, editors. *Profesionalni glas*. Beograd: Klinički centar Srbije; 2011. p.7-32.
17. Sataloff TR. *Voice Science*. San Diego-Oxford: Plural Publishing Inc; 2005.
18. Hočevar-Boltežar I, Šereg-Bahar M, Kravos A, Mumović G, Mitrović S. Is an occupation with vocal load a risk factor for laryngopharyngeal reflux: a prospective multicentre, multivariate comparative study. *Clin Otolaryngol*. 2012; 37:362-8.
19. Roth D, Ferguson JB. Vocal allergy in dysphonia. *Curr Opin Otolaryngol Hed Neck Surg*. 2010; 18:176-81.
20. Hirano M, Bless MD. *Videostroboscopic Examination of the Larynx*. San Diego. California: Singular Publishing Group Inc; 1993.
21. Stasney CR. *Atlas of Dynamic Laryngeal Pathology*. San Diego: Singular Publishing Group Inc; 1996.
22. Mumović G, Vitkai-Kučera A. Nespecifične vežbe glasa. [CD-ROM]. Novi Sad: 2012.
23. Dejonckere HP, Bradley P, Clemente P, Crevier-Buchman LCG, Friedrich G, Van De Heyning P, et al. A basic protocol for functional assessment of voice pathology, especially for investigating the efficacy of (phonosurgical) treatments and evaluating new assessment techniques. Guideline elaborated by Committee on Phoniatrics of the European Laryngological Society (ELS). *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2001; 258:77-82.
24. Sodersten, M, Ternstrom S, Bohman M. Loud speech in realistic environmental noise: Phonetogram data, perceptual voice quality, subjective ratings and gender differences in healthy speakers. *J Voice*. 2005; 19(1):29-46.
25. Sapienza C, Hoffman-Rudy B. *Voice Disorders*. San Diego, Oxford, Brisbane: Plural Publishing Inc; 2009.
26. Trani M, Ghidini A, Bergamini G, Pressutti L. Voice therapy in pediatric functional dysphonia: a prospective study. *Int Pediatr Otorhinolaryngol*. 2007; 71(3):379-84.
27. Petrović-Lazić M, Babac S, Ivanković Z, Kosanović R. Multidimensional analysis of pathological voice. *Srp Arh Celok Lek*. 2009; 137(5-6):234-8.
28. Maia ME, Maia MO, Gama AC, Behlau M. Immediate effects of the high-pitched blowing vocal exercise. *J Soc Bras Fonoaudiol*. 2012; 24(1):1-6.
29. Mumović MG. Vocal therapy with larynx compression after partial laryngectomy. *Med Pregl*. 2011; 64(7-8):357-61.
30. Holmberg EB, Hillman RE, Hammarberg B, Södersten M, Doyle P. Efficacy of a behaviorally based voice therapy protocol for vocal nodules. *J Voice*. 2001; 15(3):395-412.
31. Stepp CE, Merchant GR, Heaton JT, Hillman RE. Effects of voice therapy on relative fundamental frequency during voicing offset and onset in patients with vocal hyperfunction. *J Speech Lang Hear Res*. 2011; 54(5):1260-6.
32. Rodríguez-Parra MJ, Adrián JA, Casado JC. Comparing voice-therapy and vocal-hygiene treatments in dysphonia using a limited multidimensional evaluation protocol. *J Commun Disord*. 2011; 44(6):615-30.
33. Schindler A, Mozzanica F, Ginocchio D, Maruzzi P, Atas M, Ottaviani F. Vocal improvement after voice therapy in the treatment of benign vocal fold lesions. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2012; 32(5):304-8.
34. Halawa EW, Freire FRA, Munoz VI, Perez SS. Assessment of effectiveness of acoustic analysis of voice for monitoring the evolution of vocal nodules after vocal treatment. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2014; 271:749-56.

Вокална терапија хиперкинетске дисфоније

Гордана Мумовић¹, Тања Арбутина¹, Мила Веселиновић¹, Рената Шкрбић²

¹Фонијатријски одсек, Клиника за болести ува, грла и носа, Медицински факултет, Универзитет у Новом Сад, Нови Сад, Србија;

²Катедра за специјалну едукацију и рехабилитацију, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду, Нови Сад, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Хиперкинетска (хиперфункционална) дисфонија је веома честа патолошка појава. Посебно се често јавља код вокалних професионалаца с великим гласовним захтевима.

Циљ рада Циљ рада је био да се утврде ефекти вокалне терапије на стање гласа код особа с хиперкинетским дисфонијама с пренодуларним лезијама и меким нодулусима.

Методе рада Испитивањем је обухваћено 100 одраслих особа и 27 деце узраста од четири године до 16 година. Субјективна акустичка анализа скалом *GIRBAS* је урађена код свих испитаника пре и после вокалне терапије. Код 20 одраслих испитаника и 10 деце урађена је објективна акустичка анализа гласа која је обухватила више акустичких параметара. Објективном акустичком анализом добијени су и патолошки типови гласа (промуцност, хрпаваост и пнеумофоничност).

Резултати Субјективна акустичка анализа је показала да постоји статистички значајно ($p < 0,01$) смањење свих параметара дисфоније након третмана гласа, како код одраслих, тако

и код деце. Након третмана, степен дисфоније код одраслих испитаника био је мањи за 85%, а 29% је имало нормалан глас. Пре вокалне терапије, деветоро деце је имало тешку, тринаесторо умерену, а осморо благу дисфонију. Након терапије, само једно дете је имало тешку дисфонију, седморо умерену, а десеторо благу. Нормалан налаз гласа забележен је код деветоро деце. Објективна акустичка анализа гласа код одраслих показала је статистички значајно поправљање ($p \leq 0,025$) свих параметара дисфоније, изузев два параметра: *SD F0* и *Jitter %*. Код деце, статистичка значајност је добијена код *SD F0*, *Jitter %* и *NNE* ($p = 0,003 - 0,03$). Патолошки типови гласа су се поправили и код одраслих и код деце ($p < 0,5$).

Закључак Вокална терапија има користан ефекат на квалитет гласа код хиперкинетске дисфоније са пренодуларним лезијама и меким нодулусима, како код одраслих, тако и код деце, и делује на различите акустичке параметре.

Кључне речи: вокални нодулуси; скала *GIRBAS*; објективна акустичка анализа

Примљен • Received: 06/03/2013

Ревизија • Revision: 25/09/2014

Прихваћен • Accepted: 08/10/2014

Frequency and Quality of Root Canal Fillings in an Adult Serbian Population

Jugoslav Ilić¹, Mirjana Vujašković¹, Ljiljana Tihaček-Šojić², Aleksandra Milić-Lemić²

¹Department of Restorative Odontology and Endodontics, School of Dental Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

²Department of Prosthetic Dentistry, School of Dental Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Estimation of frequency and quality of root canal fillings is the way to evaluate endodontic treatment needs and success/failure rates of performed endodontic procedures.

Objective The aim of this study was to determine the frequency and quality of root canal fillings and the frequency of apical periodontitis on endodontically treated teeth in a group of adult patients from Serbia.

Methods In order to analyze the presence and quality of root canal fillings and the frequency of periapical radiolucencies on endodontically treated teeth, 3526 teeth were examined on orthopantomograms of 153 adult patients.

Results Overall, 12.5% of examined teeth were root filled, and 51.8% of them had radiographic signs of apical periodontitis. The analysis of root fillings quality revealed the presence of more inadequate ones (55.9%). The frequency of apical periodontitis was significantly higher in teeth with inadequate than in those having adequate root canal obturation (72.2% and 25.9%, respectively).

Conclusion The frequency of apical periodontitis on root-filled teeth in this group of patients was high, indicating a low success rate of performed endodontic procedures and high endodontic retreatment needs.

Keywords: apical periodontitis; orthopantomography; root canal filling quality

INTRODUCTION

The success rate of root canal treatment is a public health problem that has significant medical and economic repercussions. Various studies revealed that the prevalence of endodontic treatment ranged from 22% to 72% and the majority of apical periodontal lesions seem to be located in previously root-filled teeth [1]. The goal of endodontic treatment is either to prevent apical periodontitis (AP) or to create conditions for its resolution [2]. Accordingly, the persistence of AP in endodontically treated tooth after a certain period may be considered as the sign of root canal treatment failure. Therefore, the estimation of AP frequency can be the way to evaluate endodontic treatment needs and success/failure rates of performed procedures. Detection of disease frequency is the objective of descriptive epidemiological investigations that are most commonly designed as cross-sectional studies [1]. Descriptive approach with a cross-sectional study design is also widely used in the studies of the quality and success of endodontic treatment. Findings of these studies may be very useful in dental care planning as well as in evaluation and planning of dental education [3].

The results of numerous controlled clinical studies have shown that the success rates of endodontic procedures can be very high, even more than 90% [1]. On the other hand, epidemiological studies have documented a substantially lower success rate in the general population which is in range of 35% to 80% [4-12].

Strong correlation has been found in all of these trials between the root canal filling quality and prevalence of AP in endodontically treated teeth. All of epidemiologically based investigations reported considerable percentage of poor root fillings in examined populations [13].

OBJECTIVE

Data on the frequency and quality of performed root canal treatments are rare in Serbia. Considering the fact that these findings may be useful for the evaluation of performed endodontic treatments as well as for dental care planning and the lack of such information, the aim of this study was to investigate the frequency and quality of root canal obturations and their association with periapical radiolucencies in a group of adult patients from Serbia.

METHODS

Study population

The sample in this cross-sectional study was formed of adult patients (older than 18 years), who attended the Clinic for Restorative Odontology and Endodontics of the School of Dental Medicine, University of Belgrade for routine dental care. All patients included in this sample were with an indication for panoramic radiography as a part of the routine examination and treatment planning. Individuals with less than

Correspondence to:

Jugoslav ILIĆ
Department of Restorative
Odontology and Endodontics
School of Dental Medicine
University of Belgrade
Rankeova 4, 11000 Belgrade
Serbia
jugai@ptt.rs

seven remaining teeth as well as those who had undergone root canal treatment in less than one year from the beginning of the study were excluded. The Ethical Board of the School of Dental Medicine, University of Belgrade approved the study and the patients gave written informed consent. Radiographs were taken by experienced radiology assistants using a Siemens Palomex Ortoceph 10 (Siemens, Germany). Films were processed in a Kodak M-35 X-OMAT (Kodak dental, Stuttgart, Germany). Only radiographs with readable quality were included for analysis. This resulted in 153 orthopantomograms (OPGs) to be examined.

Data collection

The patients' details were collected in an individually structured form specially designed for this investigation. The form consisted of a part with general and a part considering teeth information. The general information referred to the patients' gender and age. Five age groups were formed (a: 18-29, b: 30-39, c: 40-49, d: 50-59 and e: over 60 years). The distribution of the sample according to the patients' age and gender is shown in Table 1. Teeth information were gathered by radiographic analysis and referred to the total number of remaining teeth as well as the quality of root canal fillings and evaluation of periapical region on endodontically treated teeth.

Table 1. Distribution of patients according to age and gender

Age group (years)	Number of patients (%)		
	Female	Male	Total
18-29	20 (13.1)	11 (7.2)	31 (20.3)
30-39	20 (13.1)	9 (5.9)	29 (19.0)
40-49	21 (13.7)	21 (13.7)	42 (27.4)
50-59	16 (10.5)	12 (7.8)	28 (18.3)
≥60	12 (7.8)	11 (7.2)	23 (15.0)
Total	89 (58.2)	64 (41.8)	153 (100.0)

Table 2. Average number of remained teeth according to patients' age and gender

Age group (years)	Mean±SD (%)		
	Female	Male	Total
18-29	29.6±3.1	28.4±1.8	29.2±2.8
30-39	27.5±3.4	26.7±3.6	27.2±3.5
40-49	23.1±3.5	23.4±4.9	23.3±4.2
50-59	19.9±4.8	22.6±5.8	21.1±5.4
≥60	17.4±4.3	20.6±4.5	19.1±4.7
Total	25.1±5.5	24.5±5.1	24.8±5.4

Table 3. Distribution of observed parameters by tooth group

Teeth group	Number of teeth (%)		
	Teeth examined	Root-filled teeth	Root-filled teeth with AP
Upper frontals	835 (23.7)	137 (31.3)	61 (26.9)
Lower frontals	874 (24.8)	17 (3.9)	11 (4.8)
Upper premolars	406 (11.5)	91 (20.8)	51 (22.5)
Lower premolars	486 (13.8)	68 (15.5)	38 (16.7)
Upper molars	479 (13.6)	62 (14.2)	31 (13.7)
Lower molars	446 (12.6)	63 (14.4)	35 (15.4)
Total	3526 (100.0)	438 (100.0)	227 (100.0)

Radiographic evaluation

Teeth were categorized as endodontically treated if a radiopaque material was detected in the pulp chamber and/or root canal(s). Root fillings were either classified as adequate or inadequate on the basis of guidelines published by the European Society of Endodontology (ESE) [14]. Canal fillings ending within 2 mm from the radiographic apex and with no visible voids were classified as adequate. Underfilled, overfilled or poorly condensed root fillings, as well as those limited to the pulp chamber (pulpotomy), were classified as inadequate. The periapical health was assessed using the periapical (PAI) index [15]. Scores 1 and 2 were considered as healthy periapical structures, whilst PAI scores 3, 4 and 5 as signs of present AP. Multirrooted teeth were classified according to the root with the most severe score.

The radiographs were analyzed by a calibrated examiner in a dark room using an illuminated viewer box and magnification (2×). The kit of 100 reference radiographs and "gold standard" observations [15] were used to calibrate the examiner for the use of the index PAI. Intraobserver reproducibility was evaluated by the PAI scoring of periapical radiolucencies in 20 OPGs, not included in the study, at the beginning and at the end of the survey. Calculated Cohen's Kappa value (0.83) expressed a high value of intraobserver agreement.

Statistical analysis

The methods of descriptive statistics used were frequencies, percentages, mean value, standard deviation (SD) and range. The significance of revealed differences between observed parameters was analyzed using the t test. The distribution of endodontically treated teeth between genders was compared by the Chi-square and Kolmogorov-Smirnov tests. P values of less than 0.05 were considered statistically significant.

RESULTS

A total of 3526 teeth were examined. The average number of teeth per patient in this sample was 24.8 with the range from 7 to 33 (in one female patient a retromolar was identified). The mean values of remained teeth were significantly higher in age groups 18-29 and 30-39 years, both in female and male patients ($p<0.05$) (Table 2). The upper and lower frontals were most commonly retained teeth (23.7% and 24.8%, respectively; $p<0.05$) (Table 3).

Endodontic treatment was detected in 438 teeth (12.5% of sample). There were 130 patients with at least one endodontically treated tooth (range 1-21), meaning that the prevalence of subjects with root canal treatment was 85%. No significant difference was detected in the age distribution of endodontically treated teeth between males and females ($p>0.05$), with the highest frequency in the age group 40-49 years for both genders ($p<0.05$) (Table 4). In

Table 4. Distribution of root canal treatment frequency according to patients' age and gender

Age group (years)	Root canal treatment frequency (%)		
	Female	Male	Total
18–29	33 (7.5)	29 (6.6)	52 (14.2)
30–39	60 (13.7)	21 (4.8)	81 (18.5)
40–49	83 (18.9)	69 (15.8)	152 (34.7)
50–59	58 (13.2)	32 (7.3)	90 (20.5)
≥60	29 (6.6)	24 (5.5)	53 (12.1)
Total	263 (60.0)	175 (40.0)	438 (100.0)

Table 5. Distribution of inadequate fillings in the sample

Inadequate root filling type	Number (%)
Short, homogeneous	127 (51.8)
Short, inhomogeneous	54 (22.1)
Correct length, inhomogeneous	15 (6.1)
Overfilling, homogeneous	26 (10.6)
Overfilling, inhomogeneous	3 (1.2)
Pulpotomy	20 (8.2)
Total	245 (100.0)

Table 6. Distribution of periapical index (PAI) scores in apical periodontitis affected endodontically treated teeth

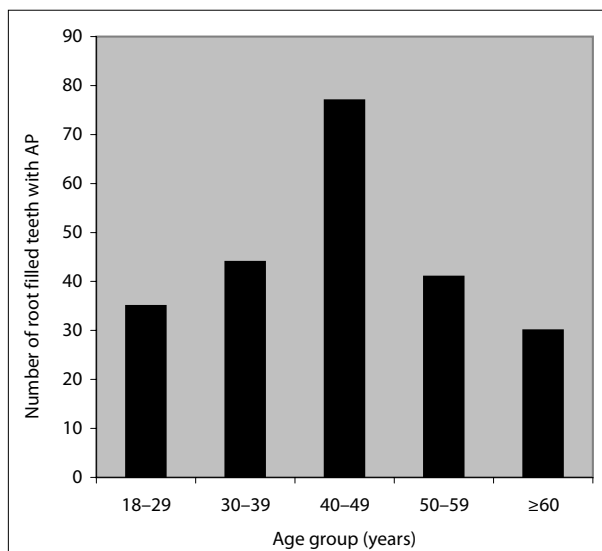
PAI score of radiolucency	Number (%)
PAI 3	152 (67.0)
PAI 4	53 (23.3)
PAI 5	22 (9.7)
Total	227 (100.0)

the group of endodontically treated teeth the upper frontals were most frequent (31.3%). Analysis of root fillings quality revealed a high level of inadequate ones (55.9%). The distribution of different types of inadequate root fillings is shown in Table 5.

AP was detected in 227 endodontically treated teeth (51.8% of treated teeth). Considering the subjects with root-filled teeth, it was found that 122 (93.8%) had AP affecting at least one treated tooth. The frequency of AP was significantly higher ($p < 0.05$) in teeth with inadequate (72.2%) than in those having adequate root canal obturation (25.9%). The highest frequency of root-filled teeth with AP was in the age group 40–49 years ($p < 0.05$) (Graph 1). The upper frontals were the most frequent AP affected root-filled teeth ($p < 0.05$) (Table 3). The analysis of the distribution of PAI scores in endodontically treated teeth with AP (Table 6) revealed that a PAI score of 3 was statistically most frequent (67%, $p < 0.05$).

DISCUSSION

This research was designed as cross-sectional, using and modifying the protocols of similar investigations [4, 5, 8, 16]. It is well known that this type of studies provide a static view of observed processes [1] and therefore it is not possible to determine whether the periapical lesion is healing or expanding. It has been shown that such a study design can be used in endodontic studies despite limitations. Namely, Peterson et al. [17] found in their ten-year

**Graph 1.** Distribution of apical periodontitis (AP) affected root-filled teeth according to patients' age and gender

longitudinal study on endodontic treatment success that the number of newly formed periapical lesions was comparable to the number of healed ones and concluded that cross-sectional studies gave valid results on the frequency of AP within given populations.

Panoramic radiographs were used to analyze observed parameters. OPGs are often used in the studies of quality and success of endodontic treatment for their convenience: all teeth can be seen on single radiography; radiation dose is reduced compared to the full mouth periapical radiograph survey and the speed at which OPGs can be exposed and processed is high [4, 5, 8, 18]. The accuracy of OPGs in the detection of AP was investigated by Ahlqvist et al. [19] and they reported agreement of 76% and 90% for single and multirouted teeth, respectively, when comparing panoramic with full mouth periapical radiographs. Muhammed and Manson-Hing [20] found no statistically significant difference between OPGs and periapical radiographs in the detection of AP. Therefore, the panoramic radiograph could be considered as acceptable diagnostic tool for the detection of periapical lesions. It is noteworthy that a study of Grondahl et al. [21] showed that interobserver variability was greater when analyzing OPGs than periapical radiographs. This kind of variability was avoided in our study by involvement of one investigator in the analysis of all radiographs. Moreover, intraobserver agreement at the beginning and at the end of the survey was very high.

The sample consisted of more female than male patients. This may be the reflection of some of population's sociologic aspects, such as females being more healthcare conscious than males. Other studies in this field found a similar gender proportion [5, 12, 22–25].

Criteria for AP evaluation vary among studies [4–12, 16, 18, 22–29]. Similarly to a vast number of other researches in this field [4, 12, 16, 23, 29], including very recent studies of López-López et al. [30] and Castellanos-Cosano et al. [31], the PAI system was used in our study as well, and scores 3–5 were considered as evidence of AP. The PAI system has been introduced by Ørstavik et al. [15] to

provide criteria that are measurable, mutually exclusive, meaningful and reproducible. This also allows for a more appropriate results comparison among different studies.

The mean number of teeth per patient in this study is the closest to the findings of cross-sectional studies performed on adults from South European countries: Portugal, Marques et al. [4] – 24.8; Spain, Jiménez-Pinzón et al. [12] – 24.7 and López-López et al. [30] – 23.6; and Greece, Georgopoulou et al. [22] – 25. This may be the result of similar social and cultural aspects in the Southern European countries. Our findings of the distribution of remaining teeth with the most frequent remain of frontals are also in agreement with other studies [12, 26]. This result may be explained by patients' stronger motivation to preserve frontal teeth for esthetic reasons.

The total percentage of root-filled teeth in our study is in range of other studies – from 1.5% reported by Marques et al. [4] to 21% in the study of Tsuneishi et al. [23]. However, the prevalence of subjects with root-filled teeth in our study is higher than reported in almost all other studies where this parameter was in range from 22% to 87% [1, 23]. This wide range in different surveys may be the consequence of variations in the sample formation, but also the effect of different healthcare services and insurance systems in various countries. Gender had no influence on the frequency and distribution of endodontic treatment in our study, and this is in agreement with other studies. We found that endodontic treatment was most frequent in the age group 40-49 years. This can be explained with fact that endodontic treatment needs in younger patients are low, and in elderly there are fewer teeth remained with a consecutively lower frequency of root-filled teeth. The upper frontals are most frequently treated teeth in our survey, and that is in correlation with the fact that they were with the highest tendency to be preserved. The distribution of endodontic treatment according to the tooth type was not analyzed in many similar studies. Where available, these findings are very diverse. In the study of de Moor et al. [8], same as in our survey, the upper frontals were found to be most frequently treated teeth.

Quality of root canal fillings are claimed to be one of the most important factors for the endodontic treatment success. In our study, same as in almost all other comparable studies, fillings were scored as adequate if they were homogenous and ended between 0 and 2 mm from the radiological apex. These criteria are based on the Consensus report of the European Society of Endodontology on quality guidelines for endodontic treatment [14]. The quality of root canal fillings with more than half of inadequate was a disappointing finding in our survey, but within the range of most other published studies [8, 9, 11, 18]. Our findings

are closest to those obtained by de Moor et al. (59.3%) [8]. The majority of inadequate root canal fillings were short obturations, either homogenous or inhomogeneous, and this is in agreement with most similar studies [8, 23, 28, 29].

The frequency of AP in root-filled teeth (51.8%) is consistent with the results reported in previous methodologically comparable studies conducted on university patients and using the PAI index, where the frequency of AP was in range from 21.4%, reported by Da Silva et al. [29] to 65% detected by Jiménez-Pinzón et al. [12]. Moreover, we found that 93.8% of subjects with root-filled teeth had AP affecting at least one treated tooth. Thus, the present study supported the well-documented conclusion that the realistic outcome of endodontic treatment in the population was considerably poorer than the potential outcome demonstrated in controlled clinical studies [1]. These findings indicated that AP was very prevalent in this group of patients and that conducted endodontic treatment did not control the disease. The results also indicated relatively large retreatment needs in the examined group.

Root filling quality significantly influenced AP commencing considering that the frequency of AP in teeth with inadequate root filling was 72.2%. High frequency of AP in teeth with inadequate root canal fillings has been reported in a very recent study of Sang et al. [32]. These findings are also in agreement with observations in several previous studies [4, 7, 16]. Almost 26% of teeth having adequate root fillings were associated with AP in our study indicating that periapical health of endodontically treated teeth was influenced by factors other than just the quality of root fillings.

We found that the most frequent PAI score of root-filled teeth associated with AP was 3. The same as in our study, Kirkevang et al. [3] and Da Silva et al. [29] also found that the score of 3 was most frequently given in connection with endodontically treated teeth. These results are also in agreement with histological findings of Brynolf [33] in a classic study on teeth periapical region which gave fundamentals for introducing of PAI index.

CONCLUSION

The frequency of AP in endodontically treated teeth of this patient group was high and inadequate root fillings had a significant influence on it. These findings demonstrated a low standard of performed endodontic procedures and the consequent low success rate. The study indicated that the endodontic retreatment needs of this group of patients were great.

REFERENCES

1. Eriksen HM, Kirkevang LL, Petersson K. Endodontic epidemiology and treatment outcome: General considerations. *Endod Top*. 2002; 2:1-9.
2. Eriksen HM. Epidemiology of apical periodontitis. In: Ørstavik D, Pitt Ford TR, editors. *Essential Endodontology*. Oxford: Blackwell Science Ltd; 1998. p.179-91.
3. Kirkevang LL, Hørsted-Bindslev P, Ørstavik D, Wenzel A. A comparison of the quality of root canal treatment in two Danish subpopulations examined in 1974-75 and 1997-98. *Int Endod J*. 2001; 34:607-12.
4. Marques MD, Moreira B, Eriksen HM. Prevalence of apical periodontitis and results of endodontic treatment in an adult Portuguese population. *Int Endod J*. 1998; 31:161-5.
5. Loftus JJ, Keating AP, McCartan BE. Periapical status and quality of endodontic treatment in an adult Irish population. *Int Endod J*. 2005; 38:81-6.
6. Lupi-Pegurier L, Bertrand M-F, Muller-Bolla M, Rocca JP, Bolla M. Periapical status, prevalence, and quality of endodontic treatment in an adult French population. *Int Endod J*. 2002; 35:690-7.
7. Tavares PBL, Bonte E, Boukpepsi T, Siqueira JF, Lasfargues JJ. Prevalence of apical periodontitis in root canal-treated teeth from an urban French population: influence of the quality of root canal fillings and coronal restorations. *J Endod*. 2009; 35:810-13.
8. De Moor RJG, Hommez GMG, De Boever JG, Delmé KIM, Martens GEI. Periapical health related to the quality of root canal treatment in a Belgian population. *Int Endod J*. 2000; 33:113-20.
9. De Cleen MJH, Schuurs AHB, Wesselink PR, Wu MK. Periapical status and prevalence of endodontic treatment in an adult Dutch population. *Int Endod J*. 1993; 26:112-9.
10. Kirkevang LL, Hørsted-Bindslev P, Ørstavik D, Wenzel A. Frequency and distribution of endodontically treated teeth and apical periodontitis in an urban Danish population. *Int Endod J*. 2001; 34:198-205.
11. Weiger R, Hitzler S, Hermle G, Löst C. Periapical status, quality of root fillings and estimated endodontic treatment needs in an urban German population. *Endod Dent Traumatol*. 1997; 13:69-74.
12. Jiménez-Pinzón A, Segura-Egea JJ, Poyato-Ferera M, Velasco-Ortega E, Rios-Santos JV. Prevalence of apical periodontitis and frequency of root-filled teeth in an adult Spanish population. *Int Endod J*. 2004; 37:167-73.
13. Kirkevang LL, Wenzel A. Risk indicators for apical periodontitis. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2003; 31:59-67.
14. European Society of Endodontology. Consensus report of the European Society of Endodontology on quality guidelines for endodontic treatment. *Int Endod J*. 1994; 27:115-24.
15. Ørstavik D, Kerekes K, Eriksen HM. The periapical index: a scoring system for radiographic assessment of apical periodontitis. *Endod Dent Traumatol*. 1986; 3:178-86.
16. Dugas NN, Lawrence HP, Teplisky PE, Pharoah MJ, Friedman S. Periapical health and treatment quality of root-filled teeth in two Canadian populations. *Int Endod J*. 2003; 36:181-92.
17. Petersson K, Håkansson R, Håkansson J, Olsson B, Wennberg A. Follow up study of endodontic status in an adult Swedish population. *Endod Dent Traumatol*. 1991; 7:221-5.
18. Al-Omari MA, Hazaa A, Haddad F. Frequency and distribution of root-filled teeth and apical periodontitis in a Jordanian subpopulation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011; 111:e59-e65.
19. Ahlqwist JR, Halling A, Hollender L. Rotational panoramic radiography in epidemiological studies on dental health. *Swed Dent J*. 1986; 10:79-84.
20. Muhammed AH, Manson-Hing LR. A comparison of panoramic and intraoral radiographic surveys in evaluating a dental clinic population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1982; 54:108-17.
21. Grondahl HG, Jonsson E, Lindahl B. Diagnosis of periapical osteolytic processes with orthopantomography and intraoral full mouth radiography – a comparison. *Swed Dent J*. 1970; 63:679-85.
22. Georgopoulou MK, Spanaki-Voreadi AP, Pantazis N, Kontakiotis EG. Frequency and distribution of root-filled teeth and apical periodontitis in a Greek population. *Int Endod J*. 2005; 38:105-11.
23. Tsuneishi M, Yamamoto T, Yamanaka R, Tamaki N, Sakamoto T, Tsuji K, et al. Radiographic evaluation of periapical status and prevalence of endodontic treatment in an adult Japanese population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005; 100:631-5.
24. Siqueira JF, Roca IN, Alves FRF, Campos LC. Periradicular status related to the quality of coronal restorations and root canal fillings in a Brazilian population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005; 100:369-74.
25. Gulsahi K, Gulsahi A, Ungor M, Genc Y. Frequency of root-filled teeth and prevalence of apical periodontitis in an adult Turkish population. *Int Endod J*. 2008; 41:78-85.
26. Boucher Y, Matossian L, Rilliard F, Machtou P. Radiographic evaluation of the prevalence and technical quality of root canal treatment in a French subpopulation. *Int Endod J*. 2002; 35:229-38.
27. Kabak Y, Abbott PV. Prevalence of apical periodontitis and the quality of endodontic treatment in an adult Belarusian population. *Int Endod J*. 2005; 38:238-45.
28. Sunay H, Tanalp J, Dikbas I, Bayirli G. Cross-sectional evaluation of the periapical status and quality of root canal treatment in a selected population of urban Turkish adults. *Int Endod J*. 2007; 40:139-45.
29. Da Silva K, Lam JMY, Wu N, Duckmanton P. Cross-sectional study of endodontic treatment in an Australian population. *Aust Endod J*. 2009; 35:140-6.
30. López-López J, Jané-Salas E, Estrugo-Devesa A, Castellanos-Cosano L, Martín-González J, Velasco-Ortega E, et al. Frequency and distribution of root-filled teeth and apical periodontitis in an adult population of Barcelona, Spain. *Int Dental J*. 2012; 62:40-6.
31. Castellanos-Cosano L, Machuca-Portillo G, Segura-Sampedro JJ, Torres-Lagares D, López-López J, Velasco-Ortega E, et al. Prevalence of apical periodontitis and frequency of root canal treatments in liver transplant candidates. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013; 18:e773-9.
32. Song M, Park M, Lee CY, Kim E. Periapical status related to the quality of coronal restorations and root fillings in a Korean population. *J Endod*. 2014; 40:182-6.
33. Brynolf I. A histological and roentgenological study of the periapical region of human upper incisors. *Odontol Revy*. 1967; 18(Suppl 11):1-176.

Учесталост и квалитет пуњења канала корена зуба код одраслих особа у Србији

Југослав Илић¹, Мирјана Вујашковић¹, Љиљана Тихачек-Шојић², Александра Милић-Лемић²

¹Клиника за болести зуба, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

²Клиника за стоматолошку протетику, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Утврђивање учесталости и квалитета пуњења канала зуба јесте начин да се процене потребе за ендодонтским лечењем и степен успеха примењених ендодонтских процедура.

Циљ рада Циљ овог рада је био да се одреде учесталост и квалитет пуњења канала корена зуба, као и учесталост апексних пародонтитиса ендодонтски лечених зуба код одраслих пацијената у Србији.

Методе рада Ради утврђивања постојања и квалитета пуњења канала корена и учесталости расветљења у периапексу ендодонтски лечених зуба, анализирано је 3.526 зуба на ортопантомограмима 153 одрасле особе.

Резултати Укупно је ендодонтски лечено 12,5% прегледаних

зуба, од којих је 51,8% имало радиографске знаке апексних пародонтитиса. Анализа квалитета пуњења канала показала је да је било више неадекватних пуњења (55,9%). Учесталост апексних пародонтитиса је била значајно већа код зуба с неодговарајућим каналним оптурацијама (72,2%) у односу на оне с одговарајућим пуњењем канала корена (25,9%).

Закључак Код испитаних пацијената утврђена је висока учесталост апексних пародонтитиса зуба с пуњеним каналима корена, што указује на слабу успешност примењених ендодонтских захвата, као и на потребу за поновљеним ендодонтским лечењем.

Кључне речи: апексни пародонтитис; ортопантомографија; квалитет пуњења канала корена

Примљен • Received: 05/06/2013

Прихваћен • Accepted: 13/01/2014

Eugenol-Based Temporary Luting Cement Possesses Antioxidative Properties

Dragan Ilić¹, Kosovka Obradović-Djuričić¹, Djordje Antonijević², Tatjana Todorović¹

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

²Laboratory of Anthropology, Institute of Anatomy, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Antioxidants protect against reactive oxygen species and expose beneficial anti-inflammatory activity when in contact with biological tissues. Dental materials that are used as temporary luting on fixed dental restorations are often in contact with injured gingival tissue, hence they should contain anti-inflammatory characteristics that are essential after prosthetic procedures preceding cementation of final restoration.

Objective The aim of this study was to investigate the antioxidant effect through the oxidation inhibition (OI) of mixed dental cement for temporary luting or their liquid component.

Methods Eight study groups were prepared each by ten samples: 1) *ex tempore* preparation of zinc-oxide eugenol paste (Kariofil Z Galenika, Serbia), 2) Viko Temp paste (Galenika, Serbia), 3) Temp Bond NE paste (Kerr, Germany), 4) ScutaBond (ESPE, Germany), 5) Cp-CAP paste (Germany, Lege Artis) and oil component of 6) Kariofil Z, 7) Viko Temp and 8) Cp-CAP. The samples were subjected to spectrophotometer to measure OI 2,2'-azino-di-(3-ethyl-benzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) using Randox kit, United Kingdom. The control samples were pure ascorbic acid (1% w/v).

Results High values of OI exposed materials (groups 1, 5, 6, 7, 8) with content of eugenol (or its derivatives) in the range of 100–88.8% were statistically more significant than the values of non-eugenol substances (groups 2, 3, 4) with the range of 8.2–43.5%.

Conclusion Eugenol containing temporary fixation materials show significant antioxidative properties and therefore they may be used in those clinical situations where surrounding gingival tissue is injured during restorative procedure.

Keywords: antioxidant; periodontal disease; temporary luting cement; cement for temporary fixing; eugenol; free radicals

INTRODUCTION

Free radicals (FRs) are very reactive compounds with strong electrophilic properties due to unpaired electrons in the outer atomic/molecular orbit. Such powerful oxidizing agent creates inflammatory reaction damaging tissues and cell integrity [1]. FRs make oxidative damage on the biomolecules of all origins, such as constitutive and functional proteins, DNA, RNA or lipids. However, being in low (physiological) concentrations they have been found to produce positive physiological effects [2]. Evolutionary, extensive antioxidant systems are developed in living organisms to fight against harmful effect of FRs through different mechanism. Some of them include antioxidative enzymes such as superoxide dismutase, glutathione - S transferase and glutathione peroxidase [3].

Within inflamed, infected or somehow injured pulp and periodontal tissues inflammatory mediators are released during the oral tissues defense against pathogenic microorganisms and their metabolic and/or degradation products. Concomitantly, polymorphonuclears (PMN) respond to pathogens causing their damage but inducing host tissue lesions. During this defense, especially in cases of FRs hyperproduction, oxidative modification of some of host molecules and oral tissues damage can

occur where saliva has an important role with its antioxidants whether of enzyme or non-enzyme origin [4, 5, 6]. Strong correlation was found between inflammatory periodontal disease and FRs [7].

Up-to-date investigations have revealed anti-oxidative functions of lipoic acid and chelating of metal ions. Lipoic acid, soluble in fatty and water-based tissue, is often titled universal antioxidant due to its powerful blocking of oxidation process even more effective than well approved antioxidants such as vitamins C, E etc. Its potential beneficial role in dentistry might be in chelating sometimes harmful metal ions such as iron, zinc, copper, cadmium and mercury [3]. On the other side, many dental items contain nickel that has been used in dentistry for more than eighty years in both restorative work (fillings, crowns, bridges, partial dentures) and orthodontic appliances (wires, bands, brackets, implants etc.). The amount of nickel used in dental items can reach up to over 50%. Adverse effect of nickel allergy has been noted in the study of enhanced sensitization capacity of nickel at higher oxidation state [8].

Gingival tissue becomes injured frequently by different mechanical and chemical means especially during fixed restoration preparation. This tissue then comes into contact with the material for temporary fixation as well as temporary

Correspondence to:

Dragan Ilić
School of Dental Medicine
Department of Endodontics
Rankeova 4, 11000 Belgrade
Serbia
dr.ilicb@gmail.com

fixed restoration that are supposed to possess anti-inflammatory properties and for some time expresses antioxidant activity. There is a risk from the effect of harmful agents to the pulp-dentine complex of the prepared teeth and surrounding periodontal tissues during the observation period when the patient wears a temporary or permanent fixed restoration. Low solubility of adhesives/luting cement for temporary fixation, almost always present, may adversely affect the tooth pulp tissue via open dentinal tubules and pulp-periodontal communication and the surrounding gingiva. In this case the insoluble portion of applied adhesive temporary cement that is exposed to oral fluids should have a strong antioxidant and anti-inflammatory effect to the pulp and adjacent periodontal tissues. Specifically, any agent that reduces or catches FRs agents aids in the healing process is therefore of great importance to be detected. In addition, considering the detection of FRs, spectrophotometry exposed as itself accurately expressed method among the others.

FRs are also created during pathological tissues conditions. Besides, some cytostatics, waste in the air, hyperoxia /bar chamber, pesticides, some herbicides, cigarette smoke, alcohol, anesthetics in dental use and generally aromatic hydrocarbons might damage cells via FRs reaction [2]. Furthermore, residual monomers TEGDMA and HEMA always present in composite resins are responsible for GSH i.e. cysteine wasting due to originate of oxygen ionic groups which oxidize them. Spare GSH is then being wasted and is unable for quick intracellular synthesis [9]. The GSH lessening begins 15-30 min upon TEGDMA exposition to monomers and almost completes within 4 to 6 hours. Thus a low level of GSH depot causes inhibition on gingival and pulp cells. GSH oxidation may be the result of direct reaction between glutathione and monomers or their reactive metabolic intermediaries [10]. Photosensitive additives of composite resin materials, such as camphor-chinon and benzophenon, upon blue-light exposition directly cause increase in the concentration of intra- and extra-cellular reactive compounds that consume spare amount of reduced GSH [9].

Considering the foregoing, the goal of this investigation was to examine antioxidant power of different adhesives for temporary luting cements. The null hypothesis was that there would be no significant difference between eugenol and eugenol-free materials for temporary cementation at the level of $\alpha=0.05$.

OBJECTIVE

The aim of this study was to investigate the antioxidant effect through the oxidation inhibition (OI) of mixed dental cement for temporary luting or their liquid component.

METHODS

The approximate composition of temporary adhesive luting cement is described in Table 1 [11, 12].

Study group involves the next materials: 1) Kariofil Z; 2) Viko Temp, 3) Temp Bond NE, 4) Scuta Bond NE, 5) Cp-CAP; the liquid components of those preparations also underwent the experiment due to their meaningful antioxidative potential forming the groups 6) clove oil (Kariofil), 7) oil component of Viko Temp, and 8) Cp-CAP oil.

The control group involves 1% w/v ascorbic acid (vitamin C) samples of well-known full antioxidant effect of 100%.

Specimens preparation

The materials for the study were prepared ex tempore according to the manufacturer recommendation: 1) fully saturated powder by oil exposing glossy mixture upon spatulation, 2) quickly spatulated equal part of each components, 3) the same as 2, 4) the same as 2, 5) powder and liquid were measured helped by scoop and nozzle. A micropipette is used for accurate measuring of liquid component in groups 6, 7 and 8. Ten specimens were chosen for each experimental and three for control group. All specimens were operated under the same laboratory (environmental) conditions.

Protocol

Temporary luting cements were prepared at an ambient temperature of 21-23°C and relative humidity of 50-55%. Kariofil Z preparation was prepared by spatulation of components until glossy image of paste appeared. Other materials were prepared according to the manufacturer instructions for clinical usage. Liquid components were pasted directly out of tube/bottle (groups 6, 7 and 8). They

Table 1. List of investigated specimens of tested temporary cements (manufacturers and basic composition)

Material	Manufacturer	Cement type	Composition
Kariofil Z mix	Galenika, Belgrade, Serbia	Eugenol based	ZnO, eugenol oils
Viko Temp mix	Galenika, Belgrade, Serbia	Eugenol free based	ZnO, mineral oils, eugenol oils in traces
Temp BondNE mix	Kerr GmbH, Rastatt, Germany	Eugenol free based	Methacrylic resins, traces of eugenol oils
Scuta Bond mix	3M ESPE, MN, USA	Eugenol free based	Methacrylic resins, mineral oils
Cp-CAP mix	Lege Artis, Dettenhausen, Germany	Eugenol based	Cp-CAP oil, Canada balsam, Zr_2O_3 , ZnO, $Ca(OH)_2$, Zn-acetate
Kariofil Z oil	Galenika, Belgrade, Serbia	Eugenol based	Eugenol oils
Viko Temp oil	Galenika, Belgrade, Serbia	Eugenol based	Mineral oils, traces of eugenol oils
Cp-CAP oil	Lege Artis, Dettenhausen, Germany	Eugenol based	Eugenol oils, Peruan balsam (oleoresins, cinnamic acid, volatile oils, benzyl derivatives) 8-hydroxyquinoline

were spatulated by a metal spatula angled at 45° while homogenous color was achieved. The same amount (weight) of each material (in eight experimental and three control groups) was dissolved in extraction medium of 0.9% NaCl and organic solvent. Weight concentration of the sample was $C\% = 0.0025 \text{ g/100 g}$. Antioxidativity was calculated by spectrophotometer using a set of reagents (Randox kit, UK) by oxidation inhibition of 2,2'-azino-di-3-ethyl-benzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) as chromogene [13]. ABTS was rendered to incubation by peroxidase and water to create ketone radicals ABTS⁺. This was done to create a relatively stable bluish-green color of visible wavelength of 600 nm using the Perkin-Elmer spectrophotometer device (SPD). Antioxidants of the sample reacted in the way to suppress the creation of the aforementioned color. That grade of suppression is proportional to the concentration of the antioxidative agent in the sample expressing percentage numbers.

Statistical analysis

The power of antioxidativity on investigated materials was assessed statistically using the one-way analysis of variance (ANOVA). Tukey's post-hoc test was used to compute multiple pair-wise comparisons of data so as to determine significant differences between groups at the level of $p < 0.05$.

RESULTS

The samples of the group 8 Oil (Cp-CAP) displayed insignificant statistical difference (high content of eugenol) in comparison to the groups 1, 5, 6, 7 and the control group but significant compared to the groups 2, 3 and 4 (Table 2).

Samples of Kariofil Z (mixture) – group 1, Jelly-oil – group 7 and Cp-CAP – group 5 exposed the similar relation of significance and with the same reason to the experimental and control group as two previously cited groups (6 and 8) (Table 2).

Values comparison of the Temp BondNE (group 3) vs. Viko Temp (group 2) revealed insignificant statistical difference but significant to the group 4 – Scuta Bond. Each of those groups exposed antioxidative potential significantly lower than the groups 6, 8, 1, 7 and 5 (Table 2).

One way anova analysis of investigated cements is presented in Table 3.

Table 2. Mean values of oxidation inhibition of investigated specimens

Material	Antioxidativity (mean±SD)
Kariofil Z mix	100±0
Viko Temp mix	31.4±0.68
Temp BondNE mix	43.5±2.53
Scuta Bond mix	8.2±0.61
Cp-CAP mix	100±0
Kariofil Z oil (Eugenol)	97.7±1.69
Viko Temp oil	96.6±0.55
Cp-CAP oil	88.8±0.66

Table 3. One-way variance analysis of investigated groups

Source	Type III sum of squares	df	Mean square	Significance
Corrected Model	96333.743	7	13761.963	0.000
Intercept	401138.650	1	401138.650	0.000
Cement	96333.743	7	13761.963	0.000
Total	497570.490	80		

One-way variance analysis revealed statistically high significance of differences between mean values of investigated groups ($p < 0.01$): 1 vs. 2, 3 and 4; 2 vs. 4, 5, 6, 7 and 8; 3 vs. 4, 5, 6, 7 and 8, and 4 vs. 5, 6, 7 and 8. Analysis of variance showed that there was no significant difference between the groups 1 vs. 5, 6, 7 and 8; 2 vs. 3; 3 vs. 8; 5 vs. 6, 7 and 8; 6 vs. 7 and 8; 7 vs. 8.

Table 4. Comparison of oxidation inhibition values on eugenol and eugenol-free temporary fixing cements

Material type	Antioxidativity (%)
Eugenol based	96±1
Eugenol-free based	28±1

Student t-test revealed high statistical significant difference between eugenol ($n=50$) and eugenol-free ($n=30$) groups (samples): $p < 0.001$, $t=1.64$.

The values of inhibition on ABTS chromogene for all eugenol materials in (groups 1, 5, 6, 7, 8) were noted as significantly different to the non-eugenol groups (2, 3, 4) thus the null hypothesis is to be rejected ($p < 0.01$) (Table 4).

DISCUSSION

Essentially, this study has shown that eugenol based temporary luting materials present superior antioxidative properties when compared to their non-eugenol analogues. The highest values of antioxidativity that was expressed as the highest inhibition of ABTS chromogene (100.0%) noted in Eugenol oil – group 6 (Kariofil Z) might be explained by predominant presence of eugenol derivate with ortho OH group [14, 15, 16].

According to the manufacturer specification, 1.0 gr of Viko Temp mixture contains approximately 0.5 g ZnO and 0.165 g oil of clove that reacts as antioxidative substance. Although eugenol presence is of approximately 25% by weight, this material exposed low inhibition level (31.4%) that means pro-oxidant reaction due to the mineral oil components, additives and corrective substances of this preparation. Inhibition level was statistically significant in comparison to the samples of higher eugenol content and controls.

The second generation of Temp Bond is non-eugenol oil material Temp Bond NE. It was invented in order to enable acrylic resins polymerization in restorative materials such as temporary crowns and bridges as well as canal acrylic posts. This material exposed mean of 43.5% ABTS inhibition. Absence of eugenol (phenolic) components (somewhat in trace) that possesses high antioxidant power in this adhesive lowers the antioxidativity, which was confirmed by several studies [14-17]. This inhibition value is significantly lower than the samples in 1, 5, 6, 7, 8 and the control group. Scuta Bond as well as Temp Bond NE did not possess ZOE hence displayed a low level of oxidation inhibition of 7.2% in our study.

High value of oxidation inhibition in Cp-CAP mixture samples might be explained by Peruvian balsam

and its constituents. Actually, oleoresins content carotenoids, and phenolic groups (cinnamic acid), which are approved antioxidant agents. Unfortunately, the presence of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ incorporated into the Cp-CAP mix stimulates the dentinogenesis but decreases the antioxidativity [18]. Slightly lower values of oxidation inhibition in group 5 (Cp-CAP mix) that was statistically insignificant in regard to its liquid part (group 8) might be of the presence of powder component [18]. This assumption has not yet been certified according to electron literature data review up-to-now. The intermediates of liquid and powder chemical reactions might cause such antioxidativity level of Cp-CAP mix.

VikoTemp oil component that contains eugenol oil in trace exposed moderate level of antioxidativity. Regarding this moderate low values of antioxidativity (group 7) in comparison to the eugenol-rich groups one can only speculate that polyvinyl components of group 7 samples favors the pro-oxidant process.

The used method of visible wavelength range by SPD applied in this study is enough confidential and simple for laboratory use for aforementioned reactant ABTS in comparison to others. In addition, many alternative methods exist for similar investigation on the antioxidativity potential such as electron-spin resonance [19, 20]. Chemiluminescence is based on the recording energy released during chemical reaction through the light emission [21]. For example, certain radical species give off radiation at specific wavelengths through combustion analysis. However, SPD displayed enough precise measuring and simplicity for evaluation on the suppression of oxidation. Besides those physicochemical methods the biological ones such as the model of protective antioxidant effect on red blood cells or PMNs are more sophisticated to apply due to complicated system for maintaining the vital cells. Although those methods are applicable for antioxidative studies of food they might be useful for similar research on the dental materials. Due to aforementioned lack of literature data about dental antioxidativity points out the necessity of research using that study model.

Although non-eugenol temporary cements for cast restorations exposing lower values of antioxidant potential in our investigation, their advantage in clinical use in cases where periodontal tissue is in good condition regarding their less microleakage in comparison to eugenol preparations [22, 23]. However, the results on systemic administration of vitamin C could be clinically beneficial in improving periodontitis-induced oxidative stress by down-regulating inflammatory gene expression [24].

Ureic acid, the most present antioxidant in saliva generates as the final product purine base degradation. It neutralizes FRs by their reduction where it converts into allantoin [25]. Some authors have noted that ureic acid presents around 70% out of all saliva antioxidative capacity during the ptialism period [26].

A foreign body in oral tissue such as implant with consecutive periimplantitis provokes significantly lower values of ureic acid in human saliva as compared to the cases where inflammation is absent. This indicates at a necessary

precaution about cementing fix restoration in the vicinity of periimplantitis when there is the need to use a material of the high level of antioxidativity. Similar situation happens when material for temporary restoration exposes irritant features of some acrylic resins to the marginal gingiva. Excessive production of reactive oxygen species (ROS) in periimplant disease leads to the situation of excessive oxidative stress, which may be an important factor contributing to the destruction of peri-implant tissues [27].

High albumin concentration is found in passionate smokers as protective agent for FRs neutralization where combustion products and other fume toxins adhere to the periodontal tissues and prepared abutment that is often fully unprotected [28]. Studies from 2003 and 2007 have revealed that periodontal disease is associated with lower antioxidant capacity in whole saliva and revealed evidence of increased protein oxidation [29, 30].

That is to stress out the antioxidative role of temporary adhesives where for example preliminary study from 1998 favors those that contain a high percentage of ZOE [17]. It is important to emphasize to restrain oneself of alcoholic drinks and smoking as well as the significance of correct diet of natural approved antioxidants (vitamins A, C, E and selenium etc.) all the time during temporary fixation of fixed restorations. Furthermore, dental products that contain two-bond Zn ion might play a significant role in keeping the level of Zn-SOD as the most important intracellular antioxidative agent [15]. That is another evidence of ZOE mixture benefit for ample depot of Zn ions as well as eugenol antioxidant role. One should bear it in mind when mix ZOE preparation is to be applied (injured periodontal tissues, metal in oral cavity, smoker-patient etc.).

Although eugenol reacts with FRs, it simultaneously hinders methacrylate monomers polymerization. Thus, it is incompatible with resin restoratives but as unavoidable as ZOE luting is still in use due to their oxidant and anti-inflammatory effects for oral tissues frequently injured during lengthy dental operative procedures [23].

Japanese authors found that bis-eugenol acts as a potent inhibitor of nuclear factor-kB thus inhibiting lipopolysaccharide-stimulated expression of inflammatory cytokines at gene and protein level. This is the way eugenol exposes antioxidant and anti-inflammatory effect, which stem from the inhibition of prostaglandin synthesis and pyretic activity [31].

Many phenol compounds of plant origins are frequently present in dental luting preparations as confirmed in experimental samples. Those substances i.e. phenol agents of synthetic origin possess significant antioxidative effect inhibiting lipoperoxidation. Some herbal phenol substances could trigger oxidation damage to non-lipid bio-molecules in DNA reducing Fe^{3+} to Fe^{2+} and reducing superoxide to the level of H_2O_2 [15]. Phenols show a double action reacting as antioxidants at lower but as pro-oxidants at higher doses under certain conditions. The development and progression of oral disease might be modified not only by these natural and synthetic phenol substances but by saliva antioxidants and its metal ions as well as dental materials that contain antioxidant agents [16]. Hence one

should stress out the significance of accurate measuring of constituents especially when phenol compound is present in liquid part and should be fully saturated to Zn-oxide and other ingredients of powder component.

Further study should be designed to evaluate the influence of every single component of dual luting systems for temporary fixation regarding their antioxidativity if it would be possible to detect and separate them in accurate proportion.

CONCLUSION

This study proved that eugenol containing materials present high values of oxidation inhibition (88.8-100%) in contrast to non-eugenol substances with (8.2-43.5%). There was no statistically significant difference considering inhibition

oxidation among the eugenol-containing groups. Arriving to the conclusion, due to unknown composition of investigated materials it is only to be speculated that those semi-hard or powdered substances possess prooxidant power because their liquid-oil component were proved to expose antioxidant effect in the range of approximately 96-100% oxidation inhibition. Further studies are necessary to evaluate the influence of every single component of dual luting systems for temporary fixation in terms of their antioxidativity.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (project number III 45005).

REFERENCES

- Halliwell B. Oxygen is poisonous: the nature and medical importance of oxygen radicals. *Med Lab Sci*. 1984; 1:157-71.
- Petti S, Scully C. Polyphenols, oral health and disease: a review. *J Dent*. 2009; 37:413-23.
- Boyer R. Concepts in Biochemistry. 3rd ed. New York: John Wiley and Sons Inc; 2006.
- Todorović T, Dožić I, Stojanović T. Oralna biohemija. Beograd: Čigoja; 2006.
- Todorović T, Dožić I, Mandić B, Marjanović M. Antioksidativna uloga pljuvačke u očuvanju zdravlja usta. *Vojnosanit Pregl*. 2005; 52:575-9.
- Novaković N, Čakić S, Todorović T, Andjelski Raičević B, Dožić I, Petrović V, et al. Antioxidative status of saliva before and after non-surgical periodontal treatment. *Srp Arh Celok Lek*. 2013; 141(3-4):163-8.
- Battino M, Bullen P, Wilson M, Newman H. Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of antioxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1999; 10:458-76.
- Artik S, von Vultée C, Gleichmann E, Schwarz T, Griem P. Nickel allergy in mice: Enhanced sensitization capacity of nickel at higher oxidation states. *J Immunol*. 1999; 163:1143-52.
- Obradović-Djuričić K, Medić V. Biokompatibilnost kompozitnih materijala. In: Stamenković DI, editor. Stomatološki materijali. Beograd: Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu; 2012. p.226-8.
- Lefevre M, Bourd K, Lorient MA, Goldberg M, Beaune P, Perianin A, et al. TEGDMA modulates glutathione transferase P1 activity in gingival fibroblasts. *J Dent Res*. 2004; 83:914-9.
- Legeartis.de [Internet]. Dettenhausen, Germany: lege artis Pharma GmbH + Co.KG [cited 2014 Aug 13]. Available from: http://www.legeartis.de/english/pdf/fi_cp-cap_e.pdf.
- Heinemann F, Mundt T, Biffar R. Retrospective evaluation of temporary cemented, tooth and implant supported fixed partial dentures. *J Craniomaxillofac Surg*. 2006; 34(Suppl 2):86-90.
- Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci (Lond)*. 1993; 84:407-12.
- Fujisawa S, Atsumi T, Kadoma Y, Sakagami H. Antioxidant and prooxidant action of eugenol-related compounds and their cytotoxicity. *Toxicology*. 2002; 177:39-54.
- Laughton ML, Halliwell B, Evans PJ, Hoult JR. Antioxidant and prooxidant actions of the plants phenolics quercetin, gossypol and myricetin. *Biochem Pharmacol*. 1989; 17:2859-65.
- Sakagami H, Oi T, Satoh K. Prevention of oral diseases by polyphenols. *In vivo*. 1999; 13:155-72.
- Markowitz K, Moynihan M, Liu M, Kim S. Biologic properties of eugenol and zinc oxide-eugenol. A clinically oriented review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1992; 73:729-37.
- Akashi AE, Francischone CE, Tokutsune E, Silva W Jr. Effects of different types of temporary cements on the tensile strengths and marginal adaptation of crowns on implants. *Adhes Dent*. 2002; 4:309-15.
- Rhodes CJ. Electron spin resonance. Part one: a diagnostic method in the biomedical sciences. *Sci Prog*. 2011; 94(Pt 1):16-96.
- Rhodes CJ. Electron spin resonance (some chemical applications). *Annual Rep Prog Chem Sect C: Phys Chem*. 2006; 102:166-202.
- Kashima-Tanaka M, Tsujimoto Y, Kawamoto K, Senda N, Ito K, Yamazaki M. Generation of free radicals and/or active oxygen by light or laser irradiation of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite. *J Endod*. 2003; 29:141-3.
- Ciftçi A, Vardarli DA, Sönmez IS. Coronal microleakage of four endodontic temporary restorative materials: an in vitro study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009; 108:e67-70.
- Bayindir F, Akyl MS, Bayindir YZ. Effect of eugenol and non-eugenol containing temporary cement on permanent cement retention and microhardness of cured composite resin. *Dent Mater J*. 2003; 22:592-9.
- Tomofuji T, Ekuni D, Sanbe T, Irie K, Azuma T, Maruyama T, et al. Effects of vitamin C intake on gingival oxidative stress in rat periodontitis. *Free Radic Biol Med*. 2009; 46:163-8.
- Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med*. 1991; 91(3C):14-22.
- Moore S, Calder KAC, Miller NJ, Rice-Evans CA. Antioxidant activity of saliva and periodontal disease. *Free Radic Res*. 1994; 21:417-25.
- Liskmann S, Vihalemm T, Salum O, Zilmer K, Fischer K, Zilmer M. Characterization of the antioxidant profile of human saliva in peri-implant health and disease. *Clin Oral Implants Res*. 2007; 18:27-33.
- Zuabi O, Machtei EE, Ben-Aryeh H, Ardekian L, Peled M, Laufer D. The effect of smoking and periodontal treatment on salivary composition in patients with established periodontitis. *J Periodontol*. 1999; 70:1240-6.
- Sculley D, Langley-Evans C. Periodontal disease is associated with lower antioxidant capacity in whole saliva and evidence of increased protein oxidation. *Clin Sci*. 2003; 105:167-72.
- Chapple LC, Milward MR, Dietrich T. The prevalence of inflammatory periodontitis is negatively associated with serum antioxidant concentrations. *J Nutr*. 2007; 137:657-64.
- Murakami Y, Shoji M, Hanazawa S, Tanaka S, Fujisawa S. Preventive effect of bis-eugenol, a eugenol ortho dimer, on lipopolysaccharide-stimulated nuclear factor kappa B activation and inflammatory cytokine expression in macrophages. *Biochem Pharmacol*. 2003; 66:1061-6.

Привремени цементи на бази еугенола имају антиоксидативно дејство

Драган Илић¹, Косовка Обрадовић-Ђуричић¹, Ђорђе Антонијевић², Татјана Тодоровић¹

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

²Лабораторија за антропологију, Институт за анатомију, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Антиоксиданси штите жива ткива од реактивних кисеоникових слободних радикала, чиме испољавају пожељно антиинфламаторно дејство у контакту са живим ткивом. Стоматолошки материјали који служе за привремено цементирање протетичких рестаурација често су у контакту с ледираним ткивом гингиве, па стога треба да поседују пожељне антиинфламаторне особине, врло битне након протетичких процедура које претходе цементирању фиксних рестаурација.

Циљ рада Циљ испитивања је био да се помоћу забележених вредности инхибиције оксидације (ИО) утврди антиоксидативни ефекат неколико припремљених препарата за привремено цементирање и њихових течних компонената.

Методе рада По десет узорака је припремљено у осам експерименталних група: 1) *ex tempore* замешана цинк-оксидна (ZnO) еугенол паста (*Kariofil Z Galenika*, Србија); 2) паста *Viko Temp* (*Galenika*, Србија); 3) паста *Temp Bond NE* (*Kerr*, Немачка); 4) паста *ScutaBond* (*ESPE*, Немачка); и 5) паста *Ср-CAP* (*Lege Artis*, Немачка); њихове течне компоненте: 6) уље *Kariofil Z*; 7)

уље *Viko Temp*; и 8) уље *Ср-CAP*. Узорци су подвргнути спектрофотометру ради мерења вредности ИО на *ABTS* применом сета реагенса (*Randox kit*, Велика Британија). Контролну групу су чинили узорци чисте аскорбинске киселине (1% w/v).

Резултати Високе вредности ИО испољили су узорци у групама еугенолних материјала 1, 5, 6, 7 и 8 у распону од 88,8% до 100%, што је било статистички значајно у односу на ниже вредности код нееугенолних материјала (распон 8,2–43,5%) у групама 2, 3 и 4.

Закључак Није забележена статистичка значајна разлика у вредностима ИО међусобним поређењем еугенолних група ($p > 0,05$). Поређењем вредности ИО између нееугенолних група, само је код групе 4 утврђена статистички значајна разлика према групама 2 и 3 ($p < 0,01$). Поређењем узорака 2 и 3 забележена је статистички безначајна разлика за вредности ИО ($p > 0,05$).

Кључне речи: антиоксиданс; пародонтално обољење; цемент за привремено цементирање; цемент за привремено фиксирање рестаурације; еугенол; слободни радикали

Примљен • Received: 30/07/2013

Прихваћен • Accepted: 17/03/2014

Surgical Treatment Results of Carpal Tunnel Syndrome in Patients with and without Type 2 Diabetes Mellitus

Melih Malkoc¹, Özgür Korkmaz¹, İsmail Oltulu¹, Ali Seker¹, Ferhat Say², Ahmet Murat Bulbul¹

¹Orthopedics and Traumatology, School of Medicine, Istanbul Medipol University, Istanbul, Turkey;

²Orthopedics and Traumatology, Samsun, 19 Mayıs University School of Medicine, Istanbul, Turkey

SUMMARY

Introduction Carpal tunnel syndrome (CTS) is the most commonly seen peripheral nerve compression syndrome and CTS surgery is the most common surgery done for peripheral nerve compression syndromes. Type 2 diabetes mellitus (DM) is a systemic disease with a component of peripheral neuropathy.

Objective We aimed to investigate the effects of type 2 DM on functional results in type 2 DM patients who underwent carpal tunnel surgery.

Methods The study included 39 patients with carpal tunnel syndrome which was confirmed by electromyography. Twenty-one patients did not have DM, 18 patients had type 2 DM that were treated for DM and had regulated blood glucose levels. Assessments were done with the Boston scale. All operations were done by the same surgical team using the same surgical technique. Functional and symptomatic scores between the two groups were compared with the Mann-Whitney U test which is the non-parametric version of the Student's t test, and 95% confidence interval $p < 0.05$, which is considered as statistically significant.

Results In patients with type 2 DM, preoperative mean Symptom Severity Score was 3.6 ± 0.35 (2.9 to 4.2) in the last control mean Symptom Severity Score was 1.2 ± 0.16 (1.0-1.7), and preoperative mean functional status score was 3.3 ± 0.56 (2.3 to 4.5) and in the last control mean functional status score was 1.3 ± 0.36 (1.0 to 2.4). The patients without DM, preoperative mean Symptom Severity Score was 3.5 ± 0.45 (2.8 to 4.2) in the last control mean Symptom Severity Score was 1.2 ± 0.19 (1.0 to 1.6), and preoperative functional status score was 3.2 ± 0.47 (2.4 to 4.6) in the last control mean functional status score was 1.3 ± 0.35 (1.0 to 2.5). There was no statistically significant difference between the two groups.

Conclusion Type 2 DM patients with regulated blood glucose levels can be operated without additional procedure during and after surgery for carpal tunnel syndrome like in carpal tunnel syndrome patients without DM.

Keywords: carpal tunnel; type 2 diabetes mellitus; Boston scale

INTRODUCTION

Carpal tunnel syndrome (CTS), due to compression of the median nerve in the carpal tunnel at the wrist, is the best known and the most common upper extremity compression neuropathy [1, 2]. The transverse carpal ligament has a compression on the median nerve on the wrist palmar surface in carpal tunnel syndrome. As a result of this compression the patient has hypoesthesia on the first, second, third and radial side of the forth finger of the hand.

Type 2 diabetes mellitus (DM) is a systemic disease with component of peripheral neuropathy. Conventional electrophysiological studies are widely used for the objective diagnosis of diabetic neuropathy. The physiological function of nerves can be evaluated quantitatively by nerve conduction study (NCS) [3, 4]. NCS abnormalities occur early in the course of type 2 DM, and the pattern of progression of peripheral neuropathy shows dependence on the length of the nerve fibers [5]. NCS shows complicated abnormalities of sensory, motor, and autonomic nervous systems [6]. In addition, NCS shows a mildly slow nerve conduc-

tion velocity and low amplitude in diabetic polyneuropathy, suggesting that the peripheral neuropathy of type 2 DM is primarily caused by axonal degeneration [7, 8].

There are two treatment modality for CTS, these are conservative and surgical treatment. Conservative treatment is an option for patients with early CTS. Splinting, local steroid injections, ultrasound, and the use of oral steroids are the methods of conservative treatment. Patients with evidence of median nerve denervation and in cases where conservative treatment has failed, surgical treatment is indicated [9]. Surgical treatment is release surgery for the transverse carpal ligament that compresses the median nerve. CTS is most commonly seen peripheral nerve compression syndrome and CTS surgery is most common surgery done for peripheral nerve compression syndromes.

OBJECTIVE

We aimed to investigate the effects of type 2 DM on functional results in type 2 DM patients who underwent carpal tunnel surgery and to

Correspondence to:

Özgür KORKMAZ
Kaptan Arif sok. No: 44/9
Suadiye Kadıköy
İstanbul
Turkey
ozkorkmaz00@yahoo.com

compare the results of surgeries between diabetic CTS patients with non-diabetic CTS patients.

METHODS

Preoperatively, all patients were confirmed with the clinical examination and electromyography (EMG) that they had CTS. The patients were evaluated with the Boston scale pre-and postoperatively (Tables 1 and 2). All operations were performed by the same surgical team with the mini-open carpal tunnel release technique. Two-3 cm of longitudinal incision was done above the wrist flexor skin-fold and reached transverse carpal ligament and then release was done.

Thirty-nine patients were evaluated in our study. Eighteen patients had DM that were treated for DM and had regulated blood glucose levels. There were 7 male and 11 female patients. The mean age was 59.0 (51-68) years. Four patients were insulin dependent, while 14 patients were treated with oral anti-diabetic drugs. The duration of the type 2 DM was mean 5.4 (2-10) years. Five patients had CTS in both upper extremities but according to the EMG non-operated sides had mild involvement. One of the patients with DM had obesity. There was no additional pathology in DM patients. There were 21 patients in the other group with no additional pathology. There were 8 male and 13 female patients. The mean age was 56.3 (44-65) years. No problem was detected in both groups in postoperative follow-up period.

The Boston scale (BS) consists of 19 questions. There are multiple choice answers for each question. Every question is evaluated between 1 to 5 points. Point 1 is the best point for the functional capacity and represents mild symptoms, 5 points is the worst for the functional capacity and represent most severe symptoms. If a patient has a higher mean score it indicates insufficiency in functional capacity and severe symptoms. Symptom Severity Score is the total point of 11 questions. The average Symptom Severity Score is obtained by dividing Symptom Severity Score by the number of current question. Functional status score is the total point of 8 questions. The average functional status score is obtained by dividing the functional status score by the number of the current question.

Functional and symptomatic scores between the two groups were compared with the Mann-Whitney U test which is the non-parametric version of the Student's t test, and 95% confidence interval $p < 0.05$ is considered as statistically significant.

RESULTS

Preoperative mean Symptom Severity Score was 3.6 ± 0.35 (2.9 to 4.2) in the last control mean Symptom Severity Score was 1.2 ± 0.16 (1.0-1.7), and preoperative mean functional status score was 3.3 ± 0.56 (2.3 to 4.5) and in the last control mean functional status score was 1.3 ± 0.36 (1.0 to 2.4) in the type 2 diabetic group. Preoperative mean

Table 1. Symptom Severity Scale (CTS)

The following questions refer to your symptoms for a typical 24-hour period during the last 2 weeks (circle one answer to each question).	
1. How severe is the hand or wrist pain that you have at night?	I do not have hand or wrist pain
	Mild pain
	Moderate pain
	Severe pain
	Very severe pain
2. How often did hand or wrist pain wake you up during a typical night over the past two weeks?	Never
	Once
	Two to three times
	Four or five times
	More than five times
3. Do you typically have pain in your hand or wrist during the daytime?	I never have pain during the day
	I have mild pain during the day
	I have moderate pain during the day
	I have severe pain during the day
	I have very severe pain during the day
4. How often do you have hand or wrist pain during the daytime?	Never
	Once or twice a day
	Three to five times a day
	More than five times a day
	The pain is constant
5. How long, on average, does an episode of pain last during the daytime?	I never get pain during the day
	Less than 10 minutes
	10 to 60 minutes
	Over 60 minutes
	The pain is constant throughout the day
6. Do you have numbness (loss of sensation) in your hand?	No
	I have mild numbness
	I have moderate numbness
	I have severe numbness
	I have very severe numbness
7. Do you have weakness in your hand or wrist?	No weakness
	Mild weakness
	Moderate weakness
	Severe weakness
	Very severe weakness
8. Do you have tingling sensations in your hand?	No tingling
	Mild tingling
	Moderate tingling
	Severe tingling
	Very severe tingling
9. How severe is numbness (loss of sensation) or tingling at night?	I have no numbness or tingling at night
	Mild
	Moderate
	Severe
	Very severe
10. How often did hand numbness or tingling wake you up during a typical night during the past two weeks?	Never
	Once
	Two or three times
	Four or five times
	More than five times
11. Do you have difficulty with the grasping and using small objects such as keys or pens?	No difficulty
	Mild difficulty
	Moderate difficulty
	Severe difficulty
	Very severe difficulty

Table 2. Functional Status Scale (CTS)

On a typical day during the past two weeks have hand and wrist symptoms caused you to have any difficulty doing activities listed below? Please circle one number that best describes your ability to do the activity.					
Activity	No difficulty	Mild difficulty	Moderate difficulty	Severe difficulty	Cannot do at all due to hand or wrist symptoms
Writing	1	2	3	4	5
Buttoning clothes	1	2	3	4	5
Holding a book while reading	1	2	3	4	5
Gripping a telephone handle	1	2	3	4	5
Opening jars	1	2	3	4	5
Household chores	1	2	3	4	5
Carrying grocery bags	1	2	3	4	5
Bathing and dressing	1	2	3	4	5

Table 3. Preoperative and postoperative data of patients with and without diabetes mellitus (DM)

Patients	No.	Age (years)	Gender	Pre-operative symptom severity score	Post-operative symptom severity score	Pre-operative functional status score	Post operative functional status score	Duration of DM (years)	Type 1 DM
Diabetic patients	1	65	M	3.7	1.2	3.4	1.3	4	-
	2	68	M	2.9	1.0	2.3	1.0	3	-
	3	55	F	3.6	1.2	2.4	1.1	5	-
	4	58	M	4.2	1.3	4.5	2.4	8	+
	5	62	F	3.6	1.2	3.3	1.0	2	-
	6	61	F	4.2	1.2	3.6	1.2	8	-
	7	57	F	4.0	1.7	4.0	2.0	10	+
	8	62	F	3.6	1.2	3.8	1.5	4	-
	9	64	M	3.6	1.0	3.0	1.4	5	-
	10	52	F	3.6	1.0	3.4	1.2	4	-
	11	54	F	3.6	1.3	3.4	1.2	6	-
	12	60	M	3.4	1.2	3.2	1.3	8	+
	13	51	F	3.4	1.2	3.4	1.0	3	-
	14	67	F	3.0	1.0	3.0	1.2	8	-
	15	52	F	3.6	1.1	3.6	1.0	5	-
	16	63	M	3.6	1.4	3.0	1.2	9	+
	17	54	F	4.0	1.2	3.6	1.4	2	-
	18	57	M	3.2	1.2	2.4	1.0	4	-
Nondiabetic patients	1	52	F	3.2	1.0	3.0	1.0	/	/
	2	48	F	4.0	1.2	3.2	1.2	/	/
	3	62	M	4.2	1.6	4.0	2.5	/	/
	4	44	F	3.0	1.4	3.2	2.0	/	/
	5	58	M	3.4	1.3	3.2	1.3	/	/
	6	62	F	2.8	1.0	2.4	1.2	/	/
	7	58	F	3.6	1.4	3.0	1.4	/	/
	8	64	F	4.0	1.0	3.2	1.0	/	/
	9	55	M	4.2	1.0	4.6	1.2	/	/
	10	46	F	3.5	1.4	3.0	1.4	/	/
	11	51	F	3.0	1.2	2.8	1.2	/	/
	12	55	M	3.8	1.0	3.2	1.0	/	/
	13	60	M	3.8	1.0	3.2	1.0	/	/
	14	63	F	3.6	1.2	3.0	1.4	/	/
	15	47	F	3.2	1.4	2.8	1.4	/	/
	16	57	M	3.0	1.1	2.8	1.1	/	/
	17	55	M	3.0	1.4	2.8	1.2	/	/
	18	65	F	4.0	1.0	3.2	1.2	/	/
	19	64	F	4.0	1.0	3.8	1.0	/	/
	20	61	M	3.2	1.2	3.6	1.2	/	/
	21	56	F	3.0	1.4	3.2	1.4	/	/

M – male; F – female

Symptom Severity Score was 3.5 ± 0.45 (2.8 to 4.2) in the last control mean Symptom Severity Score was 1.2 ± 0.19 (1.0 to 1.6), and preoperative functional status score was 3.2 ± 0.47 (2.4 to 4.6) in the last control mean functional status score was 1.3 ± 0.35 (1.0 to 2.5) in the non-diabetic group. 2 of the patients who were insulin dependent in the type 2 diabetic group had mild improvement after surgical intervention in their last control (Table 3).

The values of the two groups were compared statistically. There was no significant difference between the results of two groups. Average follow-up period was 7 months (6-12) in the type 2 diabetic group. Mean follow-up period was 8 months (6-14) in the non-diabetic group. Prophylactic antibiotics were not given to the patients in both groups after surgery. Infection was not detected during the follow-up time. There was no other complication that was detected in the patients after surgery.

DISCUSSION

All open surgical techniques with different sizes of incisions and arthroscopic interventions remove the pressure on the median nerve by release are effective in symptomatic relief and functional improvement [10-14].

Zyluk et Puchalski [15] performed carpal tunnel surgery in 345 patients without DM and 41 DM patients in their study. They mentioned that all patients in both groups benefited from surgery in similar proportions over the 6-month controls after surgery. According to the results of our study there was no statistically significant difference between the results of two groups. The patients in both groups benefited from surgery in similar proportions according to our study. Our results are similar with the results of Zyluk et Puchalski [15].

Gamstedt et al. [16] demonstrated 20% of patients who had CTS, Dupuytren's contracture, flexor tenosynovitis and limitation of the range of motion (ROM) in a cross-sectional study with 100 diabetic patients. There is a significant relationship between the duration of diabetes hand anomalies. There is no significant relationship between other diabetic complications, metabolic control and hand anomalies. The prevalence of hand anomalies are high in DM and this prevalence increases with duration of diabetes [16]. The patients operated for CTS with type 2 DM

had no additional hand pathology in our study. Only CTS release surgeries were done in patients with type 2 DM; for this reason our study is limited in regard to offering information about other hand pathologies in diabetic patients.

According to the study of Tosti et al. [17] 4 most commonly performed procedures involving the hand were carpal tunnel release, trigger finger release, mass excision, and first dorsal compartment release. The overall infection rate was 0.66%. All infections were considered superficial, and none required surgical management. In patients who received antibiotic prophylaxis ($n=212$), the infection rate was 0.47%. In those who did not receive prophylaxis ($n=388$) the infection rate was 0.77%. These differences were not statistically significant ($p=1.00$) [17]. In our patient we applied a single dose of preoperative antibiotic prophylaxis. Post-surgical antibiotic prophylaxis was not applied in any of the patients reported in this study. Deep and superficial infection was not detected during the follow-up period. As the number of patients in our study was lower, this restricted us from determining infection rates between the two groups.

The most commonly used questionnaire for treatment results is the Boston scale which was defined by Levine et al. [18]. Akman et al. [19] evaluated their patients in whom CTS surgery was performed with electrophysiological study and Boston scale before and after surgical treatment. They reported that EMG examination after surgery provided no additional benefit; for this reason the Boston scale is sufficient for the follow-up evaluation [19]. We evaluated our patients with the Boston scale which contained functional status and symptom severity scale in post-operative follow-ups. We detected a statistically significant improvement in both groups of patients. No EMG was done in the patients during the postoperative period.

CONCLUSION

There was no statistically significant difference between the functional and clinical outcome scores between the two groups after surgery. All patients in both groups stated that they benefited from surgery but 2 of the insulin dependent diabetic patients had mild improvement. Diabetic patients with regulated blood glucose levels can be operated on without additional procedure during and after surgery for carpal tunnel syndrome.

REFERENCES

1. Brown RA, Gelberman RH. Compression neuropathy. In: Blair WF, editor. *Techniques in Hand Surgery*. Baltimore: Williams and Wilkins; 1996. p.703-64.
2. Beek BUY. Management of painful neuromas and nerve compression syndromes. In: McCarthy JG, editor. *Plastic Surgery*. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1990. p.4817-46.
3. Bril V. NIS-LL: the primary measurement scale for clinical trial endpoints in diabetic peripheral neuropathy. *Eur Neurol*. 1999; 41(Suppl 1):8-13.
4. Dyck PJ, Lais A, Karnes JL, O'Brien P, Rizza R. Fiber loss is primary and multifocal in sural nerves in diabetic polyneuropathy. *Ann Neurol*. 1986; 19:425-39.
5. Said G. Diabetic neuropathy – a review. *Nat Clin Pract Neurol*. 2007; 3:331-40.
6. Karsidag S, Morali S, Sargin M, Salman S, Karsidag K, Us O. The electrophysiological findings of subclinical neuropathy in patients with recently diagnosed type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 2005; 67:211-9.
7. Abu-Shakra SR, Cornblath DR, Avila OL, Chaudhry V, Freimer M, Glass JD, et al. Conduction block in diabetic neuropathy. *Muscle Nerve*. 1991; 14:858-62.
8. Viader A, Sasaki Y, Kim S, Strickland A, Workman CS, Yang K, et al. Aberrant Schwann cell lipid metabolism linked to mitochondrial deficits leads to axon degeneration and neuropathy. *Neuron*. 2013; 77:886-98.

9. Szabo RM. Entrapment and compression neuropathies. In: Green DP, Hotchkiss RN, Pederson WC, editors. *Green's Operative Hand Surgery*. Philadelphia: Churchill Livingstone Company; 1999. p.1404-22.
10. Bromley GS. Minimal-incision open carpal tunnel decompression. *J Hand Surg Am*. 1994; 19:119-20.
11. Avci S, Sayli U. Carpal tunnel release using a short palmar incision and a new knife. *J Hand Surg Br*. 2000; 25:357-60.
12. Klein RD, Kotsis SV, Chung KC. Open carpal tunnel release using a 1-centimeter incision: technique and outcomes for 104 patients. *Plast Reconstr Surg*. 2003; 111:1616-22.
13. Lee H, Jackson TA, Wood DJ. Carpal tunnel release through a limited skin incision under direct visualization using a new instrument, the carposcope. *Plast Reconstr Surg*. 2002; 109:2471-2.
14. Serra JM, Benito JR, Monner J. Carpal tunnel release with short incision. *Plast Reconstr Surg*. 1997; 99:129-35.
15. Zyluk A, Puchalski P. A comparison of outcomes of carpal tunnel release in diabetic and non-diabetic patients. *J Hand Surg Eur Vol*. 2013; 38(5):485-8.
16. Gamstedt A, Holm-Glad J, Ohlson CG, Sunstrom M. Hand abnormalities are strongly associated with the duration of diabetes mellitus. *J Internal Medicine*. 1993; 234:189-93.
17. Tosti R, Fowler J, Dwyer J, Maltenfort M, Thoder JJ, Ilyas AM. Not necessary is antibiotic prophylaxis in elective hand surgery soft tissue? *Orthopedics*. 2012; 35(6):e829-33.
18. Levine DW, Simmons BP, Koris MJ, Daltroy LH, Hohl GG, Fossel AH, et al. A self-administered questionnaire for the assessment of severity of symptoms and functional status in carpal tunnel syndrome. *J Bone Joint Surg (Am)*. 1993; 75:1585-92.
19. Akman S, Ertürer E, Celik M, Aksoy B, Gur B, Oztürk I. The results of open surgical release of the carpal tunnel syndrome and evaluation of follow-up criteria. *Acta Orthop Traumatol Turc*. 2002; 36(3):259-64.

Резултати хируршког лечења синдрома карпалног тунела код болесника са дијабетес мелитусом тип 2 и без њега

Мелих Малкоџ¹, Озгур Коркмаз¹, Исмаил Олтулу¹, Али Секер¹, Ферхат Сај², Ахмет Мурат Булбул¹

¹Одељење ортопедије и трауматологије, Медицински факултет, Универзитет „Медипол“, Истанбул, Турска;

²Одељење ортопедије и трауматологије, Медицински факултет „19. мај“, Самсун, Турска

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Синдром карпалног тунела (СКТ) је најчешћа локализована компресивна лезија периферног нерва, а операција СКТ је најчешћа хируршка интервенција у лечењу синдрома компресије периферног нерва. Дијабетес мелитус (ДМ) тип 2 је системско обољење с компонентом периферне неуропатије.

Циљ рада Циљ истраживања је био да се испита утицај ДМ тип 2 на функционалне резултате хируршки лечених болесника са СКТ и ДМ тип 2.

Методе рада Испитивањем је обухваћено 39 болесника са СКТ који је дијагностикован електромиографијом. Код 21 болесника није забележен ДМ тип 2, док је 18 испитаника лечено од овог обољења и имало регулисане вредности глукозе у крви. Процена обољења је извршена применом Бостонског теста. Операцију свих болесника извео је исти хируршки тим применом исте хируршке технике. У анализи упоређивања скорa функционалног и симптоматског стања између две групе испитаника примењен је Ман-Витнијев (*Mann-Whitney*) *U*-тест, који је непараметријска верзија Студентовог *t*-теста. Утврђен је 95-процентни интервал повере-

ња на $p < 0,05$, што се сматра статистички значајним.

Резултати Код болесника са ДМ тип 2 средња вредност скорa тежине симптома пре операције била је $3,6 \pm 0,35$ (распон 2,9–4,2), а на последњем контролном прегледу $1,2 \pm 0,16$ (распон 1,0–1,7). Средња вредност скорa функционалног статуса пре операције била је $3,3 \pm 0,56$ (распон 2,3–4,5), а на последњем прегледу $1,3 \pm 0,36$ (распон 1,0–2,4). Код болесника без ДМ средња вредност скорa тежине симптома пре операције била је $3,5 \pm 0,45$ (распон 2,8–4,2), а на последњем контролном прегледу $1,2 \pm 0,19$ (распон 1,0–1,6). Средња вредност скорa функционалног статуса пре операције код ових испитаника била је $3,2 \pm 0,47$ (распон 2,4–4,6), а на последњем контролном прегледу $1,3 \pm 0,35$ (распон 1,0–2,5). Статистички значајна разлика између две посматране групе испитаника није утврђена.

Закључак Болесници са ДМ тип 2 и регулисаним вредностима глукозе у крви могу да се оперишу без примене додатних поступака током или након операције СКТ, а исто важи и за болеснике без ДМ.

Кључне речи: карпални тунел; дијабетес мелитус тип 2; Бостонски тест

Одлике парапнеумоничних излива и наше дијагностичко-терапијске могућности

Мирна Ђурић, Дејан Ђурић, Тамара Ђулибрк, Ђорђе Поважан
Институт за плућне болести Војводине, Сремска Каменица, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Парапнеумонични изливи, као компликација запаљењског процеса у плућима, обично су повољног тока, али некада попримају неповољан ток и прогредирају у емпијем плеуре, те постају значајан клинички проблем.

Циљ рада Циљ рада је био да се прикажу клиничке и радиолошке одлике парапнеумоничних излива и наше дијагностичко-терапијске могућности.

Метод рада Анализирани су подаци о 130 особа с парапнеумоничним изливом које су болнички лечене током 2013. године на Клиници за општу пулмологију Института за плућне болести Војводине у Сремској Каменици.

Резултати Од 385 болесника с пнеумонијом, код 130 (33,8%) је утврђен парапнеумонични излив. Мушкараца је било 78 (60,0% испитаника). Највећи број болесника (36; 27,7%) био је старости 60–69 година. Најчешћи симптоми били су повишена телесна температура код 92 (70,8%) и кашаљ код 91 (70,0%) испитаника. Од придружених болести најчешћа је била артеријска хипертензија код 81 (62,3%) болесника, а потом хронична опструктивна болест плућа код 33 (25,4%). Плеурална пункција је рађена код 62 (47,7%) болесника. Макроскопски излив је најчешће био бистар (31 болесник; 50,0%), а цитолошки је најчешће одговарао мешаном ћелијском саставу (26; 41,9%). Бронхоскопији су била подвргнута 52 (40,0%) испитаника, а видео-асистираној торакоскопији девет (6,9%) болесника. Знаци емпијема установљени су код 13 (10,0%) болесника и код свих је урађена торакална дренажа с применом стрептокиназе интраплеурално.

Закључак Особе с парапнеумоничним изливом имају симптоме акутне респираторне инфекције и честе придружене болести. Одлике плеуралне течности, уз налаз компјутеризоване томографије грудног коша, одређују даљи дијагностички и терапијски поступак лечења ових болесника.

Кључне речи: парапнеумонични излив; емпијем плеуре; дијагностика; терапија

УВОД

Парапнеумонични излив (ППИ) се као компликација постојећег запаљењског процеса у плућима јавља у 36–57% свих случајева пнеумоније и значајан је клинички проблем [1, 2]. ППИ је на другом месту узрока свих плеуралних излива и најчешћи узрок ексудативних плеуралних излива, док су пнеумоније узроци 50% свих ексудата [3]. Када се антибиотици примене правовремено и правилно, ППИ се најчешће ресорбују. Међутим, код 5–10% болесника ППИ се погоршава и доводи до емпијема плеуре, од којег је стопа смртности око 20% [4]. Емпијем плеуре је гнојни, пурулентни плеурални излив, а бактеријска пнеумонија је узрок око 50% свих емпијема [5].

У клиничкој слици ППИ, уз симптоме основне болести, пнеумоније, заступљени су и симптоми типични за плеурални излив [6]. На ППИ треба посумњати када је после 48 часова антибиотског лечења пнеумоније одговор и даље слаб, када је болесник фебрилан или када се утврди повећање броја леукоцита и нивоа С-реактивног протеина (CRP) [2].

Циљ дијагностичког поступка ППИ је сте да се утврди пнеумонија и окарактерише

плеурални излив, јер су одлике плеуралне течности најпоузданији дијагностички параметар за процену врсте плеуралног излива који одређује даље лечење. Дијагностика обухвата: радиолошке прегледе (стандардна радиографија, компјутеризована томографија – СТ), ултразвучне прегледе, одређивање маркера запаљења, основне биохемијске анализе, хемокултуру, бактериолошке и цитолошке прегледе спутума, плеуралну пункцију (макроскопски, биохемијски, бактериолошки и цитолошки преглед), видео-асистирану торакоскопију (ВАТС) са биопсијом плеуре и бронхоскопију.

Развој ППИ има три фазе: ексудативну, фибринопурулентну и фазу организације. Према клиничком току, ППИ се деле на некомплицоване и компликоване ППИ и емпијем плеуре [1, 2]. Некомплицован ППИ (ексудативна фаза) је макроскопски бистар излив с одликама плеуралне течности ($pH > 7,2$; $LDH < 1000 IU/l$; $glucose > 2,2 mmol/l$, микробиолошки негативна) и обично регредира током примене антибиотске терапије. Компликован ППИ (фибринопурулентна фаза) је бистар или замућен излив с одликама плеуралне течности ($pH < 7,2$; $LDH > 1000 IU/l$; $glucose < 2,2 mmol/l$; могуће микробиолошки позитивна) и лечи се ан-

Correspondence to:

Mirna ĐURIĆ
Institut za plućne bolesti
Vojvodine
Put doktora Goldmana 4
21204 Sremska Kamenica
Srbija
mirnadjuric@yahoo.com

тибиотицима широког спектра и дренажом плућним дренажом. Емпијем одликује постојање гноја, уз могућ микробиолошки позитиван налаз плеуралног излива; биохемијска испитивања плеуралне течности нису потребна, а лечи се антибиотицима широког спектра и дренажом плућним дренажом [2, 6, 7].

Комисија Америчког колеџа пулмолога (*American College of Chest Physicians*) је на основу анатомије плеуралног простора и бактериолошког и биохемијског налаза плеуралног пунктата дала смернице за дијагностиковање и лечење особа са ППИ.

Лечење плеуралне инфекције је антибиотско. Циљана антибиотска терапија се даје на основу антибиограма. Емпиријска антибиотска терапија се примењује када не постоји изоловани узрочник, када је бактериолошки налаз пунктата негативан, а примењују се антибиотици широког спектра, који треба да одговоре на утицај најчешћих узрочника ППИ, у зависности од тога да ли је инфекција болнички или ванболнички стечена, према препорукама и сазнању о резистенцији на антибиотике. Интравенски антибиотици се могу заменити оралним ако постоји клиничко и објективно побољшање стања болесника. Антибиотска терапија може трајати и неколико недеља, што зависи од клиничког, биохемијског и радиолошког одговора [1, 2, 6, 7].

Терапија емпијема плеуре је медикаментна (антибиотици) и хируршка (торакална дренажа плеуралног простора, примена фибринолитика интраплеурално локално преко дрена, VATS, декортикација плућа) [5, 7].

Америчко торакално друштво (*American Thoracic Society – ATS*) је на основу стадијума ППИ дало следеће препоруке за лечење:

- *I* стадијум ППИ (ексудативни) одликује се танком плеуром и нелокулираним изливом, који се лечи антибиотицима и торакоцентезом или евентуално дренажом;
- *II* стадијум ППИ (фибринопурулентни) одликује се фибринским депозитима на плеури и локулираним изливом, а лечење обухвата интраплеуралну инстилацију фибринолитичког средства или рани дебридман применом VATS или торакотомије;
- *III* стадијум ППИ (организирајући) одликује се задебљањем плеуром, локулираним изливом са симптомима и знацима рестрикције плућа, фебрилношћу, губитком телесне тежине и повећањем нивоа *CRP*. У овом стадијуму индикована је декортикација, која омогућава контролу инфекције, евакуацију локулираног гноја, отклањање фибринских наслага и превенцију рестрикције плућа због фиброзних промена плеуре [7].

ППИ најчешће током примене антибиотика имају повољан ток, регрестирају без секвела и без оштећења функције плућа, али некада, ако се бактеријска пнеумонија не лечи правовремено и на одговарајући начин, те у зависности од клиничког и имунолошког стања болесника и вирулентности узрочника, ППИ попримају неповољан ток и развијају се у емпијем плеуре [8].

ЦИЉ РАДА

Циљ рада је био да се прикажу клиничке и радиолошке одлике ППИ и наше дијагностичко-терапијске могућности код болесника с овом компликацијом.

МЕТОДЕ РАДА

Ретроспективно су анализирани подаци о 130 особа са ППИ које су болнички лечене од 1. јануара до 31. децембра 2013. године у Клиници за општу пулмологију Института за плућне болести Војводине (ИПБВ) у Сремској Каменици.

Коришћењем упитника прикупљени су и обрађени следећи подаци: пол и старост испитаника, клинички симптоми, придружене болести, локализација пнеумоније и излива, изглед, биохемијске, микробиолошке и цитолошке одлике плеуралне течности, предузети дијагностичко-терапијски поступци и исход болести.

Биохемијске анализе крви урађене су у Центру за клиничку биохемију ИПБВ (крвна слика – *flow* цитометријом; *CRP* – методом турбидиметрије; фибриноген – методом по Клаусу). Биохемијске анализе плеуралног пунктата вршене су на следећи начин: шећер у пунктату се одређивао ензиматском методом глюкоза-оксидаза (ГОД)/ПАП; протеини у пунктату су се одређивали биурет методом; лактат-дехидрогеназа (*LDH*) кинетичким одређивањем (ДГКЦ).

Микробиолошке обраде узорака су вршене у Центру за микробиологију, вирусологију и имунологију ИПБВ следећим методама: 1) метода изоловања бактерија и гљивица из узорака пунктата и разних телесних течности вршена је према стандарду *Health Protection Agency, Investigation of fluids from normally sterile sites National Standard Method BSOP 26, Issue 4*; 2) метода изоловања бактерија и гљивица из спутума, трансбронхијалног аспирата и бронхоскопских узорака рађена је према стандарду *Health Protection Agency, Investigation of fluids from normally sterile sites National Standard Method BSOP 57, Issue 1*; 3) метода изоловања бактерија и гљивица из крви (хемокултура) рађена је према стандарду *Health Protection Agency, Investigation of fluids from normally sterile sites National Standard Method BSOP 37, Issue 5*. Вирусолошке анализе су вршене тестом *ELISA*.

Добијени подаци су статистички обрађени дескриптивним методама, χ^2 -тестом и Ман-Витнијевим (*Mann-Whitney*) *U*-тестом, те приказани табеларно и графички.

РЕЗУЛТАТИ

Током 2013. године на Клиници за општу пулмологију Института за плућне болести Војводине болнички је лечено 385 болесника са дијагнозом пнеумоније. Од тог броја, код 130 (33,8%) болесника утврђен је ППИ.

Све пнеумоније (*N*=385) су биле ванболнички стечене, а њихова дијагноза је постављена на основу клинич-

Табела 1. Старосна структура испитаника
Table 1. Patients' age structure

Старост (године) Age (years)	N	%
20–29	0	0
30–39	6	4.6
40–49	21	16.2
50–59	29	22.3
60–69	36	27.7
70–79	22	16.9
80–89	16	12.3

N – број испитаника
N – number of patients

Табела 2. Учесталост симптома код испитаника с парапнеумоничним изливом

Table 2. Frequency of symptoms in patients with parapneumonic effusion

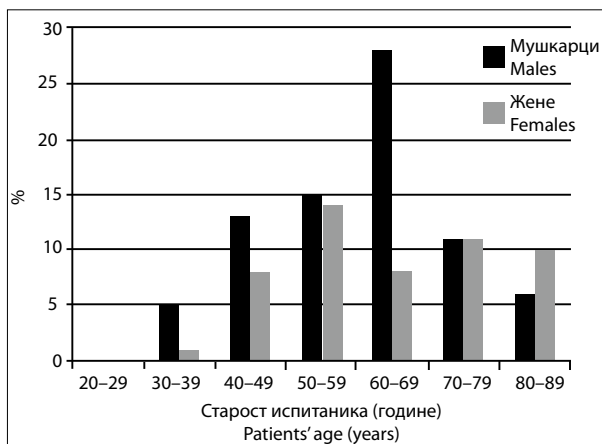
Симптоми Symptoms	N	%
Повишена телесна температура Fever	92	70.8
Кашаљ Cough	91	70.0
Болови у грудном кошу Chest pain	73	56.2
Слабост Weakness	75	57.7
Отежано дисање Breathing difficulties	67	51.5
Губитак апетита Loss of appetite	25	19.5
Смањење телесне тежине Weight loss	21	16.2
Хемоптизије Hemoptysis	19	14.6

Табела 3. Придружене болести код испитаника с парапнеумоничним изливом

Table 3. Comorbidities in patients with parapneumonic effusion

Придружене болести Comorbidities	N	%
ХОБП COPD	33	25.4
Бронхиектазије Bronchiectasis	25	19.2
Повишен артеријски притисак Hypertension	81	62.3
Кардиомиопатија Cardiomyopathy	24	18.5
Ранији инфаркт миокарда Previous myocardial infarction	8	6.2
Ангина пекторис Angina pectoris	6	4.6
Поремећаји ритма рада срца Arrhythmias	3	2.3
Гастроинтестинални коморбидитети Gastrointestinal comorbidities	12	9.4
Дијабетес мелитус Diabetes mellitus	28	21.5
Неуропсихијатријски коморбидитети Neuro-psychiatric comorbidities	14	10.8
Различити малигнитети Different malignancies	7	5.5
Хронична инсуфицијенција бубрега Chronic renal failure	6	4.9

ХОБП – хронична опструктивна болест плућа
COPD – chronic obstructive pulmonary disease



Графикон 1. Учесталост парапнеумоничних излива у односу на старост и пол

Graph 1. The frequency of parapneumonic effusions in respect to age and gender

ких (симптоми и аускултаторни налаз), радиолошких (засенчење на радиограму грудног коша) и лабораторијских анализа (повишени маркери инфламације). Дијагноза ППИ је постављена на основу клиничких (симптоми и аускултаторни налаз) и радиолошких обележја, а код 62 испитаника (47,7%) и на основу добијеног плеуралног излива са одликама ППИ. Од укупно 130 болесника са ППИ, код 77 (59,2%) плеуропнеумонија је на основу радиолошких и клиничких симптома и знакова дијагностикована већ у амбуланти а болесници су упућени на болничко лечење, док је код 63 (48,5%) болесника амбулантно и започета антибиотска терапија. Од 130 болесника са ППИ, 53 (40,7%) су примљена у болницу са дијагнозом пнеумоније, док се плеурални излив формирао током лечења, између првог и петог дана хоспитализације.

Полна и старосна структура испитаника

Од укупно 130 испитаника са ППИ, 78 (60,0%) су били мушкарци, а 52 (40,0%) жене. Међу испитаницима с емпијемима било је девет мушкараца (69%) и четири жене (31%).

Највећи број испитаника (36; 27,7%) био је стар од 60 до 69 година, док је најмање било болесника старости од 30 до 39 година (Табела 1; Графикон 1). Просечна старост болесника са ППИ била је $62,2 \pm 13,8$ година. Најстарији болесник је имао 87, а најмлађи 30 година.

Заступљеност симптома

Најчешћи симптоми код болесника са ППИ (Табела 2) били су повишена телесна температура (92; 70,8%) и кашаљ (91; 70,0%), док су се хемоптизије најређе јављале (19; 14,6%). Кашаљ је најчешће био непродуктиван, и то код 56 (61,5%) болесника, док је кашаљ с искашљавањем забележен код 35 (38,5%) испитаника.

Придружене болести

Од укупно 130 испитаника са ППИ, 103 (79,2%) је имало једну или више придружених болести, а 27 (20,8%) није имало ниједну такву болест. Посматрајући придружене болести понаособ, утврђено је да је повишени артеријски притисак био најчешћи коморбидитет, и то код 81 (62,3%) болесника; следе хронична опструктивна болест плућа (ХОБП) код 33 (25,4%), дијабетес мелитус код 28 (21,5%) и бронхијектазије код 25 (19,2%) болесника. Хронична инсуфицијенција бубрега је установљена код шест (4,9%) испитаника, од којих је један био на програму дијализе (Табела 3). Најчешћи коморбидитети код испитаника с емпијом ($N=13$) били су: хипертензија код 11 болесника, дијабетес код четири, инфаркт миокарда код три, улкус желуца и инсуфицијенција срца код два болесника, док је по један испитаник имао уграђен вештачки водич срчаног ритма (пејсмејкер), аортокоронарни бајпас, ХОБП, инсуфицијенцију бубрега и неуролошки коморбидитет. Најчешћи коморбидитети код компликованих ППИ ($N=4$) били су хипертензија код три болесника, те дијабетес мелитус и инфаркт миокарда код по једног.

Локализација пнеумоничне инфилтрације и плеуралног излива

Пнеумонична инфилтрација је код 24 (18,5%) испитаника са ППИ била локализована обострано, док је код 106 (81,5%) болесника била локализована једнострано: код 65 (61,3%) са десне стране, а код 41 (38,7%) с леве. Најчешћа локализација пнеумоничних жаришта била је у десном доњем режњу, и то код 35 (26,9%) испитаника.

Плеурални излив је био обостран код 28 (21,5%) болесника, а код 102 (78,5%) једностран, и то код 56 (54,9%) са десне стране, а код 46 (45,1%) с леве.

Радиолошке методе прегледа

Сви болесници су подвргнути радиографском снимању грудног коша, а код 119 (91,5%) рађена је и СТ грудног коша, која пружа много више података о величини излива, ширини плашта излива и о постојању и изгледу инкапсулираног, локулираног излива. Средња вредност ширине плашта плеуралног излива мерене током СТ грудног коша била је $25,5 \pm 19,2$ mm. Највећа вредност измереног излива била је 90 mm, а најмања 8 mm. Код 110 (92,4%) болесника плеурални излив је био слободан, а код девет (7,6%) локулиран.

Одлике плеуралне течности

Одлике плеуралне течности су најпоузданији дијагностички параметар за процену обележја плеуралног излива, који одређује даље лечење. Плеурална пункција је неопходна код излива дебљине више од 10 mm, код великих излива, код пораста излива током болести, код погоршања општег стања и клиничког тока болести и код сумње на емпијем [1, 2], те смо се и ми у своме раду руководили овим индикацијама за плеуралну пункцију. Плеурална пункција је вршена код 62 (47,7%) болесника. Макроскопски је код 31 (50,0%) плеурални излив био бистар, код 23 (37,0%) замућен, а код осам (13,0%) серохеморагичан (Табела 4).

Табела 4. Макроскопски изглед плеуралног пунктата
Table 4. Macroscopic appearance of pleural effusion

Изглед плеуралног излива Appearance of pleural effusion	N	%
Бистар Clear	31	50.0
Замућен Cloudy	23	37.0
Серохеморагичан Sero-hemorrhagic	8	13.0

Табела 5. Цитопатолошка анализа плеуралног пунктата
Table 5. Cytopathological analysis of pleural effusion

Цитопатолошка анализа плеуралног пунктата Cytopathological analysis of pleural effusion	N	%
Неутрофилно-гранулоцитни тип Neutrophil-granulocytic effusion type	20	32.3
Еозинофилно-гранулоцитни тип Eosinophil-granulocytic effusion type	5	8.1
Мешани ћелијски састав Mixed-cell effusion type	26	41.9
Лимфоцитни тип Lymphocytic effusion type	7	11.3
Макрофагни тип Macrophage effusion type	2	3.2
Реактивно измењене мезотелне ћелије Reactively-altered mesothelial cells	2	3.2

Биохемијском анализом плеуралног пунктата, према Лајтовим (*Light*) критеријумима, код сва 62 болесника је утврђен ексудат. Цитолошка анализа плеуралног пунктата рађена је такође код 62 испитаника, а најчешће је утврђен мешани ћелијски састав, код 26 (41,9%) болесника, а потом неутрофилно-гранулоцитни тип излива, код 20 (32,3%) болесника (Табела 5). Микробиолошким прегледом плеуралних пунктата изоловани су *Chryseobacterium indologenes* (један узорак) и *Streptococcus pneumoniae* (један узорак). Сви плеурални пунктати су директном бацилоскопијом, као и културама, били негативни на бацил туберкулозе.

Анализиране су одговарајуће биохемијске одлике плеуралних излива, како би се изливи сврстали у некомпликовани ППИ, компликовани ППИ или емпијем. У испитиваној групи код 45 (72,6%) болесника доказан је некомпликовани ППИ, код четири (6,5%) компликовани ППИ, док је код 13 (20,9%) испитаника доказан емпијем.

Бронхоскопија

Бронхоскопија с узимањем материјала за бактериолошку и патохистолошку анализу код болесника с пнеумонијом и појавом ППИ индикована је код симптома

који указују на бронхијалну опструкцију, аспирацију страног тела, код хемоптизија, код особа које не одговарају на антибиотску терапију, као и ради искључења или доказивања тумора плућа. Поштујући ове индикације, бронхоскопија је урађена код 52 (40,0%) болесника, у неким случајевима пре, а некад после плеуралне пункције. Ендоскопски налаз је код свих био нормалан. Код 14 (26,9%) испитаника патохистолошки је доказана пнеумонија у фази организације, док су код 38 (73,1%) болесника потврђене уобичајене хистолошке одлике.

Дренажа плеуралног простора, видео-асистирана торакоскопија (ВАТС) и интраплеурална инстилација фибринолитика

Одлука да се дренира плеурални простор зависи од бројних клиничких, лабораторијских и радиоолошких фактора. У свакодневном раду, па и у овом истраживању, придржавали смо се следећих индикација за торакалну дренажу: постојање гноја у плеуралном простору, постојање бактерија у плеуралној течности, рН вредност плеуралне течности мања од 7,2, концентрација глукозе у плеуралној течности мања од 2,2 mmol/l, вредност LDH већа од 1000 IU/l, локулирани излив и велики непуруленти изливи, све ради ублажавања симптома [1, 2].

Избор болесника за ВАТС дебридман плеуре и ВАТС декортикацију обухвата следеће: 1) болеснике с клинички и радиоолошки евидентираним емпијемом плеуре; 2) биохемијску анализу плеуралног пунктата (позитивни Лајтови критеријуми); 3) више септираних накупина на СТ снимку грудног коша и ултразвучном прегледу плеуре; 4) трајање болести до три недеље, ексудативна и фибринопурулентна фаза развоја емпијема. Контраиндикације за ВАТС су: претходна торакотомија, емпијем или дренажа с хемијском плеуродезом.

Индикације за интраплеуралну инстилацију фибринолитика су: 1) болесници с клинички и радиоолошки евидентираним емпијемом плеуре; 2) биохемијска анализа плеуралног пунктата (позитивни Лајтови критеријуми); 3) више септираних накупина на СТ снимку грудног коша или ултразвучном прегледу плеуре; 4) трајање болести до три недеље, ексудативна и фибринопурулентна фаза развоја емпијема. Компликације код интраплеуралне инстилације фибринолитика су: фебрилност, флегмона зида грудног коша око места увођења дрена, интраплеурална хеморагија (хемоторакс), системско крварење, тромбоемболија [2].

Руководећи се овим општеприхваћеним индикацијама за дренажу плеуралног простора, ВАТС и интраплеуралну инстилацију фибринолитика, у овом истраживању установљено је следеће: од 130 болесника са ППИ, код 13 (10,0%) су уочени знаци емпијема и код свих је урађена торакална дренажа с применом стрептокиназе интраплеурално, у дози од 250.000 ИЈ. Само у једном случају урађена је декортикација плеуре. Код девет (6,9%) болесника примењена је ВАТС, а патохистолошки

Табела 6. Средње вредности леукоцита, С-реактивног протеина (CRP) и фибриногена у крви код испитаника с емпијемом плеуре и без њега

Table 6. Average value of leukocytes, C-reactive protein (CRP) and fibrinogen in blood samples in patients with and without empyema

Параметар Parameter	С емпијемом плеуре With empyema	Без емпијема плеуре Without empyema	p
Леукоцити ($\times 10^9/l$) Leucocytes ($\times 10^9/l$)	12.4 $\pm$ 6.2	16.5 $\pm$ 8.8	0.034
CRP (mg/l)	152.3 $\pm$ 127.9	201.9 $\pm$ 117.7	0.105
Фибриноген (g/l) Fibrinogen (g/l)	6.7 $\pm$ 2.5	6.7 $\pm$ 3.0	0.810

столошком анализом материјала добијених биопсијом плеуре код по три болесника доказани су неспецифична хронична продуктивна упала, неспецифична продуктивна упала и фибринозно продуктивни плеуритис.

Маркери инфламације

Средње вредности леукоцита и CRP су код испитаника с емпијемом плеуре биле веће него код испитаника без емпијема (Табела 6). Упоређујући средње вредности леукоцита код ове две групе болесника, утврђена је статистички значајна разлика ($p=0,034$).

Микробиолошки прегледи

На микробиолошко испитивање упућени су спутуми свих болесника, плеурални пунктати оних код којих је рађена плеурална пункција, биоптички материјали и бронхолавати испитаника који су подвргнути бронхоскопији, док је хемокултура анализирана код неких болесника. Микробиолошком анализом утврђено је следеће: из плеуралног пунктата изоловани су *Chryseobacterium indologenes* (један узорак) и *Streptococcus pneumoniae* (један узорак); хемокултуром је изолован *Staphylococcus haemolyticus* (један узорак); из спутума су изоловани *Streptococcus pneumoniae* (пет узорака), *Enterobacter species* (један узорак) и *Pseudomonas species* (три узорака); из бронхолаваже је изолована *Klebsiella pneumoniae* (пет узорака). Код болесника код којег је изолова *Streptococcus pneumoniae* у плеуралном пунктату исти узрочник изолован је и у спутуму. Ради расветљавања етиологије плеуралног излива, током болничког лечења испитаника вршени су прегледи плеуралног пунктата на гљивице, али ни у једном случају оне нису утврђене. Код 25 (19,2%) болесника урађено је вирусолошко испитивање и код 14 је утврђен повишен титар IgM антитела, најчешће на бактерију *Chlamydomphila pneumoniae* и вирус коксаки Б.

Антибиотска терапија парапнеумоничних излива

Поштујући препоруке за ванболнички стечену плеуралну инфекцију [1, 2], код испитаника нашег истраживања примењена је емпиријска антибиотска

терапија, која подразумева примену: а) амоксицилина с клавулонском киселином и ципрофлоксацина; б) цефуроскима и метронидазола; или в) меропенема и метронизадола. Код појединих болесника, на основу антибиограма, примењена је циљана антибиотска терапија. Контролу ефикасности примењене терапије остваривали смо контролом клиничког стања, контролом маркера инфламације и радиолошког налаза. Бројни су бодовни системи за процену тежине пнеумоније с предвиђањем исхода лечења пнеумонија, а самим тим и ППИ, једне од компликација пнеумонија. У ИПБВ се рутински примењује индекс тежине пнеумоније (енгл. *pneumonia severity index* – PSI), који омогућује правилну процену тежине пнеумоније, као и место њеног лечења.

Дужина хоспитализације

Болничко лечење испитаника без емпије у просеку је трајало $18,3 \pm 7,9$ дана, а испитаника с емпијом $22,5 \pm 12,9$ дана. Разлика, међутим, није била статистички значајна ($p=0,169$).

Морталитет болесника са парапнеумоничним изливом

Током хоспитализације умрло је осам (6,2%) болесника. Код три болесника плеурални излив је био обојан, док је код пет био локализован једнострано. У два случаја рађена је обдукција и коначни обдукциони налаз указао је на гнојну упалу плућа, док се у осталим случајевима узрок смрти приписао придруженим болестима. Међутим, статистичком обрадом података није уочена статистички значајна корелација између коморбидитета и леталног исхода болесника (ни за један коморбидитет није било статистички значајне разлике између болесника који су умрли и оних који су преживели).

ДИСКУСИЈА

ППИ је плеурални излив који се формира у време када на истој страни постоји акутна инфекција плућа, а јавља се код 36–57% особа које се болнички лече због пнеумоније [2, 9, 10]. Овај податак је у складу с резултатом нашег истраживања, у којем је ППИ установљен код 33,8% испитаника.

У нашем истраживању 60,0% испитаника са ППИ чинили су мушкарци. Озол (Ozol) и сарадници [4] су међу 107 болесника с компликованим ППИ и емпијом установили 79,4% мушкараца, а Цанг (Tsang) и сарадници [11] од 63 болесника с компликованим ППИ и емпијом 71,4% испитаника мушког пола. Међу нашим испитаницима с емпијом било је девет (69%) мушкараца, што говори у прилог сазнању да је емпијом два пута чешћи код мушкараца него код жена [7].

Просечна старост наших испитаника била је 62,2 године, а испитаника студије Цанга и сарадника [11] 64 године, што је у складу са сазнањима да се емпијом чешће јавља код старијих особа [7].

Најчешћи симптоми код испитаника нашег истраживања били су повишена телесна температура (70,8%) и кашаљ (70,0%), што су запазили и Цанг и сарадници [11] код 84%, односно 78% својих болесника.

Заступљеност придружених болести и старост преко 65 година су фактори ризика за смртни исход изазван емпијом плеуре [8]. Код 103 (79,2%) болесника нашег истраживања забележена је најмање једна придружена болест, а најчешће су биле артеријска хипертензија код 81 (62,3%) испитаника и ХОБП код 33 (25,4%). Озол и сарадници [4] наводе да се код емпије придружене болести јављају код 57,9% болесника: најчешће ХОБП (19%), дијабетес мелитус (14%) и хронична обољења срца (10,3%). Цанг и сарадници [11] наводе следећу учесталост: кардиоваскуларне болести 38%, дијабетес мелитус 30%, малигнитет 25%, цереброваскуларне болести 16%, неуролошке болести 13%, болести бубрега 13% и ХОБП 11% [11].

Сви испитаници нашег истраживања подвргнути су били радиографском снимању грудног коша и ултразвучном прегледу плеуре, а 119 испитаника СТ прегледу грудног коша. Радиограм грудног коша указао је на плеурални излив и на пнеумонично жариште. Ултразвуком је откривен излив у плеуралном простору (локализација, количина, особине излива) и прецизирано место за плеуралну пункцију и дренажу. СТ снимак грудног коша помогао је у визуелизацији плеуре, утврђивању врсте плеуралних задебљања, диференцирању плеуралних промена и диференцирању плеуралних од паренхиматозних промена.

Свим болесницима с плеуралном ефузијом и сепсом или пнеумоничном инфилтрацијом потребно је узети узорак излива, тј. извршити плеуралну пункцију. Потребно је јасно установити да ли је у питању компликовани ППИ, који захтева дренажу, или некомпликовани ППИ, који се лечи антибиотиком. Нема специфичних података који указују на то који болесници са ППИ се могу лечити без плеуралне пункције и дијагнозе плеуралне течности, али се сматра да је анализа плеуралног излива (који је већи од 10 *ml*) ипак најважнија [2]. Мале ефузије (мање од 10 *ml* дебљине) обично се повлаче током примене антибиотика и може се рећи да су ППИ најчешће мали, без већег клиничког значаја, али је плеурална пункција ипак неопходна код великих излива, пораста излива током болести, погоршања општег стања и клиничког тока болести, односно сумње на емпијом [1, 2]. Сходно томе, плеурална пункција је рађена код 62 (47,7%) болесника, а пунктат је прегледан макроскопски, биохемијски на основу Лајтових критеријума, бактериолошки и цитолошки.

Бронхоскопија је вршена код 52 (40,0%) болесника у складу с општеприхваћеним индикацијама за бронхоскопију код ППИ, што је у сагласности с подацима из литературе.

Поштујући индикације за торакалну дренажу, код 10,0% испитаника нашег истраживања урађена је торакална дренажа с применом стрептокиназе интраплеурално, на Одељењу септичне хирургије Клинике за грудну хирургију ИПБВ. Учесталост емпијема у нашој испитиваној групи у складу је с подацима из литературе, у којој се наводи да се 10% болесника са ППИ дренира [7], а у неким чак 15–40% ППИ захтева дренажу [11]. Плеурална дренажа се примењује код компликованих ППИ и емпијема [6], а поједини аутори наводе да чак 30% ППИ има одлике компликованих ППИ и емпијема [12]. Уколико је торакална дренажа успешна, у року од 24 часа долази до клиничког и радиолошког побољшања стања болесника [13].

Уколико знаци побољшања изостану, може се сумњати на локулацију и стварање фибринских наслага плеуре, те је оправдана интраплеурална примена фибринолитика (250.000 ИЈ стрептокиназе или 100.000 ИЈ урокиназе), која има бројне предности. Познато је да фибринолитичка средства (стрептокиназа, урокиназа) спречавају локулирање ППИ, дају клиничка и радиолошка побољшања, скраћују време проведено у болници, смањују компликације и потребу за хируршким лечењем и механичким дебридманом. Међутим, неопходна су даља истраживања нових лекова, као што су ткивни активатор плазминогена (*tPA*) и деоксирибонуклеаза (*DNase*) [6, 7, 13]. Џанг и сарадници [11] су у ретроспективној студији анализирали болеснике с компликованим ППИ и емпијемом и закључили да је правовремено лечење антибиотикима и интраплеуралним фибринолитикима веома значајно јер ови лекови смањују mortalitet и скраћују хоспитализацију. Међутим, Озол и сарадници [4] су ретроспективно анализирали 107 болесника с плеуралном инфекцијом (69 емпијема и 38 компликованих ППИ) са циљем да упореде лечење од плеуралне инфекције (дренажа са интраплеуралном стрептокиназом или без ње) и закључили да је интраплеурална стрептокиназа сигурна процедура, али у овој студији није имала ефекта на mortalitet и трајање болничког лечења испитаника.

Уколико се прегледом плеуралне течности на основу Лајтових критеријума утврди да је реч о ексудату, а његов узрок није откривен прегледима пункциата, неопходно је урадити биопсију плеуре с узимањем материјала за патохистолошки и бактериолошки преглед [1]. ВАТС је дијагностичко-терапијска метода која омогућује визуелизацију плеуралног простора, узимање биопсије плеуре, те хируршки дебридман плућног паренхима и уништење фибринских септи када су дренажа и примена фибринолитика недовољни [2, 5]. Фибринолиза и ВАТС су опције у лечењу фибринопурulentног емпијема, али нису делотворне за организирајући стадијум ППИ [7]. Предности ВАТС су: мања хируршка повреда, мања инвазивност од декорткације плућа, смањење постоперационих компликација и скраћење болничког лечења. Поштујући хируршке индикације, код девет (6,9%) испитаника

нашег истраживања рађена је ВАТС, а примена је протекла без компликација.

Код једног болесника рађена је декорткација плућа. Код болесника с упорном сепсом удруженом са плеуралним накупинама и лошим одговором на дренажу и антибиотике, примена ВАТС или торакотомија са декорткацијом долазе у обзир [2, 6].

Упоређујући средње вредности нивоа леукоцита код болесника с емпијемом и без њега, утврђена је статистички значајна разлика, док наводи из литературе кажу да нема разлике у броју леукоцита између оних којима је потребна дренажа и оних који се успешно лече антибиотикима [2, 6].

Током болничког лечења умрло је осморо (6,2%) болесника, али ниједан од њих није показивао знаке емпијема, већ се узрок смрти приписао придруженим болестима. Подаци из литературе показују да око 20% болесника с емпијемом умире [2, 6, 7]. У студији Озола и сарадника [4] стопа mortaliteta испитаника с компликованим ППИ и емпијемом била је 8,4%, а највише је умрло особа с придруженим болестима. Џанг и сарадници [11] су навели да 15% болесника са ППИ заврши летално.

Бројни аутори су анализирали факторе ризика за исход ППИ. Фалгера (*Falguera*) и сарадници [14] су испитали 4.715 особа са ванболнички стеченом пнеумонијом (ВСП) током 13 година (1996–2008. године) и утврдили код 882 (19%) болесника плеурални излив. Од тог броја, код 135 је дијагностикован емпијем, а код 126 компликовани ППИ. Мултиваријантном анализом утврђено је пет фактора који могу предвидети развој емпијема, односно компликованог ППИ: старост преко 65 година, алкохолизам, плеурални бол, тахикардија и леукоцитоза. Шалмер (*Chalmers*) и сарадници [15] су у својој проспективној студији (2005–2008. године) мултиваријантном логистичком анализом установили седам фактора који су заступљени на пријему у болницу и који предвиђају развој компликованог ППИ или емпијема код болесника примљених због ВСП: ниво албумина мањи од 30 g/l, концентрација натријума мања од 130 mmol/l, број тромбоцита већи од 400×10^9 , ниво CRP већи од 100 mg/l, алкохолизам и интравенска примена дроге.

Дужина хоспитализације је веома значајна и с медицинског и с економског аспекта лечења. Болесници с плеуралним изливом дуже се болнички лече, а хоспитализација је дужа код емпијема и компликованог ППИ [14, 15]. Болесници с плеуралном инфекцијом имају продужену хоспитализацију [4], а просечно време болничког лечења је 15 дана, с тим да је углавном 25% болесника с плеуралном инфекцијом у болници дуже од месец дана [11]. И у нашем истраживању просечна дужина хоспитализације је била већа код испитаника с емпијемом у односу на оне без емпијема, али разлика није била статистички значајна.

Прогноза болесника са ППИ углавном је добра и код већине њих показују се потпуни опоравак и повратак функције плућа у границе нормале. Рано ди-

ференцирање некомпличованих ППИ од компликованих веома је значајно, јер усмерава даљу терапију (торакална дренажа или само антибиотска терапија) и сигурно је да ће брза дијагностика и одговарајућа и правовремена терапија смањити морбидитет и морталитет од ППИ.

ЗАКЉУЧАК

Болесници са ППИ имају симптоме акутне инфекције дисајних органа и честе придружене болести. Одлике плеуралне течности уз налаз СТ грудног коша одређују даљи дијагностички и терапијски третман.

ЛИТЕРАТУРА

1. Davies CWH, Gleeson FV, Davies RJO. BTS guidelines for the management of pleural infection. *Thorax*. 2003; 58(Suppl II):ii18-ii28.
2. Davies HE, Davies RJO, Davies CWH. Management of pleural infection in adults: British Thoracic Society pleural disease guideline 2010. *Thorax*. 2010; 65(Suppl 2):41-53.
3. Maskell NA, Butland RJA. BTS guidelines for the investigation of a unilateral pleural effusion in adults. *Thorax*. 2003; 58(Suppl II):ii8-ii17.
4. Ozol D, Oktem S, Erdinc E. Complicated parapneumonic effusion and empyema thoracis: microbiologic and therapeutic aspects. *Respir Med*. 2006; 100:286-91.
5. Light RW. Parapneumonic effusions and empyema. *Proc Am Thorac Soc*. 2006; 3:75-80.
6. Wrightson JM, Maskell NA. Pleural infection. *Clin Med*. 2012; 12(1):82-6.
7. Gonzalez M, Ris HB, Petrov D. Surgical management of pleural empyema. In: Rhoads G, Subotic D. *Complex Pleuropulmonary Infections*. Sheffield, UK: European Respiratory Society; 2013. p.141-152.
8. Milovančev A, Bijelović M, Đurić D, Koledin M, Miličević B. Parapneumonični empijemi pleure I pridružene bolesti. *Pneumon*. 2000; 38(3-4):145-9.
9. Light RW. Management of parapneumonic effusions. *Clin Pulm Med*. 2003; 10(6):336-42.
10. Wrightson JM, Davies RJ. The approach to the patient with a parapneumonic effusion. *Semin Respir Crit Care Med*. 2010; 31(6):706-15.
11. Tsang KY, Leung WS, Chan VL, Lin AW, Chu CM. Complicated parapneumonic effusion and empyema thoracis: microbiology and predictors of adverse outcome. *Hong Kong Med J*. 2007; 13:178-86.
12. Porecel JM. Pleural fluid tests to identify complicated parapneumonic effusions. *Curr Opin Pulm Med*. 2010; 16(4):357-61.
13. Schiza SE, Antoniou KM, Economidou FN, Siafakas NM. Pharmacotherapy in complicated parapneumonic pleural effusions and thoracic empyema. *Pulm Pharmacol Ther*. 2005; 18(6):381-9.
14. Falguera M, Carratala J, Bielsa S, Garcia-Vidal C, Ruiz-Gonzalez A, Chica I, et al. Predictive factors, microbiology and outcome of patients with parapneumonic effusion. *Eur Respir J*. 2011; 38:1173-9.
15. Chalmers JD, Singanayagam A, Murray MP, Scally C, Fawzi A, Hill AT. Risk factors for complicated parapneumonic effusion and empyema on presentation to hospital with community-acquired pneumonia. *Thorax*. 2009; 64:592-7.

Parapneumonic Effusions: Features, Diagnostics and Treatment Options

Mirna Djurić, Dejan Djurić, Tamara Ćulibrk, Djordje Považan
Institute for Pulmonary Diseases of Vojvodina, Sremska Kamenica, Serbia

SUMMARY

Introduction Parapneumonic effusions, as a complication of inflammatory processes in the lungs, usually have a good course, but they sometimes progress into pulmonary empyema, thus becoming a significant clinical problem.

Objective To review clinical and radiological features, as well as diagnostic and therapeutic options in parapneumonic effusions.

Methods The analysis included 130 patients with parapneumonic effusions hospitalized at the General Pulmonology Clinic of the Institute for Pulmonary Diseases of Vojvodina, Sremska Kamenica during 2013.

Results Of 385 patients with pneumonia, 130 (33.8%) had parapneumonic effusion, 78 (60.0%) of whom were males. Most patients (361; 27.7%) were 60-69 years of age. The most common symptoms included fever (92; 70.8%) and cough (91; 70.0%).

Hypertension was the most common comorbidity registered in 81 (62.3%) patients, and chronic obstructive pulmonary disease present in 33 (25.4%) patients. Pleural puncture was performed in 62 (47.7%) patients. Macroscopically, effusion was clear in most cases (31; 50.0%), and cytologically the mixed type was most frequently established (26; 41.9%). Bronchoscopy was performed in 52 (40.0%) patients, and video-assisted thoracoscopy in 9 (6.9%) patients. Empyema signs were registered in 13 (10.0%) patients; in all a thoracic drainage with administration of intrapleural streptokinase was performed.

Conclusion Patients with a parapneumonic effusion have the symptoms of acute respiratory infection and frequent concomitant diseases. Further diagnostic and therapeutic treatment depends on pleural fluid features and chest CT finding.

Keywords: parapneumonic effusion; pleural empyema; diagnosis; therapy

Cost-Effectiveness Analysis of Different Types of Labor for Singleton Pregnancy: Real Life Data

Dragana Lakić¹, Branko Petrović², Guenka Petrova³

¹Department of Social Pharmacy and Pharmacy Legislation, Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

²Hospital for Gynecology and Obstetrics "Narodni Front", Belgrade, Serbia;

³Department for Social Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Medical University, Sofia, Bulgaria

SUMMARY

Introduction Views on the conduct of labor have changed over time, and a significant difference exists in relation to obstetric centers.

Objective To assess cost, clinical outcomes and cost-effectiveness of different types of labor in singleton pregnancies.

Methods A decision model was used to compare vaginal labor, induced labor and planned cesarean section. All data were taken from the Book of Labor from the University Hospital for Gynecology and Obstetrics "Narodni Front", Belgrade, Serbia for labors conducted during one month period in 2011. Successful delivery (i.e. labor that began up to 42 gestation weeks, without maternal mortality and the newborn Apgar scores greater than or equal to seven in the fifth minute of life) was considered as the outcome of the cost effectiveness-analysis. To test the robustness of this definition probabilistic sensitivity analysis was performed.

Results From a total of 667 births, vaginal labor was conducted in 98 cases, induced vaginal in 442, while planned cesarean section was performed 127 times. Emergency cesarean section as a complication was much higher in the vaginal labor cohort compared to the induced vaginal cohort (OR=17.374; 95% CI: 8.522 to 35.418; $p < 0.001$). The least costly type of labor was induced vaginal labor: average cost 461 euro, with an effectiveness of 98.17%. Both, vaginal and planned cesarean labor were dominated by the induced labor. The results were robust.

Conclusion Elective induction of labor was associated with the lowest cost compared to other types of labor, with favorable maternal and neonatal outcomes.

Keywords: cost-effectiveness; induction; labor

INTRODUCTION

Type of labor is determined by several factors: the age and parity of mother, clinical status. Type of labor affects perinatal morbidity and mortality [1, 2]. The cost-effectiveness evaluation adds not only medical but also economic aspects to the labor.

The dominant type of labor during the 60's and 70's of the last century was a vaginal delivery. In the 1980's and especially in the 1990's of the previous century induced labor was on the rise [3, 4]. In the last decade there was an increase in the number of cesarean sections (including cesarean section required by the patient), especially in the developed countries [5]. In North America in 2010, almost one third of births (32.8%) were performed by cesarean section, compared to 20.7% in 1996 [6].

Most economic evaluations examine only the cost of different types of labor, without comparing outcomes of these types of labor. All of these studies found that spontaneous labor is the least costly intervention compared to both cesarean section and/or induced labor [7, 8, 9]. However, focusing only on the cost of labor is one-sided approach providing only partial evaluation for adequate decision making.

OBJECTIVE

The aim of the study was to assess the cost, clinical outcomes and cost-effectiveness of different types of labor in singleton pregnancies using the data from the University Hospital for Gynecology and Obstetrics.

METHODS

We conducted retrospective study at the University Hospital for Gynecology and Obstetrics "Narodni Front", Serbia. There are between 6,500 and 7,000 labors each year in the hospital, which is approximately 11% of all births in the country [10]. All labors conducted on low-risk obstetric population (i.e. no major fetal anomalies, no pregnancy complication) during a one-month period in 2011 were eligible for the study. During this period there were exactly 700 births. From the analysis we excluded women who had multiple pregnancies because of the greater likelihood that cesarean section would be conducted [11, 12]. In this way, 28 labors were excluded from further analysis. For the final analysis five more labors were excluded due to the lack of any data in the database. Thus, a

Correspondence to:

Dragana LAKIĆ
Faculty of Pharmacy
Vojvode Stepe 450
11221 Belgrade
Serbia
dlakic@pharmacy.bg.ac.rs

total of 667 labors remained for final analysis. The study was performed anonymously for selected patients following the rules for non-interventional retrospective studies.

All information regarding the labor is recorded into the Book of Labors soon after the delivery. From the Book of Labors the following maternal data were collected: maternal age, parity, marital status, labor onset, duration of labor, delivery type, gestational week at delivery, type of induction (synthetic oxytocins and/or prostaglandins), application of epidural anesthesia, complications (hemorrhage, rupture of the cervix and/or rupture of the perineum) and whether the pregnancy was from the in-vitro fertilization program. Infant characteristics included gender, presentation, birth weight, length, head circumference and the Apgar score in the fifth minute of life. The study was planned according to the ethical guidelines following the Declaration of Helsinki. The Ethics Committee of the University Hospital approved study protocol.

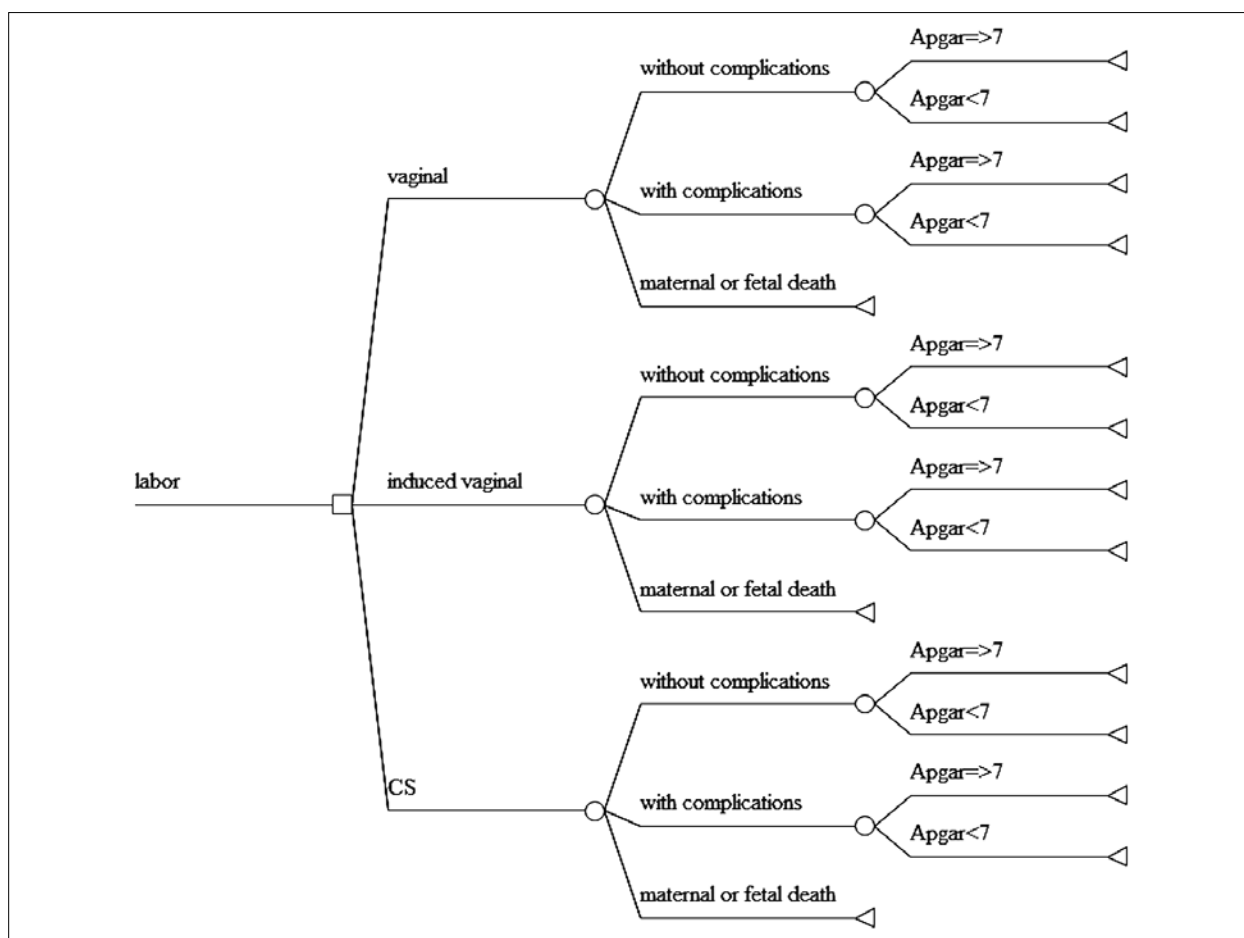
For the purposes of the study a decision analytic model was constructed using the TreeAge software version 1.5.2 Healthcare Module (TreeAge Software INC., Williamstown, Massachusetts, USA). The decision model was used to compare vaginal labor, induced labor and planned cesarean section. Schematic representation of the model is shown in Scheme 1.

All probabilities for individual events are calculated as the instantaneous probability of the data retrieved from

the database, using the formula $p=n/N$, where “p” is the probability, “n” is the number of events of interest, and “N” is the total number of exposed persons. Under the complications the following outcomes were observed: 1. occurrence of hemorrhage, 2. perineal lacerations (cervix and/or perineum), and 3. cesarean delivery in cases of vaginal labor (regardless of whether labor was induced or not). The Apgar score was observed as the newborn outcome, i.e. value of the Apgar score equal or greater than 7 in the fifth minute of life [13, 14].

The perspective of analysis was the Republic Health Insurance Fund (RHIF) of Serbia. Since the perspective of the study was the RHIF only direct medical costs have been considered. The following types of costs were taken into account: hospital days, prenatal and postnatal care of the newborn, all labor interventions, health technologies applied during and after birth, as well as the costs of healthcare workers. From the final analysis we excluded costs charged on private or supplemental health insurance (e.g. accommodation in apartment, arrival of the obstetric doctor outside the working hours), as well as personal financial contributions by non-residents or any costs charged to foreign health funds.

According to the legislation, the cost of epidural anesthesia is not covered by the compulsory health insurance, i.e. it is a non-standard service. All medicines and service for induction are included for the cost of 124.56



Scheme 1. Representation of the decision analytical model

CS – cesarean section

euro. This cost represents out of pocket expenses per patient. We included this cost into the analysis even when it is not reimbursed, because we wanted the cost to be as realistic as possible from a third party payer view. The pharmacoeconomic evaluation was observed only for the period of stay in hospital, up to the point of discharge of mother and newborn.

All costs are presented in euro (the average exchange rate in 2011 was 1 EUR=102.04 RSD).

Outcome

Successful delivery was considered as the outcome of the cost effectiveness analysis. The term successful delivery considered labor that began up to 42 gestation weeks, without maternal mortality and the Apgar scores of the newborn greater than or equal to 7 in the fifth minute of life [13, 14, 15]. In this way, under a single outcome, both maternal and neonatal outcome, were included.

Analysis

All calculations were performed using Microsoft Excel, EduStat 2.01 versions (2005, Alpha Omnia, Belgrade, Serbia). Relationship between the occurrence of complications and types of labor, were evaluated using the odds ratio (OR). OR is defined as the ratio between the probability of success relative to the probability of failure; in the case of this analysis failure is defined as the likelihood of complications depending on the delivery type.

For cost-effectiveness analysis the TreeAge module Healthcare version 1.5.2 software was used. Sensitivity analyses were conducted for factors that could possibly restrict the generalization of the study results [16]. To test the robustness we performed a probabilistic sensitivity analysis using the Monte Carlo simulation, simultaneously sampling parameter from an appropriate distribution. For probability we selected a Dirichlet/beta distribution, while for cost the gamma distribution was applied [17].

RESULTS

General demographic data of mothers and infants, regardless of the type of labor, are given in Table 1. The average age of mother was 30.5 years, and only 9.6% had preterm labor. More than half of all women (54.8%) were nullipara. No maternal death was recorded.

Of 667 deliveries, there were five prenatal or neonatal deaths. Of the remaining 662 newborns 50.6% were female. Most newborns were in vertex presentation (94.8%), while other presentations were less frequent (breech only 1.2%). Characteristics of mother and newborn by the type of labor are presented in Table 2. There was a statistically significant difference ($p<0.05$) among all variables depending on the type of labor except for the variable "parity".

From a total of 667 births, vaginal labor was conducted in 98 cases, induced vaginal 442, while the planned cesarean section was performed 127 times. In the cohort of vaginal delivery: rupture of the cervix (10.2%), rupture of the perineum (8.2%) and cesarean section (32.6%) were recorded as complication. In the cohort of induced vaginal labor the

Table 1. Demographic characteristics of mothers and newborns

Characteristics		Values		
		Mean $\pm$ SD	Minimum	Maximum
Mother/labor	Age (years)	30.55 $\pm$ 5.53	14	47
	Gestation (weeks)	38.73 $\pm$ 2.24	23	42
	Duration of labor (minutes)	245.39 $\pm$ 162.74	10	990
	Delivery of the placenta (minutes)	4.646 $\pm$ 3.436	0 (during)	25
Newborn	Weight (g)	3337.69 $\pm$ 569.20	750	5200
	Length (cm)	51.21 $\pm$ 2.95	33	59
	Head circumference (cm)	34.57 $\pm$ 1.76	25	54
	Apgar score at fifth minute	9.69 $\pm$ 0.82	2	10

Table 2. Characteristics of mothers, newborns and labor, depending on the type of labor

Variable		Type of labor			p value
		Vaginal (n=98)	Induced vaginal (n=442)	Cesarean section (n=127)	
Mother/labor	Age (years)	29.8 $\pm$ 5.7	29.8 $\pm$ 5.1	33.7 $\pm$ 5.4	<0.001*
	Parity (n)	1.8 $\pm$ 1.1	1.6 $\pm$ 0.9	1.6 $\pm$ 0.7	0.143, NS
	Gestation (weeks)	38.3 $\pm$ 2.7	39.1 $\pm$ 1.6	38.3 $\pm$ 2.2	<0.001*
	Duration of labor (minutes)	275.56 $\pm$ 166.86	304.26 $\pm$ 118.40	10.08 $\pm$ 0.50	<0.001*
	Delivery of the placenta (minutes)	4.28 $\pm$ 3.56	6.10 $\pm$ 2.61	0.04 $\pm$ 0.46	<0.001*
Newborn	Weight (g)	3170.4 $\pm$ 627.6	3417.6 $\pm$ 452.7	3299.7 $\pm$ 698.3	<0.001*
	Length (cm)	50.4 $\pm$ 3.4	51.6 $\pm$ 2.3	50.8 $\pm$ 3.8	0.003*
	Head circumference (cm)	34.0 $\pm$ 2.0	34.7 $\pm$ 1.6	34.7 $\pm$ 2.0	0.002*
	Apgar score at fifth minute	9.49 $\pm$ 1.18	9.84 $\pm$ 0.49	9.46 $\pm$ 0.93	<0.001*

Variables are presented as mean $\pm$ standard deviation and compared by ANOVA test.

* $p<0.05$; NS – not significant

Table 3. The costs and number of hospital days, depending of the type of labor

Variable		Type of labor			p value
		Vaginal	Induced vaginal	Cesarean section	
Mother	Cost (EUR)	336.66±296.63	342.57±115.82	546.06±166.63	<0.001*
	Hospital days (n)	5.49±3.27	4.64±3.02	7.67±4.40	<0.001*
Newborn	Cost (EUR)	146.73±141.18	116.62±116.99	156.92±198.57	0.007*
	Hospital days (n)	4.49±2.53	3.76±2.17	5.16±2.68	<0.001*

Variables are presented as mean ± standard deviation and compared by ANOVA test.

* p<0.05

n – number

Table 4. The total costs for the different type of labor and outcomes

Type of labor	Complications	Apgar score	Total costs in EUR (mean±SD)
Vaginal	Without	<7	673.51±218.26
		≥7	370.45±382.43
	With	<7	714.54±102.46
		≥7	552.77±275.26
	Prenatal or neonatal death		3181.04
Induced vaginal	Without	<7	850.31±255.12
		≥7	449.17±184.22
	With	<7	1409.14±484.08
		≥7	457.74±178.02
	Prenatal or neonatal death		279.63
Elective Cesarean section	Without	<7	1205.98±657.95
		≥7	656.90±207.34
	With	<7	–
		≥7	1617.40
	Prenatal or neonatal death		686.58±209.22

following complications were recorded: rupture of the cervix (28.5%), rupture of the perineum (9.3%), rupture of the cervix and perineum (0.7%) and cesarean section (2.7%). In the case of cesarean section hemorrhage as a complication was recorded only in one case (0.8%). In the case of the vaginal labor the probability for complication (emergency cesarean section, rupture of the perineum and/or cervix) was 49% higher compared to the induced vaginal labor (OR=1.488; 95% CI 0.959-2.308; p=0.048). However occurrence of emergency cesarean section as a complication was much higher in the vaginal labor cohort compared to the induced vaginal cohort (OR=17.374; 95% CI 8.522-35.418; p<0.001).

Costs

Table 3 shows the costs for the mother and child and the corresponding number of hospital days according to the type of labor. There was a statistically significant difference in these variables between the various types of labor. As

might be expected, planned cesarean section was the most costly type of labor for mother and newborn: 546 euro and 157 euro respectively. Interestingly, induced vaginal labor was the least costly procedure: 343 euro for mother and 117 euro for the newborn. The difference in costs is evident through the number of hospital days too. Women who had planned cesarean section remained in the hospital on average seven days, compared to women who had induced vaginal delivery with only four days.

The total costs for the different types of labor and outcomes are summarized in Table 4. There was a statistically significant difference in costs within each subtype of delivery (in subgroup of vaginal delivery: F=3.349; p=0.002; in subgroup of induced vaginal delivery: F=25.571; p<0.001 and in the subgroup cesarean section: F=15.708; p<0.001).

Cost-effectiveness

The results of cost-effectiveness analysis are presented in Table 5. The least costly type of labor was induced vaginal labor, 461 euro with an effectiveness of 98.17% (i.e. percent of labors marked as successful meaning no maternal death and Apgar score higher than 7). The cost of cesarean section was the highest with the least probability for preferred outcome (91.24%).

Sensitivity analysis indicated that results were robust. Cost-effectiveness acceptability curve that indicates the probability (% of iterations) in which each labor type is cost-effective at different willingness-to-pay threshold is represented in Graph 1. Induction of labor is cost-effective at a willingness to pay of 20,000 euro, which is usually observed as threshold for numerous European countries and also North America.

DISCUSSION

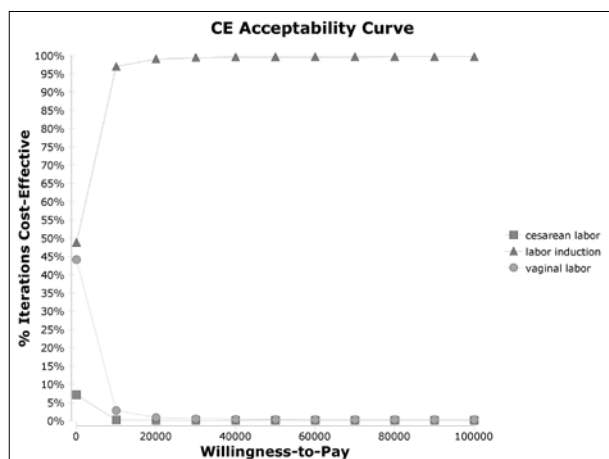
Results of our study suggests that induced labor was the least costly type of labor, and at the same time the most

Table 5. The cost-effectiveness results (base-case results)

Type of labor	Cost (EUR)	Δ Cost (EUR)	Effectiveness (% of successful delivery*)	Δ Effectiveness (% of successful delivery)	C/E (EUR/ successful delivery)	ICER (EUR/ successful delivery)
Induced vaginal	461.24		0.9817		469.86	
Vaginal	510.90	49.65	0.9184	- 0.0633	556.29	Dominated
Cesarean section	700.36	239.10	0.9124	- 0.0693	767.60	Dominated

* Successful delivery – labor that began up to 42 gestation weeks, without maternal mortality and Apgar scores of the newborn greater than or equal to 7 in the fifth minute of life.

Dominated – strategy that has higher cost and lower effectiveness than comparator.



Graph 1. Cost-effectiveness acceptability curve

efficient type of labor, with the cost-effectiveness ratio of just below 470 euro per one successful labor. The other two types of labor, vaginal and planned cesarean section, were less effective compared to induced labor, with higher cost. Such a discrepancy in the cost between vaginal and induced labor can be explained by the fact that the number of complications (especially emergency cesarean delivery) was significantly lower among induced women. Very similar results have been demonstrated in other studies [18, 19, 20]. Also, possible explanation could be lower gestation week in the cohort of vaginal labor (Table 2).

There was a statistically significant difference in the number of maternal and newborn hospital days between different types of labor (Table 3). On average women who were delivered by cesarean section left the hospital after eight days, compared to only five days for women who were delivered by induction. This can also explain the large difference in labor cost.

The cost-effectiveness analysis conducted by Kaimal et al. showed that the induction of labor has a positive effect on maternal and neonatal clinical outcomes. The authors showed that induction has a positive impact on the quality of life of women who were induced at 41 weeks compared to expectant management until 42 weeks. As the result, the induction of labor was a cost-effective strategy with an incremental cost-effectiveness ratio of US\$ 10945 per one quality adjusted life year [21]. Very similar results were presented in the previous study [18] where the induction of labor was cost-effective at US\$ 10789 per quality adjusted life year at 41 weeks of gestation or US\$ 9932 per quality adjusted life year at 40 weeks gestation.

Unlike these two studies, the results of another study dealing with the evaluation of economic and health outcomes of elective induction [22] showed that induction of labor leads to significantly higher costs and greater number of cesarean deliveries, which is highly dependent on the gestational age, parity and the Bishop score. In the nulliparous women, regardless of the Bishop score, induction incurs a significant marginal cost. However the difference in results between this study and our study may be explained by the different decision models used and different outcome value. We looked at the maternal or

neonatal death and the Apgar score, while Kaufman et al. [22] looked at cesarean delivery and fetal death. Finally, and perhaps most importantly, all probability for this study are real-life data (i.e. clinical practice from the University clinic), whereas in Kaufman's study, he and colleagues estimated probability from a number of different studies.

Partial economic evaluation of different methods of delivery in Canada showed that deliveries after the induction of labor had the highest cost compared to women with spontaneous onset of labor or cesarean delivery with no labor [9]. Our findings may be explained by the different population of pregnant women. Specifically, in the Canadian study, the average age of mothers was significantly lower than in Serbia (for spontaneous onset of labor 26.4 years compared to 29.8 years respectively; cesarean delivery without labor 28.5 years compared to 33.7 years, respectively). Also there was a difference in mean gestational age, as well as differences in the neonatal characteristics. At the same time, even the authors of the study indicated that the cost of cesarean delivery may be underestimated given that the fee for healthcare workers, (especially obstetrician-gynecologist) is exactly the same for all types of delivery.

For a long time in the scientific literature debate has existed regarding the benefits and risks of induced labor. In fact, earlier studies have shown that elective induction increases the risk of emergency cesarean section, especially in women who were nullipara [22-25]. On the other hand, Gülmezoglu et al. [26] prepared the review for the Cochrane database based on the evidence from 22 studies, in order to evaluate the benefits and harms of a labor induction at term or post-term compared to spontaneous labor or later induction of labor. In this review, authors concluded that policy of labor induction compared with expectant management was associated with fewer prenatal deaths and fewer cesarean sections. Our findings are in line with the results of Gülmezoglu's review. Both Gülmezoglu and this study showed that significantly fewer cesarean sections in labor were performed in case of induction compared with expectant management.

Inevitably, this study has several limitations. We looked only at short term outcomes for different types of labor. Several studies have demonstrated that cesarean delivery can affect long-term maternal reproductive health or even child future health [27-30]. Also, we did not express outcomes as quality adjusted life years because of the paucity of the published quality of life data on maternal preferences and complications. The published cost-effectiveness studies that used quality adjusted life years, generalized utilities from literature regarding the maternal preferences toward pregnancy loss [21]. Furthermore, our analysis and data came from the University hospital, so that results cannot be generalized to different clinical practice.

Our study provides more evidence about the different types of delivery not only from a medical but also from an economic point of view. We recognize that the medical point of view in terms of successful delivery is the leading one, but economic considerations are also important to discuss with families and physicians to aid informed decisions.

CONCLUSION

This study does not attempt to advocate such a high rate of induction in hospitals, although our study showed favorable results on avoidance of cesarean deliveries after the induction of labor. Elective induction of labor was associated with the lowest cost compared to other types of labor, with the decrease in the risk of cesarean delivery and the normal Apgar score for the newborn.

REFERENCES

1. Prysak M, Castronova F. Elective induction versus spontaneous labor: a case-control analysis of safety and efficacy. *Obstet Gynecol.* 1998; 92:47-52.
2. Villar J, Carroli G, Zavaleta N, Donner A, Wojdyla D, Faundeset A, et al. Maternal and neonatal individual risks and benefits associated with cesarean delivery: multicentre prospective study. *BMJ.* 2007; 335:1025.
3. Fleissig A. Are women given enough information by staff during labour and delivery? *Midwifery.* 1993; 9:70-5.
4. Lampe LG. Indications for induction of labour. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1996; 65:71-3.
5. McCourt C, Weaver J, Statham H, Beake S, Gamble J, Creedy DK. Elective cesarean section and decision making: A critical review of the literature. *Birth.* 2007; 34:65-79.
6. Martin JA, Hamilton BE, Ventura SJ, Osterman MJ, Wilson EC, Mathews TJ. Births: Final Data for 2010. National Vital Statistics Reports. Vol 61, No 1. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics; 2012.
7. Petrou S, Henderson J, Glazener C. Economic aspects of cesarean section and alternative modes of delivery. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2001; 15:145-63.
8. Henderson J, McCandlish R, Kumiega L, Petrou S. Systematic review of economic aspects of alternative modes of delivery. *BJOG.* 2001; 108:149-57.
9. Allen VM, O'Connell CM, Farrell SA, Baskett TF. Economic implications of method of delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 193:192-7.
10. Knezevic T, editor. Health Statistical Yearbook of Republic of Serbia 2010. Belgrade: Institute for Public Health "Dr Milan Jovanović Batut"; 2011.
11. Luke B, Brown MB, Alexandre PK, Kinoshita T, O'Sullivan MJ, Martin D, et al. The cost of twin pregnancy: Maternal and neonatal factors. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 192:909-15.
12. Barrett JFR. Delivery of the term twin. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2004; 18:625-30.
13. Finster M, Wood M. The Apgar score has survived the test of time. *Anesthesiology.* 2005; 102:855-7.
14. ACOG. The Apgar Score. ACOG Committee Opinion No. 333. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol.* 2006; 107:1209-12.
15. Durutović-Gligorić S. Newborn. In: Plečaš D, Stanimirović B, Stanković A, Vasiljević M, editors. *Gynecology and Obstetrics.* Belgrade: School of Medicine; 2011. p.228-33.
16. Skrepnek GH. Cost-effectiveness analysis. In: Bootman LJ, Townsend RJ, McGhan WF, editors. *Principles of Pharmacoeconomics.* 3rd ed. Cincinnati: Harvey Whitney Books; 2005. p.83-116.
17. Briggs A, Claxton K, Sculpher M. Decision modelling for economic evaluation. New York: Oxford University Press; 2006.
18. Caughey AB, Sundaram V, Kaimal AJ, Cheng YW, Gienger A, Little SE, et al. Maternal and Neonatal Outcomes of Elective Induction of Labor. Rockville: Agency for Healthcare Research and Quality; 2009.
19. Caughey AB, Sundaram V, Kaimal AJ, Gienger A, Cheng YW, McDonald KM, et al. Systematic review: elective induction of labor versus expectant management of pregnancy. *Ann Intern Med.* 2009; 151:252-63.
20. Gulmezoglu AM, Crowther CA, Middleton P. Induction of labour for improving birth outcomes for women at or beyond term. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006; (4):CD004945.
21. Kaimal AJ, Little SE, Odibo AO, Stamilio DM, Grobman WA, Long EF, et al. Cost-effectiveness of elective induction of labor at 41 weeks in nulliparous women. *Am J Obstet Gynecol.* 2011; 204:137.e1-9.
22. Kaufman KE, Bailit JL, Grobman W. Elective induction: an analysis of economic and health consequences. *Am J Obstet Gynecol.* 2002; 187:858-63.
23. Maslow A, Sweeny A. Elective induction of labor as a risk factor for cesarean delivery among low-risk women at term. *Obstet Gynecol.* 2000; 95:917-22.
24. Seyb S, Berka R, Socol M, Dooley S. Risk of cesarean delivery with elective induction of labor at term in nulliparous women. *Obstet Gynecol.* 1999; 94:600-7.
25. Yeast JD, Jones A, Poskin M. Induction of labor and the relationship to cesarean delivery: A review of 7001 consecutive inductions. *Am J Obstet Gynecol.* 1999; 180(3 Pt 1):628-33.
26. Gülmezoglu AM, Crowther CA, Middleton P, Heatley E. Induction of labour for improving birth outcomes for women at or beyond term. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012; (6):CD004945.
27. Poets CF, Abele H. Birth by cesarean section or vaginal birth. Which is safest for the child? *Monschr Kinderheilkd.* 2012; 160:1196-203.
28. Eshkoli T, Weintraub AY, Sergienko R, Sheiner E. Placenta accreta: risk factors, perinatal outcomes, and consequences for subsequent births. *Am J Obstet Gynecol.* 2013; 208:219.e1-7.
29. O'Neill SM, Kearney PM, Kenny LC, Khashan AS, Henriksen TB, Lutonski JE, et al. Cesarean delivery and subsequent stillbirth or miscarriage: systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2013; 8:e54588.
30. Fitzpatrick KE, Sellers S, Spark P, Kurinczuk JJ, Brocklehurst P, Knight M. Incidence and risk factors for placenta accreta/increta/percreta in the UK: a national case-control study. *PLoS One.* 2012; 7:e52893.

ACKNOWLEDGMENT

The work was supported by the Ministry of Science and Environmental Protection of the Republic of Serbia (project No. 175035). The funding agreement ensured the author independence in designing the study, interpreting the data, writing, and publishing the report. The authors are grateful to Ms. Maya Saric, for English language editing of the entire manuscript.

Анализа трошковне исплативости различитих врста порођаја код једноплодних трудноћа – подаци из праксе

Драгана Лакић¹, Бранко Петровић², Гуенка Петрова³

¹Катедра за социјалну фармацију и фармацеутско законодавство, Фармацеутски факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

²Гинеколошко-акушерска клиника „Народни фронт“, Београд, Србија;

³Катедра за социјалну фармацију, Фармацеутски факултет, Медицински универзитет, Софија, Бугарска

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Начин порођаја се током година мењао, а значајна разлика постоји у погледу клиничког центра у којем се порођај обавља.

Циљ рада Циљ рада је био да се процене трошкови, клинички исходи и трошкова исплативост различитих врста порођаја код једноплодних трудноћа.

Методе рада За потребе рада конструисано је „дрво“ одлучивања, ради поређења спонтаног вагиналног, индукованог вагиналног порођаја и планираног царског реза. Из књиге порођаја ГАК „Народни фронт“ узети су подаци о свим порођајима обављеним у једномесечном периоду 2011. године. Као исход анализе трошковне исплативости посматран је успешан порођај, дефинисан као порођај који је почео до навршене 42. недеље гестације, без смртност мајке и са Апгар скором новорођенчета већим или једнаким 7 у петом

минуто по рођењу. Применом пробабилистичке анализе осетљивости испитана је поузданост резултата.

Резултати Од укупно 667 порођаја, вагинални порођај је урађен у 98 случајева, индуковани у 442 случаја, а планирани царски рез 127 пута. Хитни царски рез, као компликација, био је знатно чешћи код жена са спонтаним вагиналним порођајем него код жена које су порођене применом индукције ($OR=17,374$; $95\%CI: 8,522-35,418$; $p<0,001$). Индуковани вагинални порођај је имао најмање трошкове (461 евро), с ефикасношћу од 98,17%. Спонтани вагинални и планирани царски рез су биле скупље стратегије с мањом ефикасношћу (доминиране стратегије). Резултати су били поуздани.

Закључак Елективан индуковани порођај је имао најниже трошкове у односу на друге врсте порођаја, са жељеним исходима по мајку и дете.

Кључне речи: трошкова исплативост; индукција; порођај

Примљен • Received: 27/01/2014

Прихваћен • Accepted: 28/04/2014

Adequate Weight Gain in Pregnancy: An Analysis of Its Determinants in a Cross-Sectional Study

Alina Delia Popa¹, Raluca Maria Popescu², Gina Eosefina Botnariu²

¹Nursing Department, University of Medicine and Pharmacy „Gr. T. Popa”, Iași, România;

²Diabetes, Nutrition and Metabolic Disease Department, University of Medicine and Pharmacy „Gr. T. Popa”, Iași, România

SUMMARY

Introduction Prenatal care is considered an important tool for promoting a healthy lifestyle, but has not been studied as a predictor for maternal weight gain during pregnancy, especially in Romania, where evidence about pregnancy and nutrition is scarce.

Objective This study has aimed to explore the relationship between pre-gestational body mass index (BMI), adequacy of prenatal care and weight gain during pregnancy.

Methods We carried a cross-sectional study on a sample of 400 pregnant women admitted at the “Cuza Voda” Obstetrics and Gynecology Hospital in Iași. Information regarding demographic characteristics, number of prenatal visits, date of the initial hospital record, nutritional education during pregnancy were registered throughout a questionnaire filled out by means of a direct interview. The anthropometric indicators analyzed were the pre-gestational BMI and the pregnancy weight gain. Data on caloric intake were obtained using a food frequency questionnaire.

Results Weight gain within the limits of the Institute of Medicine recommendations was noticed at 44.35% of the women who declared that they received nutritional advice compared to 40.7% of those who did not receive advice regarding diet during pregnancy. Overweight (53.1%) and obese women (66.7%) had a larger weight gain than those with a normal pre-pregnancy BMI (29.8%) ($p < 0.001$). The variables that were identified with an effect on weight gain in this sample of pregnant women were: inadequate prenatal care, pre-gestational BMI and energy intake.

Conclusion Identifying the pre-gestational BMI and diet changes as predictors of weight gain underline the importance of an individualized prenatal care.

Keywords: pregestational BMI; pregnancy weight gain; prenatal care; nutritional education

INTRODUCTION

Epidemiological studies have shown existing links between the birth weight and illnesses which begin several decades after birth. Barker proved that a delay in intrauterine growth causes a fetal programming which increases the risks of cardiovascular events and other degenerative diseases [1]. Intrauterine programming is commonly defined by an alteration of the genes expression, different levels of activity of enzymatic systems, a variation of the cellular divisions leading to a decreased number of cells in certain organs and an adjustment of the concentration or sensibility of the hormones [2].

The effects of maternal over-eating on intrauterine programming of later life disorders arises great interest, mostly due to the increasing number of fertile women who are obese or have diabetes. Overweight and maternal hypertriglyceridemia have been associated with an increase in birth weight, adiposity, inflammatory cytokines and leptin hormones in children. All these lead to insulin-resistance and a higher risk for diabetes and obesity. Various studies on animals fed with diets rich in carbohydrates or saturated lipids during pregnancy have given emphasis to the centrally predominant growth of the adipose tissue proportion, as well as the change that can be observed in the expression

of hepatic genes and those involved in the cellular development and in that of the insulin and leptin secretion in descendents [3].

Subsequently to the report published by the Institute of Medicine (IOM, Washington) in 1990 on recommendations for weight gain during pregnancy, numerous studies have similarly pointed out the effects of weight gain on the mother's and child's wellbeing. Overweight has been linked with an increase in the risk of pre-eclampsia, gestational diabetes and cesarean section [4, 5] as well as the failure to initiate and sustain breastfeeding [6, 7]. Overweight and pregestational maternal obesity have been associated with a larger mass of adipose tissue in newborns and children [8].

A series of authors have criticized the monitoring of weight gain during pregnancy using such arguments as the insufficient lack of evidence to attest the benefit of so doing on a routine basis. There are studies who conclude that weight gain as a unique indicator is not sufficiently sensible or specific in order to accurately evaluate the pregnancy outcome. Given the inconsistency of weight gain amongst women with low risk pregnancies and that of the multifactor origin as observed in perinatal conditions, using weight gain as a singular screening method is not recommended. As revealed by plenty of studies, any growth outside of body

Correspondence to:

Alina Delia POPA
Nursing Department
University of Medicine and
Pharmacy „Gr. T. Popa”
Universitatii 1
Iași
România
roxyal04@gmail.com

mass index (BMI) recommendations can be related to a higher risk of complications than generally anticipated under the recommended limits [9].

A series of nutritional deficiencies have been observed in pregnant women and children in Romania. These findings have actually founded the basis of developing significant interventions in the National Health Program for Women and Children [10].

OBJECTIVE

The main objective of the study was to assess the maternal anthropometrical indicators and the effects of prenatal care and nutritional education on weight gain during pregnancy.

METHODS

In September 2010, we carried out an observational study on 400 pregnant women hospitalized at the “Cuza Voda” Obstetrics and Gynecology Hospital in Iasi. The exclusion criteria were twin pregnancies, the patients’ denial to participate, and obstetrical pathology. The information obtained from mothers was directly registered in a well-structured questionnaire filled in as a part of direct interview. The questions here comprised referred to the following aspects: demographic data, previous pregnancy experiences, using prenatal care, aspects regarding nutritional education during actual pregnancy, and aspects regarding changes in diet during pregnancy.

The evaluated anthropometrical maternal parameters were pregestational BMI (established from the information written down by the family doctor in the patient’s file or by using self estimations where these data were not available); height and weight at the end of the pregnancy, determined before birth; weight gain during pregnancy (the difference between the weight at the first doctor’s visit and that as measured before giving birth).

In order to evaluate the nutritional state before pregnancy we used the WHO standards. The women in the group were divided according to the BMI in under-weight ($\text{BMI} < 18.5 \text{ kg/m}^2$), normal weight ($\text{BMI} 18.5\text{--}24.9 \text{ kg/m}^2$), overweight ($\text{BMI} 25\text{--}29.9 \text{ kg/m}^2$) and obese ($\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$). In view of weight gain evaluation by standards of pregestational BMI, we used 2009 recommendations given by the Institute of Medicine [11].

The adequacy of prenatal care has been evaluated by determining the Adequacy of Prenatal Care Utilization Index (APCNU) which regards the starting moment of prenatal care and the number of prenatal visits. The index is based on ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists) recommendations for high risk pregnancies and it consists of 4 categories. The one for inadequate prenatal care includes women registered with prenatal medical visits only after their 4th month of pregnancy or those with less than 50% of the recommended number of visits. Women prenatally consulted after the 4th month with 50-

79% of the recommended number of visits are a part of the intermediate category. Those who begin their prenatal care within the first 4 months and participate 80-109% of the recommended number of visits stand for the adequate category while those with more than 110% of visits are the part of the adequate plus number of checks [12].

Data on energy intake during pregnancy were obtained using a previously validated food frequency questionnaire (FFQ) on a sample of young women [13]. The FFQ was completed by interview during 48 to 72 hours after delivery, because in our country almost all women were hospitalized for at least 3 days post-partum.

Sample size calculation was done using a single proportion formula [14]. We examined whether our participants differed from the regional population on the basis of age, area of residence and marital status by comparing them with census data using the Student t test.

Continuous data was expressed as an average, medium, minimum, maximum and standard deviation. The Shapiro-Wilk test was used to evaluate the normal distribution of the analyzed data. The chi-square test was used to determine significant differences between various categories formed out of the frequency data. The variance analysis (ANOVA) with independent/ uncorrelated scores was applied so as to compare means and the Levene test was used to verify the homogeneity of variance. We subsequently made use of the Bonferroni test in order to compare the categories of variables. When intending to identify the kind of variables with a predictor role associated to weight gain during pregnancy, we performed the multinomial logistic regression, the forward stepwise method. We determined the value Sig. Goodness-of-Fit ($p > 0.05$) so as to check whether the model was adequate in terms of data. For the statistical processing of the data, we applied the SPSS programme (Statistical Package for Social Sciences) version 13.0 for Windows (Chicago, IL, USA).

The study was approved by the management department of the “Cuza Voda” Hospital of Obstetrics and Gynecology Iasi and the Ethics Commission of „Gr. T. Popa” Medicine and Pharmacy University. The study was conducted under informed consent of the mothers here involved. We paid full respect to the confidentiality and intimacy terms when maneuvering the data and records keeping of the participating subjects in the study.

RESULTS

Description of the analyzed sample

In the studied sample, the proportion of women from the rural environment was of 45.8%, and that from the urban environment was 54.3%. The average age of pregnant women in this lot was 27.53 years old. Most of them were between 19 and 30 (63.8%). The categories we established in terms of education levels were as follows: below 5 grades (4% of participants), between 5-8 grades (21.5%), between 9-12 (40%) and above 12 grades of school (34%). Women at their first birth predominated (49.5%), while women

expecting their second child made up 32.3% of the group. Women with more than 3 pregnancies made up 18.2% of the group.

Most women (96%) benefitted from primary health-care, while 81.4% visited their general practitioner in their first trimester. The average number of check-ups was 9.58 (ESM=0.24, SD=4.88). Out of this lot, 18% underused prenatal care (under 4 visits), 28.5% had between 5-9 check-ups, while 53.5% had more than 10 visits of the general practitioner and a specialist. We established the APNCUI index (adequacy of prenatal care utilization) which showed that 23% of the women had inadequate prenatal care; 8.3% a medium level of care, 15.3% were adequate, while 53.5% had an adequate plus level of care.

In the studied sample, 42.3% of the women declared that they received advice regarding diet during pregnancy. Amongst the women who declared having received dietary advice the predominant proportion inclined to the favor of the women with an adequate plus by the APNCUI index (70.4%). Those with just adequate care made up 10.1% of the women who received nutritional advice. Women with an inadequate and intermediate index made up 10.7% and 8.9%, respectively of the women who were counseled in terms of their diet ($\chi^2=40.36$; $p<0.001$).

In the studied lot 39.5% of the pregnant women declared to ate more than it is commonly the rule, 11.3% said they ate less, while 49.2% did not make any diet changes throughout the pregnancy.

Weight before pregnancy, the pregestational BMI and pregnancy weight gain were determined for 95.5% of the subjects from within the group (382 pregnant women). The average pregestational BMI was 22.31 kg/m² (95%CI: 21.92-22.68 kg/m²). Underweight women made up 11.8%, normal weight women were 66.6%, those overweight were 17% of the group while the obese made up 4.6% of the total.

Average weight gain in this lot was around 14.24 kg (95%CI: 13.79-14.86 kg). It was noticed that 22.7% of the participants had a slower weight gain than usually recommended, while 35% had a larger weight gain than advised for that particular BMI category. The adequate weight gain process was observed in 42.3% of the participants.

Analysis of the determinants of weight gain

We analyzed the weight gain of women in the studied sample according to the 2009 recommendations from the Institute of Medicine for each BMI category [11]. The weight gain of women with a pregestational BMI<18.5 kg/m² was around 15.28±4.94 kg. The weight gain of normal weight women was of 14.34±4.77 kg, while that of overweight women was 13.41±5.61 kg, and for the obese the gain was about 13.11±7.52 kg.

In the group of women with a pregestational BMI<18.5 kg/m², 26.7% had a weight gain below the recommended one, 22.2% above the recommended one and 51.1% were in the recommended limits of the IOM.

In the group of normal weight women 27.5% had a weight gain below the recommended one, 29.8% above

the recommended one and 42.7% within the limits of relevant recommendations. As far as overweight women are concerned, 6.3% had a weight gain lower than the recommended one, 53.1% a larger gain than so recommended while 40.6% had an optimal weight gain. In the group of obese women, with a BMI≥30 kg/m², 16.7% had a sub-optimal increase, 16.7% an optimal weight increase and 66.7% a weight gain higher than that recommended during pregnancy (Table 1).

We noticed a larger proportion of women with a weight gain higher than IOM recommendations amongst obese and overweight women than among normal weight and underweight ones. A weight gain lower than recommended was more frequently noticed among underweight and normal weight women. The categories of women with a weight gain within the recommended limits of IOM were the normal weight and underweight ones ($\chi^2=29.52$; $p<0.001$) (Table 1).

A weight gain higher than recommended was registered in 37.1% of the women who received dietary advice compared to 33.5% of those who did not receive such advice. Weight gains within the recommended limits were most often seen among women who received nutritional advice during pregnancy (44.3% compared to 40.9%) but this association was not statistically revealing ($\chi^2=2.66$; $p=0.264$). Adequate prenatal care was linked to weight gain. As a part of the group with an inadequate index, the women with a lower weight gain than recommended were the ones who prevailed. An intermediate and adequate prenatal care was more frequently associated with a weight gain within the recommended limits by the IOM (50% and 40% respectively). Women with an adequate plus APNCUI had adequate weight gain (40%) or an excessive one (40.8%) ($\chi^2=29.85$; $p<0.001$) (Table 1).

Energy mean intake was 2197.65 Kcal (95%CI: 2139.56-2255.74 Kcal); 25% of women reported a calorie intake less than 1741.13 Kcal daily, while 25% of them exceeded 2587.84 Kcal/daily. Average protein intake 86.01 g/day (95%CI: 83.64-88.39), lipid intake 76.97 g/day (95%CI: 74.59-79.35) and carbohydrates intake 297.12 g/day (95%CI: 287.86-306.36) were estimated. Women with weight gain lower than the IOM recommendations had a smaller intake of energy (2126.38 Kcal vs. 2359.95 Kcal, $p=0.005$); proteins (80.86 vs. 93.58 g, $p<0.001$); carbohydrates (286.45 g vs. 320.86 g, $p=0.009$) as compared with those with excessive weight gain.

In general, intakes of energy and nutrients were slightly higher in women with a higher as compared with those with adequate weight gain during pregnancy (Table 2).

We noticed that women with a caloric intake on the upper quartiles had more frequently a higher weight gain than the recommendations of IOM ($\chi^2=16.13$; $p=0.003$) (Table 2).

Predictors of weight gain

The multinominal logistic regression was calculated in order to establish which of the following factors can

Table 1. Analyses of weight gain determinants during pregnancy according to the Institute of Medicine recommendations

Determinants		Pregnancy weight gain			p
		Reduced (%)	Adequate (%)	Excessive (%)	
APNCUI	Inadequate	42.9	35.1	22.1	0.000
	Intermediary	28.1	50.0	21.9	
	Adequate	21.7	40.0	38.3	
	Adequate +	14.6	44.6	40.8	
Background	Urban	17.1	41.7	41.2	0.003
	Rural	29.5	43.4	27.1	
Age (years)	≤18	20	70	10	0.022
	>18	22.7	40.9	36.5	
Studies (grades)	<5	40.0	40.0	20.0	0.192
	5–8	30.0	42.5	27.5	
	8–12	22.9	41.4	35.7	
	>12	41.9	40.1	41.8	
Number of births	≤2	20.0	44.1	35.9	0.027
	≥3	35.5	33.9	30.6	
Wanted pregnancy	Yes	21.6	42.8	35.6	0.302
	No	33.3	36.4	30.3	
Marital status	Married	21.7	41.1	37.3	0.157
	Not married	26.5	48.5	25.0	
Pregestational BMI (kg/m ²)	<18.5	26.7	51.1	22.2	0.000
	18.5–24.9	27.5	42.7	29.8	
	25–29.9	6.3	40.6	53.1	
	≥30	16.7	16.7	66.7	
Nutritional advice	Yes	18.6	44.3	37.1	0.264
	No	25.6	40.9	33.5	
Dietary changes	Eat less	44.2	48.8	7	0.000
	Eat more	15.9	35.8	48.3	
	No changes	22.5	46.3	30.9	
Caloric intake (Kcal)	<1741.13	29.8	45.7	24.5	0.003
	1741.13–2587.84	19.2	47.2	33.7	
	>2587.84	22.5	42.4	35.1	

APNCUI – Adequacy of Prenatal Care Utilization Index; BMI – body mass index

determine three different categories of weight gain during pregnancy (1 – small, 2 – recommended, 3 – large): the APNCUI index, age, background, number of births, pregestational BMI and caloric intake throughout the pregnancy. The predictor variables with substantial contributions to the regression model as selected through the forward stepwise method were: APNCUI index, age, pregestational BMI, energy intake (likelihood ratio Chi-Square test $p < 0.001$)

Table 3 shows the adjusted odds ratios (95% confidence intervals – CIs) for the associations between these characteristics and the category of weight gain according to the IOM recommendations. To interpret the results, the odds ratios for the ‘lower than recommended’, and ‘higher than recommended’ classes should be compared against the ‘adequate weight gain’ category.

Women in the “lower weight gain than recommended” category had higher odds of inadequate prenatal care (compared adequate + APNCUI index) and smaller odds of being adolescent or overweight (compared with the women with prenatal normal weight).

Women in the ‘higher weight gain than recommended’ category had higher odds of pregestational obesity (compared with those with normal pregestational BMI) and of an energy intake on the upper quartile (compared with the

women with caloric intake in the second and third quartiles), while adolescents had smaller odds of an excessive weight gain during pregnancy (Table 3).

DISCUSSION

The “Weight Gain during Pregnancy: Reexamining the Guidelines” [11] report underlined the fact that there are multiple determinants of weight gain during pregnancy. Environmental factors such as social factors (living standards, cultural factors, mass media, access to the means of physical exercise) were mentioned along with community factors (public health programs, prenatal care) and family determinants (family violence, marital status, family support). There are also maternal factors: demographical ones (age and parity), genetic, physiological and anthropometrical ones (pregestational BMI, metabolic and hormonal changes), psychological and behavioral factor (food consumption, physical exercise). The analysis of the determinants of weight gain is complex enough and it must integrate their intervention in a holistic model [15]. In our sample, a number of 42.3% of participants had an adequate weight gain.

An inadequate weight gain was associated with inadequate prenatal care, diet changes and prenatal BMI. In-

Table 2. Dietary intake and weight gain according to the Institute of Medicine recommendations

Variable	Weight gain category						p
	Reduced (N=87)		Adequate (N=161)		Excessive (N=134)		
	Mean	σ	Mean	σ	Mean	σ	
Caloric (Kcal)	2126.38↓	571.26	2106.15↓	507.53	2359.95	625.9	0.005; 0.0002
Proteins (g)	80.86↓	23.14	82.65↓	20.69	93.58	23.99	0.0001; <0.00001
Lipids (g)	76.0↓	20.71	72.80↓	21.07	82.58	26.90	0.0006
Carbohydrates (g)	286.45↓	95.07	283.83↓	84.20	320.86	96.69	0.009; 0.0005
Proteins (%)	15.30↓	2.17	15.87	2.74	16.04	2.36	0.019
Lipids (%)	32.75	5.94	31.22	6.16	31.51	5.69	NS
Carbohydrates (%)	53.40	6.85	53.62	6.74	54.18	6.90	NS

N – number of patients (N=382); NS – not significant

Table 3. Predictors of weight gain

Weight gain category ^a (IOM recommendations)			B	p	OR	95% CI for OR	
						Lower bound	Upper bound
Lower than recommended	Intercept		0.079	0.933			
	Area of residence	Urban	-0.347	0.256	0.707	0.389	1.286
		Rural	0 ^b				
	Age (years)	<18	-1.35	0.031	0.258	0.075	0.886
		≥18	0 ^b				
	APCNUI	Inadequate	1.481	0.000	4.398	2.099	9.217
		Intermediary	0.441	0.371	1.554	0.592	4.079
		Adequate	0.614	0.144	1.848	0.811	4.213
		Adequate +	0 ^b				
	Caloric intake (kcal)	<1741.13	0.341	0.312	1.406	0.726	2.722
		>2119.13	0.600	0.102	1.822	0.887	3.741
		1741.13–2119.13	0 ^b				
	BMI (kg/m ²)	<18.5	-0.131	0.750	0.877	0.392	1.962
		25–29.9	-1.40	0.009	0.246	0.086	0.705
		>30	1.072	0.235	2.921	0.497	17.173
		18.5–24.9	0 ^b				
Higher than recommended	Intercept		1.377	0.093			
	Area of residence	Urban	0.524	0.056	1.689	0.987	2.893
		Rural	0 ^b				
	Age (years)	<18	-1.58	0.049	0.206	0.043	0.993
		≥18	0 ^b				
	APCNUI	Inadequate	0.039	0.919	1.040	0.486	2.224
		Intermediary	-0.608	0.236	0.545	0.199	1.489
		Adequate	0.067	0.852	1.069	0.529	2.163
		Adequate +	0 ^b				
	Caloric intake (kcal)	<1741.13	-0.417	0.190	0.659	0.353	1.230
		>2119.13	0.712	0.019	2.038	1.122	3.703
		1741.13–2119.13	0 ^b				
	BMI (kg/m ²)	<18.5	-0.287	0.489	0.750	0.332	1.694
		25–29.9	0.496	0.121	1.642	0.877	3.074
		>30	2.031	0.011	7.621	1.590	36.536
		18.5–24.9	0 ^b				

^a The reference category is recommended.^b This parameter is set to zero because it is redundant.

IOM – Institute of Medicine; OR – odds ratio; CI – confidence interval

adequate prenatal care was an important predictor of a smaller weight gain than recommended. This observation could be a consequence of social inequity or particular health beliefs.

A review underlined the fact that belonging to certain ethnic groups, education levels and a low pre-gestational

BMI, as well as the lack of nutritional advice, can constitute predictive factors of a lower weight gain than recommended while overweight, multiparity and young age can be indicative of a higher weight gain than recommended by the IOM [16]. In our study, women who benefitted from a larger number of prenatal checkups had an optimal

weight gain more often. However, we noticed the lack of major associations between nutritional advice and weight gain. Weight gain within recommended limits was most frequent among women who received nutritional advice during pregnancy but this association is not statistically significant.

The impact of recommendations regarding weight gain were emphasized in numerous studies, highlighting the fact that messages transmitted during prenatal consultations can influence the women's perceptions regarding the optimal weight gain [17]. The characteristics of intervention methods, the content and frequency of educational measures as well as the socio-economic particularities of the pregnant women groups led to discordant results in interventional studies [9]. The effect of recommendations regarding adequate weight gain is also influenced by the attitude of the people receiving prenatal education. An evaluation of the participants in the the Special Supplemental Nutrition Program for Women, Infants, and Children (WIC program) emphasized the importance of prenatal care in preventing a low weight gain at the beginning of the pregnancy and a high weight increase throughout the entire pregnancy [18].

In order to optimize pregnancy weight gain the best strategy is preventative, encouraging women to reach and maintain an optimal weight from the preconceptional stage [19, 20]. In the analyzed lot, overweight and obese women had a smaller weight gain than other women, but this was higher than recommended. We also noticed that the frequency of a higher than recommended weight increase was greater amongst obese and overweight women than normal weight and underweight ones. However, a weight gain smaller than recommended was observed more repeatedly among underweight and normal weight women. The groups of women with a weight gain within the recommended limits were that of normal and underweight women.

Pregestational BMI is reversely correlated to weight gain. Chu et al. [21] have emphasized that pregestational obesity is the strongest factor which affects weight gain during pregnancy and that obese women report the smallest weight gain, similar to the results of our study.

Studies performed in the USA pointed towards a percentage of 30-50% of pregnant women with a weight increase outside the limits recommended by the IOM [16]. Data from the WISH project (Women and Infants Starting Healthy) showed that 24.1% of overweight and obese women had a weight gain larger than recommended while 51.2% of underweight women had a lower gain than recommended [11].

In this sample, teenagers had a lower risk of inadequate weight gain, with 70% of them presenting a weight gain within the limits recommended by the IOM. This conclusion is quite surprising if taking into consideration the fact that this age category is considered to be at a high nutritional risk and it requires high nutritional guidance [22]. This finding is important taking into account the consequences of inadequate weight gain for adolescents. A greater weight gain than recommended was associated with an increase

in the frequency of macrosomic infant girls [23] and has been linked to overweight and obesity [24].

In our sample, there was a significantly higher intake of macronutrients among women with excessive weight gain. These women had a significantly higher average intakes of protein (%), lipids and carbohydrates.

In the meta-analysis conducted by Kramer, there were not significant differences in macronutrient intake between the groups of weight gain in early pregnancy, while in the late pregnancy there were significant differences between categories and particularly in the case of overweight women. The total amount of protein, fat and carbohydrates contributed to weight gain. Energy intake from macronutrients was associated with weight gain only among overweight women [25]. In another study, weight gain at the end of the second trimester of pregnancy was associated with a higher proportion of protein and animal fat intake and with low intakes of carbohydrates [26].

The limitations of the study

As far as the pregestational weight is concerned, we used the value declared by the women in the study. In order to appreciate this parameter, it is recommended to use the weight reported by them or that registered in the first two months of pregnancy [27]. In both situations, there are systematic errors. This constitutes a source of error in the case of overweight women who tend to declare a smaller weight than the real one. As a consequence, if declaring their weight to be normal, the results of the study can underestimate the relationship between pregestational BMI and weight gain during pregnancy [28]. Regardless of this, there are studies which show that the value declared by the mother is correlated to the real weight [29]. A study done by Oken et al. [30] demonstrated a 0.99 correlation coefficient between the self-reported weight and the registered one.

The participants in the current study proved to be highly indicative of the pregnant women category here, in this specific region of Romania. Thus, we must therefore be cautious about the conclusions we draw as a consequence of the subgroup analysis and test the hypotheses that arise from these findings in future studies.

CONCLUSION

Pregestational BMI has a major role in the weight gain during pregnancy. By applying the multinomial logistic regression, we were able to thus identify predictors of weight gain, as follows: inadequate prenatal care, pregestational BMI, changes in diet. Overweight and obese women as well as underweight ones must be more carefully examined throughout their pregnancy. Any dietary changes ought to be closely monitored as a part of the prenatal consultations in order to ensure that an adequate weight gain is maintained within the limits of the recommended guidelines.

REFERENCES

- Gillman MW. Developmental origins of health and disease. *N Engl J Med*. 2005; 353(17):1848-50.
- Gibney M. *Public Health Nutrition*. Oxford: Blackwell Science; 2004.
- Innis SM. Metabolic programming of long-term outcomes due to fatty acid nutrition in early life. *Matern Child Nutr*. 2011; 7(Suppl 2):112-23.
- Abenham H, Kinch R, Morin L, Benjamin A, Usher R. Effect of prepregnancy body mass index categories on obstetrical and neonatal outcomes. *Arch Gynecol Obstetr*. 2007; 275(1):39-43.
- Doherty DA, Magann EF, Francis J, Morrison JC, Newnham JP. Pre-pregnancy body mass index and pregnancy outcomes. *Int J Gynecol Obstetr*. 2006; 95(3):242-7.
- Kugyelka JG, Rasmussen KM, Frongillo EA. Maternal obesity is negatively associated with breastfeeding success among Hispanic but not Black women. *J Nutr*. 2004; 134(7):1746-53.
- Landrigan PJ, Forman J, Galvez M, Newman B, Engel SM, Chemtob C. Impact of September 11 World Trade Center disaster on children and pregnant women. *Mount Sinai J Med*. 2008; 75(2):129-34.
- Oken E, Taveras EM, Kleinman KP, Rich-Edwards JW, Gillman MW. Gestational weight gain and child adiposity at age 3 years. *Am J Obstet Gynecol*. 2007; 196(4):322.e1-8.
- Abrams B, Altman S, Picken K. Pregnancy weight gain: still controversial. *Am J Clin Nutr*. 2000; 71(5 Suppl):1233S-41S.
- Colecția "Ghiduri pentru medicii de familie". Îngrijiri prenatale de rutină în sarcina cu risc scăzut. Ghid de practică pentru medicii de familie. Bucharest: Infomedica; 2005.
- Rasmussen KM, Yaktine AL, editors. *Weight Gain During Pregnancy: Reexamining the Guidelines*. Washington DC: Institute of Medicine and National Research, The National Academy Press; 2009.
- Kotelchuck M. An evaluation of the Kessner adequacy of prenatal care index and a proposed adequacy of prenatal care utilization index. *Am J Public Health*. 1994; 84:1414-20.
- Popa AD, Niță O, Popescu RM, Graur M. Validity and reproducibility of a food frequency Questionnaire designed to characterize the diet of women of childbearing age. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases*. 2011; 18(3):217-5.
- Dean AG, Sullivan KM, Soe MM. *OpenEpi: Open Source Epidemiological Statistics for Public Health, Version 2.3.1*. Available from: <http://openepi.com/OE2.3/Menu/OpenEpiMenu.htm>.
- Altig L, Gabory A, Junien C. Modern approaches to nutritional research challenges. *Nutritional development epigenomics: immediate and long lasting effects*. *Proc Nutr Soc*. 2010; 69:221-31.
- Butte NF, Ellis KJ, Wong WW, Hopkinson JM, Smith EO. Composition of gestational weight gain impacts maternal fat retention and infant birth weight. *Am J Obstet Gynecol*. 2003; 189(5):1423-32.
- Galtier- Doreure F, Boegner C, Bringer J. Obesity and pregnancy: complications and cost. *Am J Clin Nutr*. 2000; 71(5 Suppl):1242S-8S.
- Viswanathan M, Siega-Riz AM, Moos MK, Deierlein A, Mumford S, Knaack J, et al. Outcomes of maternal weight gain. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)*. 2008; 168:1-223.
- Brawarsky P, Stotland NE, Jackson RA, Fuentes-Afflick E, Escobar GJ, Rubashkin N, et al. Pre-pregnancy and pregnancy-related factors and the risk of excessive or inadequate gestational weight gain. *Int J Gynaecol Obstetr*. 2005; 91(2):125-31.
- Hanson MA, Gluckman PD. Developmental origins of health and disease: new insights. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2008; 102(3):90-3.
- Chu SY, Callaghan WM, Bish CL, D'Angelo D. Gestational weight gain by body mass index among US women delivering live births, 2004-2005: fueling future obesity. *Am J Obstetr Gynecol*. 2009; 200(3):271-7.
- Scholl TO, Hediger ML. A review of the epidemiology of nutrition and adolescent pregnancy: maternal growth during pregnancy and its effect on the fetus. *J Amer Coll Nutr*. 1993; 12(2):101-7.
- Nielsen JN, O'Brien KO, Witter FR, Chang SC, Mancini J, Nathanson MS, et al. High gestational weight gain does not improve birth weight in a cohort of African American adolescents. *Am J Clin Nutr*. 2006; 84(1):183-9.
- Nucci L, Schmidt M, Duncan B, Fuchs S, Fleck E, Santos Britto MM. Nutritional status of pregnant women: prevalence and associated pregnancy outcomes. *Rev Saúde Pública*. 2001; 35(6):502-7.
- Kramer MS, Kakuma R. Energy and protein intake in pregnancy (Review). *Cochrane Database Syst Rev*. 2003; (4):CD000032.
- Lagiou P, Tamimi RM, Mucci LA, Adami HO, Hsieh CC, Trichopoulos D. Diet during pregnancy in relation to maternal weight gain and birth size. *Eur J Clin Nutr*. 2004; 58(2):231-7.
- Cogill B. *Anthropometric Indicators Measurement Guide*. Food and Nutrition Technical Assistance Project. Washington, D.C.: Academy for Educational Development; 2003.
- WHO Expert Committee on Physical Status. The use and interpretation of anthropometry physical status: the use and interpretation of anthropometry: report of o WHO expert committee. Geneva: WHO; 1995.
- Hinkle, SN, Sharma AJ, Schieve LA, Ramakrishnan U, Swan DW, Stein AD. Reliability of gestational weight gain reported postpartum: a comparison to the birth certificate. *Matern Child Health J*. 2013; 17(4):756-65.
- Oken E, Rifas-Shiman SL, Field AE, Frazier AL, Gillman MW. Maternal gestational weight gain and offspring weight in adolescence. *Obstetr Gynecol*. 2008; 112(5):999-1006.

Одговарајуће повећање телесне тежине током трудноће: анализа детерминанти унакрсним истраживањем

Алина Делија Попа¹, Ралука Марија Попеску², Ђина Еосефина Ботнарију²

¹Одељење за негу, Универзитет за медицину и фармацију „Гр. Т. Попа“, Јаши, Румунија;

²Одељење за дијабетес, исхрану и болести метаболизма, Универзитет за медицину и фармацију „Гр. Т. Попа“, Јаши, Румунија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Пренатална нега се сматра значајним средством унапређења здравог начина живота. Досад, међутим, нису обављена истраживања на ову тему, као предиктора добијања на тежини труднице, а нарочито не у Румунији, где су веома ретки подаци о трудноћи и исхрани.

Циљ рада Истраживање је било усмерено на испитивање односа између прегестационог индекса телесне масе, адекватности пренаталне неге и добијања на тежини током трудноће.

Методе рада Ово унакрсно истраживање је обухватило 400 трудница које су примљене на Клинику за гинекологију и акушерство „Куза Вода“ у Јашију, у Румунији. Подаци који се односе на демографске одлике испитаница, број пренаталних прегледа, датум првог бележења података у болници и едукација о исхрани током трудноће добијени су упитником који је попуњаван током директног интервјуа. Анализирали антропометријски показатељи обухватили су прегестациони индекс телесне масе и добијање на телесној тежини

током трудноће. Подаци о калоријском уносу добијени су применом упитника о учесталости уноса хране.

Резултати Добијање на тежини у границама одређеним у складу с препорукама Института за медицину у Вашингтону забележено је код 44,35% жена, које су, према сопственој изјави, добиле савет о исхрани током трудноће, у односу на 40,7% жена које нису добиле такав савет. Код трудница прекомерне тежине (53,1%) и гојазних испитаница (66,7%) утврђено је веће повећање тежине него код жена нормалне телесне тежине током трудноће (29,8%) ($p < 0,001$). У овој групи трудница установили смо следеће варијабле које могу утицати на добијање тежине: неодговарајућа пренатална нега, прегестациони индекс телесне масе и енергетски унос.

Закључак Одређивање прегестационог индекса телесне масе и промена у исхрани као предиктора за добијање на тежини истиче значај индивидуализације пренаталне неге.

Кључне речи: прегестациони индекс телесне масе; добијање на тежини током трудноће; пренатална нега; нутритивна едукација

Примљен • Received: 22/01/2014

Прихваћен • Accepted: 28/04/2014

Experience with Lamivudine Treatment for Severe Acute Hepatitis B

Antonija Verhaz

Clinic for Infectious Diseases, Clinical Center of Banja Luka, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina

SUMMARY

Introduction Experience with lamivudine treatment for acute severe hepatitis B is limited. Fulminant hepatitis develops in 1% of immunocompetent patients with acute hepatitis B.

Objective The aim of this study was to evaluate the efficacy of lamivudine in the treatment of severe acute hepatitis B (SAHB) in immunocompetent adult patients.

Methods Between January 2006 and May 2013 at the Clinic for Infectious Diseases Banja Luka, 13 patients with SAHB were treated with lamivudine at a dose of 100 mg per day. All 13 patients fulfilled at least two of three default criteria: 1. hepatic encephalopathy; 2. total bilirubin greater than 210 $\mu\text{mol/L}$; and 3. severe coagulopathy (international normalized ratio – INR ≥ 1.5 or prothrombin time – PT $< 40\%$). The criteria were defined according to the experiences reported in the study of Schmilovitz-Weiss et al. "Lamivudine treatment for severe acute hepatitis B". Nine patients had a rapid rise in the total bilirubin and decrease of alanine aminotransferase level, which escalated risk for development of fulminant hepatitis.

Results Within 1-6 months, HBsAg was undetectable in 12 of 13 examined patients. Protective anti-HBsAg developed in 10 of them during 2-14 months. Two patients did not develop protective antibodies, but the result of the analysis of PCR HBV DNA was repeatedly negative. Corticosteroids were shortly used in two patients. One patient died four days after starting the therapy. Lamivudine treatment was well tolerated by all patients.

Conclusion Early treatment with lamivudine can reduce the risk of progression to fulminant hepatitis in patients with SAHB.

Keywords: severe acute hepatitis B; lamivudine; treatment

INTRODUCTION

The incidence of acute hepatitis B (AHB) was largely reduced during the last 20 years as the results of vaccination and routine blood donor screening.

Acute hepatitis B virus (HBV) infection may take a severe course, which can eventually lead to fulminant hepatic failure in about 1% of all cases with AHB. Liver transplantation is currently the only therapeutic option to prevent death [1]. Hepatitis B infection is successfully cleared in most patients or becomes chronic in 5-10% of adult patients. In the minority of patients the disease can progress to acute or subacute liver failure, both with high mortality. The subacute form can cause chronic liver disease, pseudo-cirrhosis ("Kartoffel-Leber") or "cirrhosis".

More than 95-99% of adults with acute HBV infection will recover spontaneously and seroconvert to anti-HBs without antiviral therapy. HBV infection can cause severe acute hepatitis which can progress to acute liver failure. Lamivudine may have a beneficial effect in selected patients with acute severe or fulminant HBV infection. Patients with fulminant or severe hepatitis must be evaluated for liver transplantation. These patients may benefit from NA treatment. Support for such a strategy may be found in a small number of reports mainly with lamivudine. The duration of treat-

ment is not established. However, continuation of antiviral therapy for at least 3 months after seroconversion to anti-HBs or at least 12 months after anti-HBe seroconversion without HBsAg loss is recommended [2-5].

Nowadays, the most common mode of transmission of HBV is unsafe sexual contact. Also, illegal drug use, dental and other medical intervention, acupuncture, piercing and tattooing, may pose a risk for HBV infection. Most patients recover with symptomatic treatment. However, when there are signs of severe liver failure, intensive care is advisable to reduce the risk of the disease progression to fulminant or subacute hepatitis and the need for urgent liver transplantation [5, 6, 7].

Lamivudine is an oral nucleoside analogue with potent inhibitory effect on HBV replication, causing chain termination of an RNA-dependent HBV polymerase. Reports that have been published regarding the treatment of severe forms of acute hepatitis B with lamivudine are limited [8, 9, 10].

OBJECTIVE

The aim of the present study was to evaluate the efficacy of lamivudine in the treatment of immunocompetent adults with acute severe hepatitis B (ASHB) at the Clinic for Infectious Diseases, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina.

Correspondence to:

Antonija VERHAZ
Clinic for Infectious Diseases
Clinical Center of Banja Luka
12 beba bb, 78000 Banja Luka
Bosnia and Herzegovina
antonija@blic.net

Table 1. Number of registered patients per year with acute hepatitis B in the Republic of Srpska

Acute hepatitis B (per year)	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Total number	35	50	54	66	38	54	63	53

Table 2. Baseline characteristics of the patients

Patient	Sex	Age	Mode of transmission of HBV
1	F	34	Sexual contact
2	M	45	Sexual contact
3	F	24	Dental intervention
4	M	29	Exposure to medical procedures
5	M	44	Exposure to medical procedures
6	M	77	Surgical intervention
7	F	45	Sexual contact
8	M	57	Exposure to medical procedures
9	F	52	Sexual contact
10	F	27	Sexual contact
11	M	20	Sexual contact
12	M	37	Sexual contact
13	M	26	Sexual contact

F – female; M – male

METHODS

This study was a retrospective study. In the period of January 2006–May 2013, 13 immunocompetent patients at the Clinic for Infectious Diseases in Banja Luka were diagnosed as ASHB. All patients were previously healthy. Table 1 shows the total number of reported cases of AHB per year by the Epidemiological Service Institute of Public Health of the Republic of Srpska.

The diagnosis of ASHB was based on the appearance of jaundice and other typical symptoms and biochemical and virological findings. Laboratory findings showed elevated levels of aminotransferases (AST, ALT), total bilirubin, prolonged prothrombin time, and detection of serum HBsAg, hepatitis Be antigen (HBeAg), and immunoglobulin M antibody to hepatitis B core antigen (IgM

HBcAb). PCR HBV DNA analysis was not done in all patients, due to the unavailability of equipment. Ultrasound examinations were performed looking for the evidence of chronic liver disease. The patients did not use alcohol and were not drug users.

The patients with SAHB had to meet two of the following three criteria: 1. hepatic encephalopathy, 2. total bilirubin greater than 210 $\mu\text{mol/L}$, and 3. severe coagulopathy (international normalized ratio – INR ≥ 1.5 or prothrombin time – PT $< 40\%$).

The patients were under follow-up during treatment, including the degree of encephalopathy, coagulation values, liver enzymes and bilirubin levels every week for the first month and then monthly. Serological findings, HBsAg, anti-HBs, HBeAg and anti-HBe were checked every month over the next six months, and titers of anti-HBs were tested at 6–12 months. The accepted criteria for defining clinical and serological recovery from acute hepatitis B was the loss of surface antigen (HBsAg) and the detection of antibodies against HBsAg (anti-HBs), with normalization of serum aminotransferases.

RESULTS

The study included eight men and five women, mean age 44.4 (29–77). All patients were previously healthy. The mode of transmission of HBV was predominantly sexual contact (61.5%) (Table 2). All patients fulfilled at least two of the three criteria for SAHB infection. All patients had severe lysis of hepatocytes (high values of ALT), severe coagulopathy and 9 patients had grade 1–4 encephalopathy (Table 3).

Laboratory tests showed elevated levels of aminotransferases, hyperbilirubinemia (mostly direct), and prolonged prothrombin time. Values of ALT were elevated above the upper limit of the normal, ranging 819–8268 IU/L. Decreased aminotransferases combined with the deterioration of prothrombin time usually indicates a decreasing

Table 3. Biochemical and clinical characteristics of the patients

Patient	Total serum bilirubin* ($\mu\text{mol/L}$)	AST*/ALT* (U/L)	Prothrombin time (% of normal)	INR*	Hepatic encephalopathy (grade)**
1	259	944/1462	40	1.68	I
2	374	2224/4320	23.2	2.50	III
3	581	819/940	40	1.68	II
4	191	8052/4512	12.8	4.24	IV
5	91	7686/6964	5.8	7.12	III
6	365	1954/1770	27.9	2.24	I
7	269	1320/1722	39	1.79	0
8	247	2110/2704	5.1	8.0	I
9	349	2101/1931	55	1.36	II
10	266	3228/5436	36	1.88	II
11	388	2979/4314	41	2.0	II
12	444	1516/5789	42	1.51	II
13	227	5970/8268	44	1.53	I

AST – aspartate aminotransferase; ALT – alanine aminotransferase; INR – international normalized ratio

* Normal values of parameters: a) total serum bilirubin: 17.0 $\mu\text{mol/L}$; b) AST: 38 U/L; c) ALT: 50 U/L; d) INR: 1.15

** Grade: Assessment of the severity of hepatic encephalopathy is based on a semi-quantitative analysis of mental status that was used on the basis of West Haven criteria.

Table 4. Time of application, duration and effects of lamivudine treatment

Patient	Interval from onset of symptoms to initiation of treatment with lamivudine (days)	Duration of lamivudine treatment (month)	Clinical response (days)	Normalization of biochemical findings (months)
1	10	3	3	3
2	10	2	2	4
3	30	6	3	6
4	13	1	2	2
5	2	Fatal outcome	Fatal outcome	
6	10	4	3	5
7	12	4	3	2
8	7	1.5	4	3
9	11	4	3	2
10	15	5	3	2
11	9	5	2	3
12	16	2	3	2
13	7	5	3	3

function of liver cells and a progression to liver failure [11]. Some patients had a rapid rise of total bilirubin and a concomitant decrease of alanine aminotransferase level, which escalated the risk of the development of fulminant hepatitis B [11].

All blood samples were tested for HBsAg, anti-HBs and anti-HBc IgM by ELISA tests. All patients were serum HBsAg and anti-HBc IgM positive, and 7 patients were HBeAg positive. Tests for IgM antibodies to the hepatitis A virus, and antibodies to the hepatitis C virus were all negative.

Due to the severe clinical forms of acute hepatitis B and the risk of liver failure, we started giving lamivudine within 2-30 days of the onset of the disease at a dose of 100 mg daily after obtaining informed consent of the patient or family. We gave lamivudine 100 mg orally daily for 1-6 months (Table 4).

Twelve patients responded well to the treatment and their biochemical parameters rapidly improved. In all patients encephalopathy disappeared within three days after starting the lamivudine treatment. Prothrombin time was normalized in all patients within ten days after the administration of lamivudine.

Treatment with lamivudine lasted from 1-6 months, during which the patients' clinical course was monitored, liver function tested, and serological findings obtained. The normalization of aminotransferase and bilirubin values occurred entirely within 2-6 months. One patient died after two days of treatment with lamivudine, related to progression of fulminant hepatitis.

Ten patients lost serum HBsAg and anti-HBs developed in 10/12 (83.3%) (Table 5) a protective titer (in 76.9% seroconversion occurred). Two patients did not develop protective antibodies, but HBV DNA was repeatedly negative. PCR result on several occasions was negative (Table 5). All HBeAg positive patients lost HBe-antigen within six month after starting the treatment and seroconverted to anti HBe and loss of HBeAg within six month from the start of treatment.

Corticosteroids were shortly used in two of 13 patients. One patient with a low PT died of fulminant hepatic failure two days after lamivudine therapy was included. The treatment with lamivudine was well tolerated by all patients.

Table 5. Time of serological seroconversion

Patient	Seroconversion HBsAg/anti-HBs (month)
1	3
2	2
3	6 (without anti HBs)
4	1
5	Fatal outcome
6	4
7	4
8	1.5
9	4
10	5
11	5
12	2
13	4 (without anti HBs)

DISCUSSION

In our study, we administered for a short periods of time lamivudine 100 mg daily (1-6 months) in 13 patients who fulfilled the criteria for acute severe hepatitis B. Lamivudine treatment lasted until the disappearance of HBsAg, or the appearance of protective anti-HBs antibody. Tillman et al. [2] announced that lamivudine treatment led to a rapid recovery with the potential to prevent liver failure and need for liver transplantation. In our patients, there was a rapid clinical, biochemical and serological response, except in one patient who died.

In this regard, Kumar et al. [10] reported that in patients with acute hepatitis B, serum levels of hepatitis B virus DNA fell more rapidly in the lamivudine-treated group than in the placebo-treated group.

According to the literature, patients with acute and severe forms of hepatitis B typically recover from the disease and seroconvert with HBsAg/anti HBs, without liver damage.

It is possible that by using lamivudine in our patients, we obtained a quick biochemical improvement with clinical recovery of the patient, with the elimination of HBsAg. Furthermore, it also reduced the risk of death that can

occur in some patients [12-15]. Unfortunately, there is not much literature on the role of antiviral therapy in SAHB. Many authors have suggested the need for a large placebo-controlled study.

Sometimes, the distinction between a truly SAHB and a reactivation of chronic hepatitis B may be difficult for differential diagnosis and may require liver biopsy. However, nucleoside analogues treatment is the treatment of choice in both cases.

The duration of treatment has not been established. This study is retrospective, with an insufficient number of patients, but, based on our experience, the treatment with lamivudine in patients with severe forms of hepatitis B had a favorable outcome in 12/13 of patients, while patients with fulminant or severe hepatitis must be evaluated for liver transplantation; they may also benefit from oral nucleoside analogues treatment. Support for such a strategy may be found in a small number of reports mainly with lamivudine [9-15]. In the EASL Clinical Practice Guidelines it is recommended that the management of chronic

hepatitis B virus infection with the antiviral therapy should continue for at least 3 months after the seroconversion to anti-HBs or at least 12 months after the anti-HBe seroconversion without loss of HBsAg [16].

CONCLUSION

In our study, the treatment with lamivudine led to clinical, biochemical and serological response in immunocompetent patients with severe acute hepatitis B. Patients with fulminant hepatitis are candidates for liver transplantation, which cannot be performed in our country. These patients also may benefit from the treatment with nucleoside analogue. As the majority of our patients, with ASHB recovered under a lamivudine treatment, we can suggest the use of this drug if unable to provide a liver transplantation. Finally, large randomized prospective studies of the effect of lamivudine in severe forms of acute hepatitis B are needed.

REFERENCES

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Incidence of acute hepatitis B-United States 1990-2002. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2004; 52(51-52):1252-4.
- Tillmann HL, Hadem J, Leifeld L, Zachou K, Canbay A, Eisenbach C, et al. Safety and efficacy of lamivudine in patients with severe acute or fulminant hepatitis B, a multicenter experience. *J Viral Hepat*. 2006; 13(4):256-3.
- Lee WM. Acute liver failure. *N Engl J Med*. 1993; 329(25):1862-72.
- O'Grady JG, Alexander GJ, Hayllar KM, Williams R. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure. *Gastroenterology*. 1989; 97(2):439-45.
- European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B. *J Hepatol*. 2009; 50:227-42.
- Delić D, Nešić Z, Prostran M, Boričić I, Švrtlih N. Lečenje subakutnog hepatitisa B lamivudinom – pilot studija u Srbiji. *Vojnosanit Pregl*. 2009; 66(3):199-202.
- Vučelić B. Hepatitis B – još uvijek najčešće spolno prenosivi hepatitis u Hrvatskoj. *Infektološki glasnik*. 2010; 30(3):131-4.
- Kondili LA, Osman H, Mutimer D. The use of lamivudine for patients with acute hepatitis B (a series of cases). *J Viral Hepat*. 2004; 11:427-31.
- Schmilovitz-Weiss H, Ben-Ari Z, Sikuler E, Zuckerman E, Sbeit W, Ackerman Z, et al. Lamivudine treatment for acute severe hepatitis B: a pilot study. *Liver Int*. 2004; 24:547-51.
- Kumar M, Satapathy S, Monga R, Das K, Hissar S, Pande C, et al. A randomized controlled trial of lamivudine to treat acute hepatitis B. *Hepatology*. 2007; 45(1):97-101.
- Santantonio T, Mazzola M, Pastore G. Lamivudine is safe and effective in fulminant hepatitis B. *J Hepatol*. 1999; 30:551.
- Roussos A, Koilakou S, Kalafatas I, Kalantzis C, Apostolou N, Grivas E, et al. Lamivudine treatment for acute severe hepatitis B: report of a case and review of the literature. *Acta Gastroenterol Belg*. 2008; 71(1):30-2.
- Reshef R, Kaspa RT. Lamivudine in the treatment of acute hepatitis B. *N Engl J Med*. 2000; 343:1123-4.
- Roznovský L, Orságová I, Kloudová A, Mrázek J. Lamivudine therapy in patients with severe acute hepatitis B. *Klin Mikrobiol Infekc Lek*. 2007; 13(2):59-65.
- Lisotti A, Azzaroli F, Buonfiglioli F, Montagnani M, Alessandrelli F, Mazzella G. Lamivudin treatment for severe acute HBV hepatitis. *Int J Med Sci*. 2008; 5:309-12.
- EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2012; 57(1):167-85.

Искуство с ламивудином у лечењу тешких облика акутног хепатитиса Б

Антонија Верхаз

Клиника за инфективне болести, Клинички центар, Бања Лука, Босна и Херцеговина

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Искуство с ламивудином у лечењу тешког акутног хепатитиса Б је ограничено. Фулминантни хепатитис се развија код 1% имунокомпетентних болесника с акутним хепатитисом Б.

Циљ рада Циљ истраживања је био да се процени учинковитост ламивудина у лечењу тешких облика акутног хепатитиса Б код имунокомпетентних одраслих особа.

Методе рада Између јануара 2006. и маја 2013. године у Клиници за инфективне болести у Бањој Луци лечено је 13 болесника с тешким акутним хепатитисом Б применом ламивудина у дози од 100 *mg* дневно. Свих 13 болесника испуњавало је најмање два од три задата критеријума: а) енцефалопатија јетре; б) ниво укупног билирубина већи од 210 *mmol/l*; и в) тешка коагулопатија (*INR* ≥ 1,5 или протромбинско време <40%). Критеријуми су дефинисани у складу с искуствима наведеним у раду Шмиловиц-Вајсове (*Schmilovitz-Weiss*) и сарадника „Ламивудин у лечењу акут-

ног хепатитиса Б“. Код девет испитаника утврђени су брз пораст нивоа укупног билирубина и смањење нивоа аламин-аминотрансферазе, који повећавају ризик од развоја фулминантног хепатитиса Б.

Резултати У року од једног месеца до шест месеци, *HBsAg* се није могао измерити код 12 испитаних болесника. Заштитна антитела су се развила код 10 испитаника за 2–14 месеци. Код два болесника заштитна антитела се нису развила, али *HBV* ДНК *PCR* резултат је био у неколико наврата негативан. Кортикостероиди су краткорочно примењени код два болесника. Један болесник је умро четири дана након почетка лечења. Лечење ламивудином добро су подносили сви болесници.

Закључак Рано лечење ламивудином може смањити ризик од развоја фулминантног хепатитиса код болесника с тешким акутним хепатитисом Б.

Кључне речи: тешки акутни хепатитис Б; ламивудин; лечење

Примљен • Received: 15/01/2014

Прихваћен • Accepted: 13/06/2014

Identification of *Campylobacter* Species Isolates with Phenotypic Methods and Polymerase Chain Reaction

Biljana Miljković-Selimović^{1,2}, Tatjana Babić², Branislava Kocić^{1,2}, Aleksandra Matkić¹, Ljiljana Ristić²

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

²National Referent Laboratory for *Campylobacter* and *Helicobacter*, Center for Microbiology, Institute for Public Health, Niš, Serbia

SUMMARY

Introduction *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) and *Campylobacter coli* (*C. coli*) are the most common bacterial causes of enterocolitis in humans. However, identification of the species level is not always possible using standard biochemical tests.

Objective Therefore, the goal of this study was to identify these microorganisms by both phenotyping and polymerase chain reaction (PCR) technique.

Methods A total of 153 species of thermophilic campylobacters were examined with standard biochemical tests and PCR technique to prove *hipO* genes of *C. jejuni* and *asp* genes of *C. coli*.

Results Standard biochemical tests enabled the speciation of 121 strains of *C. jejuni*, while application of PCR detected 126 *C. jejuni* strains.

Conclusion PCR technique allowed not only identification of hippurate-positive *C. jejuni*, but also hippurate-negative strains of *C. jejuni* which otherwise would be detected as *C. coli* if only biochemical tests were applied.

Keywords: *Campylobacter jejuni*; *Campylobacter coli*; identification; PCR

INTRODUCTION

Campylobacter jejuni (*C. jejuni*), and closely related organisms *Campylobacter coli* (*C. coli*), *Campylobacter lari* (*C. lari*) and *Campylobacter upsaliensis* (*C. upsaliensis*) are recognized as the major cause of bacterial enterocolitis in developed countries as well as in non-industrialized ones with substantial economic burden [1, 2]. Although there are similar clinical presentations of infection with *C. jejuni* and *C. coli*, which is characterized by a sudden onset of fever, abdominal cramps, and diarrhea with blood and leukocytes, they enormously differ in epidemiological characteristics and sensitivity to antimicrobials [3]. Apart from intestinal, more serious extraintestinal infections may appear, such as transient bacteremia and localized infections including septic arthritis, meningitis, peritonitis, cholecystitis, hepatitis, pancreatitis, and abscesses. In addition, fulminant sepsis and myocarditis may also occur [4]. Rarely, infection with *C. jejuni* results in severe consequences on the peripheral nervous system manifested by flaccid paralysis in Guillain-Barré syndrome (GBS) and Miller Fisher syndrome (MFS) [3]. Diseases of the musculoskeletal system triggered by *C. jejuni* include reactive arthritis, tendinitis, enthesopathy, bursitis or Reiter's syndrome (oligoarthritis, conjunctivitis, and urethritis in men or cervicitis in women) [5]. *C. jejuni* associated diseases of the intestinal tract are inflammatory bowel disease (IBD) and immunoproliferative small intestinal disease (IPSID) [6, 7].

Although thermophilic *Campylobacter* species are ubiquitous in most environments, food of animal origin is substantial reservoir of human infection. The most common source of infection is poultry and pork, and even shellfish. Of all thermophilic *Campylobacter*s, *C. lari* and *C. upsaliensis* are less frequently isolated. The primary source of *C. lari* is sea-gulls, while *C. upsaliensis* is most commonly isolated from dogs, kittens, and puppies, especially with diarrhea [8].

Campylobacter organisms were assumed as a cause of human infection even before disclosure of successful isolation technique; however they have been recognized for a long period only in veterinary medicine. Filtration techniques and development of the selective media were major progress in detection of *Campylobacter* in stool specimens [9]. To identify *Campylobacter* species, biochemical tests are performed in routine diagnostic laboratories. However, detection, identification and quantification of these pathogens, transmitted commonly through food, might be often misleading due to a small number of microorganisms present in the specimen or some metabolic alterations which unable their identification. Indeed, at least variable enzymatic activity of *C. jejuni* hippuricase and reduced sensitivity to nalidixic acid cause difficulties and misleading in identification. Namely, some of *C. jejuni* strains, although possessing gene for enzyme synthesis, do not hydrolyze hippurate [10]. Moreover, false positive reactions are described [11]. Strain resistance to

Correspondence to:

Biljana MILJKOVIĆ-SELIMOVIĆ
Nacionalna referentna laboratorija
za *Campylobacter* i *Helicobacter*
Centar za mikrobiologiju
Institut za javno zdravlje
Bul. dr Zorana Đinđića 81
18000 Niš
Srbija
biljanams@medfak.ni.ac.rs

nalidixic acid refers to *C. lari*, but nowadays, in some geographic areas, more than 90% of *C. jejuni* and *C. coli* strains are resistant to this antimicrobial diminishing the value of the test [12].

Certain improvements in the molecular-genetic methods (polymerase chain reaction – PCR), real-time PCR (RT-PCR), multiplex PCR, nested PCR, blotting methods (i.e., Western blot, Southern blot), microarray analysis etc. [13, 14] facilitate the diagnosis of *Campylobacters* and represents basic techniques that are recently used in many diagnostic laboratories. Moreover, in some cases, the PCR based methods can be applied directly to the specimens, without cultivation, which endows a rapid diagnosis [15]. There are several features such as a high sensitivity, specificity, and amplification of very small samples that makes PCR an irreplaceable method in almost every microbiological laboratory [16].

Precise identification of *C. jejuni* and *C. coli* is necessary for surveillance of their migration through ecological niches, as well as for a more complete understanding of the pathogenesis of the disease, development of drug resistance, epidemiological characteristics and risk factors for infection and application of proper treatment.

OBJECTIVE

The objective of the study was the identification of the isolated bacteria of the genus *Campylobacter* using classical methods and PCR technique and identifying potential problems associated with the identification.

METHODS

The tested strains

The study involved 153 *Campylobacter* strains of enteric origin from the collection of the Serbian National Reference Laboratory (NLR) for *Campylobacter* and *Helicobacter*. The strains were isolated from stool specimens at the Centre for Microbiology, Public Health Institute, Niš, and in other laboratories in Serbia which send cultures of *Campylobacters* to NLR for confirmation and identification. Selective *Campylobacter* Agar with 5% Sheep Blood (Liofilchem, Italy) were used for the isolation and cultivation of *Campylobacter*; inoculated plates were incubated at 42°C in microaerophilic atmosphere (9-10% CO₂) in the pCO₂ incubator (BINDER, USA) for 48 hours.

All cultures of *Campylobacters* in an Amies Transport Medium (Oxoid, UK) submitted to the NLR for *Campylobacter* and *Helicobacter* were processed immediately upon arrival by inoculating on Columbia Agar plate (Columbia blood agar, CBA) containing 5% sheep blood, *Campylobacter* agar (CA) with 5% Sheep Blood (Liofilchem, Italy), Brain Heart Infusion (BHI) Broth (Blood agar base heart infusion, Biolife, Italy), and *Campylobacter* Enrichment Broth (Bolton's) (Fluka, Suisse) with lysed horse blood (Fluka, Suisse) for the selective enrichment of *Campylo-*

bacter spp. Enriched isolates were subcultured on CBA and CA plates for further investigation.

Biochemically based identification

Phenotypic *Campylobacter* species identification method includes typical appearance of colonies, a distinctive microscopic feature when stained with carbol-fuchsin, spiral rod morphology (spiral, S-shaped or in pairs showing seagull-wings-shape), oxidase test (Himedia, India), catalase test, the test for hippurate-hydrolysis (Rosco, Denmark), hydrolysis of indoxyl acetate (Rosco, Denmark), susceptibility to cephalothin (30 µg disc) and nalidixic acid (30 µg disc) (Rosco Diagnostica, NeoSensitabs, Denmark) [17]. Also, API (Appareils et procédés d'identification) Campy test (bioMérieux, France), which consists of 11 enzymatic and 9 assimilation and inhibition tests were performed.

PCR method

DNA was isolated by PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent (Applied Biosystems, California, USA) kit according to the manufacturer's instructions. PCR assay was performed in a total volume of 50 µl. The primers sets used were: 0.4 µM *hipO* (*hipO*-F: 5'-GACTTCGTGCA-GATATGGATGCTT and *hipO*-R: 5'-GCTATAAC TATCGAAGAAGCCATCA) for the species identification of *C. jejuni* [18], and 0.8 µM *asp* (CC18F: 5'-GGT ATG ATT TCT ACA AAG CGA G and CC519R: 5'-ATA AAA GAC TAT CGT CGC GTG) (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) for *C. coli* [19]. Commercial kit used for amplifications consisted of *Taq* DNA polymerase, buffer with dNTP and MgCl₂ (AmpliTaq Gold PCR Master Mix, Applied Biosystems, California, USA). Of the total volume of isolated DNA, 5 µl was used for PCR. PCR reaction was carried out in a PCR thermocycler (Eppendorf, Germany). The PCR amplification cycles included initial denaturation at 95°C for 6 min, followed by 35 cycles of denaturation at 94°C for 50 sec, annealing at 57°C for 40 sec and extension at 72°C for 50 sec. The final stage was an extension cycle at 72°C for 3 min. The amplified PCR products were stained with ethidium bromide (1%). Following 1.5% gel electrophoresis, amplicons were visualized and documented with system for professional gel documentation (BioDocAnalyze, Biometra, Göttingen, Germany). The sizes of PCR amplicons of 344 bp were estimated as *C. jejuni* and of 500 bp as *C. coli*. To determine the size of the fragment, pUC19DNA – Sau3A I Digested DNA molecular weight size marker (Ambion, Austin, Texas, USA) was used.

RESULTS

Identification was performed on 153 isolates. By phenotyping, 121 strains that hydrolyzed hippurate were identified as *C. jejuni*, while 32 strains failed to give positive

Table 1. Phenotypic *Campylobacter* spp. identification

Microorganism	Number of strains (%)
<i>C. jejuni</i>	121 (79)
<i>C. coli</i>	27 (17.7)
Other hippurate-negative <i>Campylobacter</i> spp.	5 (3.3)
Total	153 (100)

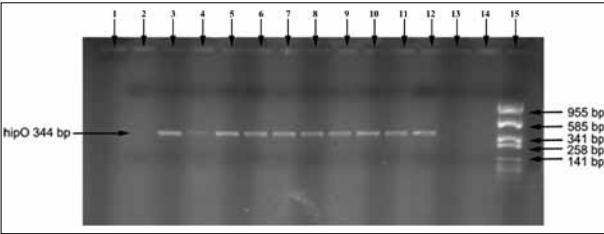


Figure 1. Agarose gel electrophoresis of PCR products from *C. jejuni* using *hipO* primers. Lines 1 and 2: hippurate negative *Campylobacter* spp.; lines 3-11: *C. jejuni*; line 12: *C. jejuni* NCTC 11351 positive control; line 13: *C. coli* ATCC 33559, negative control; line 14: negative control; line 15: DNA size markers.

Table 2. PCR *Campylobacter* spp. identification

Microorganism	Number of strains (%)
<i>C. jejuni</i>	121 (79)
Hippurate-negative <i>C. jejuni</i>	5 (3.3)
<i>C. coli</i>	22 (14.4)
Other hippurate-negative <i>Campylobacter</i> spp.	5 (3.3)
Total	153 (100)

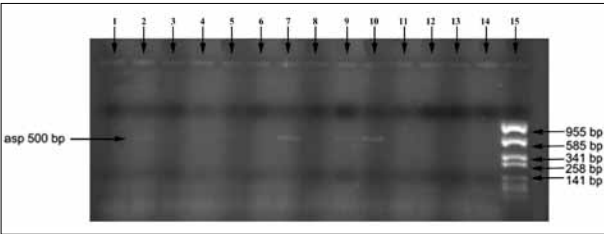


Figure 2. Agarose gel electrophoresis of PCR products from *C. coli* using *asp* primers. Lines 2, 5, 7, 9, 10: *C. coli*; lines 1, 3, 4, 6, 8, 11, 12: *asp* negative *Campylobacter* spp.; line 13: *C. jejuni* NCTC 11351, negative control; line 14: negative control; line 15: DNA size markers.

reaction (Table 1). Twenty-seven strains with negative hippuricase activity, but indoxyl acetate, oxidase and catalase positive were identified as *C. coli*.

Having in mind a possible presence of co-infection with both strains, PCR for *C. jejuni* and *C. coli* was performed on all investigated strains. PCR technique enabled the identification of 126 *C. jejuni* strains (Figure 1); 121 hippurate-positive and five hippurate-negative ones. Twenty two isolates were identified as *C. coli* (Table 2, Figure 2).

Other five hippurate-negative *Campylobacter*s have been described by API Campy as *C. lari*. *C. lari* differ from *C. coli* in negative indoxyl acetate reaction and resistance to nalidixic acid. *C. upsaliensis* give positive indoxyl acetate test but were referred to as the catalase-negative/catalase weak (CNW) group sensitive to cephalothin and nalidixic acid. In this study, we did not detect any *C. upsaliensis*, which is not frequently isolated pathogen from clinical samples, since cephalothin is often used in *Campylobacter* spp. selective media. The method of choice for isolation of

C. upsaliensis would be filtration technique which could be the reason for suboptimal detection of these bacteria.

DISCUSSION

Accurate identification of *C. jejuni* and precise discrimination of two the most frequently isolated human enteropathogen campylobacters, *C. jejuni* and *C. coli* are essential for microbiological and epidemiological studies. Discrimination among thermophilic strains is based only on biochemical hippurate-hydrolysis test. There are, however, some *C. jejuni* strains that harbor the hippuricase gene but do not express hippuricase activity and are therefore false negative by the hippurate-hydrolysis test, which may lead to misinterpretation of the test results. Indeed, the performance of biochemical tests, in bacteria that have weak biochemical activity, are sensitive to environmental conditions, require special growth and reproduction conditions, is often time- and labor-consuming as not being always efficient.

Enzyme activity and results interpretation depend on the applied methodology and variations which can influence the final outcome of reaction [20]. Therefore, the application of molecular techniques for the determination of genetic sequences characteristic for *C. jejuni* and *C. coli* made their identification significantly accurate.

In this work, on the examination of biochemical characteristics of 153 thermophilic campylobacters, it was found that 121 (79%) isolates hydrolyzed hippurate and were identified as *C. jejuni*. Thirty-two strains (21%) lacked the ability to hydrolyze hippurate. Species that gave a negative reaction were hippurate-negative *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, and *C. upsaliensis*.

All strains that were identified by conventional biochemical tests were also subjected to PCR. In all 121 strains, *hipO* gen was determined and *C. jejuni* was confirmed. Out of 32 hippurate-negative strains, in five strains the presence of *hipO* gen was also detected endorsed *C. jejuni* species, while 22 strains were confirmed as *C. coli*. Five tested strains, however, were not verified by PCR and two sets of primers, but they were subsequently identified as *C. lari* using API Campy system (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France).

Since the introduction of PCR techniques in the early '80s of the last century, the method has become widely used in the identification of microorganisms [21]. In the early '90s, methods based on PCR were developed for the detection and identification of *Campylobacter* spp. targeting distinctive sequences. The fact that existence of the gene does not necessarily mean the simultaneous mRNA synthesis and subsequent enzymes production, PCR technique also enables the identification of hippurate-negative *C. jejuni*, as was confirmed in this study.

The target genes used for the PCR identification of *Campylobacter* spp. are *C. coli*-specific *asp*, *hipO* gene in *C. jejuni* [22], species specific sequences of *ceuE* gene [11], *cadF* [23], 16S rRNK [24], *cdt* [25], and *lpxA* [26]. Wang et al. [15] used *hipO* gene for *C. jejuni*, and *glyA* for

synthesis of serine hydroxymethyl-transferase for *C. coli* identification.

Rautelin et al. [20] examined 28 hippurate-negative thermophilic *Campylobacter* isolates, from human stool specimens in Finland. Re-testing of negative strains, using standard biochemical tests, revealed that 10 isolates hydrolyse hippurate, and 18 remained negative. PCR method and primers for variable region of *ceuE* gene allowed accurate molecular identification of *C. jejuni* and *C. coli*: all 10 hippurate-positive strains were confirmed as *C. jejuni*, while out of the remaining hippurate-negative 18 isolates, five were identified as *C. jejuni*, and 13 as *C. coli*.

Nakari et al. [27] investigated 240 human isolates (95 hippurate-positive and 145 hippurate-negative) originated from Finland collection of enterocolitis strains, using standardized hippurate-hydrolyze test. Two PCR sets of primers were utilized: *ceuE* gene primers specific for *C. jejuni* and for *C. coli*, and *hipO* gene for *C. jejuni* subsp. *jejuni* and *glyA* gene for *C. coli*. Gene *hipO* was detected in all *C. jejuni* hippurate-positive strains. In hippurate-negative strains, 93 (64%) was diagnosed as *C. coli*, and *hipO* gene of *C. jejuni* was proved in 46 (32%) hippurate-negative strains [27].

During investigation of a Danish collection involving 2,382 phenotypic identified *Campylobacter* strains from poultry, 108 *C. jejuni* and 351 „non-*jejuni*“ isolates were randomly selected and further investigated by PCR using several sets of primers (Hip-PCR and VS-PCR for *C. jejuni*, CS-PCR and *CeuE*-PCR for *C. coli*, COL/JUN-PCR for *C. jejuni* and *C. coli*) [28]. Out of 108 isolates identified by biochemical tests as *C. jejuni*, 103 were verified, while four were identified as *C. coli*. In one case, there were mixed culture of *C. jejuni*/*C. coli*. Out of 309 „non-*jejuni*“ strains, 97 strains were confirmed as *C. jejuni* by PCR. Hippurate-hydrolysis retesting of these strains showed that even 84 strains were hippurate-positive, while 13 *C. jejuni* were hippurate-negative [28].

REFERENCES

- Senok AC, Botta AG. *Campylobacter* enteritis in the Arabian Gulf. J Infect Developing Countries. 2009; 3(2):74-82.
- Batz MB, Hoffmann S, Morris JG Jr. Ranking the disease burden of 14 pathogens in food sources in the United States using attribution data from outbreak investigations and expert elicitation. J Food Prot. 2012; 75(7):1278-91.
- Bereswill S, Kist M. Recent developments in *Campylobacter* pathogenesis. Curr Opin Infect Dis. 2003; 16(5):487-91.
- Allos BM. *Campylobacter jejuni* Infections: update on emerging issues and trends. Clin Infect Dis. 2001; 32:1201-6.
- Hannu T, Mattila L, Rautelin H, Pelkonen P, Lahdenne P, Siitonen A, et al. *Campylobacter*-triggered reactive arthritis: a population-based study. Rheumatology (Oxford). 2002; 41(3):312-8.
- Kalischuk LD, Buret AG. A role for *Campylobacter jejuni*-induced enteritis in inflammatory bowel disease? Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2010; 298(1):G1-9.
- Lecuit M, Abachin E, Martin A, Poyart C, Pochart P, Suarez F, et al. Immunoproliferative small intestinal disease associated with *Campylobacter jejuni*. N Engl J Med. 2004; 350(3): 239-48.
- Nichols GL, Richardson JF, Sheppard SK, Lane C, Sarra C. *Campylobacter* epidemiology: a descriptive study reviewing 1 million cases in England and Wales between 1989 and 2011. BMJ Open. 2012; 12:2(4).
- Butzler JP. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. Clin Microbiol Infect. 2004; 10:868-76.
- Hani EK, Chan VL. Expression and characterization of *Campylobacter jejuni* benzoylglycine amidohydrolase (hippuricase) gene in *Escherichia coli*. J Bacteriol. 1995; 177:2396-402.
- Gonzalez I, Grant KA, Richardson PT, Park SF, Collins MD. Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using a PCR test based on the *ceuE* gene encoding a putative virulence determinant. J Clin Microbiol. 1997; 35:759-63.
- de Jong A, Bywater R, Butty P, Deroover E, Godinho K, Klein U, et al. A pan-European survey of antimicrobial susceptibility towards human-use antimicrobial drugs among zoonotic and commensal enteric bacteria isolated from healthy food-producing animals. J Antimicrob Chemother. 2009; 63(4):733-44.
- Dingle KE, McCarthy ND, Cody AJ, Peto TE, Maiden MC. Extended sequence typing of *Campylobacter* spp., United Kingdom. Emerg Infect Dis. 2008; 14(10):1620-2.
- Miljković-Selimović B, Kocić B, Babić T, Ristić LJ. Bacterial typing methods. Acta Fac Med Naiss. 2009; 26(4):225-33.
- Wang G, Clark CG, Taylor TM, Pucknell C, Barton C, Price L, et al. Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*. J Clin Microbiol. 2002; 40(12):4744-7.

Our results, as well as outcomes of other authors, confirmed the variability of biochemical testing results, especially hippurate-hydrolysis, and that correct identification is possible using PCR technique and specific primers. Although negative hippurate-hydrolysis indicates the presence of *C. coli* and hippurate-negative *C. jejuni*, test alone may be insufficiently reliable, questioning accuracy of phenotyping identification scheme of *C. jejuni*.

Now, Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), PCR-RFLP on 23S rRNA gene [29], PCR/ELISA (PCR-Enzyme Linked Immuno Assay) for *glyA* gene [30], RT-PCR on *hipO* and *glyA* gene [31] can be used to identify *C. jejuni* and *C. coli*. Al Amri et al. [32] as a target sequence used genus specific *cadF* gene (*Campylobacter* adhesion to fibronectin) and species specific genes, *hipO* gene (for *C. jejuni*) and *asp* (a gene encoding aspartokinase of *C. coli*) for RT-PCR. Also, in the identification of *Campylobacter*, it is possible to apply a very sophisticated techniques such as microarray detection of *fur*, *glyA*, *cdtABC*, *ceuB* – E and *fliY* gene [33].

CONCLUSION

Although the biochemical identification can discriminate the two most common species of *Campylobacters*, *C. jejuni* and *C. coli* in most cases, the PCR method, obtaining rapid results, has the advantage in the identification of *C. jejuni* strains that possess but do not express the hippuricase gene and that by using only phenotypic methods would be misdiagnosed.

ACKNOWLEDGMENT

The authors would like to thank Ana Milojković for her excellent technical assistance.

16. Ziprin RL, Harvey RB. Inability of cecal microflora to promote reversion of viable nonculturable *Campylobacter jejuni*. *Avian Dis.* 2004; 48(3):647-50.
17. Nachamkin I. *Campylobacter* and *Arcobacter*. In: Murray PA, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2003. p.902-914.
18. Persson S, Olsen KE. Multiplex PCR for identification of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* from pure cultures and directly on stool samples. *J Med Microbiol.* 2005; 54(Pt 11):1043-7.
19. Linton D, Lawson A J, Owen RJ, Stanley J. PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples. *J Clin Microbiol.* 1997; 35:2568-72.
20. Rautelin H, Jusufovic J, Hanninen ML. Identification of hippurate-negative thermophilic campylobacters. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1999; 35:9-12.
21. Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 1986; 51(Pt 1):263-73.
22. Lawson AJ, Shafi MS, Pathak K, Stanley J. Detection of campylobacter in gastroenteritis: comparison of direct PCR assay of faecal samples with selective culture. *Epidemiol Infect.* 1998; 121:547-53.
23. Englen MD, Fedorka-Cray PJ. Evaluation of a commercial diagnostic PCR for the identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Lett Appl Microbiol.* 2002; 35:353-6.
24. Bang DD, Wedderkopp A, Pedersen K, Madsen M. Rapid PCR using nested primers of the 16S rRNA and the hippuricase (*hipO*) genes to detect *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in environmental samples. *Mol Cell Probes.* 2002; 16:359-69.
25. Eyigor A, Dawson KA, Langlois BE, Pickett CL. Cytolethal distending toxin genes in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates: detection and analysis by PCR. *J Clin Microbiol.* 1999; 37:1646-50.
26. Klena JD, Parker CT, Knibb K, Ibbitt JC, Devane PM, Horn ST, et al. Differentiation of *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari*, and *Campylobacter upsaliensis* by a multiplex PCR developed from the nucleotide sequence of the *lipid A* gene *lpxA*. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(12):5549-57.
27. Nakari UM, Puhakka A, Siitonen A. Correct identification and discrimination between *Campylobacter jejuni* and *C. coli* by a standardized hippurate test and species-specific polymerase chain reaction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2008; 27(7):513-8.
28. Wainø M, Bang DD, Lund M, Nordentoft S, Andersen JS, Pedersen K, et al. Identification of campylobacteria isolated from Danish broilers by phenotypic tests and species-specific PCR assays. *J Appl Microbiol.* 2003; 95(4):649-55.
29. Engvall EO, Brandstrom B, Gunnarsson A, Morner T, Wahlstrom H, Fermer C. Validation of a polymerase chain reaction/restriction enzyme analysis method for species identification of thermophilic campylobacters isolated from domestic and wild animals. *J Appl Microbiol.* 2002; 92:47-54.
30. Al Rashid ST, Dakuna I, Louie H, Ng D, Vandamme P, Johnson W, et al. Identification of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, *Arcobacter butzleri*, and *A. butzleri*-like species based on the *glyA* gene. *J Clin Microbiol.* 2000; 38:1488-94.
31. LaGier MJ, Joseph LA, Passaretti TV, Musser KA, Cirino NM. A real-time multiplexed PCR assay for rapid detection and differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Mol Cell Probes.* 2004; 18:275-82.
32. Al Amri A, Senok AC, Ismaeel AY, Al-Mahmeed AE, Botta GA. Multiplex PCR for direct identification of *Campylobacter* spp. in human and chicken stools. *J Med Microbiol.* 2007; 56:1350-5.
33. Volokhov D, Chizhikov V, Chumakov K, Rasooly A. Microarray-based identification of thermophilic *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, and *C. upsaliensis*. *J Clin Microbiol.* 2003; 41:4071-80.

Препознавање изолата *Campylobacter* Spp. применом фенотипских метода и ланчане реакције полимеразе

Биљана Миљковић-Селимовић^{1,2}, Татјана Бабић², Бранислава Коцић^{1,2}, Александра Маткић¹, Љиљана Ристић²

¹Медицински факултет, Универзитет у Нишу, Ниш, Србија;

²Национална референтна лабораторија за *Campylobacter* и *Helicobacter*, Центар за микробиологију, Институт за јавно здравље, Ниш, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) и *Campylobacter coli* (*C. coli*) се сматрају најчешћим бактеријским узročницима ентероколитиса код људи. Због њихове сличности није их могуће јасно препознати применом биохемијских тестова.

Циљ рада Циљ рада је био да се препознају ови микроорганизми и фенотипским тестовима и техником ланчане реакције полимеразе (PCR).

Методе рада Испитана су 153 соја термофилних кампилобактера стандардном методом и техником PCR за доказива-

ње *hipO* гена *C. jejuni* и *asp* гена *C. coli*.

Резултати Класичном методом је утврђено да 121 сој припада врсти *C. jejuni*, а PCR техником да овој врсти припада 126 сојева.

Закључак Техника PCR је омогућила препознавање не само хипурат-позитивних, већ и хипурат-негативних сојева *C. jejuni*, који би класичним биохемијским методама били препознати као *C. coli*.

Кључне речи: *Campylobacter jejuni*; *Campylobacter coli*; идентификација; ланчана реакција полимеразе (PCR)

Примљен • Received: 31/01/2014

Прихваћен • Accepted: 03/07/2014

Spinal Metastasis of Medulloblastoma in Adults: A Case Report

Nenad Živković¹, Iva Berisavac¹, Marko Marković¹, Sanja Milenković²

¹Department of Neurosurgery, Clinical Hospital Center Zemun, Belgrade, Serbia;

²Department of Clinical Pathology, Clinical Hospital Center Zemun, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Medulloblastoma is a primitive neuro-ectodermal malignant tumor most commonly seen in childhood and rarely and uncommonly in adult age. Treatment consists of surgery followed by radiotherapy. In the case of a relapse there is no overall accepted treatment. Tumor metastasis can be seen along the neural axis, lymph nodes, soft tissues, bones and distant organs.

Case Outline In this paper we present a 45-year-old female patient with a thoraco-spinal extramedullary metastatic medulloblastoma and progressive neurological deterioration seen 11 months after the first operation and description of magnetic resonance and intraoperative finding.

Conclusion Although rare, the presence of metastasis is a poor prognostic factor. The treatment options for patients with metastases are limited and their prognosis continues to remain poor.

Keywords: medulloblastoma; spinal metastasis; surgical treatment

INTRODUCTION

Medulloblastoma is a primitive neuro-ectodermal malignant tumor most commonly seen in childhood and rare and uncommon in adult age, comprising only 0.4% of all adult tumors [1, 2]. It can metastasize extracranially through the cerebrospinal pathways rarely intra- or extradurally or hematogenously mostly involving bones. Although these metastatic tumors are uncommon in adult age, there is no universal accepted treatment strategy. The treatment consists of surgery, following radiotherapy and, in high risk patients, adjuvant chemotherapy. Regarding new strategies, there are three studies concerning the treatment of recurrent medulloblastoma with temozolomide [3].

We present a case of medulloblastoma metastasizing to the thoracic spine and describe the magnetic resonance and intraoperative finding.

CASE REPORT

A 45-year-old female patient was operated on in June 24, 2011 because of cerebellar medulloblastoma of the fourth ventricle. The tumor was totally removed and pathohistological examination confirmed medulloblastoma. During the postoperative period patient's general and neurological status were intact. She received cranial irradiation a month later that was followed after one year. During that period control computer tomography (CT) scan did not show any sign of tumor recurrence and she was without any neurological deficit.

Seven days before she was readmitted to our hospital, on April 5, 2012, she complained of a

sudden weakness in her legs which progressed into paraplegia of lower extremities and sphincter incontinence. Hypoesthesia of the level Th8 and no reflexes in the legs were also found during neurological examination. Magnetic resonance imaging (MRI) of the spine showed a total block in the thoracic spine with intradural extramedullary mass (Figure 1).

The patient was operated on in April 12, 2012 and total Th8-Th12 laminectomies were performed with no epidural lesions. Dura mater was opened with 5 cm linear cut and an intradural tumor solid mass was seen compressing the medulla (Figure 2). The tumor was extirpated (Figure 3) and histopathological examination showed primitive neuroectodermal tumor characterized by small, round and anaplastic cells compatible with medulloblastoma (Figure 4). Individual tumor cells were small with little cytoplasm and hyperchromatic nucleoli, frequently elongated or crescent shaped. After surgery neurological status did not change during the postoperative period. The patient died three weeks later.

DISCUSSION

Medulloblastoma, or primitive neuroectodermal tumor of the cerebellum, accounts for approximately 20% of all childhood brain tumors and is rarely seen in adults [1, 2, 3]. In 1936 Nelson [4] reported the first well-documented case of metastasis in a patient with cerebellar medulloblastoma. Although medulloblastomas spread along the CSF pathways other accepted modes of tumor spread to the spinal cord may include hematogenous routes [5, 6]. Usually they metastasize to the spinal cord on the

Correspondence to:

Nenad ŽIVKOVIĆ
Department of Neurosurgery
Clinical Hospital Center Zemun
Vukova 9, 11080 Belgrade
Serbia
drnzivkovic@yahoo.com



Figure 1. T2 Sagittal thoracic spine shows an enhancing nodule and diffuse leptomeningeal enhancement consistent with metastatic medulloblastoma



Figure 2. Intraoperative images obtained before resection of the thoracic extramedullary metastatic medulloblastoma

surface of the leptomeninges [6]. Sometimes spinal dural infiltration may occur in the absence of local recurrence or systemic metastases and can suggest the first focus of systemic metastasis [1]. Our patient had neither tumor recurrence in the posterior fossa nor systemic extra axial metastases. The patient had a diffuse involvement of thoracic spine canal which is rare according to the literature [2, 6], i.e. spinal infiltration was the first sign of metastasis. Although rare, seeding at presentation is a poor prognostic factor. Zumpano [7] and Barnwell and Edwards [8] suggested that metastatic spread of medulloblastoma can be explained on the basis of direct extension from a primary cerebellar medulloblastoma to an enlarged central canal.

The average time until the development of metastasis after the initial diagnosis of medulloblastoma is 18 months [1]. In some cases, 13 years had elapsed after initial diagnosis before metastasis developed [1, 9, 10]. In the case of our patient the tumor relapsed in the spinal axis 11 months later after the first presentation in the posterior fossa.

CT and MRI can be used in the diagnosis of metastatic intramedullary tumors.

Fluorodeoxyglucose positron-emission tomography/computer tomography (FDG-PET/CT) is a useful tool to evaluate metastasis in medulloblastoma. One FDG-PET/

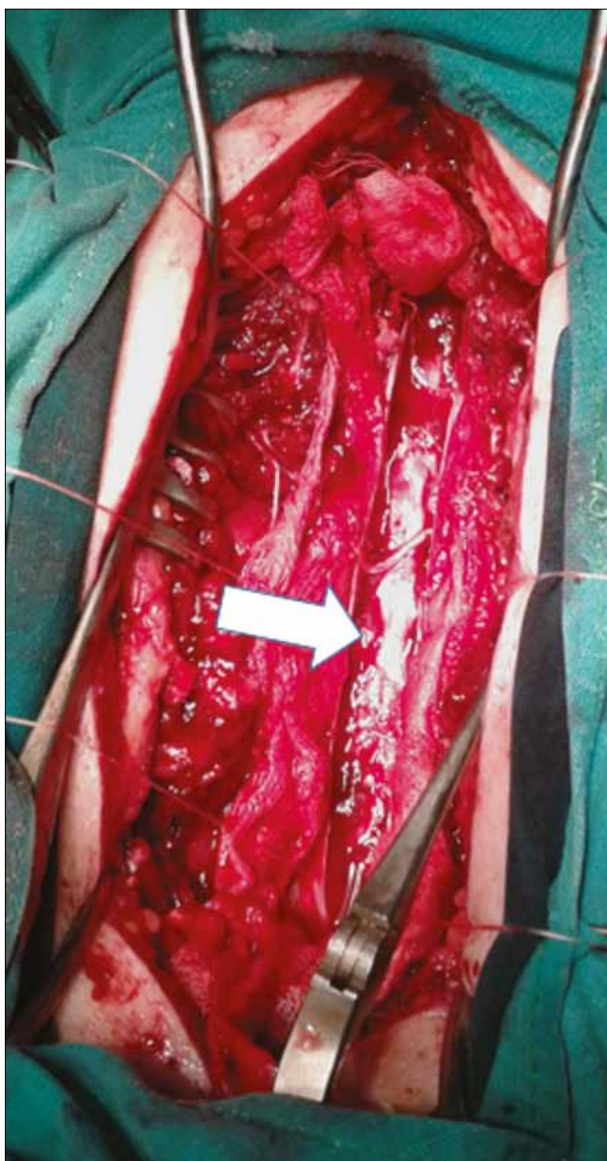


Figure 3. Intraoperative images obtained after resection of thoracic extramedullary metastatic medulloblastoma

CT study [11] revealed abnormal FDG from the cervical to the lumbosacral level suggesting the possibility of metastasis.

MRI can be used in the diagnosis of metastatic intramedullary tumors and has more diagnostic value than other diagnostic procedures [12]. MRI gives detailed ana-

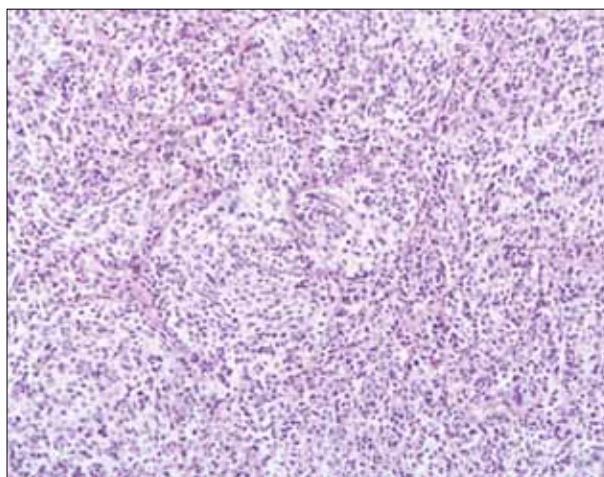


Figure 4. Microscopic image: small, round and anaplastic cells in a diffuse pattern (hematoxylin-eosin, original magnification $\times 100$)

tomic information and extent of lesions and it is important for further treatment planning such as radiation therapy or systemic chemotherapy.

In our patient MRT with T2 of sagittal thoracic spine showed an enhancing nodule and diffuse leptomeningeal enhancement consistent with metastatic medulloblastoma.

The treatment consists of surgery, following radiotherapy and, in high risk patients, adjuvant chemotherapy. The first step is radical surgery; adjuvant radiotherapy must be 55 Gy on the posterior fossa and the remaining cranial-spinal axis; adjuvant chemotherapy may be useful in patients at high risk of recurrence. The median time to relapse was 23.5 months [13]. Late recurrences are also described in literature. In our case, the patient underwent second-protocol adjuvant radiotherapy for medulloblastoma treatment with good outcome for 11 months.

The survival results for medulloblastomas in adults compare favorably with those in children [14]. Spinal seeding is a poor prognostic factor for disease-free survival. A minimal dose of 54 Gy to the posterior fossa is essential for adequate tumor control. The interval between surgery and the start of RT is a significant prognostic factor and requires further study [13, 14, 15].

Although rare, the presence of metastasis is a poor prognostic factor. Treatment options for patients with metastases are limited and their prognosis continues to remain poor.

REFERENCES

- Bartlett F, Kortmann R, Saran F. Medulloblastoma. *J Clin Oncol.* 2013; 25:36-4.
- Quenum K, Ntalaja J, Onen J, Arkha J, Derraz S, El Ouahabi A, et al. A rare case of adult medulloblastoma with spinal metastasis. *Case Rep Neurol Med.* 2012; 2012:748601.
- Poelen J, Bernsen HJ, Prick MJ. Metastatic medulloblastoma in an adult; treatment with temozolomide. *Acta Neurol Belg.* 2007; 107(2):51-4.
- Nelson AA. Metastases of intracranial tumours. *Am J Cancer.* 1936; 28:1-12.
- Bailey P. Further notes on the cerebellar medulloblastomas. The effect of roentgen radiation. *Am J Path.* 1930; 6:126-36.
- Tripathi M, Jain N, Jaimini A, Garg G, D'Souza MM, Sharma R, et al. Demonstration of diffuse leptomeningeal metastasis in a treated case of medulloblastoma with F-18 FDG PET/CT. *Clin Nucl Med.* 2009; 34(8):530-2.
- Zumpano BJ. Spinal intramedullary metastatic medulloblastoma. *J Neurosurg.* 1978; 48:632-5.
- Barnwell SL, Edwards MSB. Spinal intramedullary spread of medulloblastoma. *J Neurosurg.* 1986; 65:253-5.
- Chiewvit P, Danchaivijitr N, Sirivitmaitrie K, Chiewvit S, Thephamongkhon K. Does magnetic resonance imaging give value-added than bone scintigraphy in the detection of vertebral metastasis? *J Med Assoc Thai.* 2009; 92(6):818-9.

10. Riffaud L, Saikali S, Leray E, Hamlat A, Haegelen C, Vauleon E, et al. Survival and prognostic factors in a series of adults with medulloblastomas. *J Neurosurg.* 2009; 111(3):478-87.
11. Basu S, Gupta T, Jalali R, Shet T. Detecting bone marrow metastasis in cerebellar medulloblastoma: value of disease surveillance with FDG-PET in this setting. *Indian J Cancer.* 2011; 48(3):373-4.
12. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant Temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005; 352:987-96.
13. Herrlinger U, Steinbrecher A, Rieger J, Hau P, Kortmann RD, Meyermann R, et al. Adult medulloblastoma. Prognostic factors and response to therapy at diagnosis and at relapse. *J Neurol.* 2005; 252:291-9.
14. Tabori U, Sung L, Hukin J, Laperriere N, Crooks B, Carret AS, et al. Distinctive clinical course and pattern of relapse in adolescents with a medulloblastoma. *Int J Radiation Oncology Biol Phys.* 2005; 20(10):1-6.
15. Mazloom A, Zangeneh AH, Paulino AC. Prognostic factors after extraneural metastasis of medulloblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2010; 78(1):72-8.

Спинална метастаза медулобластома код одраслих особа: приказ болесника

Ненад Живковић¹, Ива Берисавац¹, Марко Марковић¹, Сања Миленковић²

¹Неурохируршка служба, Клиничко-болнички центар „Земун“, Београд, Србија;

²Служба клиничке патологије, Клиничко-болнички центар „Земун“, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Медулобластом је примитивни неуроектодермални малигни тумор који се најчешће јавља у детињству, а ретко је и необичан код одраслих особа. Лечење је хируршко уз зрачну терапију. Уколико дође до рецидива, нема општеприхваћеног начина лечења. Метастазе тумора могу се видети у можданом стаблу, лимфним чворовима, меким ткивима, костима и удаљеним органима.

Приказ болесника У овом раду приказана је 45-годишња

жена с торако-спиналним, екстрамедуларним, метастатским медулобластомом. Описани су прогресивно неуролошко погоршање уочено 11 месеци након прве операције, налаз магнетне резонанције и интраоперациони налаз болеснице.

Закључак Према ретка, метастаза је слаб прогностички фактор. Опције за лечење болесника с метастазама су ограничене, а њихова прогноза је и даље лоша.

Кључне речи: медулобластом; спиналне метастазе; хируршко лечење

Примљен • Received: 08/11/2013

Прихваћен • Accepted: 23/01/2014

Retinal Detachment in the Eye with the Choroidal Coloboma

Dragan Vuković^{1,2}, Sanja Petrović Pajić², Predrag Paović²

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

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

SUMMARY

Introduction Choroidal coloboma is a congenital defect caused by an inadequate closure of embryonic fissure. About 40% of the eyes with the choroidal coloboma (CHC) develop the retinal detachment (RD). It is extremely difficult to manage these cases due to the lack of pigmentation at the site of choroidal coloboma.

Outline of Cases This is a case series of five patients with CHC and RD who were successfully operated using one of two different surgical techniques: pars plana vitrectomy (PPV) + silicone oil internal tamponade and/or scleral buckle with encircling band with laser photocoagulation (SB+EB+LPC) around the coloboma. The purpose of this paper is to present how to successfully handle patients with CHC, who have concurrent retinal detachment in the same eye and to compare two different techniques and indications for the predominant use of one of them in a specific case.

Conclusion Both surgical techniques can be applied with equal success in the operation of retinal detachment in eyes with the choroidal coloboma. Which one will be used depends only of the posterior segment of eye findings. We use scleral buckling in cases with RD accompanied by CHC when the peripheral break is evident and there are no breaks in the coloboma itself. We also perform, 2-3 days after surgery, laser burns around the coloboma, which is our modification of this technique. In all other cases it is indicated to perform PPV+silicon oil internal tamponade.

Keywords: choroidal coloboma; retinal detachment; scleral buckling; laser photocoagulation; vitrectomy

INTRODUCTION

Choroidal coloboma is a congenital defect caused by an inadequate closure of the embryonic fissure. About 40% of the eyes with the choroidal coloboma develop the retinal detachment. It occurs in 0.14% of the general population [1]. At the edge of the coloboma, the retina is divided into two layers: the inner and the outer, which is inverted and connected with the retinal pigment epithelium [2]. This spot of inversion of the retinal outer layer is the place of less resistance of retinal rupture [3, 4]. Retinal detachment with the choroidal coloboma is a surgical problem because of its specific pathomorphological substrate and difficulties to reattach retina.

CASE REPORTS

During the last 15 years 5 cases of the choroidal coloboma with retinal detachment due to retinal breaks have been operated at our Clinic (Table 1). During the follow-up period of the minimum 3 years in all of the five operated cases the retina had maintained reattached. Two of the patients had to undergo laser photocoagulation of retinal breaks which had developed after surgery on the different place then the previous ones. We used two different techniques to operate these five patients, scleral buckling

in 2, and pars plana vitrectomy with silicon oil internal tamponade in 3 cases. The patients were relatively young when retinal detachment occurred, on average 24.4 years of age. Two of them had visual acuity slightly diminished before the event occurred. In three cases visual acuity was 1.0 on both eyes. All patients had bilateral chorioretinal colobomas, while two of them had accompanied iris and lens colobomas.

We are presenting a more detailed description of two cases from different groups in order to explain the technique used in a specific case.

A 25-year-old female patient presented at our hospital with the history of impaired visual acuity of formerly partially-sighted right eye 2 weeks ago. Personal and family histories were not relevant.

The patient underwent a detailed ophthalmological examination. The best corrected visual acuity of the right eye on admission was 1/60, and natively of the left eye was 3/60, and with the correction of 1.75, DSph was 1.0. An intraocular pressure of the right and the left eye was 14 mmHg and 12 mmHg, respectively.

The examination of the ocular fundus of the right eye showed the choroidal coloboma below the optic disc, with the temporal bullous detachment involving the macula (Figure 1). Finding of the left ocular fundus was within physiological limits. Goldmann three mirror contact lens examinations showed 3 smaller breaks at 11 o'clock.

Correspondence to:

Dragan VUKOVIĆ
Clinic of Eye Diseases
Clinical Center of Serbia
Pasterova 2, 11000 Belgrade
Serbia
draganv@beotel.net

Table 1. Major patients' data, treatment and results

Patient	Age (years)	Gender	Clinical finding	Pre-op visual acuity	Treatment	Additional treatment	Result
1	23	Female	Rhegmatogenous retinal detachment	0.50/60	PPV + silicone oil	/	Retinal reattachment
2	25	Female	Rhegmatogenous retinal detachment	1/60	Scleral buckling	LFC barrage	Retinal reattachment
3	21	Female	Rhegmatogenous retinal detachment	0.50/60	PPV + silicone oil	/	Retinal reattachment
4	31	Male	Rhegmatogenous retinal detachment	0.10/60	PPV + silicone oil	/	Retinal reattachment
5	22	Male	Retinal detachment – gigant retinal tear	4/60	Scleral buckling	LFC barrage	Retinal reattachment

Upon appropriate preoperative preparation, the patient was operated by scleral buckling with the encircling band. On postoperative day 1, the control examination of the right eye fundus confirmed the complete reapplication of retina. On postoperative day 3, the patient underwent laser photocoagulation around the choroidal coloboma. The patient was discharged on postoperative day 4, with the right eye visual acuity of 0.50/60 and intraocular pressure of 20 mmHg.

At the nine-month control, the patient's visual acuity was 3/60, and her retina maintained reattached (Figure 2).

The second patient was a 30-year-old male who was referred to our Clinic from a local health centre because of a sudden drop of visual acuity on the right, previously healthy eye. Upon admittance his visual acuity on the right eye was 0.10/60 with intraocular pressure 10 mmHg. The left eye visual acuity was 1.0 and IOP 13 mmHg. Examination of the anterior segment of the eye showed a bilateral coloboma of the iris at the 6 o'clock position along with the coloboma of the lens in the same meridian. The rest of the findings were within normal limits.

Examination of the eye fundus showed bilateral chorioretinal colobomas inferior to the papilla nervi optici, one smaller 1 diameter PNO in size, and second one bigger 3-4 diameter PNO in size, which corresponded to colobomas of the iris and lens. Changes were almost symmetrical on both eyes. Right eye fundus findings, besides

the coloboma, showed a total bullous retinal detachment with giant posterior retinal tear from 8-12 o'clock (Figure 3). We decided to perform a combined operation of phacoemulsification of the lens with implantation of the posterior chamber lens and pars plana vitrectomy with internal silicon oil tamponade. Endolaser photocoagulation was performed during the operation around the colobomas and peripherally 360 degrees. Postoperatively the retina was reattached and visual acuity was, with correction, 3/60 three months after the operation silicon oil. The retina was attached in all parts including chorioretinal colobomas (Figure 4). The anterior segment showed stable posterior chamber intraocular lens and secondary cataract. His visual acuity was 0.5. During the follow-up period of 3 years his retina remained attached and visual acuity stable.

The remaining three patients had retinal detachment associated with retinal coloboma (Table 1). We used pars plana vitrectomy in two cases, scleral buckling with postoperative laser in the third patient.

Preoperative visual acuities were very low; half a meter in two cases and 4 meters in one case. Postoperatively the retina was reattached and the visual acuities improved to 3 m, 0.1 m and 0.2 m, respectively. Also, retina remained attached after silicone oil removal and in all three cases remained stable in the follow-up period of minimum three years.

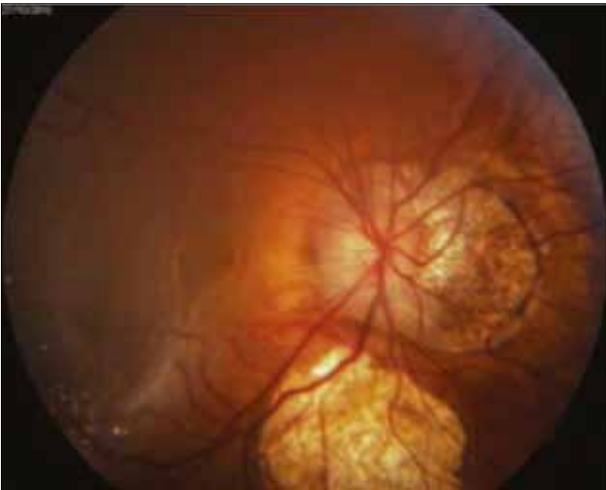


Figure 1. Choroidal coloboma and bullous retinal detachment

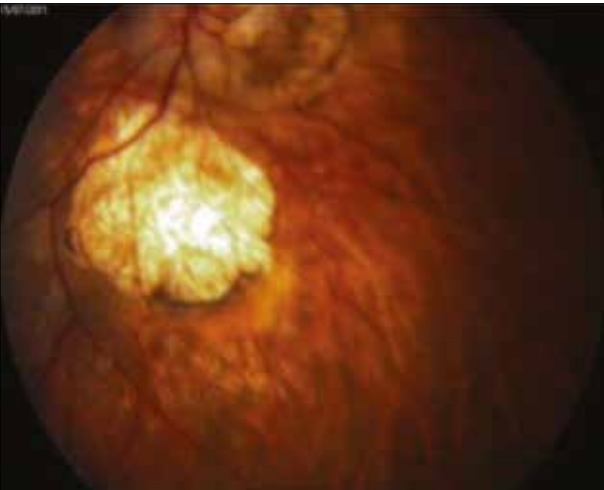


Figure 2. Laser photocoagulation around the choroidal coloboma – retina is reattached nine months after operation

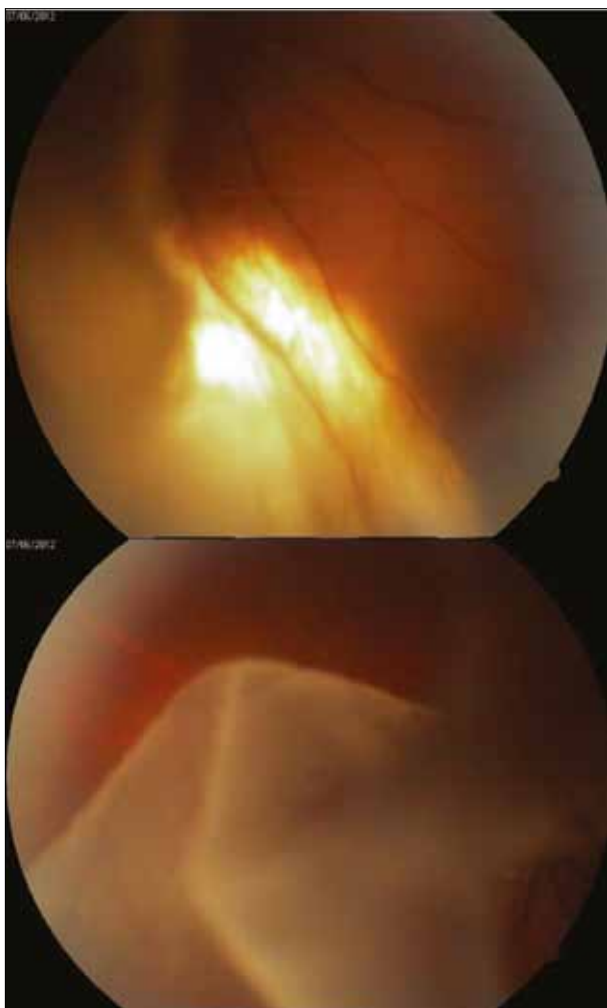


Figure 3. Preoperative posterior segment of the eye chorioretinal coloboma, total bullous retinal detachment and giant retinal tear with inverted flap

DISCUSSION

Detachment of the retina is frequent in the eyes with the choroidal coloboma, about 40% due to retinal break within the coloboma area, most often at the edge of colobomatous zone, or otherwise in the retinal area out of the coloboma [1].

This paper is an illustration of the application of two techniques combined together, scleral buckle (SB) with encircling band (EB) and laser photocoagulation around the zone of the coloboma.

We have 3 questions and will try to answer them.

1. How many techniques of the management of these problems are usually used?

Until now, two techniques of the management of these problems have been presented. The first and most frequently used technique is pars plana vitrectomy with the internal gas or silicone oil tamponade. The second technique is SB with EB.

2. What are advantages of these two techniques?

The advantages of the first technique are easier identification of the site of break, and the eye stabilization for subsequent breaks by an internal tamponade. Pars plana

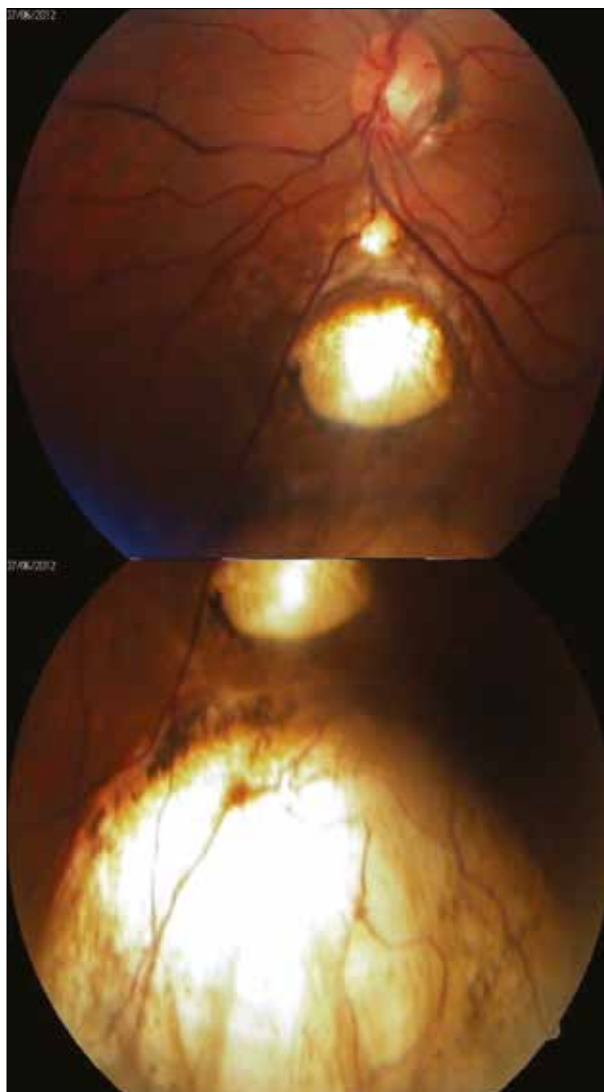


Figure 4. Postoperative retina after silicone oil removal is attached in all parts including chorioretinal colobomas

vitrectomy with the internal gas or silicone oil tamponade is most frequently used technique. In recent studies, this technique has been reported to produce very good results [5-8]. The problem with this technique is the application of retinopexy on the site of the intercalary membrane which has no pigmentation.

On the other hand, if it was possible to pinpoint exactly the peripheral breaks, the second technique SB+EB would be the technique of choice. The operation is simpler and recovery is faster and more comfortable to the patient. Surgical technique SB+EB with laser photocoagulation may be employed, especially in the event of no retinal break in the zone of the coloboma and without retinal detachment in this zone. This technique would be completely satisfactory if peripheral ruptures were predominant, without perioperative finding of retinal breaks on the intercalary membrane within the zone of choroidal coloboma, which is sometimes very difficult due to depigmentation and poor contrast at this area.

3. What is the third technique and when this technique may be employed?

The third technique is the combination of second technique (SB+EB) with the laser photocoagulation of the coloboma zone few days after operation. This surgical method is indicated for the treatment of retinal detachment in the eye with the choroidal coloboma, if no breaks in the choroidal coloboma zone were preoperatively found. Due to the big risk of breaks within the choroidal coloboma itself, we perform laser burns around the coloboma, which is our modification of this technique. With laser photocoagulation around the zone of the coloboma we can prevent retinal detachment due to formation of breaks at the intercalary membrane.

Our cases confirmed the findings presented in the literature. As shown, it is possible to identify breaks in the

intercalary membrane pre- or intra-operatively. We use scleral buckling for the cases with RD accompanied with CHC when peripheral break is evident and there are no breaks in the coloboma itself. On the other hand breaks at the locus minoris resistentiae are not identifiable but can be expected along the coloboma border. Additionally secured coloboma zone by laser photocoagulation, with the SB+EB in the zone of peripheral breaks, would be, according to our experience, a completely satisfactory surgical method for the treatment of retinal detachment in the eye with the choroidal coloboma, if no breaks in the choroidal coloboma zone were preoperatively found.

REFERENCES

1. Gopal L, Badrinath SS, Sharma T Surgical management of retinal detachment related to coloboma of the choroid. *Ophthalmology*. 1998; 105:804-9.
2. Schubert HD. Schisis-like rhegmatogenous retinal detachment associated with choroidal coloboma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1995; 233:74-5.
3. Meier P, Wiedemann P. Surgical aspects of vitreoretinal disease in children. In: Ryan SJ. *Retina*. 4th ed. Baltimore: Elsevier Inc; 2006. p.2488-9.
4. Jesberg DO, Schepens CL. Retinal detachment associated with coloboma of the choroid. *Arch Ophthalmol*. 1961; 65:163-72.
5. Pal N, Azard RV, Sharma YR. Long-term anatomical and visual outcome of vitreous surgery for retinal detachment with choroidal coloboma. *Indian J Ophthalmol*. 2006; 54:85-8.
6. Jalali S, Das T. Selection of surgical technique for retinal detachment with coloboma of the choroid. *Indian J Ophthalmol*. 1994; 42:27-30.
7. Lee KJ, Peyman GA, Paris CL. Management of retinal detachment associated with choroidal coloboma using perfluoroperhydrophenanthrene (Vitreon). *Ophthalm Surg*. 1992; 23:553-4.
8. Corcostegui B, Guell JL, Garcia-Arumi J. Surgical treatment of retinal detachment in the choroidal colobomas. *Retina*. 1992; 12:237-41.

Аблација мрежњаче у оку с хороидалним колобомом

Драган Вуковић^{1,2}, Сања Петровић Пајић², Предраг Паовић²

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

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

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Хороидални колобом је конгенитално оштећење које настаје услед неправилног затварања ембрионалне фисуре. У око 40% очију с конгениталним колобомом развије се аблација мрежњаче. Изузетно је тешко решавати ове случајеве услед недостатка пигментације на самом колобому.

Приказ болесника Приказана је серија од пет испитаника с хороидалним колобомом и аблацијом мрежњаче који су успешно оперисани двема различитим хируршким техникама: 1) витректомијом парс плана с унутрашњом тампонадом силиконским уљем; и 2) техником склералне пломбе са серклагом и ласерском фотокоагулацијом око колобома. Овим радом желели смо да покажемо како се могу успешно лечити болесници са хороидалним колобомима и аблацијом мрежњаче, као и да упоредимо две различите хируршке

технике и индикације за њихово коришћење у специфичним случајевима.

Закључак Обе технике се могу применити с подједнаким успехом у хируршком лечењу аблације мрежњаче с хороидалним колобомом. Која ће од њих бити коришћена зависи од налаза на задњем сегменту ока. Ми примењујемо технику склералне пломбе у случајевима аблације мрежњаче удружене с хороидалним колобомом када су јасне периферне руптуре, а не виде се руптуре на зони колобома. Такође, други-трећи дан после операције вршимо ласерску баражу мрежњаче око колобома, што је наша модификација ове технике. У свим осталим случајевима индиковано је урадити витректомију с ендотампонадом силиконским уљем.

Кључне речи: колобом хориоидеје; аблација ретине; ласерска фотокоагулација; склерална пломба; витректомија

Примљен • Received: 12/11/2013

Прихваћен • Accepted: 14/01/2014

Pedunculated Obstructive Lipoma of the Ileocecal Valve: A Case Report

Berislav Vekić, Rastko Živić

Surgical Clinic, Clinical Center "Dr Dragiša Mišović" – Dedinje, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Colonic lipomas are relatively common but they rarely progress to complete acute obstruction.

Case Outline We report a case of a 67-year-old woman with acute intestinal obstruction caused by a large pedunculated lipoma of the ileocecal valve. Preoperatively, the patient presented acutely with clinical and radiographic signs of small intestine ileus. A right hemicolectomy with subsequent terminolateral ileocolostomy was performed. The histopathological examination revealed a benign lipoma of the ileocecal valve which telescoped into the cecum and caused ileocolonic intussusception. The postoperative course was uneventful and the patient was free of symptoms during a 12-month follow-up period.

Conclusion Since these benign tumors are frequently revealed by laparotomy and the definitive diagnosis is made on the basis of histopathological examination, we can conclude that extensive resections of the large intestine are justified in cases with acute clinical presentation.

Keywords: ileocecal lipoma; acute intestinal obstruction; colonic surgery; intussusception

INTRODUCTION

Colonic lipomas are rare benign tumors, which constitute the most common nonepithelial (mesenchymal) neoplasm of the gastrointestinal tract [1, 2]. Ileocecal valve and cecum are most affected sites, followed by the rectum, sigmoid colon and descending colon [2]. They may be sessile or pedunculated. Although the majority are small and asymptomatic (<2 cm), the larger ones appear to correlate with symptomatology, such as abdominal pain, diarrhea, obstruction and rectal bleeding [3-6]. The first report of colonic lipoma was by Bauer in 1757 [7].

CASE REPORT

A 67-year-old woman presented at the emergency room with a 3-day history of severe central abdominal pain, which was associated with nausea, vomiting, abdominal distention and complete constipation. She had a four-month history of change in bowel habits. On abdominal examination, she was found to have a distended and tender central abdomen, with tympanic percussion and silent bowel sounds, with no signs of peritonism. She had no previous abdominal operations. Rectal examination was unremarkable. Blood results were normal. Plain abdominal radiograph suggested a small intestine ileus. Since the patient did not respond to conservative therapy (tube decompression, enema) and considering the abdominal radiograph, mechanical bowel obstruction was obvious and immediate laparotomy was performed. Intraoperative findings revealed

dilatation of the whole small intestine caused by a palpable tumor mass in the ileocecal region with intussusception of the small intestine. A right hemicolectomy with subsequent termino-lateral ileocolostomy was performed. Macroscopic examination of the resected specimen showed a pedunculated, yellowish, soft tissue tumor of the ileocecal valve measuring 5 cm in diameter which telescoped into the cecum and caused ileocolonic intussusception (Figures 1 and 2). Subsequent histopathological examination revealed that the mass was a lipoma with no evidence of malignancy (Figure 3). The postoperative course was uneventful and she was discharged on postoperative day seven. The patient was free of symptoms during a 12-month follow-up period.

DISCUSSION

Colonic lipomas represent uncommon adipose neoplasms with a reported incidence ranging between 0.15 and 4.4% [8]. It is the third most common benign tumor of the large bowel after hyperplastic and adenomatous polyps [9]. These tumors are more prevalent in women than in men with a peak incidence in the 5th and 6th decade of life [2, 8, 10]. Most such lesions (65%) have been identified in the right colon [2, 10]. In 90% they are localized at the submucous level [2]. They may be sessile or pedunculated, usually solitary, but multiple lesions are also reported in 10 to 25% of cases [11]. No cases of malignant transformation or recurrent colonic lipoma have been reported [3].

Symptoms caused by colonic lipoma correlate with the size of the tumor. The majority

Correspondence to:

Rastko ŽIVIĆ
Vladimira Gaćinovića 32
11000 Belgrade
Serbia
rale.zivic@gmail.com



Figure 1. Gross finding of pedunculated lipoma of the ileocecal valve



Figure 2. Gross finding of bisected cecum with pedunculated lipoma of the ileocecal valve

is small and asymptomatic (<2 cm), and also suitable for endoscopic removal [3, 7, 8]. Large colonic lipomas are less suitable for endoscopic treatment considering the risks of complications, such as perforation and bleeding [7], but new endoscopic techniques are being developed to minimize such possibilities [12].

The majority of patients with lesions larger than 4 cm have the following symptoms: discomfort, abdominal pain and obstruction, which are mostly caused by chronic intermittent ileocolonic or colo-colonic intussusception or rectal bleeding as the result of atrophy and ulceration of mucosa overlying the lipoma [2-6, 8, 9, 10, 13].

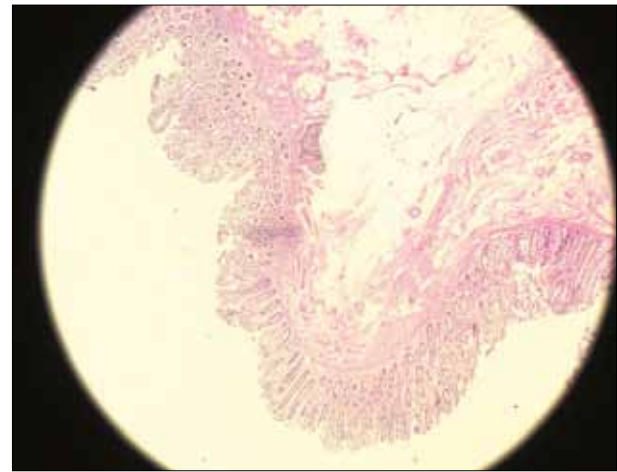


Figure 3. Light microphotograph of lipoma of the ileocecal valve (H&E, original magnification x40)

Patients rarely present with dramatic clinical symptomatology necessitating urgent operative treatment, such as intussusception, which can lead to complete acute obstruction or acute hemorrhage. Franc-Law et al. [13] reported that the appearance of dramatic symptoms in colonic lipomas probably depends on the size of tumors and their position in the large intestine, and that larger tumors and rarer left-sided colonic lipomas are more likely to cause acute obstruction.

For large lipomas surgical resection is recommended to relieve symptoms or exclude malignancy [1, 8, 14], with a wide range of operative techniques, such as colectomy and excision, segmental colonic resection, hemicolectomy or subtotal colectomy, including laparoscopic procedures [2, 4, 5, 6, 8-11, 14]. While colectomy with excision of the tumor and laparoscopic approaches should be considered for uncomplicated preoperatively diagnosed lipomas, more extensive operations should be performed in patients with questionable diagnosis and acute clinical symptoms [14].

Symptomatic colonic lipomas are very rare, presenting with a variety of symptoms depending on their size and position, often leading to misdiagnosis. Since these benign tumors are frequently revealed by laparotomy and the definitive diagnosis is made on the basis of histopathological examination [1], we can conclude that extensive resections of the large intestine are justified in cases with acute clinical presentation.

REFERENCES

1. Bardaji M, Roset F, Camps R, Sant F, Fernandez-Layos MJ. Symptomatic colonic lipoma: differential diagnosis of large bowel tumors. *Int J Colorectal Dis.* 1998; 13:1-2.
2. Rogy MA, Mirza D, Berlakovich G, Winkelbauer F, Rauhs R. Submucous large-bowel lipomas-presentation and management. An 18 year study. *Eur J Surg.* 1991; 157:51-5.
3. Bahadursingh AM, Robbins PL, Longo WE. Giant submucosal sigmoid colon lipoma. *Am J Surg.* 2003; 186:81-2.
4. Namikawa T, Hokimoto N, Okabayashi T, Kumo M, Kobayashi M, Hanazaki K. Adult ileoileal intussusception induced by an ileal lipoma diagnosed preoperatively: report of a case and review of the literature. *Surg Today.* 2012; 42(7):686-92.
5. Dultz LA, Ullery BW, Sun HH, Huston TL, Eachempati SR, Barie PS, et al. Ileocecal valve lipoma with refractory hemorrhage. *JSL.* 2009; 13(1):80-3.
6. Meshikhes AW, Al Momen SA, Al Talaq FT, Al Jaroop AH. Adult intussusception caused by a lipoma in the small bowel: report of a case. *Surg Today.* 2005; 35:161-3.
7. Khawaja F. Pedunculated lipoma of the colon. Risks of endoscopic removal. *South Med J.* 1987; 80:1176-9.

8. Chung YF, Ho YH, Nyam DC, Leong AF, Seow-Choen F. Management of colonic lipomas. *Aust NZ J Surg.* 1998; 68:133-5.
9. Chiba T, Suzuki S, Sato M, Tsukuhara M, Saito S, Inomata M, et al. A case of a lipoma in the colon complicated by intussusception. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2002; 14:701-2.
10. Ryan J, Martin JE, Pollock DJ. Fatty tumours of the large intestine: a clinicopathological review of 13 cases. *Br J Surg.* 1989; 76:793-6.
11. Vecchio R, Ferrara M, Mosca F, Ignoto A, Latteri F. Lipomas of the large bowel. *Eur J Surg.* 1996; 162:915-9.
12. Lee ES, Lee KN, Choi KS, Lee HL, Jun DW, Lee OY, et al. Endoscopic treatment of a symptomatic ileal lipoma with recurrent ileocolic intussusception by using cap-assisted colonoscopy. *Clin Endosc.* 2013; 46(4):414-7.
13. Franc-Law JM, Begin LR, Vasilevsky CA, Gordon PH. The dramatic presentation of colonic lipomata: report of two cases and review of literature. *Am Surg.* 2001; 67:491-4.
14. Ghidirim G, Mishin I, Gutsu E, Gagauz I, Danch A, Russu S. Giant submucosal lipoma of the cecum: Report of a case and review of literature. *Rom J Gastroenterol.* 2005; 14:393-6.

Петелькасти опструктивни липом илеоцекалне валвуле: приказ болесника

Берислав Векић, Растко Живић

Хируршка клиника, Клиничко-болнички центар „Др Драгиша Мишовић“ – Дедиње, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Липоми дебелог црева су релативно чести, међутим, ретко доводе до акутне опструкције црева.

Приказ болесника Приказујемо случај 67-годишње жене с акутном опструкцијом црева узрокованом великим петелькастим липомом илеоцекалне валвуле. Болесница је примљена као хитан хируршки случај с клиничким и радиографским знацима илеуса танког црева. Начињена је десна хемиколектомија с примарном термино-латералном анастомозом. Патохистолошким прегледом потврђен је петелькасти бенигни липом илеоцекалне валвуле који је

узроковао увлачење илеума у цекум с последичном илеоколичном интусусцепцијом. Постоперациони ток је протекао без компликација, а болесница је била без симптома током једногодишњег периода клиничког праћења.

Закључак С обзиром на то да се ови бенигни тумори често откривају током операције и да се коначна дијагноза поставља тек патохистолошким прегледом, можемо закључити да су опсежне ресекције дебелог црева оправдане код болесника с акутном клиничком презентацијом.

Кључне речи: илеоцекални липом; акутна опструкција црева; операција дебелог црева; интусусцепција

Примљен • Received: 23/12/2013

Ревизија • Revision: 04/03/2014

Прихваћен • Accepted: 19/03/2014

Dysfunctional Ectopic Thyroid Gland: A Case Report

Edita Stokić^{1,2}, Vladimir Kljajić^{1,3}, Stevan Idjuški^{1,4}, Damir Benc^{1,2}, Djordje Popović^{1,2}, Mladjan Protić^{1,5}, Veljko Crnobrnja^{1,6}

¹Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Novi Sad, Serbia;

²Clinic for Endocrinology, Diabetes and Metabolic Disorders, Clinical Center of Vojvodina, Novi Sad, Serbia;

³Clinic for Otorhinolaryngology, Clinical Center of Vojvodina, Novi Sad, Serbia;

⁴Centre for Radiology, Clinical Center of Vojvodina, Novi Sad, Serbia;

⁵Clinic for Abdominal, Endocrine and Transplantation Surgery, Clinical Center of Vojvodina, Novi Sad, Serbia;

⁶Department for Nuclear Medicine, Clinical Center of Vojvodina, Novi Sad, Serbia

SUMMARY

Introduction Lingual thyroid gland is a rare anomaly of thyroid gland development, occurring more frequently in females. If it causes local symptomatology such as dysphagia, dysphonia or dyspnea it is diagnosed in childhood, however, if it is asymptomatic it is usually diagnosed in adulthood.

Case Outline We present a 23-year-old female patient in whom we diagnosed lingual thyroid gland coincidentally during diagnostic procedures of a concomitant disease. The application of ¹³¹I scintigraphy showed an oval field of intensive accumulation of radio markers in the zone of medial face line, around tongue base, with the absence of thyroid gland in its physiological position. Functional testing proved primary hypothyroidism and we started the application of substitution therapy. The application of levothyroxine resulted in reaching euthyroid state and the reduction of thyroid gland size.

Conclusion We present a very rare anomaly of the thyroid gland, and so far there have been no clear attitudes about further treatment. The general condition of the patient, age, the size of ectopic thyroid gland and the existence of local symptomatology or complications represent the factors that have influence on the choice of treatment method.

Keywords: ectopic thyroid gland; lingual thyroid gland; anomalies of thyroid gland

INTRODUCTION

As a consequence of disorders of embryogenesis during the passage of thyroid gland through the neck structures, an anomaly can occur in the form of ectopy. Thus, the thyroid gland can be localized in the neck zone, lingually, sublingually, prelaryngeally or it can rather be found at some less common localities such as the mediastinum, trachea, lungs, heart, breasts, pharynx, esophagus, duodenum, small intestines, adrenal gland, retroperitoneally or in other zones [1-7].

The finding of lingual thyroid gland is the most frequent disorder of this ectopy, and its incidence in the population ranges between 1:100000 and 1:300000 [1]. It is even 3-7 times more frequent in females [8]. After having conducted a retrospective study, Rahbar R. et al. [2] emphasize that lingual localization of thyroid gland in childhood represents a very rare disorder with the incidence of 1:100000. They state that this anomaly is asymptomatic over a long period, and that a coinciding illness or intensive growth and development at puberty lead to clinical manifestation due to some morphologic changes. However, due to the enlargement of ectopic thyroid gland abnormal patterns of breathing or swallowing can develop, and it is the moment when this disorder is most frequently diagnosed [9].

CASE REPORT

A 23-year-old female patient presented at the Emergency Centre of the Clinical Centre of Vojvodina in Novi Sad due to the pain in the left ear area. She felt first discomforts about 10 days prior to presentation, and besides pain she also noticed defective hearing in her left ear. She has been also feeling rather tired over the past several months. Previously to this event the patient underwent appendix surgery and had frequent pharyngitis as a child but no other illnesses. Her family history was uneventful except for paternal type 2 diabetes.

By physical examination of the neck, primarily palpation, thyroid gland enlargement in the lower third of the neck was not detected. Oropharyngoscopic examination findings were normal. Otomicroscopic examination of the left auditory canal revealed the presence of detritus matching mycoses. On the left side of the tongue root, indirect laryngoscopy verified the presence of a spherical, smooth change of dark pink-reddish color, elastic consistency, and clearly defined from the surrounding area (Figures 1 and 2). Based on otoscopic findings medication therapy with local antimycotics was advised.

Due to the diagnosed change in the tongue base root, CT of the head and neck was performed. In oropharynx, near the root of the tongue base and dorsally, CT scanner showed

Correspondence to:

Edita STOKIĆ
Clinic for Endocrinology, Diabetes
and Metabolic Disorders
Clinical Center of Vojvodina
Hajduk Veljkova 1, 21000 Novi Sad
Serbia
edith@sezampro.rs



Figure 1. Rosy change of smooth surface with visible blood vessels. With the help of endoscope for indirect laryngoscopy it is not possible to present ectopic thyroid gland completely. A smooth rosy change is observed which completely fills the visual field of endoscope along with traces of blood vessels.



Figure 2. By the maneuver of tongue traction and pressure to the median and last third of the tongue, ectopic thyroid gland is completely presented. It is localized in the middle line and stretches to the left side. Its dimension is 2×2.5 cm; it is of rosy color, smooth surface, clearly demarcated from the surrounding tonsillar tissue of lingual tonsils.



Figure 3. CT scan: a hyperdense solid nodular mass on the tongue base

the existence of a hyperdense clearly defined soft tissue change in size of 21×22×32 mm, and which was post-contrast well and homogeneously enhanced and richly vascularized. It was also slightly pressed in the tongue root, stretched to the level of the epiglottis; also, it dorsally narrowed the lumen of the oropharynx. It was concluded that the change in the oropharynx could match the tissue of the thyroid gland in atypical position, having in mind the fact that the same was not found in the region of its otherwise physiological position (Figure 3).

The endocrinologist that was consulted at the time suggested scintigraphy of the thyroid gland and evaluation of its function. Thyroid gland scintigraphy by the application of ^{131}I showed an oval area of intensive accumulation of radiopharmaceutical in the zone of the medial face line, around the tongue base. In the area of the anatomical localization of the thyroid gland there was a lack of functional tissue, thus we confirmed the diagnosis of ectopic localization of the thyroid gland (Figure 4). Testing of the thyroid gland function verified increased TSH (thyroid-stimulating hormone) level (11.02 mIU/l (normal range 0.35-4.94)) and normal concentration of T3 (triiodothy-

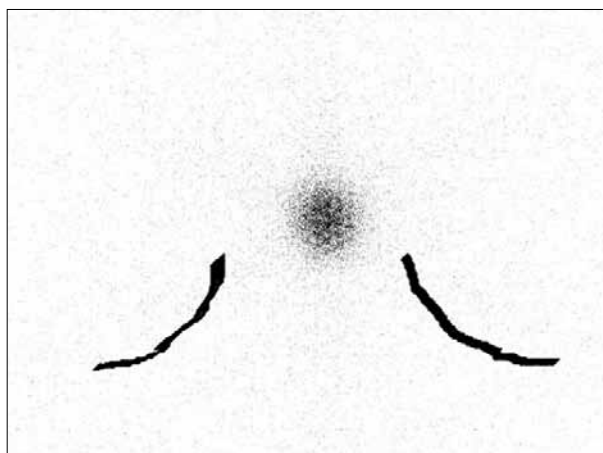


Figure 4. Scintigraphy of the thyroid gland by the application of ^{131}I in the tongue base shows the acceptance of radio markers and the absence of accumulation in the area of physiological location of the thyroid gland

roxine) (1.7 nmol/l (normal range 1.0-2.7)) and T4 (thyroxine) (76 nmol/l (normal range 60-160)). Antithyroid peroxidase antibodies were negative. Other laboratory testings were within the referential values (Table 1). We started with substitution therapy administering levothyroxine with the aim of reaching euthyroid state.

Table 1. Results of conducted laboratory testing

Laboratory testing		Value
Complete blood count	Red blood cells ($\times 10^{12}/\text{l}$)	4.49
	Hemoglobin (g/l)	131
	Hematocrit (%)	39.3
	White blood cells ($\times 10^9/\text{l}$)	6.3
	Platelets ($\times 10^9/\text{l}$)	210
Glucoregulation	Fasting and 2 hour after meal glycemia (mmol/l)	4.6...4.8
Thyroid gland function	Thyroxine (nmol/l)	69
	Triiodothyronine (nmol/l)	1.6
	Thyroid stimulating hormone (mIU/l)	11.02
	Antithyroid peroxidase antibodies (IU/ml)	<0.5

DISCUSSION

This case report is presented for several reasons. Our intention was to point out the possibility of the absence of symptomatology over a long period, as well as to underline some diagnostic and therapeutic dilemmas.

The existence of the lingual thyroid gland is a rare anomaly occurring due to damage in the embryological development of thyroid gland. It is clinically manifested as the existence of spherical mass in the tongue base zone. It is of smaller dimensions, but the size can range from several millimeters to several centimeters. The majority of patients with thyroid ectopy are asymptomatic, but in case it is of large dimensions it can lead to the development of local symptomatology manifesting in the form of dysphagia, dyspnea or dysphonia. If symptomatology is present, ectopic thyroid gland can be detected at an earlier age, while in symptomatic patients it is diagnosed in adulthood as a coincidental finding.

It is necessary to pay special attention to coincidental finding of ectopically placed thyroid gland on the tongue base because such placement can be mistaken for a tumor process. The physician practitioner who wishes to obtain pathohistological verification of a tumor process as soon as possible can decide on a biopsy of tumor change in local anesthesia. In that case, heavy bleeding can occur, which is difficult to control under the conditions of biopsy specimen taken under epimucous anesthesia. The patient who presented to the otorhinolaryngologist for examination complaining of earache, and in whom a tumefaction on the tongue root was detected, otherwise not placed there, always arises a suspicion of the existence of some malignant process of the tongue base. Reflexive otalgia develops in patients with advanced malignant tumors in the area of the larynx, tongue base, hypopharynx and oropharynx appearing as the consequence of a degree of affection of vagal fibers. When all elements are arranged in this way, it is primarily necessary to exclude a malignant disease of the tongue base. The palpatory finding of tumefaction on the tongue base was the finding which pointed out that it was not the case of malignant infiltrative tumor process. As for its consistency, the change differentially diagnostically could match hematologic diseases that can be found in the area of lingual tonsils, although the epithelial structure was different.

Although it can be asymptomatic over a long period, the lingual thyroid gland can be diagnosed as a coincidental finding during concurrently applied diagnostic procedures. Namely, contemporary techniques of visualization such as ultrasonography, computerized tomography and magnetic resonance are being increasingly applied. In our patient, the ectopic lingual thyroid gland was diagnosed as a coincidental finding during an ORL specialist examination and computerized tomography was performed due to the change on the tongue base. We pay special attention to the importance of the earliest possible diagnosis of this anomaly because in particular situations, such as coincidental diseases, heavy infections, traumas and pregnancy, can lead to diagnostic and therapeutic dilemmas if disorder of the thyroid gland is present. However, we must not neglect the fact that in our patient this anomaly

was diagnosed as late as when she was 23 years of age. It is to be expected that this patient underwent physician's examinations due to frequent pharyngitis in her childhood; nevertheless, this anomaly was not detected.

The basis of diagnostic procedures of ectopic thyroid gland is most certainly palpation of the neck by which no verification of thyroid gland existence is achieved. A definitive diagnosis is made by the application of Tc-99m, ¹³¹I or ¹²³I scintigraphy method. This is the most important diagnostic procedure which can detect the ectopic tissue of the thyroid gland. However, other radiological techniques such as Doppler ultrasonography, computerized tomography and magnetic resonance can also help in the evaluation of the localization of ectopic thyroid gland. Besides, chest X-ray can be of help, especially in the intrathoracic localization of the thyroid gland [10].

In relation to functional disorders, even in 70% patients with the lingual thyroid gland we can verify a decreased function, which requires the administration of adequate substitution therapy [11]. In our patient we established primary hypothyroidism and introduced substitution therapy with 50 µg of levothyroxine, which resulted in achievement of euthyroid state. In patients with an enlarged thyroid gland who have increased TSH concentration, therapy with levothyroxine can produce favorable effects. During this therapy, size reduction of the thyroid gland can be recorded. We noted decreased size of the thyroid gland during a check-up examination after the patient reached euthyroid state.

From the aspect of further optimal therapeutic treatment there are no clear standpoints, especially having in mind that we present a rare disease. If the lingual thyroid gland is without any symptomatology with regard to the localization and with no functional disorders, there is no need for further treatment [10]. It should not be neglected that the ectopic thyroid gland can be accompanied by all diseases like in a normally localized thyroid gland. However, the literature also reported description of possible malignant transformation; therefore some authors advise total thyroidectomy to be performed [12, 13].

In cases that are completely asymptomatic and euthyroid, it is necessary to further observe the patient in order to exclude potential enlargement or the occurrence of complications (ulcerations, bleeding, cystic degeneration or the development of malignancy).

The existence of ectopic lingual thyroid gland is rare. If it is asymptomatic, it is most frequently diagnosed in adulthood, usually like a coincidental finding during the application of contemporary diagnostic procedures. The finding of ectopically placed thyroid gland on the tongue base is possible to be mistaken for a tumor process, therefore wishing to obtain pathohistological verification it is possible to indicate the biopsy of this change. That could be followed by numerous complications. Thyroid gland scintigraphy plays an important role in passing the final diagnosis.

The factors that can have an influence upon assuming an attitude about the selection of treatment are the following: general condition of the patient, age, the size of ectopic thyroid gland and existence of local symptomatology or complications.

REFERENCES

1. Toso A, Colombani F, Averono G, Aluffi P, Pia F. Lingual thyroid causing dysphagia and dyspnoea. Case reports and review of the literature. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2009; 29(4):213-7.
2. Pelizzo MR, Torresan F, Grassetto G, Briani G, Marzola MC, Rubello D. Imaging identifies submandibular ectopic thyroid tissue. *Clin Nucl Med.* 2011; 36(8):728-30.
3. Cassol CA, Noria D, Asa SL. Ectopic thyroid tissue within the gallbladder: case report and brief review of the literature. *Endocr Pathol.* 2010; 21:263-5.
4. Ghanem N, Bley T, Althoefer C, Högerle S, Langer M. Ectopic thyroid gland in the porta hepatis and lingua. *Thyroid.* 2003; 13:503-7.
5. Babazade F, Mortazavi H, Jalalian H, Shahvali E. Thyroid tissue as a submandibular mass: a case report. *J Oral Sci.* 2009; 51:655-7.
6. Mysorekar VV, Dandekar CP, Sreevathsa MR. Ectopic thyroid tissue in the parotid salivary gland. *Singapore Med J.* 2004; 45:437-8.
7. Kutz M, Vila JJ, Urman JM, Garaigorta M, Guinduláin E, Tarifa A, et al. Ectopic retroperitoneal thyroid gland. *Gastroenterol Hepatol.* 2012; 35(6):400-3.
8. Shah BC, Ravichand CS, Juluri S, Agarwal A, Pramesh CS, Mistry RC. Ectopic thyroid cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2007; 13:122-4.
9. Rahbar R, Yoon MJ, Connolly LP, Robson CD, Vargas SO, McGill TJ, et al. Lingual thyroid in children: a rare clinical entity. *Laryngoscope.* 2008; 118(7):1174-9.
10. Noussios G, Anagnostis P, Goulis DG, Lappas D, Natsis K. Ectopic thyroid tissue: anatomical, clinical, and surgical implications of a rare entity. *Eur J Endocrinol.* 2011; 165(3):375-82.
11. Singhal P, Sharma KR, Singhal A. J Lingual thyroid in children. *Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2011; 29(3):270-2.
12. Hari CK, Kumar M, Abo-Khatwa MM, Adams-Williams J, Zeitoun H. Follicular variant of papillary carcinoma arising from lingual thyroid. *Ear Nose Throat J.* 2009; 88(6):E7.
13. Kennedy TL, Riefkohl WL. Lingual thyroid carcinoma with nodal metastasis. *Laryngoscope.* 2007; 117(11):1969-73.

Дисфункционална ектопична штитаства жлезда – приказ болесника

Едита Стокић^{1,2}, Владимир Кљајић^{1,3}, Стеван Иђушки^{1,4}, Дамир Бенц^{1,2}, Ђорђе Поповић^{1,2}, Млађан Протић^{1,5}, Вељко Црнобрња^{1,6}

¹Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду, Нови Сад, Србија;

²Клиника за ендокринологију, дијабетес и болести метаболизма, Клинички центар Војводине, Нови Сад, Србија;

³Клиника за болести ува, грла и носа, Клинички центар Војводине, Нови Сад, Србија;

⁴Центар за радиологију, Клинички центар Војводине, Нови Сад, Србија;

⁵Клиника за абдоминалну, ендокрину и трансплантациону хирургију, Клинички центар Војводине, Нови Сад, Србија;

⁶Одељење за нуклеарну медицину, Клинички центар Војводине, Нови Сад, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Језична штитаства жлезда је ретка аномалија у развоју штитастве жлезде која се чешће јавља код особа женског пола. Уколико изазива локалне сметње, као што су дисфагија, дисфонија или диспнеја, открива се у детињству, али уколико је асимптоматска, обично се дијагностикује у одраслом добу.

Приказ болесника Приказали смо двадесеттворогодишњу болесницу код које је језична штитаства жлезда откривена случајно, током дијагностичких процедура придружене болести. Сцинтиграфском методом помоћу радиоактивног јода (¹³¹I) приказано је овално поље интензивне акумулације радиофармака у пределу средње фацијалне линије,

око базе језика, уз изостанак штитастве жлезде у свом уобичајеном анатомском положају. Функционално испитивање је указало на примарни хипотиреоидизам, те је започета супституциона терапија. Примена левотироксина је довела до еутиреоидног стања болеснице и смањења величине штитастве жлезде.

Закључак Приказана је веома ретка аномалија штитастве жлезде о чијем даљем лечењу досад није било јасних ставова. Опште стање болесника, величина ектопичне штитастве жлезде и постојање локалне симптоматологије или компликација јесу чиниоци који утичу на избор начина лечења.

Кључне речи: ектопична штитаства жлезда; језична штитаства жлезда; аномалије штитастве жлезде

Low Estriol Levels in the Maternal Marker Screen as a Predictor of X-Linked Adrenal Hypoplasia Congenita: Case Report

Jasmina Durković¹, Tatjana Milenković², Nils Krone³, Silvia Parajes³, Bojana Mandić⁴

¹Department of Genetics, Hospital Subotica, Subotica, Serbia;

²Department of Endocrinology, Institute for Mother and Child Health Care of Serbia "Dr Vukan Čupić", Belgrade, Serbia;

³School of Clinical and Experimental Medicine, University of Birmingham, Birmingham, United Kingdom;

⁴MegaLab Biochemical Laboratory, Subotica, Serbia

SUMMARY

Introduction X-linked adrenal hypoplasia congenita (AHC) is a rare cause of adrenocortical insufficiency. Early postnatal diagnosis may prevent severe hypoglycemia, Addisonian crises and death. Low maternal estriol (E3) levels in the second trimester of pregnancy could indicate the possibility that the fetus suffers from a disorder that causes adrenal insufficiency. Suspicion is based on the fact that E3 originates from dehydroepiandrosterone (DHEA) synthesized in the fetal adrenals. In case of adrenal insufficiency, the impaired production of fetal DHEA leads to a subsequent reduction of E3 concentrations in maternal serum. There are only a few reports of AHC suspected prenatally due to low maternal E3 levels.

Case Outline We describe two brothers with adrenal insufficiency due to AHC. The older brother was admitted to the hospital at the age of 33 days due to failure to thrive, vomiting, and dehydration. Genetic analysis revealed a hemizygous mutation in DAX-1 gene, thus confirming the diagnosis of AHC. The same mutation was detected in his mother. In the second pregnancy, E3 concentrations were determined from maternal serum. Estriol levels during the second trimester were extremely low suggesting the diagnosis of AHC. The diagnosis was confirmed during the neonatal period by genetic testing, and replacement therapy was started at the age of 10 days. This boy never experienced an adverse episode such as hypoglycemia or adrenal crises.

Conclusion Since determination of E3 is a simple, sensitive, noninvasive and cheap method, its use as an obligatory prenatal screening test should be accepted as a standard practice in Serbia.

Keywords: free estriol in maternal serum; prenatal diagnosis; X-linked adrenal hypoplasia congenita

INTRODUCTION

X-linked adrenal hypoplasia congenita (AHC) is a rare cause of adrenocortical insufficiency. One per 12,500 newborns suffers from adrenal hypoplasia congenita. As in other X-linked disorders, the mother is almost always a healthy carrier and the risk for the male offspring being affected is 50%. Patients often present in infancy with failure to thrive or repeated vomiting, although presentations are very variable. Early diagnosis of AHC is extremely important, as death in the neonatal period appears to be common when the condition remains unrecognized. Prenatal diagnosis can be established by genetic testing or by low E3 concentrations in maternal serum in the second trimester of pregnancy.

During pregnancy, the main site of estrogen synthesis is the placenta, while estriol is its primary product. More than 90% of estriol in the maternal blood derives from the fetal adrenal cortex precursors C-19 DHEA [1]. The fetal adrenals synthesize dehydroepiandrosterone (DHEA) which undergoes hydroxylation into 16-hydroxydehydroepiandrosterone (16-OH DHEA) in the fetal liver. In the placenta, fetal 16-OH DHEA firstly becomes hydrolyzed under the influence of placental CYP17A1 en-

zyme. 16 α -OH DHEA is then aromatized into estriol due to the activity of CYP19A1. Estriol flows into the bloodstream of the mother and fetus. In the liver, estriol is metabolized into conjugated forms, sulfates and glucuronides. Only unconjugated (free) estriol can be found in maternal serum. The conjugated form is excreted in urine (Figure 1). As the fetal adrenal cortex grows, the production of estriol and concentration in maternal serum grows too, as well as the amount excreted by urine. E3 is measurable from the 9th week of pregnancy and is present until the term. Decreased estriol concentration by more than 40% is considered significant suggesting fetal pathology. At the beginning of pregnancy, the synthesis of DHEA-SO₄ in the fetal adrenal cortex is not dependent on the production of ACTH. Only from the second trimester of pregnancy fetal adrenal function becomes dependent of ACTH [2].

A significant number of different disorders that cause primary or secondary adrenal insufficiency as well as disorders in the placental function (such as aromatase deficiency) can lead to a decrease of E3 concentration in maternal serum. Low E3 levels are also found in pregnancies with trisomy 21, trisomy 13 and 18, and are used during prenatal screening for

Correspondence to:

Jasmina DURKOVIĆ
Department of Genetics
Hospital Subotica
Izvorska 3, 24000 Subotica
Serbia
jasminadurkovic@gmail.com

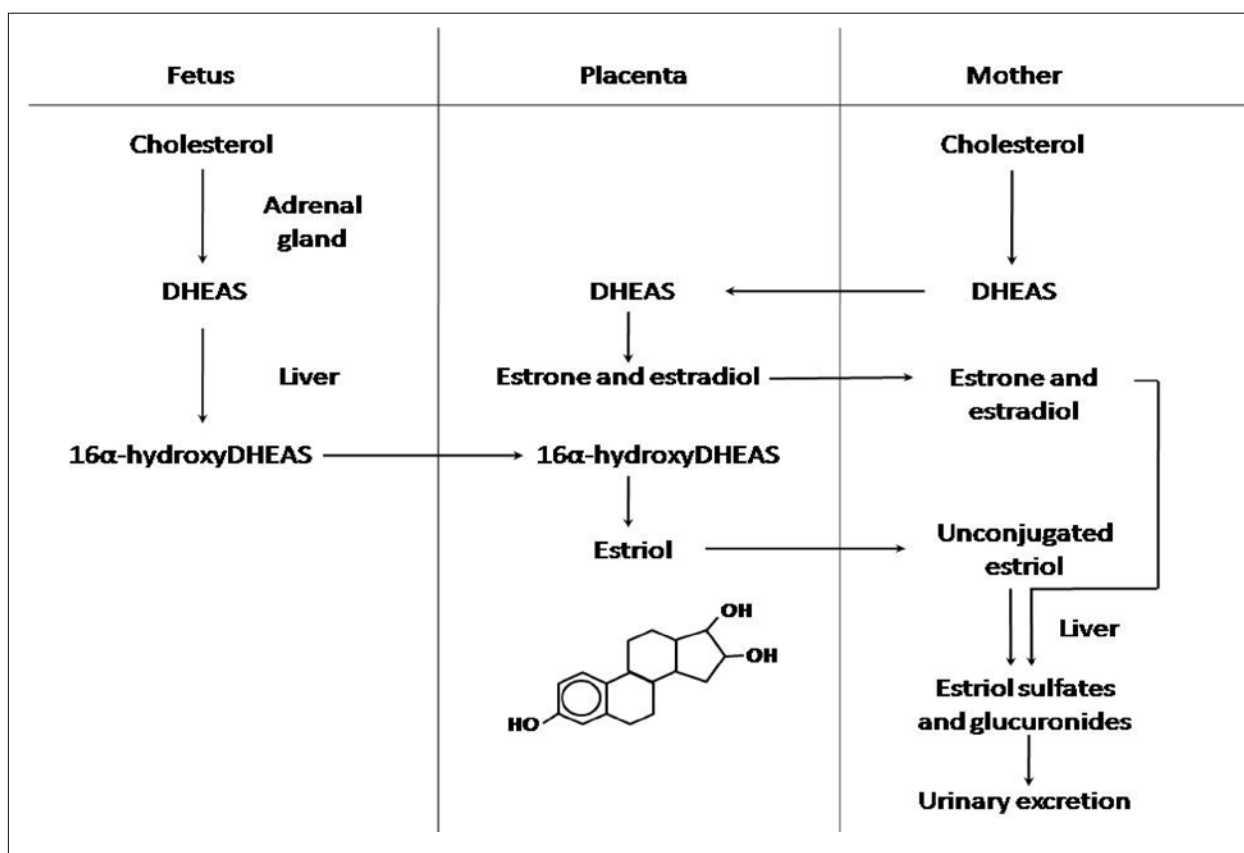


Figure 1. Fetal estriol synthesis

chromosomal anomalies during the second trimester of pregnancy [3]. In addition, the analysis of E3 concentrations from maternal serum can indicate fetal well-being [4]. E3 concentrations are monitored in high-risk pregnancies, such as the pregnancies of mothers with diabetes, hypertension and preeclampsia [5]. In the third trimester, a low E3 concentration can indicate fetal intrauterine growth restriction [6]. Fetal adrenal insufficiency should always be considered in the case of low E3 and a positive family history for AHC, especially if fetal sonography and karyotype are normal fetal sex male. If there is a prenatal suspicion of deficient fetal steroidogenesis, ACTH test and other investigations should be done in early neonatal period and diagnosis established in time to prevent severe hypoglycemia or adrenal crisis.

CASE REPORT

Healthy and unrelated parents were referred for genetic counseling because their first-born son was diagnosed with AHC. The 24-year-old mother was in the 13th week of her second pregnancy. She denied any drug ingestion during pregnancy or the occurrence of virilization. She was normotensive. There was a clinical suspicion of AHC in her firstborn at the age of one month. The diagnosis was confirmed by genetic testing. This boy (proband) was diagnosed with the mutation in *DAX1* gene [7]. Further investigations revealed that the mother was an asymptomatic carrier of a *DAX1* gene mutation. During her next preg-

nancy, due to a high risk of adrenal cortex insufficiency in the fetus, we planned appropriate prenatal testing. Since prenatal genetic testing was unavailable, we opted to determine E3 in maternal serum. The first trimester screening for chromosomal anomalies was performed; pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A) 1.6 mIU/ml (0.85 MoM) and free beta-human chorionic gonadotropin (free beta HCG) 32.6 ng/ml (0.90 MoM) were normal. Estriol concentration in the 23rd week of gestation was exceptionally low (0.7 ng/ml) (reference range 2.3 to 6.4 ng/ml). Estriol that was repeated in the 28th week of gestation was also extremely low (0.8 ng/ml; 2.3-7.7 ng/ml). Placental insufficiency as a potential cause of low E3 concentrations was excluded as human placental lactogen was normal in the 28th week. The ultrasound testing was satisfactory and the mother was pregnant with a male child. Due to a positive family history and normal fetal karyotype, it was highly likely that the low E3 levels were caused by fetal adrenal cortex insufficiency due to congenital adrenal hypoplasia. The delivery was without complications. At the age of 10 days, the following tests were carried out: K 6.2 mmol/l (4.1–5.6), Na 127 mmol/l (136–146), Cl 96 mmol/l (95–112), pH of blood 7.40, ACTH 1250 pg/ml (10–185), cortisol 74.8 nmol/l (190.4–579.4), plasma renin activity (PRA) >500 mIU/ml (2.8–39.9), 17-OH-progesterone 2.6 ng/ml (0.0–8.0) and DHEA-SO₄ 15.0 μ g/dl (37–224). Other biochemical and ultrasonographic tests were within the normal range. Based on the extremely high level of ACTH and PRA, very low level of cortisol, low level of DHEA-SO₄ and normal level of 17-OH-progesterone, the

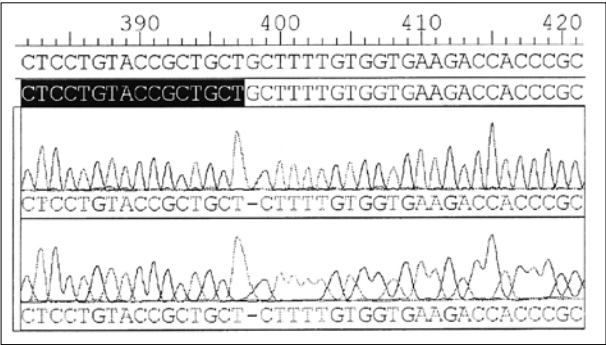


Figure 2. Representation of the child's DNA analysis, *DAX1* gene mutation on a chromosome Xp21 g398delG, C133fsX263

diagnosis of AHC was suspected and replacement therapy with hydrocortisone and fludrocortison was initiated. Genetic testing confirmed the same mutation in the *DAX1* gene as it had been detected in the older brother. The genetic analysis showed a deletion of one base pair in exon of *DAX1* gene (g398delG) which could lead to a frameshift and a premature stop codon at amino acid position 263 of the *DAX1* protein (Figure 2).

DISCUSSION

The analyses of free E3 levels, alpha-fetoprotein (AFP) and human chorionic gonadotropin (beta HCG) in the maternal serum have been performed as a part of the screening in the second trimester of pregnancy [8]. Although low E3 concentrations can be found in trisomy 13, 18 and 21, they are not as useful marker for chromosomopathies as PAPP-A protein and free beta HCG performed in the first trimester, which have a much higher sensitivity for chromosomopathies [9]. Recently, E3 has gained its significance as a biomarker for fetal and placental function. The importance of E3 in prenatal diagnosis of other diseases is currently being explored [10].

Very low E3 concentrations detected in cases of fetal death, serious placental insufficiency or congenital disorders of fetal adrenal cortex are of particular significance [11]. 1. Glucocorticoid therapy of pregnant women should be ruled out since dexamethasone can pass the placenta and suppress fetal adrenal cortex. 2. Steroid sulfatase deficiency occurs in X-linked ichthyosis. The deficient enzyme prevents the conversion of precursors into estriol. Therefore, E3 concentrations in the maternal serum are barely measurable, while elevated estriol precursors such as 16-OH-DHEA can be observed [12]. 3. Very low estriol is also registered in placental aromatase deficiency that results in androgen excess, virilization of the mother and the female fetus. 4. Diseases such as congenital lipid adrenal hyperplasia, 17 α -hydroxylase deficiency, P450 oxidoreductase deficiency and AHC, in which the production of DHEA-SO4 is extremely low or absent, can result in very low E3 concentrations [13]. 5. ACTH deficiency as a part of congenital hypopituitarism as well as the resistance to ACTH receptor can result in a reduced or absent synthesis of adrenal steroids and decreased level of E3 [14].

Table 1. Etiology of low level of fetal estriol in maternal serum

Fetus	Fetal death
	Adrenal hypoplasia
	SLOS
	LAH
	17 α -hydroxylase deficiency
	ACTH deficiency (hypopituitarism)
	Resistance to ACTH
Placenta	Trisomy 13, 18 and 21
	Insufficiency
	Steroid sulfatase deficiency
Mother	Aromatase deficiency
	Glucocorticoid therapy during pregnancy

SLOS – Smith-Lemli-Opitz syndrome; LAH – lipid adrenal hyperplasia; ACTH – adrenocorticotrophic hormone

Adrenal insufficiency can occur in disorders of cholesterol synthesis, such as rarely encountered Smith-Lemli-Opitz syndrome. Apart from adrenal cortex insufficiency, these patients are often diagnosed with multiple congenital anomalies and severe intellectual disability [15].

In daily practice, the interpretation of very low E3 concentrations from maternal serum is not simple. In such cases, a fetal karyotype should be obtained as a first step due to known risk for chromosomal anomalies. If the karyotype is normal, other causes of decreased estriol synthesis should be investigated. These causes can be divided into three groups: fetal, placental and maternal (Table 1). A history of hereditary diseases and consanguinity should be sought as well as any history of drug ingestion during pregnancy or the occurrence of maternal virilization during pregnancy. Meticulous fetal and placental ultrasound testing is of paramount importance. In the case of low E3 levels, workup must include measurement of DHEA-SO4 in the maternal serum and urine.

Low E3 concentrations can be indicative of decreased function of the fetal adrenal cortex. Other centers report similar experiences with prenatal biochemical screening [14, 15]. It enables the pediatric endocrinologist to directly assess the fetal adrenal cortex function shortly after birth. The early detection of fetal adrenal cortex insufficiency enables timely replacement therapy with glucocorticoids and, if necessary, mineralocorticoids before life-threatening acute adrenal crisis becomes apparent.

If congenital disorders of the adrenal cortex remain unrecognized, there is a substantial risk of lethal outcome. Determining E3 in maternal serum is a noninvasive and cheap method which can reveal disorders in fetal steroidogenesis. Therefore we suggest that this kind of analysis should be introduced into screening during the second and third trimester of pregnancy in Serbia.

ACKNOWLEDGMENT

For the purpose of this research all data were generated using Immulite 1000 analyser and Immulite 1000 Unconjugated Estriol reagent, both manufactured by Siemens Healthcare Diagnostics Inc.

REFERENCES

1. Fritz MA, Speroff L. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2010.
2. Buster J, Carson S. Endocrinology and diagnosis of pregnancy. In: Gabbe S, Niebyl J, Simpson J. Obstetrics – Normal and Problem Pregnancies. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2002. p.3-36.
3. Breathnach FM, Malone FD, Lambert-Messerlian G, Cuckle HS, Porter TF. First and second trimester screening: detection of aneuploidies other than Down syndrome. *Obstet Gynecol.* 2007; 110:651-7.
4. Yaron Y, Cherry M, Kramer RL, Briten JE, Hallah M, Johnson MP, et al. Second trimester maternal serum marker screening: Maternal serum alpha-fetoprotein, beta human chorionic gonadotropin, estriol and their various combinations as predictors of pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 1999; 181:968-74.
5. Begum R. Diabetes in pregnancy and its management. *Orion Medical Journal.* 2008; 29:524-7.
6. Murphy VE, Smith R, Giles WB, Clifton VL. Endocrine regulation of human fetal growth: the role of the mother, placenta and fetus. *Endocr Rev.* 2006; 27:141-69.
7. Reutens A, Achermann J, Ito M, Gu W, Habiby R, Donohoue P, et al. Clinical and functional effects of mutations in the DAX-1 gene in patients with adrenal hypoplasia congenita. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84:504-11.
8. Canick JA, MacRae AR. Second trimester serum markers. *Semin Perinatol.* 2005; 29:203-8.
9. Spencer K, Spencer CE, Power M, Dawson C, Nicolaides KH. Screening of chromosomal abnormalities in the first trimester using ultrasound and maternal serum biochemistry in a one-step clinic: a review of three years prospective experience. *Br J Obstet Gynaecol.* 2003; 110:281-6.
10. Gagnon A, Wilson RD, Audibert F, Allen VM, Blight C, Brock JA. Obstetrical complications associated with abnormal maternal serum markers analytes. *J Obstet Gynaecol Can.* 2008; 30:918-49.
11. Schleifer RA, Bradley LA, Richards DS, Ponting NR. Pregnancy outcome for women with very low levels of maternal serum unconjugated estriol on second trimester-screening. *Am J Obstet Gynecol.* 1995; 173:1152-6.
12. Langlois S, Armstrong L, Gall K, Livingston J. Steroid sulfatase deficiency and contiguous gene deletion syndrome amongst pregnant patients with low serum unconjugated estriol. *Prenat Diagn.* 2009; 29:966-74.
13. Jean A, Mausukhami M, Olerfield SE, Fennoy I, Nakamoto J, Atwan M. Prenatal diagnosis of congenital lipoid adrenal hyperplasia (CLAH) by estriol amniotic fluid analysis and molecular genetic testing. *Prenat Diagn.* 2008; 28:11-4.
14. Weintrob N, Drouin J, Vallete KS, Taub E. Low Estriol levels in the maternal triple marker screen as a predictor of isolated adrenocorticotrophic hormone deficiency caused by a new mutation in the TPIT gene. *Pediatrics.* 2006; 117:322-7.
15. Shackleton C, Roitman E, Kratz L, Kelley R. Dehydro-oestriol and dehydropregnenetriol are candidate analytes for prenatal diagnosis of Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Prenat Diagn.* 2001; 21:207-12.

Низак ниво естриола у серуму мајке одређен у оквиру пренаталног скрининга као предиктор Х-везане конгениталне адrenalне хипоплазије – приказ болесника

Јасмина Дурковић¹, Татјана Миленковић², Нилс Кроне³, Силвиа Парајес³, Бојана Мандић⁴

¹Одељење за генетику, Болница, Суботица, Србија;

²Одељење за ендокринологију, Институт за здравствену заштиту мајке и детета Србије „Др Вукан Чулић“, Београд, Србија;

³Факултет за клиничку и експерименталну медицину, Универзитет у Бирмингему, Бирмингем, Велика Британија;

⁴Биохемијска лабораторија *MegaLab*, Суботица, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Х-везана конгенитална адrenalна хипоплазија је ре-
дак узрок адренокортикалне инсуфицијенције. Рана пост-
натална дијагноза може спречити тешку хипогликемију,
Адисонову кризу и смрт. Низак ниво естриола (Е3) у серуму
мајке у другом триместру трудноће може да укаже на адре-
налну инсуфицијенцију код плода. У поремећајима који до-
воде до адrenalне инсуфицијенције производња *DHEA* је
смањена, што за последицу има снижен ниво Е3 у серуму
мајке. Досад је објављено свега неколико радова о сумњи
на Х-везану конгениталну адrenalну хипоплазију у прена-
талном добу због изузетно ниског нивоа Е3 у серуму мајке.

Приказ болесника Приказана су два брата с адrenalном
инсуфицијенцијом као последицом Х-везане конгениталне
адrenalне хипоплазије. Старији брат је болнички лечен као

одојче узраста од 33 дана због ненапредовања, повраћања
и дехидратације. Генетичко испитивање је открило мутацију
у гену *DAX-1* и потврдило Х-везану конгениталну адrenalну
хипоплазију. Иста мутација је откривена код мајке. У следе-
ћој трудноћи ниво естриола измерен у другом триместру
је био изузетно низак, што је указивало на могућност кон-
гениталне адrenalне хипоплазије. Дијагноза је потврђена
генетичким испитивањем новорођенчета. Супституциона
терапија је започета у узрасту од десет дана, чиме су спре-
чене хипогликемија и адrenalна криза.

Закључак Будући да је одређивање Е3 у серуму мајке јед-
ноставна, сензитивна, неинвазивна и јефтина метода, пре-
поручујемо да се уведе као метода скрининга у трудноћи.

Кључне речи: естриол у серуму мајке; пренатална дијагно-
за; Х-везана конгенитална адrenalна хипоплазија

Примљен • Received: 17/04/2012

Ревизија • Revision: 28/03/2014

Прихваћен • Accepted: 25/07/2014

Oligomeganephronia: Case Report and Literature Review

Xiang-dong Yang, Weiwei Shi, Dengren Li, Tao Peng

Department of Nephrology, Shandong University Qilu Hospital, Jinan, China

SUMMARY

Introduction Oligomeganephronia (OMN) is one of rare congenital kidney disease. The number of nephrons reduces and the volume of glomerulus increases. The incidence of OMN is uncertain because it is difficult to diagnose. There are no any special clinical manifestations of OMN. Renal pathology is the only way to diagnose OMN, so missed diagnosis always happens without renal pathology.

Case Outline A 26-year-old male was diagnosed OMN associated with proteinuria and increased serum creatinine. The size of both kidneys on ultrasound was smaller than normal. Pathological features involved a reduced number of greatly enlarged glomeruli indicating OMN.

Conclusion OMN is a rare disease and it has been rarely reported. The exact mechanism is not clear. The diagnosis mainly depends on pathological findings. For patients with OMN, proteinuria and renal dysfunction are often the main cause to visit a doctor. Early diagnosis is important.

Keywords: oligomeganephronia; renal pathology; diagnosis

INTRODUCTION

Oligomeganephronia (OMN) is a rare congenital renal hypoplasia [1, 2] featuring a reduced number of nephrons and increased glomerular volume. For patients with OMN, proteinuria and renal dysfunction are often the main cause to visit a doctor. The final outcome of patients with OMN is inevitably the end stage renal disease (ESRD). The incidence of OMN is uncertain because it is difficult to diagnose. There are no any special clinical manifestations in patients with OMN. Renal pathology is the only way to diagnose OMN, so missed diagnosis always happens without renal pathology.

We report an episode of OMN associated with proteinuria and increased serum creatinine. The size of both kidneys on ultrasound was smaller than normal. The pathological features were diagnosed based on the reduced number of greatly enlarged glomeruli indicating OMN. We also discuss the topic as reported in the medical literature.

CASE REPORT

A 26-year-old male was admitted to Qilu Hospital with proteinuria and increased serum creatinine. He had a history of proteinuria lasting for two years and increased serum creatinine lasting for ten days. He did not have a history of hypertension, diabetes mellitus, systemic lupus erythematosus, hepatitis and tuberculosis.

At the time of admission, his blood pressure (BP), heart rate and temperature were normal. His examination did not reveal any petechiae, ecchymoses or peripheral edema.

On admission, blood urine nitrogen (BUN) was 11.15 mmol/L, serum creatinine (SCr) 160 μ mol/L, and creatinine clearance rate (Ccr) 62.11 ml/min. Microalbumin, IgG, and β_2 -microglobulin (β_2 MU) in urine was 242 mg/L, 24.6 mg/L (0-14) and 3.90 mg/L (0-0.22), respectively.

Anti-streptococcal antibodies, anti-glomerular basement membranous antibodies, anti-double stranded DNA antibodies, anti-nuclear antibodies, anti-Sm antibodies, anti-SSA antibodies, anti-SSB antibodies, anti-Scl-70 antibodies, anti-PM-SCL antibodies, anti-Jo-1 antibodies and anti-CEN-P antibodies were all normal. At the same time, the prothrombin time, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase, immunoglobulin G, immunoglobulin A, immunoglobulin M, complement 3 and complement 4 were also within the normal range. Perinuclear and anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (P-ANCA and C-ANCA) were normal as well.

The size of both kidneys was smaller than normal (left 9.7 $\times$ 3.8 cm, right 9.0 $\times$ 3.1 cm). The cortex and medulla of both kidneys on ultrasound were not clear. There was no any caliectasis and pyelectasis in both kidneys and obvious dilatation in the bilateral ureters. The electrocardiogram was normal.

After admission, the patient immediately underwent kidney biopsy using a Super Core biopsy instrument (16g $\times$ 15 cm, Medical Device Technologies, INC). We obtained two biopsy specimens, and each specimen about 1 cm long contained 100% cortex with 6 glomeruli. On light microscopy (Figures 1 and 2), the mean diameter of the glomerulus was about 305 μ m, which was approximately 1.5 times larger than normal, and the mean glomerular

Correspondence to:

Tao PENG
Department of Nephrology
Shandong University Qilu Hospital
Jinan 250012
P.R.C.
sesame_oil@126.com

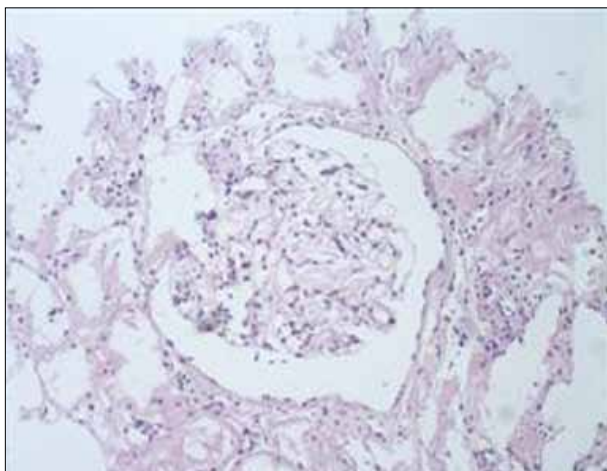


Figure 1. Hematoxylin-eosin staining of glomerulus (x200)

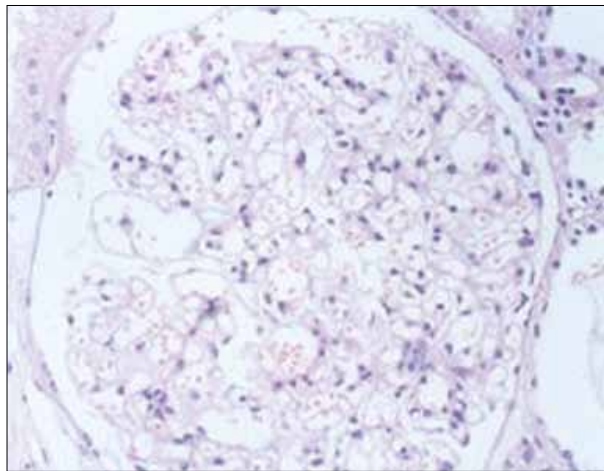


Figure 2. Hematoxylin-eosin staining of glomerulus (x400)

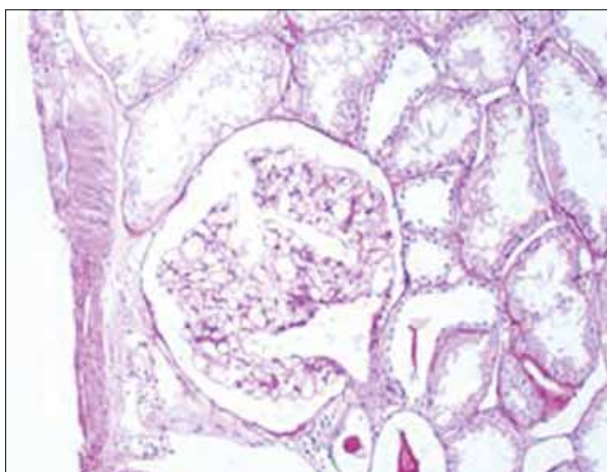


Figure 3. Periodic acid-Schiff staining of glomerulus (x200)

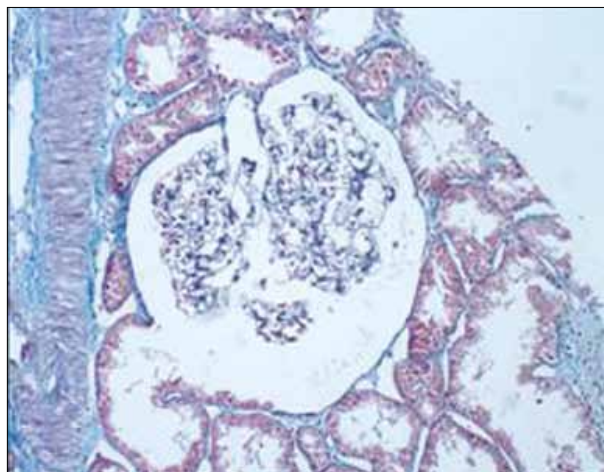


Figure 4. Masson staining of glomerulus (x200)

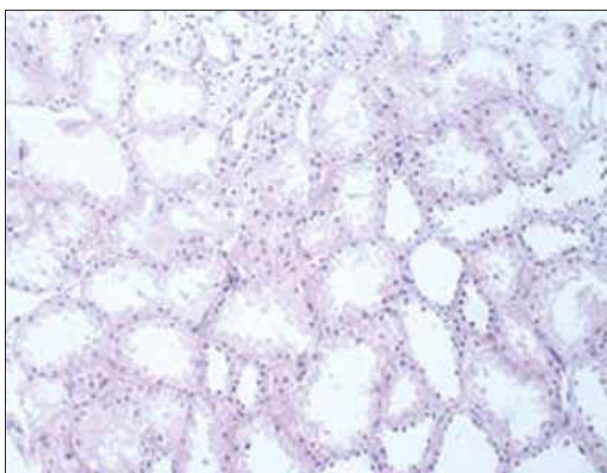


Figure 5. Hematoxylin-eosin staining of glomerulus (x200)

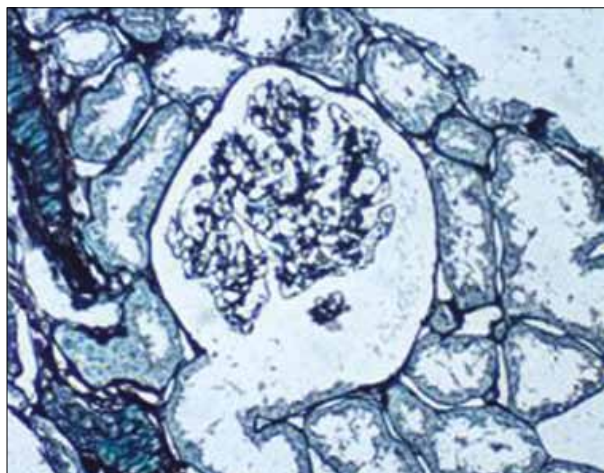


Figure 6. Methenamine silver staining of glomerulus (x200)

volume was about 3.37 times larger than normal. There was no increase in the mesangial matrix of normal morphology. Immunofluorescence of IgA, IgG, C3, fibrinogen, IgM and C1q were all negative. There was no increase in the glomerular capillary wall thickness by Periodic Acid-Schiff (PAS) staining (Figure 3), and no significant complex red protein deposition in the kidney biopsy specimen as determined by Masson staining (Figure 4).

The kidney specimen did not show any tubular injury and had normal tubular epithelial cells. There were no casts in the renal tubular lumen. Interstitial small arteries were all normal. However, the kidney specimen featured interstitial edema, small focal fibrosis and inflammation (Figure 5). Methenamine silver staining is shown in Figure 6.

The diagnosis of OMN was established according to clinical manifestations, imaging findings and renal pathological

features. The patient's OMN was immediately treated with supportive and other therapeutic measures. After ten days, the patient was discharged with decreased serum creatinine and proteinuria than that disclosed on admission.

DISCUSSION

OMN was first reported in 1962 by Royer et al. [3] and Habib et al. [4], as a congenital disease characterized by renal hypoplasia. OMN is a congenital anomaly of bilateral renal hypoplasia, histopathologically featuring a reduction in the number of nephrons and markedly enlarged glomeruli, so the final diagnosis of OMN is based on renal pathologic findings. OMN is one of the reasons that lead to ESRD and so far is rarely reported worldwide [5]. The mechanism of OMN can be either associated with patients' hereditary characteristics, or associated with the nuclear transcription factor PAX2 [6] or the gene mutation of cell transcription factor TCF2 [7]. Perhaps, OMN is one of some clinical manifestations of a certain kind of particular disease [8]. Currently, there is no effective treatment and preventive measures for OMN because of unclear mechanism. Regular follow-up is needed.

Patients with OMN are often born with a lower birth weight than a normal newborn. In the neonatal period, it can appear with one or more of the following abnormalities: pneumothorax, feeding difficulties, metabolic poisoning and excessive urinary sodium, etc. More than fifty percent of children with OMN experience weak constitution in babyhood. Children with OMN aged below one year can also have growth retardation unrelated to kidney function [9, 10]. A vast majority of patients with OMN show first clinical manifestations before the age of 20, accounting for 62.5% [11]. Our patient was born with BW of 3.0 kg, which is within the normal range, and there were no any abovementioned symptoms during his neonatal and infancy periods. The ages when proteinuria and elevated serum creatinine are diagnosed for the first time are 24 years and 26 years, respectively.

The common clinical manifestation in patients with OMN is asymptomatic proteinuria. As the disease progresses, serum creatinine increases. There are some clinical manifestations of impaired renal tubular function in some patients with OMN, for example, polydipsia and polyuria [12]. The volume of kidneys is normal in some patients, but there are also reports of decreased renal size. Regarding our patient, proteinuria was the first clinical manifestation, and two years later serum creatinine increased. After admission, we found that some indicators reflecting renal tubular function were also increased, for example IgG and β_2 MU, and not just proteinuria and serum creatinine. In the present patient, the specific gravity of urine was lower than normal, which was different from other reports [13]. The size of both kidneys was smaller than normal (left 9.7×3.8 cm, right 9.0×3.1 cm), and the thickness of renal parenchyma was 1.1 cm (left) and 0.9 cm (right), respectively.

The necessary condition to diagnose OMN is that the kidney pathology examination reveals increased glomeru-

lar diameter and volume. In our patient, each of both renal tissues contained six glomeruli coming from the cortex, which met with the standards. Histopathology revealed that the average diameter of glomerulus was 1.5 times larger than the diameter of normal glomerulus and the average volume of glomerulus was 3.37 times larger than normal according to the Weibe-Gomez MG formula $V(G)=A^{1.5}(G)\times 1.38/1.01$ (V, G, A is the abbreviation of volume, glomerulus and area). All abovementioned met the diagnostic criteria of OMN.

The cause of scarce glomeruli is not yet clearly known, including some hypotheses: the first one is that the renal embryonic gene and its product regulating the development of the kidney with the inadequate embryonic development of the nephron; others are placental shunts, intravascular coagulation, low birth weight and intrauterine growth retardation. There are also cases due to genetic disorders, like 4p monosomy, PAX-2 gene mutations and hepatocyte nuclear factor-1 (HNF-1) mutations carriers, and the mechanism is perhaps also closely related with maternal age and the intrauterine environment [14]. In order to adapt the body to discharge the metabolites, scarce glomeruli must undertake the overload of work, resulting in high pressure, high perfusion and high filtration. After a long time, the diameter and volume of glomeruli change to larger than normal to meet body needs. The result is the damage of glomerular basement membrane, development of proteinuria and decreased kidney function. All changes ultimately result in glomerular sclerosis and end-stage renal disease. In this process, not only glomerulus appears with increased volume and sclerosis, but also renal interstitial and tube become impaired [7, 12, 15]. However, there are no any changes in glomerular mesangial cells. In our patient, the volume of glomeruli increased and the renal tube was impaired, but mesangial cells and matrix were normal.

The differential diagnosis is very important for diagnosing OMN. The increased glomeruli are always found in some other diseases in pathological diagnosis, such as obesity-related nephropathy [16, 17] and diabetic nephropathy [18, 19]. But the volume of glomeruli is no more than twice the normal, and there are special changes in the mesangial district and clinical manifestations in other organs beside the kidney. OMN belongs to the secondary focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) [20] in pathology, and it is necessary to distinguish OMN from idiopathic FSGS. The number of glomeruli is normal and the homogeneous degree of glomerular volume is not good in idiopathic FSGS. There is always glomerular sclerosis which is helpful in the differential diagnosis [21, 22, 23].

There is no special therapeutic measure for OMN. Regarding the "three high" in the pathogenesis of OMN, whether the application of ARB or ACEI drugs is effective [24, 25], there are no clinical reports, and we are also still observing effects on our patient.

In summary, reports on OMN are rare, and we do not know the exact mechanism of it. Our aim is to stimulate the majority of medical personnel to get concerned about this disease. The diagnosis and treatment of OMN need further study.

REFERENCES

1. Morita T, Wenzl J, McCoy J, Porph J, Kimmelstiel P. Bilateral renal hypoplasia with oligomeganephronia: quantitative and electron microscopic study. *Am J Clin Pathol.* 1973; 59(1):104-12.
2. Drukker A. Oligonephropathy: from a rare childhood disorder to a possible health problem in the adult. *Isr Med Assoc J.* 2002; 4(3):191-5.
3. Royer P, Habib R, Mathieu H, Courtecuisse V. Congenital bilateral renal hyperplasia with reduction of the number and hypertrophy of the nephrons in children. *Ann Pediatr (Paris).* 1962; 9:133-46.
4. Habib R, Courtecuisse V, Mathieu H, Royer P. A peculiar anatomoclinical type of chronic renal insufficiency in the child: bilateral congenital oligonephronic hypoplasia. *J Urol Nephrol (Paris).* 1962; 68:139-43.
5. Abdelraheem M, Watson AR, McCulloch TA. Oligomeganephronia: an unexpected cause of chronic renal failure. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2004; 15(1):53-6.
6. Schimmenti LA. Renal coloboma syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2011; 19(12):1207-12.
7. Zaffanello M, Brugnara M, Franchini M, Fanos V. TCF2 gene mutation leads to nephro-urological defects of unequal severity: an open question. *Med Sci Monit.* 2008; 14(6):RA78-86.
8. Salomon R, Tellier AL, Attie-Bitach T, Amiel J, Vekemans M, Lyonnet S, et al. PAX2 mutations in oligomeganephronia. *Kidney Int.* 2001; 59(2):457-62.
9. Sikora P, Zajackowska M, Katska E, Niedzielska G. A nineteen year observation of a boy with branchio-oto-renal syndrome and chronic renal failure. *Pol Merkur Lekarski.* 2001; 10(58):291-3.
10. Rodriguez MM, Gomez A, Abitbol C, Chandar J, Montané B, Zilleruelo G. Comparative renal histomorphometry: a case study of oligonephropathy of prematurity. *Pediatr Nephrol.* 2005; 20(7):945-9.
11. McGraw M, Poucell S, Sweet J, Bauml R. The significance of focal segmental glomerulosclerosis in oligomeganephronia. *Int J Pediatr Nephrol.* 1984; 5(2):67-72.
12. Park SH, Chi JG. Oligomeganephronia associated with 4p deletion type chromosomal anomaly. *Pediatr Pathol.* 1993; 13(6):731-40.
13. Broyer M, Soto B, Gagnadoux MF, Adi M, Rica C, Gubler MC. Oligomeganephronic renal hypoplasia. *Adv Nephrol Necker Hosp.* 1997; 26:47-63.
14. Bohn S, Thomas H, Turan G, Ellard S, Bingham C, Hattersley AT, et al. Distinct molecular and morphogenetic properties of mutations in the human HNF1beta gene that lead to defective kidney development. *J Am Soc Nephrol.* 2003; 14(8):2033-41.
15. Berthoux FC, Khalil S, Sabatier JC, Colon S, Lyonnet D, Veyret C. Diagnosis of renal hypoplasia with oligomeganephronia in young adults. Value of renal angiography with enlargement. *J Urol Nephrol (Paris).* 1978; 84(12):872-8.
16. Bondar' IA, Klimontov VV, Simakova AI. Obesity and chronic kidney disease. *Ter Arkh.* 2011; 83(6):66-70.
17. Shen WW, Chen HM, Chen H, Xu F, Li LS, Liu ZH. Obesity-related glomerulopathy: body mass index and proteinuria. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010; 5(8):1401-9.
18. Peng T, Wang J, Zhen J, Hu Z, Yang X. Effect of benazepril on the transdifferentiation of renal tubular epithelial cells from diabetic rats. *Biomed Rep.* 2014; 2(4):490-4.
19. Antić M, Jotić A, Radović M, Seferović JP, Lalić NM, Jovanović D, et al. Risk factors for the development of diabetic nephropathy. *Srp Arh Celok Lek.* 2009; 137(1-2):18-26.
20. D'Agati VD, Kaskel FJ, Falk RJ. Focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med.* 2011; 365(25):2398-411.
21. Taneda S, Honda K, Uchida K, Nitta K, Yumura W, Oda H, et al. Histological heterogeneity of glomerular segmental lesions in focal segmental glomerulosclerosis. *Int Urol Nephrol.* 2012; 44(1):183-96.
22. Liu JC, Xiao HJ, Yang JY, Yao Y, Huang JP, Wang SX. Clinicopathological study of 212 children with primary focal segmental glomerular sclerosis. *Zhonghua Er Ke Za Zhi.* 2010; 48(12):928-33.
23. Hill GS, Karoui KE, Karras A, Mandet C, Duong Van Huyen JP, Nochy D, et al. Focal segmental glomerulosclerosis plays a major role in the progression of IgA nephropathy. I. Immunohistochemical studies. *Kidney Int.* 2011; 79(6):635-42.
24. Peng T, Hu Z, Xia Q, Jiang B, Li X, Yang X. A comparative study of the renoprotective effects of benidipine and valsartan in primary hypertensive patients with proteinuria. *Arzneimittelforschung.* 2009; 59(12):647-50.
25. Song SM, Wang CC, Qi SH, Xing L, Yang BF, Oite T, Li B. Angiotensin receptor blockade attenuates glomerulosclerosis progression by promoting VEGF expression and bone marrow-derived cells recruitment. *Nephrol Dial Transplant.* 2012; 27(7):2712-9.

Олигомеганефронија: приказ болесника и преглед литературе

Сјанг-донг Јанг, Веивеи Ши, Денгрин Ли, Тао Пенг

Нефролошко одељење, Болница Килу, Универзитет у Шандонгу, Јинан, Кина

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Олигомеганефронија (ОМН) је једно од ретких конгениталних обољења бубрега код којег се јављају смањење броја нефрона и повећање запремине гломерула. Није позната учесталост појаве ОМН будући да се ово обољење тешко дијагностикује. Такође, оно не показује посебне клиничке манифестације. Једини начин дијагностиковања ОМН је на основу бубрежне патологије, тако да је нетачна дијагноза резултат необављене патологије бубрега.

Приказ болесника Код 26-годишњег мушкарца постављена је дијагноза ОМН на основу налаза протеинурије и повишене вредности креатинина у серуму. Ултразвуком је откри-

вено да је величина оба бубрега смањена у односу на нормалне вредности. Патолошки налази су указали на смањен број и веома увећане гломеруле, што је указивало на ОМН. **Закључак** ОМН је ретко обољење које је такође ретко описано. Тачан механизам његовог настанка засада није познат. Дијагноза углавном зависи од патолошких налаза. За болеснике са ОМН главни разлози одласка лекару су протеинурија и поремећај функције бубрега. Рана дијагноза је значајна.

Кључне речи: олигомеганефронија; патологија бубрега; дијагноза

Примљен • Received: 26/12/2013

Ревизија • Revision: 19/02/2014

Прихваћен • Accepted: 31/03/2014

Case Report of Acute Vitamin D Intoxication in an Infant

Nedeljko Radlović^{1,2}, Zoran Leković², Dragana Ristić², Vladimir Radlović², Goran Djuričić², Aleksandar Dimitrijević², Biljana Vuletić³

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

²University Children's Hospital, Belgrade, Serbia;

³Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

SUMMARY

Introduction Vitamin D intoxication represents a rare and potentially serious pathological condition caused by the excess of calcium and phosphorus. We are presenting an infant with vitamin D intoxication due to excessive daily administration, as well as therapeutic procedures that prevented its adverse effects.

Case Outline A 1.5-month-old female infant, born at term, exclusively breastfed and without any complaints and abnormalities of physical findings, was observed due to the data that during the preceding month, by her mother's mistake, she had received about 200,000 IU of vitamin D₃. Laboratory analyses showed a high serum level of 25(OH)D (>400 nmol/L) and calcium (2.72 mmol/L), lowered PTH (6.6 pg/ml) and high urinary calcium/creatinine ratio (1.6), while other findings, including urotract ultrasonography image, were within normal limits. Treatment based on the discontinuation of vitamin D administration, infant's forced water intake, as well as the application of 2-month prednisolone and 4-month phenobarbitone and furosemide, resulted in complete normalization of the laboratory indicators of vitamin D overdose, as well as the prevention of its adverse effects.

Conclusion By timely recognition and adequate treatment, including triple therapy with prednisolone, phenobarbitone and furosemide, adverse effects of acute vitamin D intoxication can be prevented.

Keywords: vitamin D intoxication; infant; therapy

INTRODUCTION

Vitamin D (calciferol) is the precursor of 1,25(OH)₂D (calcitriol), a liposoluble hormone of essential importance for the homeostasis of calcium and phosphorus, bone and tooth mineralization, as well as regulation of cell proliferation, differentiation and apoptosis, immunoregulation, hormonogenesis and other physiological processes in organism [1-4]. Therefore, its lack, beside negative effects caused by calcium and phosphorus deficiency, has essential participation in the pathogenesis of various malignant, autoimmune, allergic and other diseases [1-6]. Viewed from the biological aspect, physiological needs in vitamin D in humans are primarily accomplished by cutaneous synthesis, i.e. photolysis of 7-dehydrocholesterol into cholecalciferol (D₃), while, generally viewed, food is its very scarce resource [4, 5]. However, the modern life-style followed by insufficient exposure to sun, as well as the fear of skin malignancies, above all melanoma, has mostly deprived the man of the natural and basic source of vitamin D [5, 7]. Accordingly, as well as based on numerous epidemiological studies indicating an increase in diseases with underlying essential participation of vitamin D deficiency, has enforced the necessity for its additional intake [5, 8, 9]. The recommended daily vitamin D intake, either in the form of supplements and/or as addition to food, which can satisfy optimal body needs is 400 IU for age

0-18 years, 600 IU for 19-70 years and 800 IU for age over 70 years [4, 8, 9]. Since the physiological effect of vitamin D as well as of other bioactive substances is accomplished within strictly defined limits, it is clear that its excess can also seriously endanger health [4, 9]. Although the negative balance of vitamin D is very much present worldwide, both in children and adults, in rare cases the opposite condition can be also seen [4, 5, 9, 10-14]. With this aim, we are presenting an infant with vitamin D intoxication due to excessive daily administration, as well as therapeutic procedures that have prevented its adverse effect.

CASE REPORT

A female infant aged 1.5 months hospitalized on November 2012 due to excessive administration of vitamin D₃ (Vigantol oil Merck KGaA, 10 drops daily, total about 200,000 IU per month). She was born after an uneventful term pregnancy, with body weight (BW) 3600 g and body length (BL) 54 cm. Since birth the infant has been exclusively breastfed. The aforesaid dose of vitamin D₃, which was the consequence of misunderstanding between the mother and the pediatrician, the infant had received between the mid-first and mid-second month after birth. The problems which would have pointed at the excess of vitamin D had not been registered. On admission: a normally

Correspondence to:

Nedeljko RADLOVIĆ
University Children's Hospital
Tiršova 10, 11000 Belgrade
Serbia
n.radlovic@beotel.net

Table 1. Laboratory findings in patients with vitamin D intoxication at admission and after 2 and 4 months of treatment

Parameter	At admission	After 2 months	After 4 months	Referent range [4, 15, 16]
25(OH)D (nmol/L)	>400	146.9	56.7	50–125
Ca, total (mmol/L)	2.72	2.64	2.53	2.2–2.7
P, inorganic (mmol/L)	2.06	1.74	1.63	1.25–2.10
PTH (pg/ml)	6.6	8.1	22.3	10–69
Ca/Cr (mg/mg) in 24-hour urine	1.6	2.3	0.22	≤0.8*

* for infants <7 months

Ca – calcium; P – phosphorus; PTH – parathyroid hormone; Cr – creatinine

developed and well nourished infant (BL 56 cm, P50; BW 4600 g, P50), with normal physical findings. Laboratory analyses showed a high serum level of 25(OH)D, milder hypercalcemia, decreased serum PTH level and significant hypercalciuria (Table 1). ECG, urotract ultrasonography image, serum level of inorganic phosphorus, creatinine, acid-base status of blood, liver and urine tests, and other standard analyses were normal. As D hypervitaminosis was confirmed, beside withdrawal of its administration and forced water intake, the infant was initiated on therapy with prednisolone (2 mg/kg per day), phenobarbitone (3 mg/kg per day) and furosemide (2 mg/kg per day). In order to compensate renal potassium loss caused by furosemide and prednisolone, KCl (2 mmol/kg oral daily) was also administered. In addition, ranitidine was administered as well, not only to prevent steroid ulcer but also for its negative effect on intestinal absorption of calcium. Having in mind the significance of mother's milk at this age, as well as a low concentration of vitamin D and a relatively low content of calcium and phosphorus, exclusive breastfeeding of the infant was further continued (Table 1).

After 17 days of treatment, the level of 25(OH)D in serum was still >400 nmol/L, while other laboratory indicators of vitamin D overdose normalized, except high calcium to creatinine ratio (mg/mg) in 24-hour urine (UCa/UCr) (1.8). On the next checkup that followed after 1.5 months of unchanged treatment, serum levels of 25(OH)D and PTH were considerably improved, hypercalciuria remained high, while other relevant laboratory findings were within normal limits (Table 1). Control urotract ultrasonography images were also normal so that prednisolone was slowly tapered and discontinued, while other therapeutic measures were continued. As control findings after the next months were within the referent values [4, 15, 16], except for slightly higher values of UCa/UCr (0.8), the treatment of the infant was continued with lower dosages of phenobarbitone and furosemide; 1.5 mg/kg daily for 30 days and then 1 mg/kg daily over the next 30 days. After 4 months of treatment all relevant laboratory findings were normal (Table 1), as well as urotract ultrasonography image, so that complete therapy was interrupted. During the whole period of observation the child's development was optimal and without clinical indicators either of vitamin D intoxication or adverse effects of the treatment. Serum level of 25(OH)D, calcium, phosphorus and PTH, UCa/UCr, urotract ultrasonography image and X-ray findings of the wrist 2 months later were within normal limits. Beside breastfeeding and complementary food introduced at 5 months, vitamin D3 (400 IU daily) was also included

at age 7.5 months. On the last checkup at age 10 months, a complete infant's clinical status, serum levels of calcium and phosphorus, UCa/UCr and urotract ultrasonography image were also normal.

DISCUSSION

Due to the presence of melanin, a limited transport capacity of transcalciferin and photoisomerisation of cholecalciferol into inactive metabolites (lumisterol, tachysterol, suprasterol I and II and 5.6-trans-cholecalciferol), and permanent skin desquamation, vitamin D intoxication by exposure to sun is not possible [4, 9, 17, 18]. Contrarily, excessively high oral intake of vitamin D is followed neither by limited intestinal absorption and transport nor, in the victim's condition of excess by its over-high activation [4, 17]. These facts, as well as a highly deficient capacity of 25(OH)D and 1.25(OH)₂D inactivation and elimination, are the basis of the pathogenesis of vitamin D intoxication in its excessive oral and/or parenteral application [4, 17, 19]. The upper tolerance level of vitamin D daily oral intake is 1000 IU for age 6 months, 1500 IU from 6-12 months, 2500 IU from 1-3 years, 3000 IU from 4-8 years and 4000 IU for ages over 9 years [4, 9]. However, in some pathological conditions these values can be much lower or higher. Thus, for example, in chronic granulomatous and some malignant diseases, because of uncontrolled local hyperproduction of 1.25(OH)₂D, they are considerably lower, i.e. higher as is the case of vitamin D-dependent and resistant forms of rickets [4, 9, 18, 20]. Increased sensitivity to vitamin D is also present in the conditions of massive osteolysis, primary hyperparathyroidism and some familial forms of hypercalcemia and hypercalciuria [4, 9, 21]. Also, some medications modulate the biological effect of vitamin D. In this sense, negative influence have glucocorticoids and phenobarbitone that induce 24-hydroxylase, and thus inactivation and elimination of 25(OH)D and 1.25(OH)₂D [4, 18, 22].

Vitamin D intoxication occurs due to renal hyperproduction and excessively high calcitropic effect of 1.25(OH)₂D [4]. This metabolite of vitamin D, a derivate of 25(OH)₂D and by all characteristics a liposoluble hormone, stimulates in enterocytes and tubulocytes the synthesis of calcium channels, calbindin, Ca²⁺-ATP-ase, 3Na⁺/Ca²⁺ ion-exchanger and 2Na⁺/HPO₄²⁻ cotransporter, thus enabling intestinal absorption and renal reabsorption of these ions as well as their transfer into circulation [1-5]. The optimal level of calcium and phosphorus in body

fluids is of essential significance for numerous metabolic processes, neuromuscular bioelectric transmission and mineralization of skeleton and teeth [1, 4]. However, in vitamin D intoxication exactly on this characteristic of $1.25(\text{OH})_2\text{D}$ followed by increased balance and elevated levels of serum calcium and phosphorus its toxic effects are based [4, 23]. Due to hypercalcemia, the initial phase of intoxication is dominated by the signs of neuromuscular dysfunction (hypotonia, constipation, cardiovascular disturbances), while its prolonged combination with hyperphosphatemia is complicated with nephrocalcinosis and/or urinary lithiasis, as well as calcifications in blood vessels, myocardium and other soft tissues [4, 9, 13, 24]. Having in mind a wide differential diagnosis of hypercalcemia, hyperphosphatemia and hypercalciuria, a reliable confirmation of vitamin D overdose or intoxication requires the verification of $25(\text{OH})\text{D}$ serum levels above 125 nmol/L [4]. This parameter has a key diagnostic significance as $25(\text{OH})\text{D}$, with half-life in circulation of about 15 days, and it is the best indicator of balance and effect of vitamin D in organism [4, 5, 19]. With the aim to prevent immediate and postponed complications of vitamin D intoxication, the basis of treatment involves the interruption of its intake, maximal restriction of calcium and phosphorus in food, forced diuresis and administration of glucocorticoids [4, 13, 23, 24]. In more severe intoxication, calcitonin and bisphosphonates are administered, and in the cases of

life-threatening medically unmanageable hypercalcemia hemodialysis or exchange transfusions [13, 23].

Vitamin D intoxication of the presented infant was due to its excessive daily administration. Although the total dose of vitamin D taken during one month was about 200,000 IU, i.e. serum level of $24(\text{OH})\text{D} > 400$ nmol/L, symptoms and clinical signs of intoxication were not registered. The explanation lies in the fact that the signs of vitamin D excess usually manifest just after 1-3 months, which is also supported by the value of calcemia in our patient which never exceeded 3 mmol/L [4, 18]. Beside standard measures intended for the treatment of this condition, with the goal of additional inactivation and better elimination of vitamin D active metabolites in our patient, we also administered phenobarbitone [4, 22]. In addition, we also introduced ranitidine which, by its suppressive effect on gastric secretion, besides preventing peptic ulcer within a longer-lasting glucocorticoid therapy, contributes to a lower intestinal absorption of calcium as well [25]. The administered therapy passed without adverse effects and with full effect.

In conclusion, vitamin D intoxication represents a potentially most serious pathologic condition followed by numerous immediate and later complications. If timely registered and adequately treated, including triple therapy with prednisolone, phenobarbitone and furosemide, possible complications can be prevented.

REFERENCES

- Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr*. 2008; 88(2):491S-499S.
- Zhang R, Naughton DP. Vitamin D in health and disease: Current perspectives. *Nutr J*. 2010; 9:65-77.
- Radlović N, Mladenović M, Simić D, Radlović P. Vitamin D in the light of current knowledge. *Srp Arh Celok Lek*. 2012; 140(1-2):110-4.
- Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington, DC: National Academy Press; 2011.
- Wacker M, Holick MF. Vitamin D – effects on skeletal and extraskelatal health and the need for supplementation. *Nutrients*. 2013; 5(1):111-48.
- Di Rosa M, Malaguarnera M, Nicoletti F, Malaguarnera L. Vitamin D3: a helpful immuno-modulator. *Immunology*. 2011; 134(2):123-39.
- Prentice A. Vitamin D deficiency: a global perspective. *Nutr Rev*. 2008; 66(2):S153-S64.
- Wagner CL, Greer FR, American Academy of Pediatrics Section on Breastfeeding, American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. *Pediatrics*. 2008; 122(5):1142-52.
- U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 2011. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24. Nutrient Data Laboratory Home Page. Available from: <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>.
- Pramyothin P, Holick MF. Vitamin D supplementation: guidelines and evidence for subclinical deficiency. *Curr Opin Gastroenterol*. 2012; 28(2):139-50.
- Chambellan-Tison C, Horen B, Plat-Wilson G, Moulin P, Claudet I. Severe hypercalcemia due to vitamin D intoxication. *Arch Pediatr*. 2007; 14(11):1328-32.
- Joshi R. Hypercalcemia due to hypervitaminosis D: report of seven patients. *J Trop Pediatr*. 2009; 55(6):396-8.
- Ozkan B, Hatun S, Bereket A. Vitamin D intoxication. *Turk J Pediatr*. 2012; 54(2):93-8.
- Vanstone MB, Oberfield SE, Shader L, Ardesheirpour L, Carpenter TO. Hypercalcemia in children receiving pharmacologic doses of vitamin D. *Pediatrics*. 2012; 129(4):e1060-3.
- Nicolson JF, Pesce MA. Reference ranges for laboratory tests and procedures. In: Kliegman RM, Stanton BF, Schol NF, St Geme III JW, Behrman RE, editors. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 19th ed. Philadelphia: Elsevier; 2011. p.2396-427.
- So NP, Osorio AV, Simon SD, Alon US. Normal urinary calcium/creatinine ratios in African-American and Caucasian children. *Pediatr Nephrol*. 2001; 16(2):133-9.
- de Paula FJ, Rosen CJ. Vitamin D safety and requirements. *Arch Biochem Biophys*. 2012; 523(1):64-72.
- Greenbaum LA. Rickets and hypervitaminosis D. In: Kliegman RM, Stanton BF, Schol NF, St Geme III JW, Behrman RE, editors. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 19th ed. Philadelphia: Elsevier; 2011. p.200-9.
- Jones G. Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *Am J Clin Nutr*. 2008; 88(2):S82S-6S.
- Hewison M, Adams JS. Extrarenal 1α -hydroxylase. In: Feldman D, Pike JW, Adams JS, editors. *Vitamin D*. 3rd ed. London: Elsevier; 2011. p.777-806.
- Stechman MJ, Loh NY, Thakker RV. Genetic causes of hypercalciuric nephrolithiasis. *Pediatr Nephrol*. 2009; 24(12):2321-32.
- Kurahashi I, Matsunuma A, Kawane T, Abe M, Horiuchi N. Dexamethasone enhances vitamin D-24-hydroxylase expression in osteoblastic (UMR-106) and renal (LLC-PK1) cells treated with 1α , 25-dihydroxyvitamin D3. *Endocrine*. 2002; 17(2):109-18.
- Barrueto F Jr, Wang-Flores HH, Howland MA, Hoffman RS, Nelson LS. Acute vitamin D intoxication in a child. *Pediatrics*. 2005; 116(3):e453-6.
- Bothra M, Jain V. Vitamin D intoxication: too much of a good thing! *Indian Pediatr*. 2013; 50(4):429-30.
- Kopic S, Geibel JP. Gastric acid, calcium absorption, and their impact on bone health. *Physiol Rev*. 2013; 93(1):189-268.

Приказ одојчета с акутним тровањем витамином Д

Недељко Радловић^{1,2}, Зоран Лековић², Драгана Ристић², Владимир Радловић², Горан Ђуричић², Александар Димитријевић², Биљана Вулетић³

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

²Универзитетска дечја клиника, Београд, Србија;

³Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Крагујевац, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Тровање витамином Д је ретко и потенцијално тешко патолошко стање узроковано превисоким билансом калцијума и фосфора. Приказујемо одојче које је доживело акутно тровање витамином Д, као и терапијске поступке којима су предупредене нежељене последице.

Приказ болесника Девојчица узраста од месец и по дана, рођена у термину, храњена само мајчиним млеком и без икаквих тегоба и поремећаја у физикалном налазу, примљена је на преглед због податка да је током претходног месеца грешком мајке унела око 200000 ИЈ витамина Д₃. Лабораторијске анализе су показале висок серумски ниво 25(OH)D (>400 nmol/l) и калцијума (2,72 mmol/l), снижене вредности РТН (6,6 pg/ml) и висок однос калцијума и креатинина у мо-

краћи (1,6), док су остали налази, укључујући и ултразвучни изглед мокраћног тракта, били нормални. Лечење, које се заснивало на обустави даљег уноса витамина Д, појачаном појењу детета водом, као и двомесечној примени преднизолона и четворомесечној примени фенобарбитона и фуросемида, довело је до потпуне нормализације лабораторијских показатеља тровања витамином Д, те спречило нежељене ефекте интоксикације.

Закључак Уз благовремено препознавање и одговарајуће лечење, укључујући примену преднизолона, фенобарбитона и фуросемида, нежељене последице акутног тровања витамином Д могу се предупредити.

Кључне речи: интоксикација витамином Д; одојче; лечење

Примљен • Received: 30/08/2013

Прихваћен • Accepted: 16/12/2013

Инфламаторни механизми код носно-синусне полипозе

Александар Перић^{1,2}, Данило Војводић^{1,3}

¹Медицински факултет, Универзитет одбране, Београд, Србија;

²Клиника за оториноларингологију, Одељење ринологије, Војномедицинска академија, Београд, Србија;

³Институт за медицинска истраживања, Одељење клиничке и експерименталне имунологије, Војномедицинска академија, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Носно-синусна полипоза је хронично запаљењско обољење слузокоже носа и параназалних синуса које се одликује пролапсом едематозне слузокоже, најчешће из предела предњег етмоида. Основне хистолошке одлике су пролиферација псеудослојевитог респираторног епитела, задебљање базалне мембране, фокална фиброза и еозинофилна и лимфоцитна инфилтрација ламине проприје. Иако етиологија ове болести није позната, у научним круговима преовладавају два гледишта која није могуће раздвојити: „хипотеза стафилококних суперантигена“ и „хипотеза нарушене имунске баријере“. Мада прецизни механизми њеног настанка нису разјашњени, познато је да је носно-синусна полипоза удружена с интензивним хроничним запаљењем, праћеним поремећајима у регулацији хемотаксе, миграције, активације и функције еозинофила. Бројни цитокини, хемокини и адхезиони молекули су укључени у регулисање ових сложених механизма. Након процеса активације, еозинофили стварају и ослобађају ензиме који оштећују ткиво слузокоже и доводе до њеног ремоделовања. Хиперактивни еозинофили ослобађају нове количине хемокина и цитокина, чиме привлаче нове еозинофиле ка месту запаљења, и на тај начин учествују у одржавању хроничне запаљењске реакције.

Кључне речи: носно-синусна полипоза; етиопатогенеза; патохистолошка анализа; цитокини; хемокини

УВОД

Термин „полип“ се односи на макроскопску појаву петељкастог израштаја који полази с површине слузокоже и проминира ка лумену неког шупљег органа. Међутим, у контексту хроничног риносинуситиса, термин „полип“ се односи на бенигни, негрануломски, инфламаторни израштај обложен слузокожом дисајних путева, који је смештен у шупљини носа, односно параназалних синуса. Дакле, носне полипе треба посматрати као инфламаторне израстине хиперпластичне респираторне слузокоже носне шупљине и параназалних синуса [1]. Најчешће воде порекло од хронично упале слузокоже предњег етмоида, одакле се протежу између средње носне шкољке и латералног зида носне дупље до заједничког носног ходника, при чему доводе до симптома као што су носна опструкција, ослабљено чуло мириса или његов губитак (*hyposmia*, *anosmia*), слузава секреција из носа и/или постназална дренажа и др. [1]. Неколико хистопатолошких одлика раздваја полипе који настају у оквиру хроничног риносинуситиса од других полипоидних лезија у носу и параназалним синусима. Хиперплазија респираторног епитела, задебљана базална мембрана, стромална фиброза, а посебно густ инфламаторни инфилтрат ламине проприје, који се састоји углавном

од еозинофила, а у мањој мери од лимфоцита, плазмочита и неутрофила, основна су патохистолошка обележја носно-синусне полипозе [2].

Према најновијим смерницама које је објавило Европско ринолошко друштво (*European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps – EPOS 2012*), хронични риносинуситис се дефинише као запаљење слузокоже носа и параназалних синуса, типично са најмање два симптома, међу којима су осећај запушености носа, секреција из носа, осећај бола или притиска у пределу лица, смањење или губитак осећаја мириса, у периоду дужем од 12 недеља [3].

Заступљеност еозинофилних гранулоцита у носним полипима је интензивнија него код болесника с изолованим хроничним ринитисом [4]. С обзиром на чињеницу да је хронично еозинофилно запаљење одлика већине обостраних носних полипа, познавање механизма миграције, активације и функције еозинофила јесте кључ за боље разумевање етиологије и патогенезе носно-синусне полипозе.

ЕТИОЛОГИЈА И ПАТОГЕНЕЗА НОСНО-СИНУСНЕ ПОЛИПОЗЕ

Према тзв. фунгалној хипотези, носно-синусна полипоза се сматра производом ин-

тензивног имунског и запаљењског одговора слузокоже носа и параназалних синуса на антигене гљивица из рода *Alternaria* [5]. Улога гљивица у настанку носних полипа је предмет расправа. Учесталост гљивица у носном секрету и на површини слузокоже носа је у распону од 26,7% до 93% [6]. Данас већина аутора сматра да је овде заправо реч о гљивичној колонизацији слузокоже, а не о фактору који покреће запаљењску реакцију у ткиву. Мада је ова теорија у основи превазиђена, чињеница је да гљивице могу бити изазивачи неких облика хроничног риносинуситиса. Алергијски (еозинофилни) фунгални риносинуситис (АФР) је неинвазивно, хронично запаљење посредовано IgE антителима, које чини 5–10% свих облика хроничног риносинуситиса, а једна од манифестација ове болести је и постојање носних полипа [7].

Поремећаји у метаболизму еикосаноида, често удружени с неподношењем ацетилсалицилне киселине, такође су приказани као могући узрок носно-синусне полипозе [8, 9]. Појачано стварање проинфламаторних леукотријена и смањена производња антиинфламаторних простагландина представљени су као покретач патолошког процеса не само код болесника који не подносе ацетилсалицилну киселину, већ и код осталих особа с овим обољењем. Међутим, почетни ентузијазам у њеном прихватању је оповргла чињеница о изостанку ефеката инхибитора метаболизма леукотријена у лечењу носно-синусне полипозе.

„Хипотеза стафилококних суперантигена“ се заснива на гледишту да ентеротоксини које производе културе бактерије *Staphylococcus aureus* могу покренути снажан имунски одговор, активирајући неколико врста имунокомпетентних ћелија [10, 11]. Кључ је у „скретању“ ка Th2 имунском одговору и снажној активацији Т и В лимфоцита, еозинофила и мастоцита. Међутим, остаје нејасно зашто се ефекат стафилококних суперантигена јавља само код око 50% болесника с носно-синусном полипозом. Данас је актуелно гледиште да су стафилококни ентеротоксини више модификатори патолошког процеса него стварни етиолошки фактори [12]. Ови егзотоксини су способни да изазову снажно еозинофилно запаљење, као и синтезу мултиклонских IgE, што доводи до нагомилавања великих концентрација ових антитела у ткиву полипа. Мин (Min) и сарадници [13] су показали да стафилококни ентеротоксини имају снажан цилиостатички ефекат у слузокожи параназалних синуса.

„Хипотеза поремећаја имунске баријере“ се заснива на претпоставци да садејство поремећаја механичке баријере (респираторног епитела са заштитном улогом носног секрета и мукоцилијарног транспорта) и поремећаја урођеног имунитета покреће запаљењску реакцију чији је крајњи исход носно-синусна полипоза [14]. Цилије респираторног епитела су веома активне структуре које се непрекидно померају фреквенцијом од око 1.000 покрета у минути [15]. Њихови покрети су синхронизовани и одвијају се у виду метакроничног таласа [15]. За нормалну функцију цилија је неопходно очување оптималног односа фаза *gel* и *sol*, као и биохе-

мијског и електролитног састава носног секрета [15]. Разне вирусне и бактеријске инфекције, удисање сувог и хладног или прегрејаног ваздуха, отровних гасова, дима и прашине, локална примена појединих лекова (кокаин, антибиотици и др.), као и урођени поремећаји мукоцилијарног транспорта, могу бити удружени с хроничним запаљењима параназалних синуса [15]. Ови урођени или стечени поремећаји воде повећаној колонизацији бактеријских микроорганизама, са ослобађањем штетних микробних агенаса, даљем оштећењу имунске баријере и покретању компензаторних имунских одговора [14]. Многе патогене бактерије колонизују површину носне слузокоже, стварајући биофилм. Он се састоји од скупина бактерија урођених у једну аморфну масу, састављену од ванћелијског гликокаликса који производе бактерије и који је испресецан бројним каналима кроз које циркулише вода [16]. Показано је да биофилм може допринети интензивирању запаљењске реакције. Случајеви носно-синусне полипозе при чему постоји биофилм удружени су с тежом клиничком сликом и лошијим терапијским одговором [16]. Агенси (антигени) које ослобађају бактерије су способни да активирају производњу медијатора имунског одговора у ћелијама респираторног епитела, што води даљој активацији Т и В лимфоцита и њиховој пролиферацији [17]. Умножени лимфоцити у субепителном слоју слузокоже дисајних путева стварају „псеудофоликуларне формације“, које представљају места даље производње проинфламаторних цитокина и хемокина, као и специфичних имуноглобулина. Продуковани IgE посредују у процесу дегранулације накупљених мастоцита, еозинофила и базофила и ослобађању цитотоксичних и вазоактивних медијатора, који доводе до даљег оштећења и ремоделовања носне слузокоже [17]. Скорије откриће присуства живих јединки *Staphylococcus aureus* у цитоплазми епителних ћелија носних полипа, али не и у епителним ћелијама слузокоже код хроничног риносинуситиса без носних полипа и у епителу здраве слузокоже, потврђује степен поремећаја локалне имунске баријере код особа оболелих од носно-синусне полипозе [18].

КЛИНИЧКЕ ОДЛИКЕ

Приближно 20% болесника с хроничним риносинуситисом има носне полипе [19]. Носни полипи могу бити удружени са бронхијалном астмом, алергијским ринитисом, преосетљивошћу на ацетилсалицилну киселину (тзв. *Samter's triad* – Самтерово тројство), еозинофилним фунгалним риносинуситисом, цистичном фиброзом, Картагенеровим (*Kartagener*) синдромом, Јанговим (*Young*) синдромом и Чарг–Штраусовом (*Churg-Strauss*) болешћу [19]. Најчешће расту из предњег етмоидалног лабиринта, нешто ређе из сфеноидног рецесуса и углавном су обострани [20]. У случајевима тешке носно-синусне полипозе могу потпуно испуњавати носну шупљину. Носно-синусна полипоза је ретка код деце и углавном је удружена с

неком системском болешћу, најчешће са цистичном фиброзом [21]. Посебан клинички ентитет представљају хоанални полипи, за које се такође претпоставља да су последица хроничног запаљења. Обично су солитарни и једнострани, а током свог раста типично пролабирају кроз хоане. Сви полипи одстрањени из носне шупљине, а посебно једнострани, захтевају детаљну патохистолошку анализу.

ХИСТОЛОШКЕ ОДЛИКЕ

Носни полипи су прекривени респираторним псеудослојевитим трепљастим епителом, који належе на задебљану базалну мембрану и субепително растресито везивно ткиво. У складу с наведеним хистолошким особеностима, носни полипи могу бити класификовани као: 1) едематозни еозинофилни или полипи „алергијског типа“; 2) хронични фиброинфламаторни полипи, 3) серо-мукозни, жлездани полипи; и 4) полипи са стромалном ћелијском атипичношћу. У литератури често срећемо термине „еозинофилни“ и „неоеозинофилни“ полипи [20]. Већина обостраних етмоидалних полипа, која представља носно-синусну полипозу у ужем смислу, имају доминантно еозинофилну инфилтрацију. С друге стране, носни полипи који се јављају у склопу цистичне фиброзе су доминантно неутрофилни [20].

Едематозни еозинофилни или полипи „алергијског типа“ се бележе у више од 90% случајева обостраних носних полипа [20]. Прекривени су хиперпластичним респираторним епителом, који је на појединим местима са сквамозном метаплазијом и пролиферацијом пехарастих ћелија. Базална мембрана је задебљана, а веома је изражен субепителни едем растреситог везивног ткива. Цисте са ретенционим мукозним секретом су релативно честа појава. Запаљењски инфилтрат у строми се углавном састоји од еозинофила, а у мањој мери од лимфоцита и плазмоцита. И поред доминантне еозинофилне инфилтрације, ови полипи нису обавезно удружени с алергијама [20].

Хронични фиброинфламаторни полипи чине свега 10% носних полипа удружених с хроничним риносинуситисом [20]. Ови полипи су примарно едематозни, али због дуготрајног запаљења и изложености ваздушним струјањима може доћи до пролиферације миофибробласта у строми полипа. Због тога је субмукозна фиброза са доминантном лимфоцитном и неутрофилном инфилтрацијом доминантна хистолошка одлика ових полипа. Они су жилаве грађе, а епител је на појединим деловима претрпео сквамозну метаплазију.

Носни полипи с хиперплазијом серомукозних жлезда су ретки. Данас се, због опречних ставова око питања њихове везе с правим епителним неоплазмама, сматрају посебним ентитетом и означавају као респираторни епителни аденоматоидни хамартом (енгл. *respiratory epithelial adenomatoid hamartoma*) [22].

Код појединих полипа удружених с хроничним запаљењем слузокоже носа и/или параназалних синуса детаљна микроскопска анализа строми открива број-

не циновске плеоморфне хистиоците или појединачне фибробласте са циновским једрима, што би могло да укаже на саркоматозну, малигну дегенерацију. Упркос тим цитолошким одликама, ове лезије нису малигне неоплазме, а стромална атипичност представља реактивне промене настале услед хроничног запаљења [23].

Осим из шупљине максиларног синуса, хоанални полипи могу расти из сфеноидног и етмоидалног синуса, ређе са носног септума, средње и доње носне школке, као и из фронталног синуса [24]. Антрохоанални полипи чине 4–6% свих носно-синусних полипа, мада у дечјој популацији чине до 33%. Састоје се од антралне, назалне и хоаналне компоненте. Типично расту из слузокоже задњег зида максиларног синуса, обично у виду цистичне формације и углавном имају танак врат (петељку), којим пролазе најчешће кроз аксесорно, ређе кроз природно, ушће максиларног синуса [24]. Обично су једнострани, ретко обострани [25]. Микроскопски су прекривени респираторним епителом, који належе на танку базалну мембрану. У строми преовладава растресито везивно ткиво, са циновским стромалним ћелијама, док запаљењски инфилтрат није чест. Због наведених одлика сматрају се посебним ентитетом у оквиру инфламаторних полипоидних израштаја слузокоже носа и параназалних синуса [24].

ИНФЛАМАТОРНИ ПРОЦЕСИ У НОСНО-СИНУСНОЈ ПОЛИПОЗИ

Претходне имунохистохемијске студије су показале да се медијатори запаљењске реакције, алфа фактор некрозе тумора (енгл. *tumor necrosis factor-alpha* – *TNF-α*), интерлеукин 1 бета (енгл. *interleukin-1-beta* – *IL-1β*), *RANTES* (енгл. *regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*), *VCAM-1* (енгл. *vascular cell adhesion molecule-1*) и еотаксин (енгл. *eotaxin*), налазе у већини носних полипа, прецизније у њиховим епителним ћелијама, ендотелним ћелијама капиларних крвних судова, фибробластима, макрофагима, лимфоцитима и нарочито у еозинофилима строми полипа [26]. Претпоставља се да је појачана локална генска експресија за *TNF-α* у садејству са присутним стафилококним ентеротоксинима као окидачем („тригером“) предуслов за развој овог хроничног запаљењског обољења [26]. За покретање процеса накупљања еозинофила у ткиву носних полипа посебно је значајан однос који се успоставља између *TNF-α* и *VCAM-1*. *TNF-α* примарно производе макрофаги и *T* лимфоцити [27]. Претходна испитивања су показала да *TNF-α* регулише повећану производњу *VCAM-1* у фибробластима који леже у строми носних полипа [27]. Улога *VCAM-1* је, пре свега, у регулисању процеса трансендотелне миграције еозинофила, што је неопходно за њихово иницијално накупљање у ткиву полипа [27]. С друге стране, еозинофили који се нагомилавају у ткиву носних полипа сада могу сами да стварају *TNF-α*, чиме се регрутују и привлаче нови еозинофили, који стимулишу даљу производњу *VCAM-1* у фибробластима строми [27].

Такође, *TNF- α* може да стимулише повећано лучење хемокина у фибробластима, пре свега *RANTES* и еотаксина, који привлаче све већи број еозинофила у ламину проприју полипа [28, 29]. Тако се хронични запаљењски процес у полипима одржава и појачава у свом интензитету. Да је активност *TNF- α* блиско повезана с функцијом еозинофила говоре резултати једне студије који показују да је концентрација овог хемокина измерена у носном секрету особа оболелих од носне полипозе у директној корелацији са бројем еозинофила у ткиву носних полипа [30].

Шта чини животни циклус еозинофила? Након што настану у коштаном сржи, прва фаза у њиховом животном циклусу је фаза привлачења еозинофила, односно фаза хемотаксе. Производи *T* лимфоцита, као што су *IL-3*, *IL-5*, *IL-6* и *GM-CSF* (енгл. *granulocyte macrophage colony stimulating factor*), играју значајну улогу у почетној фази хемотаксе еозинофила, мада су сами по себи они слаби стимулатори миграције ћелија. Неколико чланова такозване *CC* подфамилије хемокина имају много већу улогу у хемотакси еозинофила, а ту се убрајају *CCL3* (енгл. *macrophage inflammatory protein-1 alpha* – *MIP-1 α*), *CCL5* (*RANTES*), *CCL7* (енгл. *monocyte chemoattractant protein-3* – *MCP-3*), *CCL11* (еотаксин) и *CCL24* (еотаксин 2) [31, 32]. Посебна пажња у досадашњим истраживањима била је усмерена на функције хемокина *RANTES* и еотаксина 2. Примарни извори ових хемокина су *T* лимфоцити, фибробласти и епителне ћелије. Међутим, након што дође до активације еозинофила, они постају главно место производње много веће количине ових медијатора. Бартелс и сарадници (*Bartels*) [33] су показали да је експресија информационе РНК (иРНК) за *RANTES* знатно више изражена у ткиву носних полипа, како атопичних, тако и неатопичних болесника, у односу на ткиво здраве слузокоже. Мејер и сарадници (*Meyer*) [34] су запазили да носни полипи с израженијом ткивном еозинофилијом имају виши ниво генске експресије за *RANTES* од полипа с мање израженом еозинофилијом. Де Корсо и сарадници (*De Corso*) [35] су показали да је концентрација еотаксина 2, измерена у узорцима носног секрета оболелих од носно-синусне полипозе, у корелацији с интензитетом носних симптома, као и са бројем еозинофила у ткиву слузокоже носа. Резултати једне новије студије указују на значајну повезаност између концентрације *MIP-1 α* у носном секрету и ендоскопског налаза, степена проширености синусне болести на снимцима компјутеризоване томографије (*CT*) и броја еозинофила у ткиву слузокоже носа [36]. Тако је показано да би концентрације хемокина еотаксин 2, *RANTES* и *MIP-1 α* , измерене у носном секрету, могле послужити као поуздани маркери за клиничку процену тежине носно-синусне полипозе. Међутим, резултати до којих су дошли Чао и сарадници (*Chao*) [37] наводе да су концентрације хемокина *RANTES* и нарочито еотаксина 2, измерене у крвној плазми испитаника оболелих од носно-синусне полипозе, такође директно пропорционалне степену клиничке проширености болести. Овим се још једном наглашава зна-

чај који имају хемокини у етиопатогенези хроничног запаљења код носно-синусне полипозе.

Након протока кроз крвне судове, еозинофили мигрирају ка периферним ткивима преко процеса трансендотелијалне миграције. Ова фаза у њиховом животном циклусу је посредована бројним адхезивним молекулама који постоје на површини ендотелних ћелија строге полипа, међу којима је најзначајнији *VCAM-1*. Зато се ова фаза у њиховом циклусу зове фаза адхезије. Осим што стимулишу раст и сазревање еозинофила, *IL-3*, *IL-5*, *IL-6* и *GM-CSF* такође стимулишу повећање њихове активности. Сви наведени цитокини продужавају живот еозинофила одлагањем програмиране ћелијске смрти [38, 39]. Даље, *IL-3*, *IL-5*, *IL-6* и *GM-CSF* повећавају токсичност еозинофила, подстичу производњу супероксида, интензивирају њихову способност за фагоцитозу и дегранулацију [38, 39]. Повећана активност *Th2* цитокина, нарочито *IL-5* и *IL-6* у носном секрету, као и у ткиву носних полипа, може нам указати на постојање интензивнијег запаљењског одговора. Концентрације *IL-5* и *IL-6* у носном секрету су вишеструко веће код болесника са носним полипима и астмом у односу на оне без астме [40, 41]. Такође, код болесника с астмом концентрације *IL-5* измерене у носном секрету су директно пропорционалне степену проширености носне полипозе, што се може уочити ендоскопским прегледом [40]. Што је још важније, концентрације снажног проинфламаторног цитокина *IL-6* у носном секрету високо корелирају са бројем еозинофила у ткиву носних полипа, како код болесника без астме, тако и код оних с астмом [30]. Овако интензивна производња проинфламаторних медијатора свакако утиче на начин клиничког испољавања болести. Резултати студије које су објавили Дудварски и сарадници [42] показују да астма нема утицаја на квалитет живота особа оболелих од носно-синусне полипозе, али да утиче на испољавање појединих, тзв. *minor* симптома ове болести, као и на степен проширености обољења, што се уочава на *CT* снимцима носне шупљине и параназалних синуса. Међутим, у случајевима удружености носно-синусне полипозе са алергијским ринитисом, али без испољавања симптома бронхијалне астме, није уочена корелација између концентрација *Th2* цитокина у носном секрету и броја еозинофила у ткиву полипа, као ни корелација између концентрације цитокина и клиничких показатеља испољености овог обољења [43]. Такође, постојање алергије не утиче на носне симптоме, ендоскопски и *CT* налаз параназалних шупљина [43]. Наведене чињенице наводе на закључак да удруженост носно-синусне полипозе са бронхијалном астмом даје овом хроничном обољењу нову димензију у клиничкој испољености и доприноси повећању степена агресивности болести. Због свега наведеног, управо описана, трећа фаза у животном циклусу еозинофила се зове фаза активације.

На њу се директно надовезује четврта фаза у њиховом животном циклусу, а то је фаза дегранулације и ослобађања њихових секреторних производа. Свакако најзначајније појаве у запаљењима која су посредо-

вана еозинофилима су накупљање и ослобађање тзв. катјонских гранула и других биолошких производа из цитоплазме еозинофила. Оне су токсичне за многе патогене, нарочито за хелминте, мада такође могу оштетити епителне ћелије дисајних путева домаћина, проузроковати локални едем ткива и изазвати хиперреактивност горњих и/или доњих дисајних путева у астми или алергијском ринитису. Садржај гранула укључује лизозомалне хидролазе, којих има и у другим гранулоцитима, и протеине који су специфични за еозинофиле, као што су *MBP* (енгл. *major basic protein*), еозинофилни катјонски протеин (енгл. *eosinophil cationic protein – ECP*) и неуротоксин произведен у еозинофилима (енгл. *eosinophil derived neurotoxin – EDN*), другачије назван „ереназа 3“ (енгл. *RNASE 3*). *MBP* има функцију привлачења молекула воде у епителне и друге ћелије, као и у међућелијски простор носних полипа, доводећи до едема, што је једна од главних хистолошких одлика ових лезија [44]. *MBP* значајно повећава инфлукс јона натријума у цитоплазму епителних ћелија. За јонима натријума накупљају се и јони хлора, а за њима и молекули воде. Тако се објашњава едем у епителним ћелијама. Један део јона натријума и хлора с молекулима воде напушта епителне ћелије и накупља се у међућелијском простору. Овим, као и накупљањем запаљењског ексудата и ретенцијом албумина, објашњава се настанак едема у строми полипа [44]. Грануле у еозинофилима такође садрже еозинофилну пероксидазу (енгл. *eosinophil peroxidase – EPO*), која катализује производњу хипохлорне и хипобромне киселине, које су високо токсичне за бројне патогене, мада код алергијског ринитиса, хроничног риносинуситиса и носно-синусне полипозе могу проузроковати локална оштећења ткива. Претходне студије су показале да је концентрација *ECP* у носном секрету у високој корелацији са интензитетом симптома код особа оболелих од носно-синусне полипозе [45, 46], као и са бројем еозинофила у ткиву носних полипа [47]. Слично мастоцитима и базофилима, активирани еозинофили производе и ослобађају производе метаболизма липида, као што су леукотријени и простагландини, који су и снажни медијатори запаљењске реакције [26]. На крају, активирани еозинофили су богат извор свих претходно наведених проинфламаторних цитокина и хемокина, чиме додатно доприносе одржавању и ширењу хроничног запаљењског процеса [48, 49].

У малом проценту носних инфламаторних полипа (око 10%) хронично запаљење није посредовано доминантно еозинофилима, већ пре свега неутрофилима и лимфоцитима. *IL-8* је снажан хемотактички и

активирајући фактор, пре свега за неутрофиле, али у мањој мери и за еозинофиле [50]. Примарно се ствара у моноцитима, макрофагима и епителним ћелијама слузокоже дисајних путева. Међутим, новија сазнања указују на чињеницу да су у хроничном риносинуситису и носно-синусној полипози главни извори овог хемокина фибробласти у ламини проприји. Активирани неутрофиле, који мигрирају ка упаљеној слузокожи носа, даље производе много веће количине *IL-8*. Ово условљава даљу акумулацију неутрофила и даљу производњу овог медијатора, чиме се запаљење одржава и појачава у свом интензитету [50].

ЗАКЉУЧАК

Иако инфламаторни механизми у етиопатогенези носно-синусне полипозе нису сасвим разјашњени, новија сазнања нас упућују на поремећаје у регулацији хемотаксе, активације, преживљавања и функције еозинофила. Резултати бројних студија показују да *Th2* цитокини, пре свих *IL-5* и *IL-6*, као и хемокини *RANTES*, еотаксин 2 и *MIP-1α* активно учествују у „оркестрирању“ хроничног еозинофилног запаљења. Као одговор на бројне стимулусе, активни еозинофили производе и ослобађају бројне медијаторе, укључујући цитокине, хемокине, леукотријене, простагландине, као и специфичне еозинофилне ензиме. Ензими оштећују слузокожу носне шупљине и параназалних синуса и последице доводе до њеног ремоделовања, што као исход има стварање носних полипа. Због тога је пажња у бројним истраживањима усмерена ка овим хиперактивним еозинофилима као ћелијама метама у лечењу хроничних запаљења горњих дисајних путева. Елиминација и/или контролисање активности ових еозинофила би условили снижавање интензитета запаљењског одговора, смањивање хиперреактивности, као и спречавање или успоравање процеса ремоделовања ткива слузокоже дисајних путева. Код око 10% обостраних носних полипа хронично запаљење није посредовано еозинофилима, већ неутрофилима и лимфоцитима. За разлику од еозинофилних полипа, главни медијатор хемотаксе инфламаторних ћелија овде је *IL-8*.

НАПОМЕНА

Рад је настао у оквиру научноистраживачког пројекта Института за медицинска истраживања Војномедицинске академије МФВМА/24/13-15.

ЛИТЕРАТУРА

1. Janošević LB, Janošević SB. Pathological conditions associated with recurrent sinonasal polyposis. In: McCafferty G, Coman W, Carroll R, editors. Bologna; Monduzzi editore; 1997. p.1803-6.
2. Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Van Cauwenberge P. Mediators in nasal polyposis. Curr Allergy Asthma Rep. 2002; 2:481-7.
3. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Alobid I, Baroody F, et al. EPOS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyposis 2012. A summary for otorhinolaryngologists. Rhinology. 2012; 50:1-12.
4. Ursulović D, Janošević LJ, Janošević S. Chronic rhinitis – effects of local corticosteroids on eosinophils. Srp Arh Celok Lek. 2002; 130:243-6.
5. Hamilos DL, Lund VJ. Etiology of chronic rhinosinusitis: the role of fungus. Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl. 2004; 193:27-31.

6. Tosun F, Hidir Y, Saracli MA, Caliskaner Z, Sengul A. Intranasal fungi and chronic rhinosinusitis: what is the relationship? *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2007; 116:425-9.
7. Ponikau JU, Sherris DA, Kern EB, Homburger HA, Frigas E, Gaffey TA, et al. The diagnosis and incidence of allergic fungal sinusitis. *Mayo Clin Proc.* 1999; 74:877-84.
8. Van Crombruggen K, Zhang N, Gevaert P, Tomassen P, Bachert C. Pathogenesis of chronic rhinosinusitis: inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 128:728-32.
9. Roca-Ferrer J, Garcia-Garcia FJ, Pereida J, Perez-Gonzales M, Pujols L, Alobid I, et al. Reduced expression of COXs and production of prostaglandin E(2) in patients with nasal polyps with or without aspirin-intolerant asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 128:66-72.
10. Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Johansson SC, van Cauwenberge P. Total and specific IgE in nasal polyps is related to local eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 107:607-14.
11. Bachert C, Zhang N, Patou J, van Zele T, Gevaert P. Role of staphylococcal superantigens in upper airway disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2008; 8:34-8.
12. Hammad H, Lambrecht BN. Dendritic cells and airway epithelial cells at the interface between innate and adaptive immune responses. *Allergy.* 2011; 66:579-87.
13. Min YG, Oh SJ, Won TB, Kim YM, Shim WS, Rhee CS, et al. Effects of staphylococcal enterotoxin on ciliary activity and histology of the sinus mucosa. *Acta Otolaryngol.* 2006; 126:941-7.
14. Kern RC, Conley DB, Walsh W, Chandra R, Kato A, Tripathi-Peters A, et al. Perspectives on the etiology of chronic rhinosinusitis: an immune barrier hypothesis. *Am J Rhinol.* 2008; 22:549-59.
15. Janošević LJ, Janošević S, Đorđević V, Milovanović J. Mesto i uloga mukocilijarne barijere i transporta u antimikrobnoj odbrani respiracijske sluznice. *Srp Arh Celok Lek.* 2002; 130:237-40.
16. Cohen M, Kofonow J, Nayak JV, Palmer JN, Chiu AG, Leid JG, et al. Biofilms in chronic rhinosinusitis: a review. *Am J Rhinol Allergy.* 2009; 23:255-60.
17. Tieu DD, Kern RC, Schleimer RP. Alterations in epithelial barrier function and host defense responses in chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2009; 124:37-42.
18. Corriveau MN, Zhang N, Holtappels G, van Roy N, Bachert C. Detection of *Staphylococcus aureus* in nasal tissue with peptide nucleic acid-fluorescence in situ hybridization. *Am J Rhinol Allergy.* 2009; 23:461-5.
19. Bhattacharyya N. Clinical and symptom criteria for the accurate diagnosis of chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope.* 2006; 116(7 pt 2 Suppl 110):1-22.
20. Davidson A, Hellquist HB. The so-called 'allergic' nasal polyp. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 1993; 55:30-5.
21. Segal N, Gluk O, Puterman M. Nasal polyps in the pediatric population. *B-ENT.* 2012; 8:265-7.
22. Weinreb I, Gnepp DR, Laver NM, Hoschar AP, Hunt JL, Seethala RR, et al. Seromucinous hamartomas: a clinicopathological study of a sinonasal glandular lesion lacking myoepithelial cells. *Histopathology.* 2009; 54:205-13.
23. Batsakis JG. Stromal cell atypia in sinonasal polyposis. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1986; 95:321-2.
24. Lopatin A, Bykova V, Piskunov G. Choanal polyps: one entity, one surgical approach. *Rhinology.* 1997; 35:79-83.
25. Yilmaz YF, Titiz A, Ozkan M, Tezer MS, Ozluedik S, Unal A. Bilateral antrochoanal polyps in an adult: a case report. *B-ENT.* 2007; 3:97-9.
26. Bernstein JM. The molecular biology of nasal polyposis. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2001; 1:262-7.
27. Ohori J, Ushikai M, Sun D, Nishimoto K, Sagara Y, Fukuiwa T, et al. TNF- α upregulates VCAM-1 and NF- κ B in fibroblasts from nasal polyps. *Auris Nasus Larynx.* 2007; 34:177-83.
28. Saji F, Nonaka M, Pawankar R. Expression of RANTES by IL-1 β and TNF- α stimulated nasal polyp fibroblasts. *Auris Nasus Larynx.* 2000; 27:247-52.
29. Yoshifuku K, Matsune S, Ohori J, Sagara Y, Fukuiwa T, Kurono Y. IL-4 and TNF- α increases the secretion of eotaxin from cultured fibroblasts of nasal polyps with eosinophil infiltration. *Rhinology.* 2007; 45:235-41.
30. Perić A, Vojvodić D, Radulović V, Vukomanović-Djurdjević B, Miljanović O. Correlation between cytokine levels in nasal fluid and eosinophil counts in nasal polyp tissue in asthmatic and non-asthmatic patients. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2011; 39:133-9.
31. Gonzalo JA, Lloyd CM, Wen D, Albar JP, Wells TN, Prondfoot A, et al. The coordinated action of CC chemokines in the lung orchestrates allergic inflammation and airway hyperresponsiveness. *J Exp Med.* 1998; 188:157-67.
32. Nickel R, Beck LA, Stellato C, Schleimer RP. Chemokines and allergic disease. *J Allergy Clin Immunol.* 1999; 104:723-42.
33. Bartels J, Maune S, Meyer JE, Kulke R, Schlüter C, Röwert J, et al. Increased eotaxin-mRNA expression in non-atopic and atopic nasal polyps: comparison to RANTES and MCP-3 expression. *Rhinology.* 1997; 35:171-4.
34. Meyer JE, Bartels J, Görögh T, Sticherling M, Rudack C, Ross DA, et al. The role of RANTES in nasal polyposis. *Am J Rhinol.* 2005; 19:15-20.
35. De Corso E, Baroni S, Romitelli F, Luca L, Di Nardo W, Passali GC, et al. Nasal lavage CCL24 correlate with eosinophils trafficking and symptoms in chronic sino-nasal eosinophilic inflammation. *Rhinology.* 2011; 49:174-9.
36. Perić A, Baletić N, Sotirović J, Špadijer-Mirković C. Macrophage inflammatory protein-1 production and eosinophil infiltration in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2014; DOI: 10.1177/0003489414554944. [In press]
37. Chao PZ, Chou CM, Chen CH. Plasma RANTES and eotaxin levels are correlated with the severity of chronic rhinosinusitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2012; 269:2343-8.
38. Her E, Frazer J, Austen KF, Owen WF Jr. Eosinophil hematopoietins antagonize the programmed cell death of eosinophils. Cytokine and glucocorticoid effects on eosinophils maintained by endothelial cell-conditioned medium. *J Clin Invest.* 1991; 88:1982-7.
39. Stern M, Meagher L, Savill J, Haslett C. Apoptosis in human eosinophils. Programmed cell death in eosinophil leads to phagocytosis by macrophages and is modulated by IL-5. *J Immunol.* 1992; 148:3543-9.
40. Perić A, Vojvodić D, Radulović V, Vukomanović-Djurdjević B, Perić AV, Miljanović O. Proinflammatory cytokine levels in nasal fluid as indicators of severity of nasal polyposis. *Acta Clin Croat.* 2010; 49:395-403.
41. Perić A, Vojvodić D, Radulović V, Miljanović O. Cytokine levels in nasal secretions in asthmatic and nonasthmatic patients with nasal polyposis. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg.* 2010; 20:111-7.
42. Dudvarski Z, Djukic V, Janosevic LJ, Tomanovic N, Soldatovic I. Influence of asthma on quality of life and clinical characteristics of patients with nasal polyposis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2013; 270:1379-83.
43. Perić A, Vojvodić D, Vukomanović-Djurdjević B. Influence of allergy on clinical, immunological and histological characteristics of nasal polyposis. *B-ENT.* 2012; 8:25-32.
44. Bernstein JM, Yankaskas JR. Increased ion transport in cultured nasal polyp epithelial cells. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1994; 120:993-6.
45. Zurak K, Bukovec Ž, Anzić SA, Baudoin T, Kalogjera L. Impact of inflammatory cell activation on nasal hyperreactive response to distilled water nasal provocation. *Acta Clin Croat.* 2007; 46:151-6.
46. Sun DI, Joo YH, Auo HJ, Kang JM. Clinical significance of eosinophilic cationic protein levels in nasal secretions of patients with nasal polyposis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2009; 266:981-6.
47. Perić A, Vojvodić D, Vukomanović-Djurdjević B, Baletić N. Eosinophilic inflammation in allergic rhinitis and nasal polyposis. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2011; 62:341-8.
48. Kita H, Weiler DA, Abu-Ghazaleh RI, sanderson CJ, Gleich GJ. Release of granule proteins from eosinophils cultured with IL-5. *J Immunol.* 1992; 149:629-35.
49. Perić A, Vojvodić D, Milojević M, Mladenović D, Vujović A, Živančević-Simonović S. Sampling of nasal secretions for flow-cytometric analysis in inflammatory diseases of the nose and paranasal sinuses. *Medicinski časopis.* 2013; 47:30-5.
50. Elmorsy S, El-Naggar MM, Abdel aal SM, Abou-elela MA. Sinus aspirates in chronic rhinosinusitis: fungal colonization of paranasal sinuses, evaluation of ICAM-1 and IL-8 and studying of immunological effect of long-term macrolide therapy. *Rhinology.* 2010; 48:312-7.

Inflammatory Mechanisms in Nasal Polyposis

Aleksandar Perić^{1,2}, Danilo Vojvodić^{1,3}

¹Faculty of Medicine, University of Defense, Belgrade, Serbia;

²Department of Otorhinolaryngology, Rhinology Unit, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia;

³Institute for Medical Research, Division of Clinical and Experimental Immunology, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Nasal polyposis is a chronic inflammatory disease of the nasal and paranasal sinuses mucosa, characterized by prolaps of edematous mucosa, most commonly from the area of anterior ethmoid. The main histological characteristics are proliferation of pseudostratified respiratory epithelium, thickening of the basement membrane, focal fibrosis and eosinophilic and lymphocytic infiltration of the lamina propria. Although etiology is unknown, two hypotheses are dominant among the scientists: "hypothesis of staphylococcal superantigens" and "hypothesis of immune barrier dysfunction". Although we have not yet achieved a full understanding of the precise mechanisms underlying the pathogenesis of this disease, it is known

that nasal polyposis is associated with intensive chronic inflammation, followed by dysregulation of chemotaxis, migration, activation and function of eosinophils. A great number of cytokines, chemokines, and adhesion molecules are involved in the regulation of these complex mechanisms. After activation, eosinophils produce and release enzymes, which can lead to the damage of mucosa and tissue remodeling. Hyperactive eosinophils release a new amount of chemokines and cytokines, attracting new eosinophils into the site of inflammation, and may cause the persistence of chronic inflammation.

Keywords: nasal polyposis; etiology and pathogenesis; pathohistological analysis; cytokines; chemokines

Примљен • Received: 01/07/2013

Прихваћен • Accepted: 25/09/2014

Застојна инсуфицијенција срца код болесника с оштећеном функцијом бубрега

Милета Поскурица^{1,2}, Дејан Петровић^{1,2}

¹Клиника за урологију и нефрологију, Клинички центар Крагујевац, Крагујевац, Србија;

²Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Крагујевац, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Кардиоваскуларни поремећаји су најчешћи узрок смрти (46–60%) болесника са узнатредовалом хроничном слабошћу бубрега (ХСБ) лечених дијализом. Уремијска кардиомиопатија је основни патофизиолошки супстрат, а исхемијска болест срца (ИБС) и анемија најважнији чиниоци који доприносе овом стању. Удружени са добро познатим факторима ризика и поремећајима специфичним за терминалну слабост бубрега и дијализу, доводе до настанка застојне (конгестивне) инсуфицијенције срца (КИС). Сумња на постојање КИС се поставља на основу анамнезе, клиничког прегледа и ЕКГ налаза, а потврђује и хемодинамски прецизније дефинише радиошким и ехокардиографским прегледом. Биохуморални показатељи (*BNP*, *NT-proBNP*) нису довољно поуздани због специфичне волемијске флукуације и смањеног природног клиренса. Терапијски приступ се у основи не разликује од онога у општој популацији: *ACEI*, *ARBs*, β -блокатори, инотропни лекови и диуретици. Контрола хиперволемије и већине симптома најефикасније се решава изолованом или ултрафилтрацијом удруженом са дијализом током стандардне бикарбонатне хемодијализе или хемодијализације. Перитонеумска дијализа може ефикасно контролисати симптоме хиперволемије углавном код ниже *NYHA* класе (*II/III*), обично током првих година примене. Срчана потпорна терапија и хируршке корекције на миокарду и валвуларном апарату се, по правилу, ретко примењују код болесника на дијализи, док су реваскуларизационе процедуре корисне код придружене ИБС. У пробраним случајевима долази у обзир примена ресинхронизационог пејсинга и кардиовертер-дефибрилатора. **Кључне речи:** застојна слабост срца; терминална хронична слабост бубрега; кардиоваскуларна фармакотерапија

УВОД

Према регистру америчке националне епидемиолошке службе (*National Health and Nutrition Examination Survey – NHANES III*), преваленција хроничне слабости бубрега (ХСБ) је око 14%, а старењем се повећава на више од 20% [1]. Као критеријуми за дијагнозу ХСБ за потребе епидемиолошких истраживања користе се процењена вредност јачине гломерулске филтрације ($e\text{-GFR} < 60 \text{ ml/min}$) и/или количник вредности албумина и креатинина у мокраћи ($ACR \geq 30 \text{ mg/g}$). Посматрано по договорно утврђеним стадијумима (*National Kidney Foundation Kidney Disease Outcome Quality Initiative – NKF/KDOQI*), она није међугрупно уједначена: *I* – 3,3%, *II* – 3,0%, *III* – 4,3%, *IV* – 0,2% и *V* – 0,2% [2].

Преваленција инсуфицијенције срца (ИС) у општој популацији је 1–2% и повећава се са старењем, тако да је код особа старијих од 70 година 10% [3]. Према подацима америчког регистра (*United States Renal Data System – USRDS*), преваленција ИС пре почетка лечења хемодијализом је 40–60%. Подаци из релеванте америчке студије (*Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study – DOPPS*) показују да је преваленција ИС у Америци 46%, у Јапану око 20%, а у Европи у просеку већа од 25% [4, 5]. Смрт-

ност због кардиоваскуларних поремећаја код болесника лечених дијализом је 40–50%, тј. око девет пута већа него у општој популацији [6].

ДЕФИНИЦИЈА И КЛАСИФИКАЦИЈА ИНСУФИЦИЈЕНЦИЈЕ СРЦА

Инсуфицијенција (слабост) срца (ИС) је клинички синдром у чијој је основи структурни или функционални поремећај срца који онемогућава нормалан прилив крви у коморе или њихово пражњење [7]. Циркулаторна стаза није обавезна појава, па се израз „конгестивна“ (застојна) ИС (КИС) све чешће у пракси замењује термином „инсуфицијенција срца“. У патофизиолошком погледу она се може класификовати на неколико начина, али се у клиничкој пракси означава као слабост срца са смањеном ејекционом фракцијом (ЕФ), до 40%, односно очуваном ЕФ, већом од 40–55% [7].

Према препорукама Америчког удружења кардиолога (*American College of Cardiology Foundation/American Heart Association – ACCF/AHA*), које је прихватило и Европско удружење кардиолога (*European Society of Cardiology – ESC*), предложена је класификација тежине КИС у четири стадијума (*A–D*), почев од препознавања потенцијал-

Correspondence to:

Mileta POSKURICA
Klinika za urologiju i nefrologiju
Klinički centar Kragujevac
Zmaj Jovina 30, 34000 Kragujevac
Srbija
mileta.poskurica@gmail.com

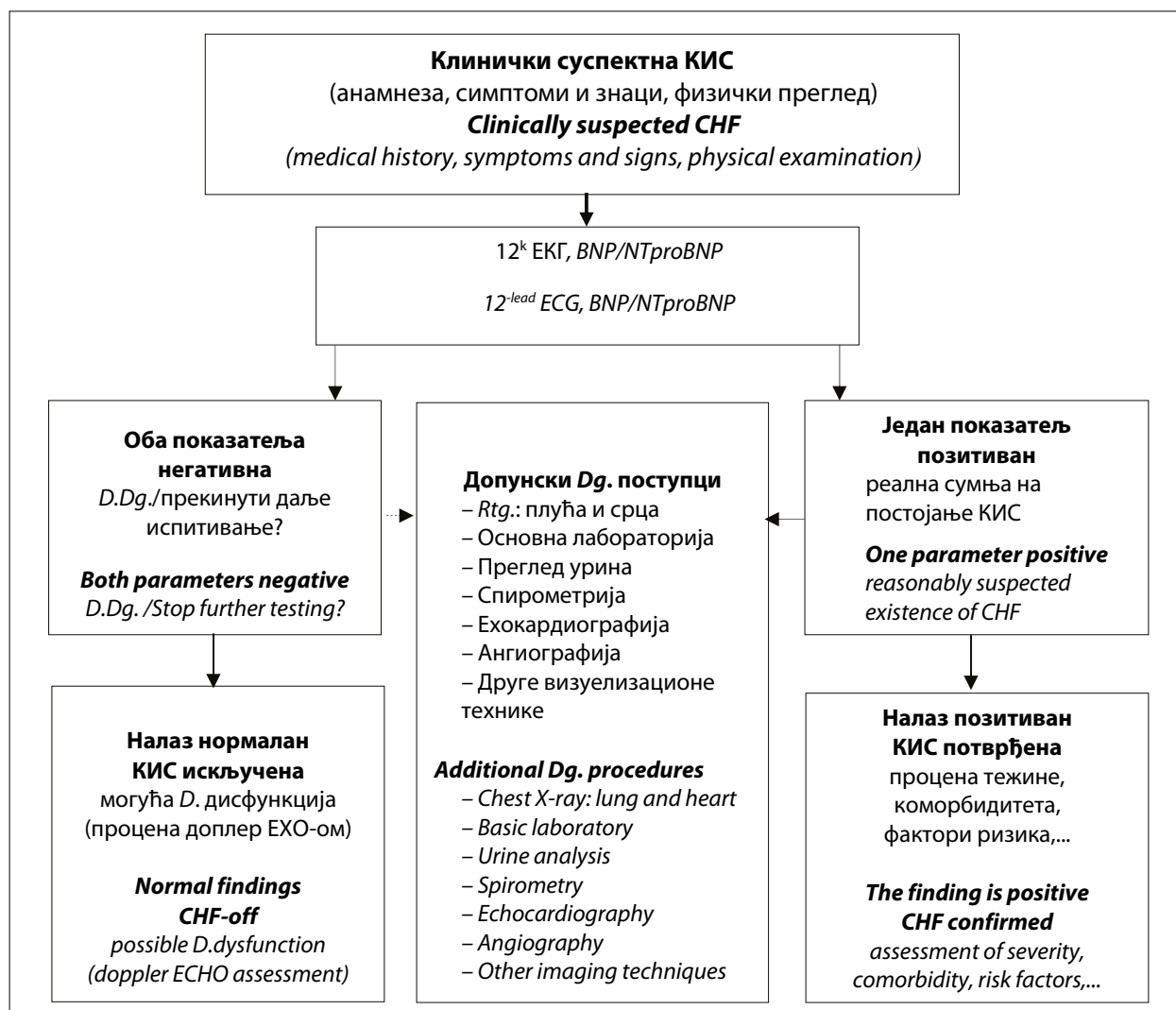


Схема 1. Алгоритам за дијагностиковање конгестивне инсуфицијенције срца (КИС)
Scheme 1. Algorithm for the diagnosis of congestive heart failure (CHF)

Прилагођено према Рамарку и сарадницима [19]
 Modified from Ramarka et al. [19]

ног ризика за њен настанак при изостанку симптома (стадијум А) до рефрактерне КИС (стадијум D) [7].

Њујоршко удружење кардиолога (*New York Heart Association – NYHA*) акценат ставља на повезаност функционалног радног капацитета (напора) и тежине симптома – функционалне класе (I–IV). У *NYHA* класу I убрајају се особе без симптома при уобичајеном напору, а у *NYHA* класу IV болесници који имају симптоме КИС при најмањем напору или када нису активни [7].

ПАТОФИЗИОЛОГИЈА ИНСУФИЦИЈЕНЦИЈЕ СРЦА У ХРОНИЧНОЈ СЛАБОСТИ БУБРЕГА

У основи ИС је структурни или функционални поремећај миокарда до којег најчешће доводе исхемијска болест, артеријска хипертензија, дијабетес и кардиомиопатије [8].

Појачањем снаге контракције изазване рефлексом истезања и активирањем неурохуморалних механиз-

зама, инсуфицијентни миокард извесно време може да прилагоди минутни волумен перфузионим потребама организма. Адренергичка стимулација појачава контрактилност миокарда, фреквенцију, периферни васкуларни отпор и лучење ренина, па удружена са гломерулском хипоперфузијом снажно активира ренин–анготензин–алдостерон систем (РАС). Ретенцију соли и воде додатно подстиче појачана хипоталамусна хиперсекреција вазопресина, покренута барорецепторским и осмотским стимулусима [9, 10]. Реагујући истезањем на хемодинамски стрес, миоцити појачано луче натриуретичне пептиде (*BNP*, *NT-proBNP*) који дилатирају плућну васкулатуру и подстичу бубрежну екскрецију соли и воде [11].

Прекомпоновање миоцита ради смањења коморског стреса и пратеће структурне промене у њима настају због активације додатних патофизиолошких механизма. Експресија гена за синтезу феталних цитоскелетних протеина и металопроотеиназа с повећаним стварањем ванћелијског матрикса доприноси коморском преобликовању. Појачани улазак јона

Табела 1. Фрамингамски критеријуми за дијагнозу конгестивне инсуфицијенције срца (КИС)**Table 1.** Framingham criteria for the diagnosis of congestive heart failure (CHF)

Главни критеријуми The major criteria	Пароксизмална ноћна диспнеја Paroxysmal nocturnal dyspnea
	Набрекле вене врата Neck veins distension
	Кркори, инспираторски пукоти Wheezing, inspiratory crackles
	Рендгенска кардиомегалија Rö-cardiomegaly
	Акутни едем плућа Acute pulmonary edema
	S ₃ -галоп S ₃ -gallop
	Хепатојугуларни рефлукс Hepatjugular reflux
	Плућна и системска висцерална конгестија Pulmonary and systemic visceral congestion
Споредни критеријуми The minor criteria	Губитак телесне масе од најмање 4,5 кг током пет дана лечења КИС (диуретици!) Weight loss ≥4.5 kg during 5 days treatment of CHF (diuretics!)
	Билатерални отоци чланака Bilateral leg swelling
	Ноћни кашаљ Night cough
	Диспнеја на уобичајени напор Ordinary exertional dyspnea
	Хепатомегалија Hepatomegaly
	Плеурални излив Pleural effusion
	Тахикардија, тахиаритмија ≥120/мин Tachycardia, tachyarrhythmia ≥120/min
	Смањење виталног капацитета за трећину Reduction in vital capacity by 1/3
	Олигурија Oliguria
	Асцитес Ascites

NYHA класа/NYHA class: I – EF≥50%; II – EF=49–40%; III – EF=39–25%; IV – EF<25%

Дијагноза = 2 главна критеријума или 1 главни + 2 споредна
Diagnosis = 2 major criteria or 1 major + 2 minor

калцијума у цитоплазму миоцита и смањен садржај енергетских супстрата (АТР, креатин-фосфат) смањују контрактилност и релаксацију коморе [12]. Апоптоза и некроза функционалних миоцита и последична фиброза покренути су неурохуморалним механизмима и исхемијом [13]. Алдостерон, хронични оксидативни и инфламаторни стрес доводе до дисфункције ендотела са доминантно израженим проатерогеним, прокоагулантним, прооксидативним и вазоконстрикторским својствима и појачаном синтезом проинфламаторних цитокина, профибротичких и митогених чинилаца (*TNF-α* и *IL-1*, кардиотрофин 1 и др.), који подстичу напредовање миокардне фиброзе [14].

Осим основног поремећаја, који је непосредни узрок КИС, њеном настанку и прогресији погодује читав низ опште познатих (традиционалних) фактора ризика, а код болесника са ХСБ и специфични (нетрадиционални) фактори ризика.

Морфофункционални поремећај миокарда узрокован уремијским и хемодинамским чиниоцима, иако није званично класификован у категорију „кардиомиопатија“, значајан је чинилац који доприноси настанку КИС независно од других узрочника [7, 15]. Оптерећење леве коморе притиском (хипертензија) и/или запремином (хиперволемија, анемија, предименизирана АВ фистула) представљају најзначајнији хемодинамски поремећај код болесника на хемодијализи [16]. Исхемијска болест срца (ИБС) погоршава постојећу ИС или погодује њеном настанку. Осим атероматозне вазоопструкције, исхемију додатно погоршавају анемија, повећана дифузиона дистанца, смањени перфузиони аорто-коронарни градијент и смањена густина капиларне мреже [17]. Анемија је заједнички поремећај за ХСБ и ИС, а бележи се код више од 75% болесника са узнапредовањем ХСБ (III/IV). Смањење нивоа хемоглобина за 1 g/dl у ХСБ доводи до повећања масе леве коморе за 10 g/m² [18]. Секундарни хиперпаратиреоидизам с повећаним нивоом кацијума и фосфата у серуму ($Ca \times P > 4,4 \text{ mmol}^2/l^2$), малнутриција, микроинфламација, оксидативни стрес, уремијски токсини и биолошка некомпатибилност дијализне мембране јесу поремећаји специфични за болеснике лечене дијализом [15].

ДИЈАГНОЗА ИНСУФИЦИЈЕНЦИЈЕ СРЦА

Дијагноза КИС се заснива на анамнестичким подацима, критичкој процени симптома и знакова и примени различитих дијагностичких поступака (Схема 1).

Објективни преглед, стандардни ЕКГ снимак и одређивање концентрације коморских натриуретских пептида (*BNP*, *NT-proBNP*) у серуму јесу почетни кораци који се примењују и у општој популацији (Табела 1).

ЕКГ преглед је обавезан дијагностички поступак, али треба имати у виду осетљивост финалне осцилације због хидроелектролитских промена током хемодијализе [19, 20].

Радиолошки утврђена кардиомегалија ($KTi \geq 0,5$) може указати на хипертрофију и дијастолну дисфункцију леве коморе, док тзв. миопатски изглед увећане срчане силуете са стазним променама у плућима по правилу говори у прилог КИС [15, 19].

Према усвојеним ехокардиографским критеријумима, на систолну ИС указује смањење ЕФ ($\leq 50\%$) и фракционог скраћења (ФС) унутрашњих димензија леве коморе ($< 25\%$), уз повећање унутрашњих димензија у дијастоли ($EDLK > 57 \text{ mm}$) и систоли ($ESLK > 40 \text{ mm}$). Нормалне унутрашње димензије леве коморе и очувана ЕФ с поремећеним трансмитралним протоком говоре у прилог њеној дијастолној дисфункцији: релаксациони поремећај ($V_{maxE}/V_{maxA} < 1$; $IVRT > 100$) или рестриктивни поремећај ($V_{maxE}/V_{maxA} > 1,6$; $IVRT < 60$). Преглед се може допунити и параметрима које пружа ткивни доплер – брзина покрета митралног анулуса и др. [6].

Фармаколошки (добутамински, аденозински и др.) стрес-тестови имају предност над ергодинамским и,

попут холтер-електрокардиографије, могу бити корисни у дијагностиковању исхемијске природе КИС код ових болесника. Радионуклидна (RNA) ангиографија (вентрикулографија, скинтиграфија), нуклеарна магнетна резонанција (NMR) и позитронска емисиона томографија (PET) су неинвазивне визуелизационе (енгл. *imaging*) технике које се селективно користе за потврду дијагнозе КИС [7, 13].

Инвазивне процедуре (коронарографија с левом вентрикулографијом, ендомиокардна биопсија и др.) користе се за процену природе и тежине ИС, коморбидних стања или потребе за хируршким лечењем [19, 21].

ПРОГНОЗА

Прогноза болесника са КИС лечених дијализом је готово двоструко гора него у општој популацији, јер је медијана преживљавања 36 наспрам 60 месеци, па упркос лечењу, четири године након постављања дијагнозе умре 50% болесника. Годишња стопа морталитета унапредовале КИС је 50%, а у општој популацији 15–20% [2, 22].

Показатељи лоше прогнозе су прогресивно смањење ЕФ и дилатација леве коморе, валвуларна регургитација, повећана концентрација катехоламина и натриуретичних пептида у серуму, хипонатремија, кардијална кахексија и др. [23, 24].

ПРЕВЕНЦИЈА

Оптимизацијом уремијског миљеа смањује се вероватноћа настанка или ублажава клинички ток већ испољених кардиоваскуларних поремећаја. Интердијалитички пораст телесне тежине не треба да буде већи од 3,5% за NYHA III/IV, односно до 5% тзв. суве телесне масе за NYHA I/II, тј. 1,0–1,5 kg између две дијализе, а 1,5–2,0 kg током викенда.

Вредност индекса телесне масе треба да буде 25–30 kg/m², серумских протеина у распону нормалних вредности, а концентрације јона калцијума и фосфата такве да не повећавају производ растворљивости на више од 4,4 mmol/l² (Ca: 2,10–2,37 mmol/l; P: 1,13–1,78 mmol/l). Концентрације холестерола и триглицерида у серуму треба да буду у складу с важећим препорукама (LDL-C ≤ 2,6 mmol/l; nonHDL-C < 3,36 mmol/l; HDL-C ≥ 1,16–1,42 mmol/l; Tgl ≤ 1,7 mmol/l), а ниво паратхормона у распону 150–300 pg/ml [6].

Крвни притисак треба одржавати на вредностима мањим од 140/90 mm Hg, а анемију кориговати до вредности хемоглобина 11–12 g/dl. Треба тежити доброј гликорегулацији код особа оболелих од шећерне болести (HbA_{1c} < 8%), док је контрола прооксидантног (хомоцистеин < 15 μmol/l) и проинфламаторног стања (CRP < 10 mg/l) потребна код свих болесника са ХСБ [21, 23].

Табела 2. Оптимизација услова за дијализу – циљне вредности
Table 2. Optimization of dialysis conditions – target values

Параметар Parameter		Циљна вредност Target value
Хемодијализа Hemodialysis	KT/V	≥ 1.2
	URR	≥ 65–70%
Перитонеумска дијализа Peritoneal dialysis	KT/Vw	≥ 1.7–2.2
	Ccrw	≥ 50 l/1.73 m ²
Вода за припрему дијализата Water for dialysate preparation	Бактерије Bacteria	0–100 CFU/ml
	Ендотоксин Endotoxin	0–0.25 EU/ml
АВ фистула A-V fistula	Q _{av}	500–1000 ml/min

KT/V – индекс ефикасности; URR – проценат смањења уреје након дијализе; w – недељни; Q_{av} – проток; Ccr – клиренс креатинина

KT/V – efficiency index; URR – percentage of urea reduction after dialysis; w – weekly; Q_{av} – flow through A-V fistula; Ccr – creatinine clearance

Оптимизација параметара у вези с поступком дијализе приказана је у табели 2.

ЛЕЧЕЊЕ

У складу с усвојеним водичима добре клиничке праксе преузетих из препорука за општу популацију, циљеви лечења ИС су усмерени ка превенцији напредовања обољења и побољшању квалитета живота болесника, те дужине њиховог преживљавања [22].

Опште (нефармаколошке) мере

Ове мере и поступци подразумевају упознавање болесника с природом болести током лечења и важности придржавања предочених препорука и ограничења: смањење уноса соли (3–5 грама дневно) и воде (1,5–2 литре дневно) у NYHA стадијуму III/IV, забрана пушења и смањење уноса алкохолних пића, редовно бележење јутарње телесне тежине и смањење прекомерне телесне тежине [25].

Умерена физичка активност од 20 до 40 минута дневно од три до пет дана недељно пожељна је код болесника NYHA класе II и III, док је код оних класе NYHA IV она практично ограничена мировањем у постељи. Дневни одмор, путовања, туризам и друге друштвене активности прилагођавају се степену ИС и сразмерни су успешности сузбијања симптома [7].

Антипнеумококна вакцина (*Pneumovax*) и годишња имунизација од сезонског грипа сматрају се корисном превенцијом. Треба избегавати примену нестероидних антиреуматских лекова, трицикличких антидепресива, антагониста калцијума (дихидропиридин, дилтиазем, верапамил) и антиаритмика класе I, док примена кисеоника у болничким и/или кућним условима доприноси симптоматском, а у извесној мери и хемодинамском, побољшању стања болесника [9, 25].

Фармаколошко лечење

Фармаколошко лечење је етапно, а са напредовањем ИС често је веома сложено и комбиновано са другим терапијским мерама. Базични лекови за лечење КИС су блокатори РАС, бета-блокатори и диуретици [7, 26].

Блокатори ренин-ангиотензин-алдостерон система

Блокатори РАС припадају групи лекова који на различитим нивоима прекидају овај значајни маладаптивни механизам.

Инхибитори ангиотензин-конвертујућег ензима (ACEI) су лекови избора у лечењу асимптоматске и симптоматске КИС независно од њене хемодинамске природе. У клиничким студијама SAVE (*Survival and Ventricular Enlargement Study*) и SOLVD (*Studies of Left Ventricular Dysfunction*) потврђено је да смањују тежину симптома, потребу за болничким лечењем, побољшавају квалитет живота и дужину преживљавања болесника [27]. У узнапредовалој ХСБ (ЈГФ < 30 ml/min) потребно је смањити дозу за 25–50% [28].

Блокатори ангиотензин II рецептора тип 1 (ARBs) сличног су деловања и по правилу се примењују код неподношења ACEI, а корисни су у комбинацији са ACEI код нефропатија с протеинуријом већом од 1,0 грама дневно и код узнапредовале и/или рефрактерне симптоматске КИС (*Valsartan Heart Failure Trial – ValHeFT*) [29]. И за њих важе иста ограничења у погледу примена као и за ACEI [26, 29].

Антагонисти алдостерона (спиронолактон, еплеренон) ефикасно супримирају преобликовање срчаног мишића и крвних судова посредовано алдостероном. Користе се као додаток уобичајеној терапији за лечење симптоматске ИС NYHA III/IV (*Randomized Aldactone Evaluation Study – RALES*) [30]. У узнапредовалој ХСБ практично се не примењују (хиперкалијемија) или је дозни интервал двоструко већи.

Антиренински лекови (алискирен) су доступни и за оралну примену, али још нису постали лекови тзв. прве линије у лечењу КИС, премда имају добре резултате у погледу инхибиције РАС [31].

Бета-блокатори

Бета-блокаторе, упркос често неоправдано потенцираним међугрупним разликама, треба увек користити за лечење КИС, осим када постоје опште контраиндикације. Ефикаснији су у комбинацији са ACEI/ARBs и диуретикима [7, 26]. Примењују се у лечењу свих болесника са дијагнозом КИС (NYHA II-IV) и са поремећајима који могу бити патофизиолошки супстрат ИС, као што су хипертензија и исхемијска болест срца.

Попут лекова из прве групе, смањују морбидитет и морталитет од КИС и ИБС, као и учесталост болнич-

ког лечења који је с тиме у вези (*Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II – CIBS II*; *Metoprolol CR/XL Randomised Intervention Trial in Congestive Heart Failure – MERIT-HF* и др.). Код болесника с терминалном ХСБ потребно је смањити дозу бисопролола за 50%, али не и за остале бета-блокаторе [27, 28].

Диуретици

Диуретици се увек користе у лечењу ХСБ и КИС, по правилу у комбинацији са ACEI/ARBs, бета-блокаторима и инотропним лековима. Са напредовањем ХСБ и/или дужом применом њихова ефикасност слаби, па је корисно да се комбинују, дају парентерално или се уводи торасемид због ефикасније апсорпције. Дозе се повећавају током развоја ХСБ/КИС, а тиазиди су неефикасни већ код ЈГФ мање од 30 ml/min [6, 13].

Инотропни лекови

У ове лекове убрајају се: дигиталис, инхибитори фосфодиестеразе, допаминергици и калцијумски сензитери.

Дигиталис (дигоксин, дигитоксин) смањују тежину симптома и потребу за понављаним хоспитализацијама, али не повећавају дужину преживљавања (*Digitalis Investigation Group – DIG*). Уз опште контраиндикације, треба имати на уму да се доза дигитоксина код болесника који се лече дијализама мора смањити за 25–50%, а дигоксина за 75–90%, што га чини неупотребљивим [7, 28].

Инхибитори фосфодиестеразе III (негликозидни инотропи: амрион, милринон, еноксимон) се примењују у тешким облицима удружене срчане и периферне слабости попут кардиогеног шока, КИС код исхемијске болести срца, сепсе, после кардиохирурских интервенција и код рефрактерне ИС болесника који чекају трансплантацију срца. Испољавају позитивно инотропно дејство и делују као периферни вазодилататори, слично удруженим ефектима добутамина и натријум-нитропрусида. Досадашња искуства их нису квалификовала за ширу примену. Код болесника са терминалном ХСБ доза ових лекова се смањује за 25–50%, док за болеснике на дијализи нема потврђених података [26, 28].

Симпатомиметски амини (допамин, добутамин) су лекови с позитивним инотропним дејством. Преко β_1 -R посредоване стимулације аденилат-циклазе додатно повећававају цитосолску концентрацију јона калцијума.

Допамин је ендогени катехоламин и прекурсор норепинефрина, а сразмерно дози, делује на допаминергичке [(δ) 2–5 $\mu\text{g/kg/min}$] адренергичке [$(\beta_1 + \alpha)$ 5–10 $\mu\text{g/kg/min}$ и (α) >10 $\mu\text{g/kg/min}$] рецепторе. У рефрактерној КИС лечење почиње дозом од 2–5 $\mu\text{g/kg/}$

min и постепено се повећава до максималне дозе од 25 $\mu\text{g/kg/min}$.

Добутамин је синтетски катехоламин с претежним β_1 и β_2 и слабијим вазоконстрикторним деловањем (α_1). Будући да не подстиче ослобађање ендогених катехоламина, погоднији је код болесника са КИС и придруженом ИБС. Примењује се иницијално 1,0–2,5 $\mu\text{g/kg/min}$ с постепеном титрацијом на 20–40 $\mu\text{g/kg/min}$, а доза се не прилагођава степену слабости бубрега [7].

Левосимендан је инотропни лек нове генерације који појачава осетљивост миофиламентарног контрактилног апарата на постојећу цитосолску концентрацију јона калцијума. Користи се за лечење акутне или хроничне акутизоване КИС исхемијске етиологије и стањима након кардиохируршких захвата или перкутаних коронарних интервенција (PCI). Дозу треба смањити за 50% код болесника на дијализи [32].

Вазодилататори

Вазодилататори су лекови који су се некада традиционално користили у лечењу ИС, а данас су у извесној мери потиснути ACEI и новијим генерацијама α и β блокатора. Нитрати се примењују у парентералном и пероралном облику у складу с општим препорукама у стањима конгестије плућа и за лечење ангине пекторис. Није потребно прилагођавање дозе код болесника са терминалном ХСБ. Хидралазин може бити користан у лечењу хроничне, а нитријум-нитропрусид акутне КИС [7, 24].

Догађајна фармаколошка шераија

Она подразумева примену других лекова који могу имати директне или посредне ефекте на квалитет живота болесника са КИС или превенцију компликација КИС.

Антиаритмике треба опрезно користити због лошег инотропног и проаритмогеног ефекта. Не препоручује се примена антиаритмика класе I, а бета-блокатори и амјодарон су лекови избора. Амјодарон успешно конвертује фибрилацију преткомора и одржава синусни ритам и код увећане леве преткоморе, а побољшава и успешност електроконверзије. Даје се у стандардним опадајућим дозама и дозним интервалима, а дозно се не прилагођава степену слабости бубрега. Треба га избегавати код општих контраиндикација: срчане (брадикардија, проширење QRS комплекса, АВ блок) плућне (фиброза), ендокрине (хипотиреоза, хипертиреоза) и др. [13, 28].

Антикоагулантна и антиагрегациона терапија се примењује код болесника с терминалном ХСБ и КИС у пробраним случајевима с анамнезом тромбоемболијских догађаја, ако се процена о оправданости примене врши у складу с важећим препорукама (Score system for quantifying the risk of an embolic event – CHADS₂) [33].

Антиагрегациона терапија ацетилсалицилном киселином се користи код болесника с исхемијском болешћу срца или после реваскуларизационих процедура, а доза лека се не мења, као ни за већину других антиагрегационих лекова другачијег механизма деловања (тиклопиридин, абциксимаб) [28]. О примени нове генерације оралних антикоагулантних лекова, као што су инхибитори фактора Ха (апиксабан, ривароксабан) и директни инхибитори тромбина (дабигатран), у овој популацији болесника још нема довољно података [7].

Антилипемиси се могу користити код болесника са КИС исхемијске генезе јер испољавају стабилизирајуће, антиромботичко и антиинфламаторно дејство на ендотел. Сви статини, с изузетком росувастатина, могу се користити и у терминалној ХСБ, док фибрате и никотинску киселину треба избегавати или знатно смањити дозу већ у умерено израженој ХСБ [7, 34].

Лечење анемије рекомбинованим синтетским еритропоетином (rh-EPO) са додатком гвожђа или без њега неопходно је јер спречава преобликовање леве коморе и погоршање симптома ИБС и КИС [18, 23].

Хируршке и интервентне кардиолошке процедуре

Хируршки и интервентни кардиолошки поступци су индиковани код ИБС, валвуларних поремећаја и др. Будући да је морталитет годину дана након инфаркта миокарда код дијализираних болесника 59%, а након пет година око 90%, одлуку о примени неке реваскуларизационе процедуре треба донети пре акутног коронарног догађаја или развоја ИС (ЕФ<35–40%). Медикаментно лечење као једина мера треба да буде добро аргументована одлука [35].

Хируршка и интјервенћна реваскуларизација

Хируршка реваскуларизација је метода избора за болеснике с терминалном ХСБ и ИБС, посебно оне на дијализи, али се још не сматра „рутинском“ терапијском процедуром. Коронарно аорто-артеријско/венско премошћавање (CoBPG) има извесну предност над интервентним техникама и треба га урадити након оптимизације медикаментне терапије, коронарографске и клиничке процене подобности [36]. Периоперациона смртност за CoBPG је већа (3,4% према 8,2–11,1%) него у општој популацији. Годишња стопа смртности након CoBPG у општој популацији је 3,8%, код болесника на дијализи 16,9%, а за оне са дијабетичком нефропатијом и периферном артеријском болешћу 23% [37].

Интервентне реваскуларизационе процедуре (PCI) јесу минимално инвазивне, али показују нешто слабије резултате у односу на CoBPG. Интрахоспитална смртност код примене металних и леком обложених (DES) стентова је мања (2,7%) него након CoBPG, а рестеноза се јавља касније код DES стентова. Вероватно-

ћа петогодишњег преживљавања болесника старијих од 65 година са *DES* стентом је незнатно мања (24% према 28%) у односу на *CoBPG* [37].

Електрoшeраија

Електротерапија конвенционалним деснокоморским пејсингом није од користи, док је примена двокоморског ресинхронизационог пејсинга (*PM*) корисна код болесника са узнапредовалом КИС (*NYHA III/IV*; $EF < 35\%$), блоком леве гране и широким *QRS* комплексима ($> 120\text{--}130\text{ ms}$) јер доводи до побољшања *NYHA* класе и смањења учесталости поновне хоспитализације у току прве године [38, 39].

Имплантилни кардиовертер-дефибрилатор се примењује код болесника с ризиком од напрасне срчне смрти (продужен *QTc* интервал/*QTc* дисперзија, несупресивна коморска тахикардија или преживели акутни застој срца) и побољшава преживљавање за 25–30% током две године [7, 40]. Аблационе технике су индиковане код болесника с различитим облицима малигних коморских тахиаритмија, а уколико се ураде пре имплантације дефибрилатора, смањује се број испоручених електрошокова [19].

Интрaаортна балон-пумпа

Интрааортна балон-пумпа и механичка подршка комори (енгл. *ventricular assist device – VAD*) јесу уређаји којима се обезбеђују помоћ механичкој функцији срца и циркулација неопходна за минимално одрживу перфузију. Интрааортна балон-пумпа је корисна у стањима кардиогеног шока првих неколико дана, али не утиче на преживљавање до месец дана [41]. Механичка подршка комори се „краткорочно“ користи у стањима кардиогеног шока, пролазног погоршања на листи чекања за трансплантацију или за постоперациону подршку. „Дугорочна“ примена предвиђена је за болеснике с рефрактерном КИС [7].

Трансплантација срца

Ово је најбољи начин лечења терминалне ИС код болесника у општој популацији без других значајних коморбидитета, јер савремена имуносупресивна терапија обезбеђује петогодишње преживљавање у више од 70% случајева. Према важећим критеријумима, једна од контраиндикација за трансплантацију срца је слабост бубрега ($ГФ<50\text{ ml/min}$ или $Scr>200\text{ }\mu\text{mol/l}$) [7, 19]. Ипак, код извесног броја болесника који су на механичкој потпори у очекивању трансплантације срца, акутизује се обично већ постојећа слабост бубрега која захтева привремено лечење дијализом. Досад је код мањег броја таквих болесника урађена истовремена трансплантација срца и бубрега, а први резултати су охрабрујући [42].

Методe за замену оштећене функције бубрега

Методe за замену трајно оштећене функције бубрега (трансплантација бубрега и дијализна потпорна терапија – *RRT*) јесу најефикаснији начини за контролу хемодинамске нестабилности и симптома КИС код болесника с терминалном ХСБ.

Трансплантација

Трансплантација је најбољи начин лечења трајно оштећене функције бубрега, али је управо ИС једна од контраиндикација, осим у случају истовремене трансплантације.

Дијализа

Дијализа је стандардни начин лечења болесника са терминалном ХСБ. Постоје бројни модалитети вантелесне (*HD*), телесне перитонеумске (*PD*); интермитентне (*IRRT*) или континуиране (*CRRT*) хемодијализе [43].

Интермитентна хемодијализа (*IHD*) са бикарбонатним пуфером и биокомпатибилном мембраном довољно високог конвективног транспорта ($K_{uf} 5\text{--}10\text{ ml/h/mmHg}$) је ефикасан, најдоступнији и најчешће коришћени начини ослобађања вишка телесне воде (1–4 литре по сеанси) и сузбијање симптома код болесника с акутним или хроничном КИС уз могуће хемодинамске поремећаје (хипотензија, грчеви и колапс) [25, 44]. Продужена дневна/ноћна кућна хемодијализа је варијанта учесталих *IHD* и погодује болесницима који не подносе интензивне дијализе. У кућним условима она се може вршити свакодневно у трајању од сат и по до два и по сата или током сваке или сваке друге ноћи у трајању од шест до десет сати. Због могуће трауме васкуларног приступа, потребна је посебна техника пункције васкуларног приступа (енгл. *buttonhole technique*) у исто место [43].

Интермитентна хемодијализација (*IHDF*) на биокомпатибилним, високо проточним ($K_{uf} \geq 20\text{ ml/h/mmHg}$) мембранама, са *online* припремом инфундата и постдијализационом супституцијом, све је доступнија. Посебно је корисна у лечењу хемодинамски нестабилних болесника, укључујући и оне са КИС који тешко подносе брзо ослобађање вишка телесне воде на стандардној *IHD* [43].

Изолована ултрафилтрација је технички захват који подразумева да се дијализатни проток (једнократно или понављано) заустави обично не дуже од 30 минута. Трансмембрански градијент омогућава претежно изоловану ултрафилтрацију готово без дифузионог транспорта. Користи се пре или за време планираног стандардног дијализног поступка. На тај начин је могуће одстранити од две до четири литре ултрафилтрата (телесне воде) у року од сат-два [45].

Хемофилтрација је процес изоловане вантелесне ултрафилтрације коју делимично прати конвективни

пренос супстанци на дијализаторима високе пропусности (хемофилтри). Ультрафилтрат се елиминисе у великој запремини, а циркулацијску стабилност одржава замена *online* формираног супституента [44].

Хибридни дијализни поступци подразумевају комбинацију предности интермитентне (IHD) и континуиране (CRRT) дијализе и по правилу су намењени лечењу акутне слабости бубрега и срца код интоксикација, сепсе, након снимања уз примену радиоконтрастног средства и кардиохируршких захвата [46].

Перитонеумска дијализа (PD) у готово свим својим модалитетима може бити ефикасан, а некада и једини (изостанак васкуларног приступа) начин лечења КИС [47]. Уснапредовала ИС (NYHA IV) захтева избор оне технике која ће омогућити ефикасну ултрафилтрацију и стабилно хемодинамско стање, што се може обезбедити мануелним (CAPD), а некада ефикасније аутоматским континуираним модалитетима (CCPD) [43]. Акутизација хроничне застојне ИС, укључујући

и едем плућа, захтева увођење тзв. ванредних хиперосмоларних дијализатних измена краћег трајања до остваривања задовољавајуће нето-ултрафилтрације, што се лакше може постићи оптимизираним континуираном PD (OCPD).

ЗАКЉУЧАК

У стручној јавности су углавном усаглашени ставови да је PD због поступније ултрафилтрације, очуване резидуалне диурезе, боље контроле крвног притиска, либералније исхране и узимања лекова (ретенција K^+ уз ACEI/ARBs) погоднији начин лечења у првих неколико година [48]. Ипак, вантелесна хемодијализа, захваљујући бројним техникама којима се може обезбедити ефикасна ултрафилтрација, представља доступну и ефикасну методу за лечење болесника са застојном слабошћу срца [49].

ЛИТЕРАТУРА

1. U.S. Renal Data System. USRDS 2013 Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States. Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2013.
2. Coresh J, Astor BC, Greene T, Eknoyan G, Levey AS. Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: 3rd National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Kidney Dis*. 2003; 41(1):1-12.
3. Mosterd A, Hoes AW. Clinical epidemiology of heart failure. *Heart*. 2007; 93:1137-46.
4. Stack GA, Molony AD, Rahman NS, Dosekun A, Murthy B. Impact of dialysis modality on survival of new ESRD patients with congestive heart failure in the United States. *Kidney Int*. 2003; 64:1071-9.
5. Jager JK, Lindholm B, Goldsmith D, Fliser D, Wiecek A, Suleymanlar G, et al. Cardiovascular and non-cardiovascular mortality in dialysis patients: where is the link? *Kidney Int Suppl* (2011). 2011; 1:21-3.
6. Poskurica M. Zastoјna srčana insuficijencija kod bolesnika sa oštećenom funkcijom bubrega. Drugi kongres nefrologa Srbije, Beograd 2012, Knjiga sažetaka; p.13.
7. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012. *Eur Heart J*. 2012; 33:1787-847.
8. Rich MW. Epidemiology, pathophysiology, and etiology of congestive heart failure in older adults. *J Am Geriatr Soc*. 1997; 45(8):968-74.
9. Parfrey SP. Cardiac disease in dialysis patients: diagnosis, burden of disease, prognosis, risk factors and management. *Nephrol Dial Transplant*. 2000; (Suppl 5):58-68.
10. Bristow MR, Ginsburg R, Minobe WA, Cubicciotti RS, Sageman WS, Lurie K, et al. Decreased catecholamine sensitivity and β -adrenergic-receptor density in failing human hearts. *N Engl J Med*. 1982; 307:205-11.
11. McMurray JJ. Clinical practice. Systolic heart failure. *N Engl J Med*. 2010; 362:228-38.
12. Braunwald E, Bristow MR. Congestive heart failure: fifty years of progress. *Circulation*. 2000; 102:IV14-IV23.
13. 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure. Practice Guideline October 2013; *J Am Coll Cardiol*. 2013; 62(16):e147-e239.
14. Flather M, Flather MD, Yusuf S, Køber L, Pfeffer M, Hall A, Murray G, et al. Long-term ACE-inhibitor therapy in patients with heart failure or left ventricular dysfunction: a systematic overview of data from individual patients. *Lancet*. 2000; 355:1575-81.
15. Petrović D, Miloradović V, Poskurica M, Stojimirović B. Kardiovaskularne bolesti kod bolesnika koji se leče hemodijalizom. Biomedicinska istraživanja. 2011; 2(1):51-61.
16. Poskurica M. Etiopatogeneza i učestalost kardiovaskularnih bolesti u terminalnoj insuficijenciji bubrega. Škola Dijalize Leskovac '98, Novine u nefrologiji. 1998; (1):1-15.
17. Poskurica M. Značaj kardiovaskularnih poremećaja za progresiju hronične slabosti bubrega. Sedmi Jugoslovenski kongres za nefrologiju, dijalizu i transplantaciju, Niš, 2002; Zbornik radova, 2002; p.HBI-02L, 34-36.
18. Tobli EJ, Silverberg SD. Anaemia and cardiovascular disease. In: Cardio-Renal Anaemia Syndrome – CRAS: Basic and Clinical Aspects. Buenos Aires: AWGLA; 2008. p.17-30.
19. Ramarka P, Hill J. Oxford Handbook of Cardiology. Oxford: Oxford University Press; 2006.
20. Mark PB, Petrie CJ, Jardine AG. Diagnostic, prognostic, and therapeutic implications of brain natriuretic peptide in dialysis and nondialysis-dependent chronic renal failure. *Semin Dial*. 2007; 20(1):40-9.
21. Petrović D, Miloradović V, Poskurica M, Stojimirović B. Dijagnostika i lečenje ishemijske bolesti srca kod bolesnika na hemodijalizi. *Vojnosanit Pregl*. 2009; 66(11):897-903.
22. Herzog CA, Asinger RW, Berger AK, Charytan DM, Díez J, Hart RG, et al. Cardiovascular disease in chronic kidney disease. A clinical update from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int*. 2011; 80(6):572-86.
23. Petrović D, Miloradović V, Poskurica M, Stojimirović B. Slabost srca bolesnika na hemodijalizi: procena i lečenje. *Srp Arh Celok Lek*. 2011; 139(3-4):248-55.
24. Davidović G. Patofiziološke osnove savremene terapije srčane insuficijencije. Kragujevac: Medicinski fakultet Kragujevac, Printell; 2008.
25. Madore F. Inadequate treatment of congestive heart failure in dialysis patients. *CIN* 2007; Available from: <http://www.uninet.edu/cin2007>.
26. Aronoff GR, Bennett WM. Drug Prescribing In Renal Failure: Dosing Guidelines For Adults And Children. 5th ed. Philadelphia: Versa Press; 2007.
27. Hjalmarson A, Goldstein S, Fagerberg B, Wedel H, Waagstein F, Kjeksus J, et al. Effects of controlled-release metoprolol on total mortality, hospitalizations, and well-being in patients with heart failure: the Metoprolol CR/XL Randomized Intervention Trial in congestive heart failure (MERIT-HF). *JAMA*. 2000; 283(10):1295-302.
28. Alpert SJ, Ewy AG. Heart failure. In: Manual of Cardiovascular Diagnosis and Therapy. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009. p.63-100.
29. Cohn N, Tognoni G. A randomized trial of the angiotensin-receptor blocker valsartan in chronic heart failure. *N Engl J Med*. 2001; 345:1667-75.
30. Juurlink DN, Mamdani MM, Lee DS, Kopp A, Austin PC, Laupacis A, et al. Rates of hyperkalemia after publication of the randomized aldactone evaluation study. *N Engl J Med*. 2004; 351:543-51.
31. Seed A, Gardner R, McMurray J, Hillier C, Murdoch D, MacFadyen R, et al. Neurohumoral effects of the new orally active renin inhibitor, aliskiren, in chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2007; 9(11):1120-7.

32. Puttonen J, Kantele S, Kivikko M, Häkkinen S, Harjola VP, Koskinen P, et al. Effect of severe renal failure and haemodialysis on the pharmacokinetics of levosimendan and its metabolites. *Clin Pharmacokinet.* 2007; 46(3):235-46.
33. Hörl WH. Coumarin use in dialysis patients with atrial [corrected] fibrillation: yes, after individual risk stratification. *Nephrol Dial Transplant.* 2009; 24(11):3285-7.
34. Anderson JT, Grégoire J, Hegele AR, Couture P, Mancini GB, McPherson R, et al. 2012 Update of the Canadian Cardiovascular Society guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia for the prevention of cardiovascular disease in the adult. *Can J Cardiol.* 2013; 29(2):151-67.
35. Charytan MD, Kuntz ER. Risks of coronary artery bypass surgery in dialysis-dependent patients – analysis of the 2001 National Inpatient Sample. *Nephrol Dial Transplant.* 2007; 22:1665-71.
36. Task Force Members, Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, Andreotti F, Arden C, Budaj A, et al. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J.* 2013; 34(38):2949-3003.
37. Shroff RG, Solid AC, Herzog AC. Long-term survival and repeat coronary revascularization in dialysis patients after surgical and percutaneous coronary revascularization with drug-eluting and bare metal stents in the United States. *Circulation.* 2013; 127:1861-9.
38. Bardy HG, Lee LK, Mark BD, Poole EJ. Amiodarone or an implantable cardioverter-defibrillator for congestive heart failure. *N Engl J Med.* 2005; 352:225-37.
39. Leon RA, Greenberg MJ, Kanuru N, Baker MC, Mera FV, Smith AL, et al. Cardiac resynchronization in patients with congestive heart failure and chronic atrial fibrillation. Effect of upgrading to biventricular pacing after chronic right ventricular pacing. *Am Coll Cardiol.* 2002; 39(8):1258-63.
40. Herzog AC, Li S, Weinhandl DE, Strief JW, Collins AJ, Gilbertson DT. Survival of dialysis patients after cardiac arrest and the impact of implantable cardioverter defibrillators. *Kidney Int.* 2005; 68:818-25.
41. Thiele H, Zeymer U, Neumann FJ, Ferenc M, Olbrich HG, Hausleiter J, et al. Intraaortic balloon support for myocardial infarction with cardiogenic shock. *N Engl J Med.* 2012; 367:1287-96.
42. Yanagida R, Czer LS, Ruzza A, Schwarz ER, Simsir SA, Jordan SC, et al. Use of ventricular assist device as bridge to simultaneous heart and kidney transplantation in patients with cardiac and renal failure. *Transplant Proc.* 2013; 45(6):2378-83.
43. Levy J, Morgan J, Brown E. *Oxford Handbook of Dialysis.* 2nd ed. Oxford: Oxford University Press; 2004.
44. Hrvčević R. Hemofiltracija. In: *Savremene metode dijalize.* 2nd ed. Beograd: Grafolik; 2012. p.239-279.
45. Mulloy LL, Caruana JR, Kozeny AG, Ing ST. Isolated ultrafiltration. In: Nissenson RA, Fine NR. *Dialysis Therapy.* 3rd ed. Philadelphia: Hanley and Belfus; 2002. p.166-170.
46. Topkara KV, Dang CN, Barili F, Cheema HF, Martens TP, George I, et al. Predictors and outcomes of continuous veno-venous hemodialysis use after implantation of a left ventricular assist device. *J Heart Lung Transplant.* 2006; 25(4):404-8.
47. Poskurica M. Izbor među različitim metodama peritoneumske dijalize. In: Nešić V, Stojimirović B, editors. *Kvalitet peritoneumske dijalize.* Beograd: Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu; 1998. p.223-249.
48. Covic A, Bammens B, Lobbedez T, Segall L, Heimbürger O, van Biesen W, et al. Educating end-stage renal disease patients on dialysis modality selection. *Clin Kidney J.* 2010; 3(3):225-33.
49. Segall L, Covic A. Cardiovascular disease in haemodialysis and peritoneal dialysis: arguments pro haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2007; 22:59-63.

Congestive Heart Failure in Patients with Chronic Kidney Disease

Mileta Poskurica^{1,2}, Dejan Petrović^{1,2}

¹Urology and Nephrology Clinic, Clinical Center Kragujevac, Kragujevac, Serbia;

²Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

SUMMARY

Cardiovascular disorders are the most frequent cause of death (46-60%) among patients with advanced chronic renal failure (CRF), and on dialysis treatment. Uremic cardiomyopathy is the basic pathophysiologic substrate, whereas ischemic heart disease (IHD) and anemia are the most important contributing factors. Associated with well-known risk factors and specific disorders for terminal kidney failure and dialysis, the aforementioned factors instigate congestive heart failure (CHF). Suspected CHF is based on the anamnesis, clinical examination and ECG, while it is confirmed and defined more precisely on the basis of echocardiography and radiology examination. Biohumoral data (BNP, NT-proBNP) are not sufficiently reliable because of specific volemic fluctuation and reduced natural clearance. Therapy approach is similar to the one for the gen-

eral population: ACEI, ARBs, β -blockers, inotropic drugs and diuretics. Hypervolemia and most of the related symptoms can be kept under control effectively by the isolated or ultrafiltration, in conjunction with dialysis, during the standard bicarbonate hemodialysis or hemodiafiltration. In the same respect peritoneal dialysis is efficient for the control of hypervolemia symptoms, mainly during the first years of its application and in case of the lower NYHA class (II°/III°). In general, heart support therapy, surgical interventions of the myocardium and valve replacement are rarely used in patients on dialysis, whereas revascularization procedures are beneficial for associated IHD. In selected cases the application of cardiac resynchronization and/or implantation of a cardioverter defibrillator are advisable. **Keywords:** congestive heart failure; chronic renal failure; cardiovascular pharmacotherapy

Примљен • Received: 16/07/2013

Прихваћен • Accepted: 04/10/2013

The Renin-Angiotensin System and Its Blockers

Rajko Igić^{1,2}, Ranko Škrbić²

¹Department of Anesthesiology and Pain Management, John Stroger Hospital of Cook County, Chicago, IL, USA;

²Department of Clinical Pharmacology, Medical Faculty, University of Banja Luka, Banja Luka, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

SUMMARY

Research on the renin-angiotensin system (RAS) has contributed significantly to advances in understanding cardiovascular and renal homeostasis and to the treatment of cardiovascular diseases. This review offers a brief history of the RAS with an overview of its major components and their functions, as well as blockers of the RAS, their clinical usage and current research that targets various components of the RAS. Because angiotensin-converting enzyme (ACE) metabolizes two biologically active peptides, one in the kallikrein-kinin system (KKS) and one in the RAS, it is the essential connection between the two systems. ACE releases very powerful hypertensive agent, angiotensin II and also inactivates strong hypotensive peptide, bradykinin. Inhibition of ACE thus has a dual effect, resulting in decreased angiotensin II and increased bradykinin. We described the KKS as well.

Keywords: renin-angiotensin system; angiotensin II; bradykinin; ACE inhibitors; angiotensin receptor blockers; aliskiren

INTRODUCTION

Research on the renin-angiotensin system (RAS) has contributed significantly to advances in understanding cardiovascular and renal homeostasis and to the treatment of cardiovascular diseases. The RAS is well-known for its role in the regulation of blood pressure as well as fluid and electrolyte homeostasis. The history of the RAS began at the end of the 19th century, 115 years ago. Other components of the cascade (angiotensinogen, angiotensin I, angiotensin II, angiotensin converting enzyme), fragments of angiotensin, and various blockers of the RAS were discovered later during the 20th century. But that is not the entire history of the RAS; many questions remain to be answered. This review offers a brief history of the RAS, development of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors, angiotensin II receptor blocking (ARB) agents, renin inhibitors, and a summary of current research developments related to the RAS, and clinical usage of the RAS blockers.

RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM

The discovery of a hypertensive agent in extracts of rabbit kidney was recorded in 1898 [1]. The substance was named renin, but research remained dormant for 30 years until it was found that renin was involved in the rise of blood pressure in the experimental models of hypertension [2]. The history of angiotensin began in 1939 when two independent research groups located a great geographical distance apart, described the pressor substance released by renin [3].

One peptide, two names

Two independent research groups, one in Buenos Aires led by Eduardo Braun-Menendez and other in Indianapolis, led by Irvine H. Page, linked ischemic renal disease with hypertension. Both based their conclusions upon results obtained in experimental animals where the renal artery was partially obstructed with a silver clip. They ultimately identified the substance that caused blood pressure increase. The Argentine researchers named it hypertensin, and the Indianapolis group named it angiotonin. From 1939 to 1957 this renin-derived hypertensive substance was known by both names, which led to some confusion. In 1957 Braun-Menendez and Page agreed to use a name derived from both of the two original ones: angiotensin. The renin substrate (produced by the liver) was named angiotensinogen, and enzymes that inactivated the peptide were termed angiotensinases. Despite the published agreement [4], the name hypertensin persisted for several more years, perhaps because of the well-known CIBA product Hypertensin.

Angiotensin converting enzyme

Skeggs et al. [5] reported in 1956 that renin liberates a decapeptide, angiotensin I (Ang I). This peptide is converted by an angiotensin-converting enzyme (ACE) to a biologically active octapeptide, Ang II. Later on, it was found that the pulmonary circulation could convert Ang I even in the absence of blood, suggesting that the enzyme must be bound to pulmonary endothelium [6, 7]. Based upon infor-

Correspondence to:

Rajko IGIĆ
Čitaonička 21, 25000 Sombor
Serbia
r.igic@excite.com

mation obtained from various researchers, the following sequence was established: first, the release of renin from juxtaglomerular cells into blood converts angiotensinogen to Ang I. Next, this peptide is hydrolyzed to Ang II both by ACE in blood and the enzyme bound to vascular endothelium. Ultimately, Ang II interacts with its vascular receptors to raise blood pressure.

Now, because of the pivotal position of ACE in this sequence, angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEIs) and angiotensin II receptor blocking agents (ARBs) are currently the most often prescribed medications for various cardiovascular conditions. ACEIs decrease production of Ang II, reduce sympathetic nervous system activity, and increase bradykinin levels, thus slowing the progression of target organ damage.

Ang II was initially believed to act only as a circulating hormone by binding two receptor subtypes [8]. Activation of AT₁ receptors promoted vasoconstriction, aldosterone release stimulation, hypertension, decreased renal flow, and augmentation of peripheral noradrenergic activity. The activation of AT₂ receptors led to vasodilatation, inhibition of proliferation and modulation of the extracellular matrix. However, an expanded view of the RAS has gradually emerged. The idea that the RAS was an endocrine system had to be modified when it was discovered that Ang II levels were much higher in tissues than in plasma, and that ACE inhibitors lowered blood pressure in hypertensive patients even when concentrations of renin and Ang II in the circulation were normal. As a result, a new concept emerged indicating that the RAS operates at both systemic (endocrine) and tissue (paracrine and autocrine) levels [9]. It is now clear that, in addition to vascular and renal actions, Ang II has direct effects at the cellular level and can influence, for example, cell growth and differentiation, but also may play a role as a mediator of apoptosis.

A whole family of angiotensins can be derived from Ang I by the action of various enzymes. A few of these peptides are identified by Roman numerals, e.g. Ang II, and all can be named by Arabic numerals referring to their amino acid sequence starting with the N-terminal end:

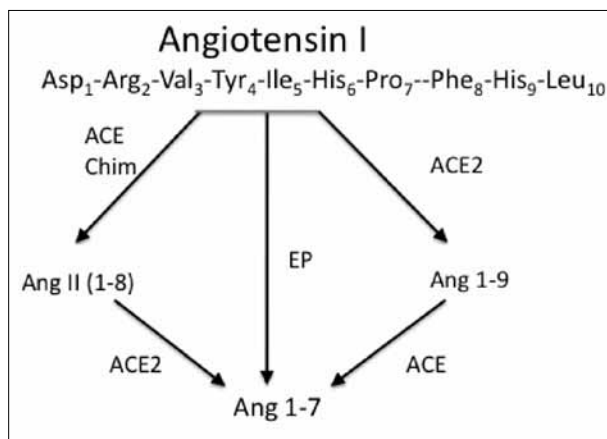


Figure 1. Main routes of angiotensin (Ang) II and Angiotensin 1-7 production

Chim – chimases; ACE – angiotensin I converting enzyme; ACE2 – a homologue of ACE; EP – tissue endopeptidases

Ang I (Ang 1-10), Ang II (Ang 1-8), Ang III (Ang 2-8), Ang IV (Ang 3-8), Ang 1-9, Ang 1-7, Ang 1-5. Some of the shorter angiotensin peptides (Ang 2-8, Ang 3-8, Ang 1-7) have biological actions. Ang 1-7 antagonizes many effects of Ang II, potentiates bradykinin actions, and has its own receptors. Because of its vasodilator action and stimulation of renal Na⁺ excretion, Ang 1-7 could potentially counterbalance the hypertensive effects of Ang II. ACE2, a homologue of ACE [3], generates Ang 1-7 directly from Ang II, Ang I or indirectly (Figure 1). Chymase can generate Ang II directly, without the participation of renin [10].

Properties of ACE

The ACE gene located on the chromosome 17 consists of 25 exons. Two forms of human ACE have been identified, somatic and germinal. Somatic ACE is associated with endothelial, epithelial and neuroepithelial cells, and it is a protein with two homologous N- and C-domains. Each domain has an active center with similar but distinct substrate specifications and chloride activation requirements. The somatic enzyme has a molecular weight of 150,000-180,000 D. Germinal ACE, expressed in the testes is only half the molecular size of the somatic enzyme [11]. Despite their different molecular sizes and immunological properties, the two forms of ACE exhibit similar enzymatic activities.

The main physiologic functions of the enzyme are attributed to the membrane-bound form. Blood vessels of the lung, retina, brain, and kidney are rich in ACE. Microvilli structures or epithelial linings in the brush border, choroid plexus, small intestine, and placenta are also very rich in ACE. High concentrations of ACE are found in both neurons and glial cells. [12]. Proteolytic cleavage releases cell-bound ACE into various body fluids, such as blood, urine, lymph, cerebrospinal fluid, and aqueous humor. Plasma ACE measurement is widely used for the diagnosis of sarcoidosis [13].

An insertion (II)/deletion (DD) polymorphism of ACE functions as a quantitative trait locus (QTL) which can account for the individual variability of ACE levels in plasma [13]. Individuals who are homozygous for the deletion allele have much higher levels of serum ACE and also an increased risk of cardiovascular and renal diseases and premature death. Recent technological advances that identify expression of QTLs now allow us to determine predispositions for human disease [13].

Conversion of Ang I by ACE depends upon the presence of chloride ion, while bradykinin hydrolysis can proceed in its absence, although at a lower rate. ACE has a pH optimum in the neutral range. At an acidic pH, Zn⁺⁺ dissociates from the active center and ACE activity decreases. The addition of Zn⁺⁺ maintains enzyme active to a pH as low as 5.5.

Substrates of ACE

ACE releases C-terminal dipeptides from a variety of peptides, including Ang I, bradykinin, substance P, opioid

peptides (Met-enkephalin-Arg⁶-Phe⁷, β -neoendorphin, dynorphin1-8, dynorphin1-6), neurotensin, luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) and cholecystokinin-8 [13]. The longest peptide cleaved on prolonged incubation is the b-chain of insulin that has 30 residues.

KALLIKREIN-KININ SYSTEM

Another system that produces vasoactive peptides from plasma can be traced back to the 19th century when it was discovered that injection of urine caused a toxic reaction [14]. This substance in urine was called kallikrein, but it was soon discovered that kallikrein was not vasoactive per se; it releases biologically active peptides, called kinins, from a plasma protein. The main kinins are bradykinin and lys-bradykinin (kallidin) [15]. They are released by enzymes (kininogenases) from substrates known as kininogens (Figure 2). Two kininogenases, plasma and tissue (glandular) kallikreins, are two separate enzymes that produce bradykinin and lys-bradykinin (kallidin), respectively. Tissue kallikrein is the major kinin forming enzyme in arteries, heart and kidney [16]. Kininogens are synthesized in the liver and circulate in high concentrations in plasma. Plasma kallikrein releases bradykinin only from high-molecular weight kininogen. Aminopeptidase cleaves N-terminal lysine of kallidin to produce bradykinin.

Bradykinin was named after the slow contraction it causes in the guinea pig ileum. An electronic instrument to record isotonic contractions of isolated smooth muscles (eg. guinea pig ileum, rat uterus, and guinea pig colon) was designed in 1962 by Erdos et al. [17] and it was the first of its kind. Thus, the era of kymographs, which required smoker paper on a rotating drum and a fixative to preserve signal markings, was ended.

Almost all cells express kinin receptors, B₁ and B₂. Bradykinin and kallidin bind to both types of B receptors, but they bind more efficiently to the B₂ type. B₁ receptors are selectively activated by des-Arg⁹-bradykinin and des-Arg¹⁰-kallidin. The B₂ receptor normally predominates, while B₁ receptors are induced by tissue injury (myocar-

dial ischemia, inflammation). B₂ receptors mediate vasodilation, increased vascular permeability, hypotension, contraction of intestinal smooth muscle, contraction of smooth muscle in airways, production of nitric oxide, and induction of pain [18]. Bradykinin was named after the slow contraction it causes in the guinea pig ileum.

Hydrolysis of any bond in bradykinin inactivates its effect on the B₂ receptor. This inactivation is done by kininases: ACE (kininase II), neutral endopeptidases, aminopeptidases, and carboxypeptidase N (kininase I). The name 'kininase II' was given to an enzyme found in the kidney and human plasma that releases the Phe⁸-Arg⁹ from bradykinin instead of the single Arg⁹ released by carboxypeptidase N [19].

The functions of kinins include the regulation of blood flow in the heart and kidney, but there is evidence for other actions as well. For example, the glands of the gastrointestinal tract contain kallikrein. It is possible that kallikrein secretion during or after a meal releases kinins to promote vasodilation and thus increase absorption. Kinins are known to be involved in sweating, vasodilation and edema formation during inflammation. Low urinary kallikrein excretion in children is a predictor of familial (genetic) essential hypertension, while children with high urinary kallikrein excretion have a reduced risk for developing familial hypertension [18]. Urinary kallikrein is also decreased in individuals with renal hypertension.

IDENTITY OF ACE AND KININASE II

The link between the kallikrein-kinin system and renin-angiotensin system was first recognized in the laboratory of Ervin G. Erdos when it was discovered that ACE and kininase II are identical [20, 21]. These findings were confirmed by purification of the protein from the lung. The purified enzyme yielded a single band on disc electrophoresis and had the same dual actions, activation of angiotensin and inactivation of bradykinin [7, 21].

Because ACE metabolizes two biologically active peptides, one in the kallikrein-kinin system and one in the RAS, it forms the essential connection between the two systems. ACE releases very powerful hypertensive agent, Ang II and also inactivates the strongest hypotensive peptide, bradykinin. Thus, the inhibition of ACE has a dual effect, resulting in decreased Ang II and increased bradykinin (Figure 3).

ACE INHIBITORS

The discovery of renin, ACE, and Ang II suggested that inhibition of any of these components could be beneficial for the regulation of blood pressure in people with hypertension. The first clinically useful ACE inhibitor (ACEI), captopril, was discovered in 1974, and the next generation of ACEIs soon followed. Next, Ang II-receptor blockers were discovered. It took still more time and effort to find

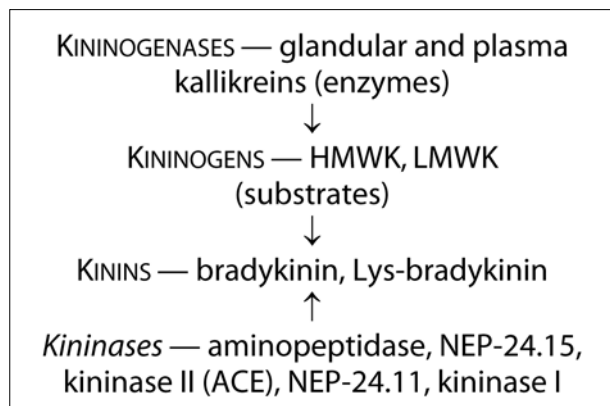


Figure 2. Schematic presentation of the kallikrein-kinin system

HMWK – high-molecular-weight kininogen; LMWK – low molecular weight kininogen; NEP – neutral endopeptidase.

Bradykinin is a peptide chain with following amino acid sequence: Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg.

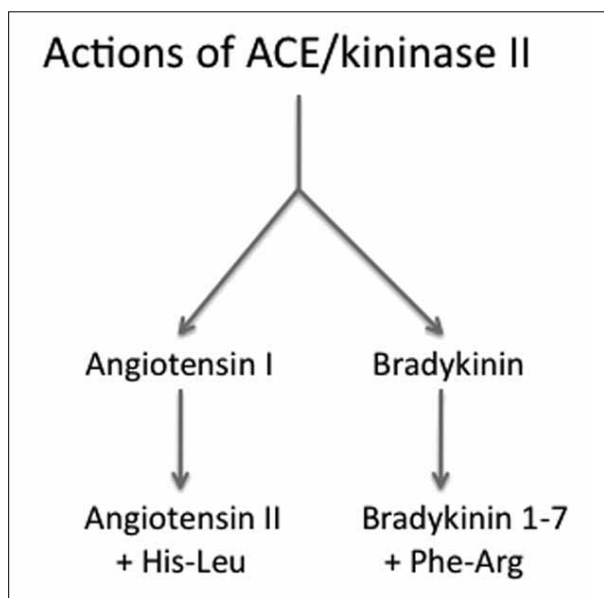


Figure 3. Dual actions of ACE

an orally active renin blocker. The story of captopril discovery is especially important because this drug initiated a new era of structure-based or rational drug design.

From snake venom to discovery of captopril

Mauricio Rocha e Silva, a Brazilian biochemist, became interested in the fact that when workers at the banana plantations in Brazil were bitten by pit vipers (*Bothrops jararaca*), they suddenly collapsed with a dramatic drop in blood pressure. Dr. Roscha e Silva then began to study the effects of viper venom extracts in dogs and guinea pigs. One of his postdoctoral fellows traveled to London in the mid 1960s to work in the laboratory of a prominent pharmacologist, Sir John R Vane. He brought with him a vial of the pit venom. By 1970, Vane's laboratory had determined that the snake venom contained a potent ACEI.

Dr. Vane then suggested to researchers at Squibb Pharmaceutical Company that if a decrease in Ang II formation reduced blood pressure, the snake venom extract might prove to be a useful drug. The active agent, a peptide, was soon isolated, purified from venom and then synthesized. It was then established that this peptide blocks the conversion of Ang I to Ang II and reduces blood pressure in hypertensive patients. However, the peptide had to be injected, because oral administration resulted in inactivation by acid hydrolysis in the stomach.

A small but powerful inhibitor of carboxypeptidase A was described in 1973. It was constructed on the basis of x-ray crystallography that enabled researchers to visualize the three-dimensional structure of the enzyme. This finding helped the Squibb researchers to formulate a whole new approach to create an inhibitor of ACE. To design an ACEI, it was necessary to make a molecule that has positive and negative charges in exactly the right places to bind to ACE and block the contact of the enzyme with Ang I. A year later, more than 50 molecules were synthe-

Table 1. Dosages of the ACEIs

Drug (generic) name	Daily dose in mg (frequency/day)	
	Hypertension	Heart failure
Benazepril	10-40 (1-2)	Not recommended
Captopril	75-300 (2-3)	18.75-150 (3)
Cilazapril	1-5 (1)	0/5-2/5 (1)
Enalapril	5-40 (1-2)	5-40 (2)
Fosinopril*	10-40 (1)	10-40 (1)
Lisinopril	10-40 (1)	5-20 (1)
Moexipril	7.5-30 (1-2)	Not approved
Perindopril	4-16 (1-2)	Not approved
Quinapril	10-80 (1-2)	10-40 (1-2)
Ramipril**	2.5-20 (1-2)	10 (2)
Trandolapril*	1-8 (1-2)	1-4 (1-2)

* renal and hepatic elimination; ** indicated in high-risk vascular patients

sized. Among them was captopril, the first orally active ACE inhibitor [22].

Similar structure-based designs were then applied to create additional ACEIs, eleven of which are now on the market (Table 1). An analogous technique was used in the 1990s to make five effective ARBs.

CLINICAL USAGE OF THE ACEIs AND ARBs

ACE inhibitors as drugs

ACEIs are effective medications for several cardiac, renal, and vascular conditions, including hypertension, heart failure and diabetic nephropathy [23]. Most ACEIs are pro-drugs with improved absorption, but they require metabolic conversion (hydrolysis) in the liver or intestine to become active [24, 25]. Lisinopril and captopril are the only drugs that do not need such conversion. ACEIs have sulfhydryl (captopril), phosphinyl (fosinopril), or carboxyl (all other ACEIs) side groups that affect their disposition and metabolism. Captopril has -SH group and it reduces S-S bridges in proteins. Thus, dissociation of IgG by huge doses of captopril may cause the appearance of protein in urine [26]. It is not clear whether some of ACEIs, such as those that are highly lyophilic (quinapril and ramipril), penetrate better into specific tissues and are thus more effective.

ACEIs interfere both with the generation of Ang II and inactivation of bradykinin, thus decreasing the availability of Ang II and prolonging the half-life of bradykinin [13]. Decreased levels of Ang II in circulation (which suppresses release of renin) result in increased plasma renin activity and Ang I release. This, in turn, provides the Ang I substrate for alternative enzymes, such as chymase that contributes to the so called "Ang II escape".

The vasodilator actions of bradykinin are not due entirely to the direct actions of the peptide on blood vessels. Increased bradykinin stimulates the production of nitric oxide and induces prostacyclin release to further increase vasodilatation. When an ACEI is used together with nonsteroidal anti-inflammatory drugs, the bradykinin-lowering effect of the ACEI, especially captopril, may be suppressed.

Indications for clinical usage of ACE inhibitors

The ACE inhibition or ARB is recommended for treating hypertension (especially in diabetics), heart failure, diabetic nephropathy (or stage 1 to 3 chronic kidney disease), myocardial infarction, and high-risk cardiovascular disease [24, 25]. ACE inhibitors are particularly useful in hypertensive diabetics. These drugs are useful for the treatment of isolated systolic hypertension or systolic-predominant forms of hypertension. In cerebrovascular disease, ACEIs preserve cerebral autoregulatory vascular ability despite a reduction of blood pressure. These drugs are effective in coronary artery disease, because they decrease myocardial oxygen consumption and ischemia.

On the basis of the data from several clinical trials or open trials, it is recommended to use the ACEIs as the first-choice drugs in all stages of heart failure. Significant reductions in heart failure mortality have been observed with enalapril, captopril, ramipril, quinapril, trandolapril, and lisinopril. These agents improve symptomatology of heart failure, as well. ACEIs reduce morbidity and mortality in post myocardial infarction patients, and they slow progression of target organ damage, including various nephropathies, especially if proteinuria is present. ACEIs are indicated for the primary prevention of stroke in high-risk patients and in patients with diabetes and hypertension.

Table 1 shows the usual dosage of ACEIs. Lower doses are recommended for initiation of therapy. Higher doses are generally used with continuing therapy to provide full 24-hour coverage. In individuals with renal dysfunction (creatinine clearance <30 ml/min) dosing should be adjusted accordingly. Fosinopril does not require dosage adjustment because the biliary excretion increases in renal dysfunction. ACEIs may be given in fixed-dose combinations that contain a low dose of thiazide diuretic (6.25 mg of hydrochlorothiazide) for an additive and beneficial action. Eighth Joint National Committee (JNC 8) of the 2014 recommends that thiazide-type diuretic, ACEI, ARB, or calcium channel blocker (CCB) should be used as initial treatment for uncomplicated hypertension in the general population of <60 years to lower blood pressure at 140/90 mm Hg, and for the general population of ≥60 years old <150/90 mm Hg [24]. Diabetics should be initially treated with the same types of drugs, and the goal blood pressure is <140/90 mm Hg. Chronic kidney disease should be initially treated with ACEI or ARB, and the goal blood pressure is <140/90 mm Hg. If goal blood pressure cannot be reached with two drugs, a third drug from the list (thiazide-type diuretic, CCB, ACEI, or ARB) should be added. An ACEI and an ARB should not be used together in the same patient [24].

Adverse effects of ACEIs

Main ACEIs adverse effects include functional renal insufficiency, hyperkalemia, cough, and angioedema [25, 27]. ACEIs induce angioedema in 0.02-0.05% of patients.

When ACE inhibitor is stopped, angioedema disappears within hours; if necessary adrenaline, antihistamine, and/or a glucocorticoid should be given. In the case of renal insufficiency, discontinuation of ACEIs or cautious volume repletion usually reverses the problem. Hyperkalemia may appear when glomerular filtration rate is reduced, but ACEIs actually minimize hypokalemia caused by diuretics. ACEIs, ARBs and aliskiren (an inhibitor of renin) are contraindicated in pregnancy because of developmental defects that may occur when the drugs are given in the second or third trimester. They are also contraindicated for individuals with renal artery stenosis. The prevalence of renal artery stenosis is estimated to be between 2% (unselected hypertensive patients) and 40% (older patients with atherosclerotic comorbidity) [28].

Angioedema and dry, nonproductive cough (in 5%-20% of patients) are the most important adverse effects of ACEIs. Women are affected more often than men. It seems that angioedema/cough is partly genetically determined. Decreased degradation of bradykinin may also be involved in these adverse reactions. When ACE is inhibited, bradykinin is metabolized by other enzymes, such as neutral endopeptidases, aminopeptidases and carboxypeptidase N (kininase I). If these enzymes are also inhibited, as may occur in the treatment of diabetes or transplant patients, the incidence of angioedema increases significantly [27]. The adverse effects of ACEIs are not dose related. A cough may begin one week to six months after therapy is initiated, but it will resolve spontaneously a few days to several weeks after discontinuation of the drug. Withdrawal of ACEI for four weeks is usually sufficient to determine whether the medication caused the cough. An ARB blocker may be substituted for the ACEI. However, for patients who developed angioedema with ACEI, the risk of developing subsequent angioedema when taking an ARB is between 2% and 17%.

ANGIOTENSIN II RECEPTOR BLOCKERS

ARBs, orally active non-peptide compounds that specifically block Ang II binding to the AT₁ receptor, were developed in the early 1980s when the synthesis and testing of a series of imidazole-5-acetic acid derivatives attenuated pressor responses to Ang II.

The AT₁ receptor mediates most of the known physiologic actions of Ang II, including its hemodynamic and trophic effects. Ang II-induced vascular smooth muscle cell growth depends on cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) [29]. Thus, it is believed that CYP1B1 contributes to the development and maintenance of Ang II-induced hypertension and associated vascular changes, which include hypertrophy, endothelial dysfunction, increased sensitivity to vasoactive drugs, cardiac hypertrophy, fibrosis, inflammation, and generation of reactive oxygen species. The AT₂ receptor appears primarily during fetal development, where it is believed to mediate apoptosis and tissue remodeling/healing [30].

Indications for clinical usage of angiotensin receptor blockers

ARBs are well tolerated and effectively reduce blood pressure, diminish left ventricular hypertrophy, and prevent chronic kidney disease in type 2 diabetic patients. ARBs may be used alone or in combination with other antihypertensive agents, especially thiazide diuretics [31]. Clinical trials have shown that ARB treatment of heart failure and renal insufficiency provides cardiovascular benefits similar to those of ACE inhibitors [24, 32].

Losartan Intervention for Endpoint (LIFE) trial that included 4.605 patients treated with losartan and 4.588 patients treated with atenolol studied morbidity and mortality. The patients (75-80 years) with left ventricular hypertrophy demonstrated by electrocardiogram were treated from 50 mg of either losartan or atenolol to 100 mg. If blood pressure of <140/90) was not achieved, hydrochlorothiazide and other agents could be added. In the subgroup with isolated systolic hypertension, a marked beneficial effect of losartan was observed for hypertension (25% reduction) and stroke (40% reduction) relative to atenolol. In the RENAAL study the effects of losartan were compared with conventional therapy (diuretics or β -adrenergic blockers) in diabetic hypertensive patients with proteinuria. Compared with conventional therapy, losartan reduced the primary composite end point by 16 %. Similar trials done with irbesartan (IDNT-Irbesartan type 2 Diabetic Nephropathy) and IRMA II (the Irbesartan Micro-Albuminuria II) demonstrated renal protective effects. Studies on heart failure have shown no meaningful differences between ARBs and ACE inhibitors on cardiovascular mortality and morbidity. The effects of combinations of ARB-ACE inhibitor are not superior to higher doses of either class given alone (Table 2).

Adverse effects of ARBs are not dose-related [32]. Cough and angioedema are much less common than with ACEIs. As with the other RAS blockers, ARBs are contraindicated in pregnancy.

Renin inhibitors

Because secretion of renin is the first step in the renin-angiotensin cascade, a concentrated effort has been made to develop orally active renin inhibitors for clinical usage. Initially several agents were found to have potential. However, investigations at the clinical testing of the first generation renin inhibitors (e.g., zankiren and remikiren) were discontinued, because of their low potency and poor bioavailability, and for commercial reasons [33]. In fact, the success of ACEIs and ARBs influenced the pharmaceutical decision makers to avoid taking commercial risks with putative renin inhibitors.

The synthesis of aliskiren was based on X-ray crystallography, which helped in the structural design of the orally active renin inhibitor (the second generation) to become available for clinical use. Clinical data show that aliskiren is a safe drug with an antihypertensive effective-

Table 2. Daily doses of the ARBs

Drug (generic) name	Daily dose* (mg)
Candesartan	8-32
Eprosartan	600-800
Irbesartan	150-300
Losartan	25-100
Olmesartan medoximil	20-40
Telmisartan	40-80
Valsartan	80-320

* ARBs are usually administered once daily

ness similar to that of other antihypertensive drugs [33], and potential for reducing kidney disease progression [34]. In contrast to other renin-angiotensin blockers, aliskiren directly decreases plasma renin activity.

Despite many recent clinical trials, the place of aliskiren (Tekturna in the USA, Rasilez in UK and elsewhere) in the management of essential hypertension remains unclear [35]. It is not yet clear if aliskiren provides better protection against end-organ damage in cardiovascular and renal diseases. Combined with other antihypertensive drugs, aliskiren (300 mg once/day) improves their hypotensive effects, and it may lessen their adverse effects. However, in high-risk patients, precautions should be taken when combining two or more RASIs, as tissue perfusion may be serious adverse effect. Although the first studies of aliskiren yielded favorable results, two other trials (ASPIRE and AVANT-GARDE) produced contradictory data. The ALTITUDE study was terminated early because of safety issues and lack of beneficial effects. The results of ongoing studies in other patient groups such as the ATMOSPHERE trial are still unavailable. With longer experience this drug may yet become a part of the standard treatment for hypertension.

CONCLUSION

The RAS has evolved from a circulating and endocrine system to multiple endocrine, paracrine, and autocrine systems. At least four axes for the RAS have been explored, mainly classical renin/ACE/ANG/AT₁ and AT₂ receptor axis, and its role in the regulation of blood pressure, aldosterone synthesis, and body salt and fluid homeostasis.

The imbalance of actions induced by Ang II and smaller angiotensins (Ang1-7, Ang II and Ang IV) may lead to the development of hypertension and organ injury.

Although ACEIs and ARBs substantially improve the prognosis for patients with hypertension, heart failure and/or kidney disease, morbidity and mortality remain high. Patients treated chronically with either an ACEI or ARB may experience increased renin levels with potentially harmful consequences due to upregulation of pathways that lead to Ang II escape.

Therapeutic strategies could include inhibiting various points within the angiotensin/kinin cascade. ACE2 could enhance the production of Ang 1-7, and drugs that decrease proangiotensin-12 would reduce angiotensin formation by an alternate pathway (Figure 1) [10]. Such

treatments are still in the experimental stage. Development of additional kinin agonists may prove useful in managing of patients with cardiac ischemia, diabetes, renal disease or peripheral ischemia. Inhibitors (e.g., omapatrilat and valsartan-neprilysin) that block both ACE and neutral endopeptidase 24.11 or ARB and neprilysin might also be useful, as would inhibition of chymase. As it stands, these experimental agents have helped us to understand alternate mechanisms that might be used for cardiovascular protection [32]. Blocking antibodies for the components of an overly active RAS failed to reduce blood pressure in hypertensive patients. Ongoing trials with aliskiren, and continuing research studies with the blockers of prorenin,

(pro)renin receptors, and gene therapy to reduce renin will reinforce the position of renin in cardiovascular diseases and indicate more effective treatments for cardiovascular and renal diseases.

Current research on the (pro)renin receptors and alternative pathways for Ang II production, suggests additional targets for management of cardiovascular and renal diseases. All new prospects for targeting the RAS can increase vascular protection and prevent end-organ damage. Even though individuals can be helped by novel drug therapies, a global approach to hypertension and cardiovascular diseases must focus on lifestyle changes and prevention as well as treatment.

REFERENCES

1. Tigerstedt R, Bergman PG. Niere und Kreislauf. *Skand Arch Physiol.* 1898; 8:223-7.
2. Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF, Summerville WW. Studies on experimental hypertension. I. The production of persistent elevation of systemic blood pressure by means of renal ischaemia. *J Exp Med.* 1934; 59:347-79.
3. Škrbić R, Igić R. Seven decades of angiotensin (1939-2009). *Peptides.* 2009; 30:1945-50.
4. Braun-Menendez E, Page IH. Suggested revision of nomenclature: angiotensin. *Science.* 1958; 127:242.
5. Skeggs LT, Khan JR, Shumway NP. Preparation and function of the hypertensin-converting enzyme. *J Exp Med.* 1956; 103:295-9.
6. Ng KKF, Vane JR. Fate of angiotensin I in the circulation. *Nature.* 1968; 218:144-50.
7. Igić R, Yeh HSJ, Sorrells K, Erdos EG. Cleavage of active peptides by a lung enzyme. *Experientia.* 1972; 28:135-6.
8. Lin SY, Goodfriend T. Angiotensin receptors. *Am J Physiol.* 1970; 218:1319-28.
9. Paul M, Mehr AP, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev.* 2006; 86:747-803.
10. Prosser HC, Foster MF, Richards AM, Pemberton CJ. Cardiac chymase converts rat proangiotensin-12 (PA12) to angiotensin II: effects of PA12 upon cardiac haemodynamics. *Cardiovasc Res.* 2009; 82:40-50.
11. Soubrier F, Wei L, Hubert C, Clauser E, Alhenc-Gelas F, Corvol P. Molecular biology of the angiotensin I converting enzyme: II. Structure-function. Gene polymerism and clinical implications. *J Hypertens.* 1993; 11:599-604.
12. Igić R, Behnia R. Properties and distribution of angiotensin I converting enzyme. *Curr Pharm Des.* 2003; 9:697-706.
13. Soubrier F. From an ACE polymorphism to genome-wide searches for eQTL. *J Clin Invest.* 2013; 123:111-2.
14. Bouchard C. Recherches experimentales sur la toxicite des urines normales. *Compt Rend.* 1884; 8:665-71.
15. Erdos EG, Renfrew AG, Sloan EM, Wohler JR. Enzymatic studies on bradykinin and similar peptides. In: Erdos EG, editor. *Structure and Function of Biologically Active Peptides: Bradykinin, Kallidin, and Congeners.* New York: The New York Academy of Sciences; 1963. p.222-234.
16. Waeckel L, Potier L, Richer C, Roussel R, Bouby N, Alhenc-Gelas F. Pathophysiology of genetic deficiency in tissue kallikrein activity in mouse and man. *Thromb Haemost.* 2013; 110:476-83.
17. Erdos EG, Jackman V, Barnes WC. Instrument for recording isotonic contractions of smooth muscles. *J Appl Physiol.* 1962; 17:367-8.
18. Yang HYT, Erdos EG. Second kininase in human blood and plasma. *Nature.* 1967; 215:1402-3.
19. Carretero OA, Rhaleb NE. Kinins. In: Izzo JL, Black HR, editors. *Hypertension Primer.* 3rd ed. Philadelphia: American Heart Association; 2003. p.39-41.
20. Yang HYT, Erdos EG, Levin Y. A dipeptidyl carboxypeptidase that converts angiotensin I and inactivates bradykinin. *Biochim Biophys Acta.* 1970; 214:374-6.
21. Igić R, Erdos EG, Yeh HS, Sorrells K, Nakajima T. The angiotensin I converting enzyme of the lung. *Circ Res.* 1972; 31:II-51-61.
22. Cushman DW, Cheung HS, Sabo EF, Ondetti MA. Design of potent competitive inhibitors of angiotensin-converting enzyme. Carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acids. *Biochemistry.* 1977; 14:5484-91.
23. Lenfant C, Chobanian AV, Jones DW, Roccella EJ; Joint National Committee on the Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. Seventh report of the Joint National Committee on the Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC 7): resetting the hypertension sails. *Hypertension.* 2003; 41:1178-9.
24. James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J, et al. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *JAMA.* 2014; 311:507-20.
25. Sica DA. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. In: Izzo JL, Black HR, editors. *Hypertension Primer.* 3rd ed. Philadelphia: American Heart Association; 2003. p.426-9.
26. Igić R, Gafford JT, Erdos EG. Effect of captopril on proteins and peptide hormones. *Biochem Pharmacol.* 1981; 30:683-5.
27. Stojiljković L. Renin-angiotensin system inhibitors and agioedema: anesthetic implications. *Curr Opin Anesthesiol.* 2012; 25:356-62.
28. Piecha G, Wiecek A, Januszewicz A. Epidemiology and optimal management in patients with renal artery stenosis. *J Nephrol.* 2012; 25:872-8.
29. Jennings BL, Saahan-Firat S, Estes AM, Das K, Farajana N, Fang XR, et al. Cytochrome P450 1B1 contributes to angiotensin II-induced hypertension and associated pathophysiology. *Hypertension.* 2010; 56:667-74.
30. Stojiljković L, Behnia R. Role of renin angiotensin system inhibitors in cardiovascular and renal protection. A lesson from clinical trials. *Curr Pharm Des.* 2007; 13:1335-45.
31. Wu HY, Huang JW, Lin HJ, Liao WC, Peng YS, Hung KY, et al. Comparative effectiveness of renin-angiotensin system blockers and other antihypertensive drugs in patients with diabetes: systematic review and Bayesian network meta-analysis. *BMJ.* 2013; 347:f6008.
32. Weber MA. Angiotensin II receptor blockers. In: Izzo JL, Black HR, editors. *Hypertension Primer.* 3rd ed. Philadelphia: American Heart Association; 2003. p.430-2.
33. Igić R, Behnia R. Pharmacological, immunological, and gene targeting of the renin-angiotensin system for treatment of cardiovascular disease. *Curr Pharm Des.* 2007; 13:1199-214.
34. Juncos L. Direct renin inhibition: extracting facts from facades. *Ther Adv Cardiovasc Dis.* 2013; 7:153-67.
35. Sen S, Sabrili S, Ozyigit T, Uresin Y. Aliskiren: review of efficacy and safety data with focus on past and recent clinical trials. *Ther Adv Chronic Dis.* 2013; 4:232-41.

Систем ренин-ангиотензин и његови блокатори

Рајко Игић^{1,2}, Ранко Шкрбић²

¹Одсек за анестезиологију и терапију бола, Болница „Џон Строгер“ Округа Кук, Чикаго, САД;

²Одсек за клиничку фармакологију, Медицински факултет, Универзитет у Бањој Луци, Бања Лука, Република Српска, Босна и Херцеговина

КРАТАК САДРЖАЈ

Истраживања ренин-ангиотензин система (РАС) значајно су допринела разумевању кардиоваскуларне и реналне хомеостазе, али и лечењу кардиоваскуларне болести. У овом прегледном чланку дат је кратак историјат РАС, описане су његове главне компоненте и њихова функција, приказана је клиничка примена блокатора РАС и указано на текућа истраживања компонената овога система. Пошто ангиотензин-конвертујући ензим (АСЕ) метаболише два биолошки веома активна пептида, од којих један припада каликреин-

кинин систему (ККС) а други РАС, тај ензим је важна веза између тих система. АСЕ ослобађа веома снажан хипертензивни пептид, ангиотензин II, а инаktivира јак хипотензивни пептид брадикинин. Зато инхибиција АСЕ доводи до смањивања нивоа ангиотензина II и повећања нивоа брадикинина. Због тога смо овде описали и ККС.

Кључне речи: ренин-ангиотензин систем; ангиотензин II; брадикинин; АСЕ-инхибитори; блокатори ангиотензина; алискирен

Примљен • Received: 02/12/2013

Прихваћен • Accepted: 29/01/2014

Неадекватно сахрањивање као важан фактор у епидемијама куге код Срба у Хабзбуршкој монархији крајем 18. века – историјска анализа

Горан Васин, Снежана Божанић, Милица Кисић Божић

Катедра за историју, Филозофски факултет, Универзитет у Новом Саду, Нови Сад, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Анализа старих обичаја приликом сахрањивања покојника у Срему, првенствено код Срба, у другој половини 18. века основни је део рада, чији је циљ да појасни последице ове негативне појаве на ширење епидемије куге. Аустријска царевина је многим законским нормама покушавала да спречи и сузбије епидемије, али на самом терену ове наредбе често нису поштоване. Српски митрополити Павле Ненадовић и Стефан Стратимировић инсистирали су на искорењивању празноверја и ретроградних, често нецивилизациских поступака приликом сахрањивања, у чему су само делимично успели. Пример куге у Иригу и околини у периоду 1795–1796. године изразито показује штетност неодговарајућег односа према покојницима, што је један од фактора у ширењу епидемије. Користећи прворазредну архивску грађу, објављене изворе и одговарајућу литературу, аутори су приказали овај комплексан историјски процес.

Кључне речи: сахрањивање; куга; епидемија; архаични обичаји; црква; историја медицине

УВОД

Током 18. века честе епидемије на територији јужне Угарске биле су једне од највећих недаћа с којима се суочавало цивилно становништво. Циљ бројних мера које је од почетка своје владавине спроводила владарка Марија Терезија био је да се превенцијом и усавајањем нових медицинских сазнања онемогући велика смртност, која је била честа последица неодговарајућег лечења заражених или, неретко, игнорисања законских оквира лечења. Улогу у свему томе имали су традиционализам и конзервативизам нижих слојева српског друштва и дела клера, који су применом застарелих и архаичних обичаја везаних за култ мртвих доприносили ширењу епидемија. У том смислу, постојање читавог низа обичаја у вези са загробним животом још је од краја 17. века имало важну улогу у обликовању друштвене свести. Релативно слабом утицају Цркве може се приписати распрострањена пракса да верници сами по свом нахођењу примењују мноштво паганских обреда везаних за мртве. Такође, малобројност образованог свештенства доприносила је ширењу заблуда и предрасуда код самих црквених лица. Током 18. века митрополити у Београду и Карловцима покушавали су да доношењем разних уредаба и одредаба измене свест друштвених слојева у погледу сахрањивања. Ти покушаји су само делимично били успешни.

ДИСКУСИЈА

Иако су још током 16. века у Аустрији основане прве комисије и установе чији је задатак било озбиљније сагледавање здравствених проблема (*Instanta Caesareorum Commissariorum ad Officium Magisterii Sanitatis Deputatorum*, 1585), у 18. веку утемељен је рад најважнијих тела која су водила рачуна о превенцији, лечењу и сузбијању заразних болести (1737. године је образована Здравствена комисија, а 1753. Дvorsка здравствена комисија). Први Патент о куги прокламован је 25. јуна 1710. Наредба *Ordo pestis* из 1755, која је допуњена 1764. године, потпуно је законски дефинисала и нормирала борбу против куге. Такође, низом одредаба од 1731. до 1740. детаљно су регулисани оснивање контумаца, начини формирања кордона, те обавезе лекара, војних лекара и хирурга у случајевима већих епидемија куге [1]. У светлу тога значајан је и податак да је 1745. године забрањен рад надрилекара. Затим, 3. августа 1756. уведена је обавеза да се покојници не сахрањују пре него што хирурзи не прегледају тело и не констатују смрт. Та одредба убрзо је допуњена тачком да се умрли не смеју сахрањивати 36 сати од момента смрти. Ниже свештенство и народ су примени тих одредаба пружали снажан отпор. Карловачки митрополит Павле Ненадовић, пак, био је изричит у томе да се државни закони морају до краја примењивати. У неколико посланица упућених локалном свештенству и народу он је инсистирао на томе да се стари обичаји и паганизам мо-

Correspondence to:

Goran VASIN
Filozofski fakultet
Katedra za istoriju
Dr Zorana Đinđića 2
21000 Novi Sad
Srbija
goranvasin@yahoo.com

рају искоренити у складу са духом времена. Посебну пажњу Ненадовић је усмеравао на гробља, њихово одржавање и начин сахрањивања. Он је у писму епископу Дионисију Новаковићу јасно казао да се морају примењивати све државне одлуке и да се тела покојника морају прегледати, односно да се нико не сме супротставити овој одлуци. У том погледу посебно треба истаћи писма митрополита Ненадовића гргетешком архимандриту Авакумовићу и протосинђелу Видаку, у којима се инсистира на примени државних одлука, посебно када су у питању хигијенске мере и однос према покојницима. Опширно је писао и о неправилностима које су забележене приликом спровода у Борову и Вуковару након доношења тада још нових прописа [2].

Митрополит Ненадовић је 17/28. октобра 1755. из Беча послао циркуларно писмо свештенству у Срему у којем је, између осталог, наређивао – сматрајући то нормалном цивилизацијском мером – да се гробља ограде или палисадом, или да се ископа око њих канал дубок и широк по један хват и да се онда на њега постави прошће с трњем. Када се куга појавила у Београдском пашалуку 1762, митрополит је у Посланици од 2/13. септембра 1762. преко проте Јефтимија Радосављевића јавио свештенству да прекину сваку комуникацију са људима јужно од Саве и Дунава, па и размену добара, те да не ступају у контакт с особама које нису издржале контумац или немају пропусницу војних власти. О укорењености архаичних и ретроградних обичаја сведочи и констатација Ненадовића садржана у његовој посланици од 31. марта/11. априла 1767, да су све његове наредбе о огађивању гробља остале без резултата, као и поновљена молба свештенству и верницима да ограде гробља, поставе на њему крстове, да се на гробљима ништа нечасно не ради, да се гробља чисте и у њих не пуштају животиње [3].

Проблем неадекватног сахрањивања коначно је решен доношењем Регуламента (27. априла 1770. и 2. јануара 1777) и Деклараторије (*Rescriptum Declaratorium Illiricum Nationalis*) [4]. Циркуларом од 17. јула 1776. дефинисан је нов начин сахрањивања покојника. На почетку текста указује се на штетност обичаја да се покојници не сахрањују у прописаном времену, већ да се, напротив, дуго држе у кући и у отвореним сандуцима носе по селима. Као проблем је истакнуто и то што се гробља налазе у насељима, а често је сахрањивање вршено и поред цркава. Чест је и случај да се раке копају врло плитко, па неретко пси раскопавају гробове и вуку делове лешева. Истиче се да су смрад и шкакљива испарења опасна по становништво и да се морају забранити даће и други стари обичаји. Законски је прописано да гробља морају бити ван насеља, да се сахране морају извршити најкасније два дана по смрти покојника, а забрањено је сахрањивање у црквама и црквеним портама.

Током рата 1788–1791. године забележено је да се мртваци не закопавају довољно дубоко, због чега се указала потреба за хитним мерама спречавања ширења задаха који је претио да изазове озбиљну заразу. Чак две деценије касније (1812. и 1813. године) забе-

лежена су кршења забране ношења покојника у отвореном сандуку, због чега су власти изрекле претњу казном шестомесечног затвора за оне који се не буду придржавали закона. Отпор становништва тим мерама био је толико снажан да је – уз покличе да народу није потребан ни поп ни Црква уколико се не могу носити покојници у отвореним сандуцима – долазило и до отворене побуне [5].

Сам митрополит Павле Ненадовић лежао је у болесничкој постељи од почетка 1768. године, али је упркос болести настојао да управља Карловачком митрополијом колико му је то снага дозвољавала. Умро је на Велику Госпојину 15/26. августа 1768, у два часа после поноћи, у време када је завршено празнично бдење. О одређивању времена сахране за 11. септембар, чак 15 дана после његове смрти, епископи Мојсије Путник и Викентије Јовановић Видак одмах су обавестили Илирску дворску канцеларију. У свом тестаменту, састављеном 19/30. јануара 1767, митрополит је молио извршитеље последње његове воље да му тело не секу и не ваде му утробу, тј. да га не балзамују, већ да га целог предају земљи [6]. Међутим, митрополитове окружнице и посланице нису се поштовале чак ни када је његова сахрана била у питању. Иако, по сопственој жељи, није био балзамован, његово тело је пуне две недеље, од краја августа до почетка септембра, било изложено у цркви, како би се верници опростили од свог бившег поглавара.

Сличан је пример сахране митрополитовог претходника, Исаије Антоновића. Он је преминуо у Бечу 2. фебруара 1749, а сахрањен је тек 17. фебруара. Пуних осам дана његово тело је било изложено у цркви у Бечу, а посебно је апсурдно то да, тим поводом, остали епископи нису могли да се договоре око дана сахране и тренутка поласка делегације која ће преузети митрополитово тело [7]. Раније још, налик томе, тело познатог патријарха Арсенија III Црнојевића, који је умро 27. октобра 1706. у Бечу, послато је из Будима за Сремске Карловце тек 5. новембра. У историјским изворима остало је забележено да је у великом броју приобалних насеља на Дунаву заустављан брод којим је преношено његово тело, како би се народ „опростио“ од њега [8].

Током епидемија куге у Срему 1738–1740, Банату 1756. и 1762, те у Бачкој и Ердељу 1756–1757. године, историјски извори бележе да мртваци нису ни сахрањивани, већ су просто остављани по дворишима, путевима и градским улицама. Посебна пажња у овом раду посвећена је епидемији куге 1795–1796. на територији Срема (тзв. сремска или иришка куга), која је однела 3.435 људских живота од 4.559 оболелих. Укупан број становника насељених у овој области био је 19.610. Професор на Универзитету у Пешти Франц Фон Шрауд оставио је драгоцену сведочење о тој зарази, будући да је био на челу стручне екипе која је сузбијала епидемију. Доктор Шрауд је забележио случај са самог почетка епидемије: извесна Ањелија Недељковић из Ирига отишла је код своје сестре у Крњешевце, где је затекла помрлу породицу. Када се вратила с личним стварима своје сестре (што је чест обичај приликом сахрањивања: дељење и преузимање

покојникових личних ствари), неколико дана касније, 14. јула, и сама је преминула. Убрзо су умрли и њени рођаци и комшије који су користили њене личне ствари преузете после смрти. До краја јула те године у Крњешевцима је умрло 13 особа, а међу њима највише је било оних који су или купали преминуле, или учествовали на сахранама [9]. Како се та епидемија више ширила, људи су се понашали све неразумније. Велики број оболелих, на пример, бежао је из болница или се користио сопственим методама излечења уз конзумирање ракије или разних надрилекарских и „чудотворних“ водица. Лешеви су били расути на сваком кораку и често закопавани на местима где их је затекла смрт упркос изричитим наредбама да се не сме сахрањивати без претходне дозволе лекара. Митрополит Стефан Стратимировић експлицитно је заповедао да се морају игнорисати празноверја и сујеверја и да се сви морају придржавати закона. У Вуковару је наређено, примера ради, да се покојници не уносе у цркву и да се литургија служи на отвореном простору. Како је написао сам Штрауд, морао се савладати отпор који је махом поистицао из квазирелигиозних назора.

Посебна пажња била је усмерена ка оснивању контумаца, повећавању хигијене заражених и контроли кретања становништва. Пошто је изванредан број људи избегавао контролу, то је довело до тога да је место упокоја преминулих зависило од пуке случајности. У Нерадину заражена је била 101 кућа од 168, а у Грегету 21 од 48. Већина болесних лежала је у виноградима и воћњацима, где је махом и поумирала. На истим тим местима су и сахрањени, у плитким ракама.

У месту Јазак је од 12. до 31. августа умрло 10 чланова једне породице. Пошто смртни случајеви нису пријављени, а даћа је у кући покојника обављена уз присуство много света и уобичајено дељење ствари, ширење епидемије било је неминовно. И поред свих упозорења, пракса сахрањивања у двориштима кућа је настављена.

У Вуковару је током те епидемије забележено да је један ћилим послужио као покров више преминулих лица, па се зараза проширила на тај начин. Др Радивој Симоновић читав век касније (1898) пише да се сачувао обичај да се мртваци целивају, да се носе у отвореним сандуцима и да се у кући обављају даће по три-четири дана, што је у време епидемија било посебно проблематично [10].

У другој фази епидемије, од јануара 1796, када је зараза почела да јењава, поново је искрсао проблем сахрањивања. Појавила се, наиме, потреба за ексхумацијом неколико стотина лешева који су били сахрањени непрописно и на неодговарајућим локацијама. Након извршене ексхумације лешеви су преносени на кужна гробља. У Иригу су два таква гробља постојала на потесима Батинци и Кажиновац, оба далеко ван насеља. Процес ексхумације локално становништво је опструисало, јер га је сматрало светогрђем. Покојници су прекривани ђубретом и смећем или је над њима паљена трска, односно слама. Временом су сви Ирижани морали да пријаве где су сахранили своје мртве, а по селима је нуђена

награда од форинте за особу која открије место гробнице. Доктор Будаи је приликом ексхумација забележио да су многи лешеви били прекривени белом плесни, да су изразито заударали и да су често били сахрањени у дрвеним сандуцима, умотани у вунену одећу. Анализом ексхумираних тела др Штрауд, др Будаи и др Зеле су утврдили да се заражени кугом морају сахрањивати на уздигнутом и растреситом земљишту [11].

Исцрпни описи ексхумираних покојника у историјским изворима остављају снажан утисак на данашњег читаоца, чију потресеност само појачавају белешке о небризи и неодговорности у поведима самих сахрана. Гробари су, остало је забележено, с лешева – чак и дечјих – скидали накит и драгоцености, па су жалбе становника Ирига и околине упућене властима биле честе и исцрпне. Такође, гробарима су биле прописане врло строге заштитне мере, попут прања руку и одеће сирћетом. Првих неколико дана од прописивања те мере потпуно су примењиване, да би касније гробари тела покојника носили голим рукама и тако их стављали у сандуке, при том руке само отрвши о траву. Нико од оних који су тако поступали није се заразио, али су гробари који су сахрањивали тек непосредно преминуле и сами убрзо поумирали. На основу тога др Штрауд је закључио да тела заражена од куге брзо губе способност да даље шире заразу [9].

Архаизирано и конзервативно српско друштво током 18. века, а нарочито нижи слојеви свештенства и народа, врло је тешко прихватало промене обичаја приликом сахрањивања и обреда везаних за култ мртвих. Током бројних епидемија куге у другој половини 18. века инсистирање на целивању и ношењу покојника у отвореном сандуку, те дељење покојникове одеће пријатељима и родбини, утицали су на ширење куге, посебно 1795–1796. године. Митрополит Павле Ненадовић је у периоду 1755–1768. године међу првима сузбијао архаично-полупаганске ставове који су се одражавали на однос према умрлима, али без значајног успеха. Митрополит Стратимировић се с тим проблемом нешто боље носио током епидемије куге 1795–1796, мада историјски извори сведоче да је број жртава епидемије био већи управо због тога што су људи по сваку цену желели да одрже и наставе с праксом чувања и поштовања својих покојника на законски неутемељен начин.

Век касније исти обичаји су сачувани у Срему, а слични поступци довели су и до велике епидемије тифуса у српској војсци 1914–1915. године. Могуће је навести много примера с почетка 20. века на територији Краљевине Србије који сведоче о сличним поступцима. У том погледу, ратна 1914. је посебно потресна година. Српски војни санитет је почетком Великог рата имао свега нешто преко 400 лекара на 445.000 мобилисаних војника. Санитетских вагона (композиција) било је тек седам. Начин сахрањивања био је потпуно неадекватан, што је допринело ширењу епидемије – у овом случају тифуса. Први војник заражен тифусом је октобра 1914. једноставно остављен поред гостионе у којој је преминуо. Небројено је примера да се током аустроугарске

офанзиве у јесен 1914. просто није водило рачуна о сахрањивању. Повлачење војске није остављало могућности за организовано сахрањивање. Страни путописци и чланови савезничких мисија које су боравиле при српској војсци оставили су сведочанстава о томе како су се лешеви остављали поред путева, на њивама и у кућама, да су њихове остатке често разносили пси или су бивали пронађени у фази распадања. Постоје сведочанства да је недалеко од ваљевске болнице лежало више од 3.500 лешева који су само ограђени и остављени, иако је епидемија тифуса била у пуном замаху [12].

ЗАКЉУЧАК

Српско друштво је тешко налазило начина да се у погледу хигијене и сахрањивања преобрази и трансформише. Читав један век, у том погледу, прошао је у стагнацији или назадовању. Иако је српско друштво – како у Хабзбуршкој монархији, тако и Кнежевини/Краљевини Србији – пролазило кроз фазе модернизације, поједини обичаји везани за култ мртвих били су попут окамењене структуре која се у појединим сегментима очувала до данас.

ЛИТЕРАТУРА И ИЗВОРИ

1. Jovin S. Istorija medicine i zdravstvene kulture na tlu današnje Vojvodine. Novi Sad: Matica Srpska; 1998.
2. ASANUK, MPA, A, 678/1856. In: Jovin S. Uvođenje nadzora nad umrlima na teritoriji Vojvodine i stav Srpske pravoslavne crkve. Acta Hist Med Stom Pharm Vet. 1980; (1-2):201-2.
3. ASANU, 12176a-1; ASANUK, MPA, A, 1752, 75, 76, 77, 83, 88, 176, 183.
4. ASANU, 7253. In: Mikavica D, Gavrilović V, Vasin G. Znamenita dokumenta za istoriju srpskog naroda 1538-1918. Novi Sad: Filozofski fakultet; 2007. p.94-118.
5. Jovin S. Zdravstvene prilike i zdravstveno-kadrovska situacija u Bač-bodroškoj županiji u vreme donošenja Zakona o zdravstvu iz 1770. Acta Hist Med Stom Pharm Vet. 1986; 16(1):234.
6. ASANUK, MPA, A 137/1768; ASANUK, MPA, B 56/1768. In: Vasin G. Vest nastojateljima fruškogorskih manastira o smrti mitropolita Pavla Nenadovića, ZMSI. Novi Sad: Matica Srpska; 2010. p.82:133-7.
7. ASANUK, MPA, A, 295, 302, 305 /1749; Ninković N. Crkveno-narodni sabor i Arhijerejski Sinod iz 1749. Novi Sad: Istraživanja; 2012. p.23:259-81.
8. Čakić S. Velika seoba Srba i Patrijarh Arsenije III Crnojević. Novi Sad; 1990.
9. Simonović R. Kuga u Sremu. Pančevo; 1898.
10. Šraud F. Istorija kuge u Sremu 1795-1796. Novi Sad: Naučno društvo za istoriju zdravstvene kulture Vojvodine; 1995.
11. Timotijević M. Rađanje moderne privatnosti. Beograd: Klio; 2006.
12. Nedok A, Popović B. Srpski vojni sanitet 1914-1915. Beograd: Srpsko lekarsko društvo; 2010.

Inadequate Burials as an Important Factor in Plague Epidemic amongst Serbs in the Habsburg Monarchy by the End of the 18th Century: A Historical Analysis

Goran Vasin, Snežana Božanić, Milica Kisić Božić

History Department, Faculty of Philosophy, University of Novi Sad, Novi Sad, Serbia

SUMMARY

Analysis of the archaic customs of burying the deceased in Srem, primarily amongst Serbs, in the second half of the 18th century is the essential part of the paper that aims at clarifying the consequences of this negative habit onto the spreading of plague epidemic. The Austrian Empire tried to stop and prevent the epidemic with an array of legal norms, but in practice, these orders were often not upheld. Serbian Metropolitans Pavle Nenadović and Stefan Stratimirović insisted on eradicating

superstition and retrograde, often uncivilized actions in burial rituals, and they partially succeeded. The example of plague in Irig and the surroundings in 1795-1796 explicitly shows the hazardous effects of the inadequate attitude towards the deceased as one of the factors in spreading the epidemic. Using primary archives, and published sources, with adequate literature, authors depict this complex historical process.

Keywords: burial; plague; epidemic; archaic customs; church; history of medicine

Примљен • Received: 23/12/2013

Ревизија • Revision: 26/08/2014

Прихваћен • Accepted: 28/08/2013

Допринос фармацеута развоју здравствене културе у Врању крајем 19. и у првој половини 20. века

Јасмина Арсић¹, Душанка Крајновић², Србољуб Арсић³, Андријана Милошевић Георгиев², Валентина Маринковић²

¹Апотека „Врање“, Врање, Србија;

²Катедра за социјалну фармацију и фармацеутско законодавство, Фармацеутски факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

³Гинеколошко-акушерско одељење, Здравствени центар Врање, Врање, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Здравствена просвећеност и здравствена култура у Врању и врањском крају били су под турским утицајем до 1878. године, када је након ослобођења од Турака почела организација просвете, школства и здравства у овом крају.

Циљ рада Циљеви рада су били осветљавање почетака развоја апотекарског кадра и допринос фармацеута развоју здравствене културе у Врању и врањском крају с освртом на здравствену регулативу и њен утицај на доступност услуга апотекарске службе и анализу развоја фармацеутског кадра у оквиру здравствене службе.

Методе рада Коришћене су методе документационе анализе и деск-анализа секундарних података.

Резултати Почетком 19. века здравствена служба у Врању још није постојала. Након ослобођења од Турака у Врању је радила ординација с апотеком фелчера Наума, која је, иако није била усклађена с прописима, била једини формални извор снабдевања лековима и санитетским материјалом и као таква дала допринос тадашњој здравственој служби у Врању. У привременој врањској болници од 1880. године до јануара 1881. године радио је апотекарски помоћник прве класе магистар фармације Стеван Варјачић, а лековима су се снабдевали војници и становници Врања. Развој школске фармације почиње 1883. године отварањем апотеке фармацеута Велимира Карића у складу с тада важећим Законом о уређењу санитетске струке и о чувању народног здравља. Крајем тридесетих година 20. века у врањском крају је радило десет цивилних здравствених установа, од којих су чак три биле апотеке. Оне су крајем 1948. године подруштвљене и промениле назив у „Градска народна апотека у Врању“.

Закључак Постојање законске регулативе о уређењу фармацеутске делатности у оквиру здравствене службе утицало је на то да Врање крајем 19. века добије апотеке са школованим фармацеутским кадром. Власници апотека су се мењали, али квалитет и континуитет у медицинском снабдевању увек је био обезбеђен.

Кључне речи: здравствена култура; фармацеути; апотеке; Врање

УВОД

Здравствена просвећеност и здравствена култура у Врању и врањском крају у 19. веку биле су на веома ниском нивоу. Падањем под турску власт био је заустављен друштвено-економски и културно-образовни развој становника врањског краја. Јачањем националне свести Врањанаца јачала је и идеја о ослобођењу од Турака.

Природне последице веома бурне прошлости врањског краја биле су честе промене политичких граница и велика национална искушења људи овога краја у који су освајачи дошли рано, а најдуже су се задржали. Становници врањског краја запамтили су све велике најезде на стару српску државу [1]. По установљењу бугарске егзархије фебруара 1870. године, Турци су врањску епархију сврстали у бугарски егзархат, те су врањски просветни радници носили велики терет националних и политичких искушења у борби против присилног увођења

бугарских школа у ове крајеве [1]. Од 1876. до 1878. године у Врању су биле угашене и бугарске и српске школе. Након ослобођења од Турака почела је организација просвете и школства у врањском крају [1].

На развитак града Врања и околине, пре свега, утицали су географски положај, политичке границе и трговина. Стари друмови који су овуда пролазили имали су велики економски значај јер су се трговци караванима из Дубровника кретали ка Солуну, Бугарској, Турској и ка северу [2].

Врање је до ослобођења 31. јануара 1878. године под турском влашћу провело готово 423 године. Санстефанским уговором 1. фебруара 1878. године царска Русија и Турска покушале су да припоје Бугарској делове наше територије, укључујући и Врање. Одлуком Берлинског конгреса Врање је припало Србији, а од Прешева, Бујановца и Пчиње формирана је погранична Пршевска каза, која је остала део косовског вилајета до 1912. године [1]. Каза (тур. *kaza*) је админи-

Correspondence to:

Dužanka KRAJNOVIĆ
Katedra za socijalnu farmaciju i
farmaceutsko zakonodavstvo
Farmaceutski fakultet
Univerzitet u Beogradu
Vojvode Stepe 450
11000 Beograd
Srbija
parojcic@pharmacy.bg.ac.rs

стративно-управна јединица у некадашњој Турској и представљала је саставни део санџака, као веће територијалне целине. Подела територијално и привредно јединственог простора оставила је тешке политичке и економске последице по ионако осиромашено Врање.

Становништво Врања и врањског краја је изглед својих станишта прилагођавало сталним нападима и пустошењима освајача, те је изглед кућа више одговарао привременом станишту него трајнијем објекту, што је, уз лоше санитарно-хигијенске услове, незнање, празноверје и надрилекарство, условило настанак и ширење различитих заразних болести.

Према подацима аустријског конзула Ј. Г. Хана, 1860. године у Врању је живело око 8.250 становника (Срба, Турака и Рома) [3]. Према турским подацима из 1875. године, Врање је имало 2.500 хришћанских и 800 турских домова [3].

ЦИЉ РАДА

Циљеви рада су били осветљавање почетака развоја апотекарског кадра и допринос фармацеута развоју здравствене културе у Врању и врањском крају с освртом на здравствену регулативу и њен утицај на доступност услуга апотекарске службе и анализу развоја фармацеутског кадра у оквиру здравствене службе.

МЕТОДЕ РАДА

Ово је дескриптивно истраживање које обухвата три временска периода: период под турском влашћу (до 1878), период након ослобођења до отварања прве апотеке и период са школованим фармацеутима и јавним апотекама до периода подруштљавања апотека. Ова подела условљена је циљевима рада, па је тако други период након ослобођења од Турака до отварања апотеке, иако кратак, веома значајан, јер је у њему установљена стручност у апотекарству Врања.

Корићене су методе документационе анализе и деск-анализа секундарних података. Историјска метода посматрања проблема коришћена је само као помоћна.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Здравствене прилике у Врању и врањском крају за време Турака

Почетком 19. века здравствена служба у Врању није још постојала. Сва знања о лековима и лечењу налазила су се у рукама неписмених и полуписмених људи који су своја знања неговали, чували и преносили на потомке. Лечењем су се бавили хећими, бербери и народни видари. У дућанима су могли да се купе, без икакве контроле, многи лекови непознатог састава, сировине за прављење лекова, али и отрови. У 19. веку

у Врању су боравили грчки видари „калоијатри“, путујући грчки лекари који су обилазили села и градове носећи са собом прибор за интервенције и лекове које су сами справљали, и њихови ученици – Срби. Поред њих, постојали су и „хећими“, народни лекари, који су држали и продавали лекове становницима Врања. Најпознатији хећим у Врању био је Михајло (Мика) Стошић, који је поред жене Гркиње добро савладао грчки језик и научио видарске вештине од калоијатара који су привремено боравили у Врању. Хећим Мика задобио је огромно поверење сиромашног и здравствено непросвећеног становништва Врања и околине [4].

У време Турака у Врању је живео и радио Наум Марковић, лекарски помоћник класе „фелчер“. Рођен у Цариграду, завршио је цариградску средњу медицинску школу, док је праксу и стаж стицао у некој цариградској болници. У Врању је 1862. године отворио ординацију с апотеком, тако да се поред лечења бавио и изразом и продајом лекова, чајева, декокта, балзама [4].

Први лекар који је дошао у Врање за време турске власти био је Грк Атанасије Кујас, родом из Атине, који је завршио студије 1875. године стекавши звање доктора медицинске хирургије и бабичлука [4, 5].

Социодемографске и здравствене прилике у Врању након ослобођења од Турака до отварања прве апотеке

Након ослобођења од Турака, врањски округ чинила су три среза с једном вароши и 179 села и заселака [6]. Пописом из 1879. године, у врањском крају, површине 1915 km^2 , биле су 10.134 куће, тзв. чатмаре, у којима су живела 64.844 становника, од чега је у вароши живео 8.291 становник, док су 56.553 становника живела у селима [6]. Године 1882. умро је 1.861 становник, а рођено је 2.950 деце [6].

До отварања прве врањске ниже гимназије 1881. године, родитељи који су желели да упуте децу на даље школовање били су принуђени да их шаљу у друге крајеве Србије. Почетак рада гимназије омогућио је наставак школовања деце у Врању, али неодговарајући, привремени смештај у мемљивим просторијама Пашиног конака утицао је на њихово лоше здравствено стање. Чекајући отварање школе у наменски изграђеној згради до 1933. године, лекари су у својим извештајима о здравственом стању ученика оштро критиковали власт да се не обазире на услове у којима бораве ученици [1].

Др Атанасије Кујас наставио је с радом и после ослобођења од Турака. Након издавања уверења о положењу лекарском испиту 18. маја 1879. године, др Кујас је радио као контрактуални лекар среза Пољаничког у округу врањском [5, 7]. Указом од 1. маја 1881. године постављен је за сталног лекара среза Пољаничког у истом округу. Указом од 27. октобра 1882. године постављен је за контрактуалног лекара среза Пчињског. Године 1882. др Кујас отворио је своју ординацију

ју у Владичином Хану и држао је прописну приручну апотеку с лековима које је издавао по утврђеној такси, према обавези из правилника „Наставленија за окружне лекаре и физикусе“, донетом 1839. године [5, 8, 9]. Др Кујас остао је у Врању до своје смрти 1903. године.

Други лекар који је дошао у Врање током борбе за ослобођење овога града био је Фрањо Копше, доктор медицине и хирургије, родом из Идрије Крањске. Завршио је студије медицине у Бечу. Др Фрањо Копше је крајем 1877. године био војни лекар у армији генерала Белимарковића, који је 1878. године, током ослобађања Врања од Турака, отворио на периферији Врања, у напуштеном сарају Сулејман-бега, привремену војну болницу са затеченим залихама лекова који су се користили за болничко и амбулантно лечење грађана Врања. Др Копше је 2. фебруара 1879. године постављен за цивилног лекара, тј. окружног физикуса врањског округа, а са формирањем Окружне болнице постао је 22. децембра 1882. године њен управник [4, 5, 10]. Према доступним архивским подацима, забележено је у кондуит листи лекара округа Врањског за 1882. годину да је држао прописну ручну (приручну) апотеку из које је издавао лекове становништву по тада важећој апотекарској такси [5, 11].

Нешколовани здравствени кадар и лечење у врањском крају

Након ослобођења од Турака, у Врању је и даље радила ординација с апотеком фелчера Наума, која није била усклађена с прописима, али то је био део тадашње здравствене службе у Врању. У Србији је 1845. године донета одлука да се све трговачке радње детаљно прегледају и попишу сви лекови, сировине за њихову припрему и отрови, како би се наредбом забранила продаја свакаквих приправака и лекова у трговачким радњама, да би се сав посао пребацио на правитељствене апотеке које су се у то време отварале у Србији [11]. У исто време у Врању под турском влашћу лечењем су се бавили полуписмени, самоуки и надрилекари, који су за лечење користили лекове непознатог састава и порекла, сумњивог и непровереног садржаја и квалитета, набављани у Грчкој и Турској. Сировине за израду лекова могле су се купити у трговинама без икакве контроле. Начелство у Врању, имајући у виду законску регулативу којом је регулисана фармацеутска делатност, као део здравствене делатности у Србији, слало је бројне примедбе Санитетском одељењу Министарства унутрашњих дела у Србији на рачун рада апотеке фелчера Наума у Врању. Примедбе су се тичале недостатка неопходних лекова у апотеци, начина на који он лечи оболеле и припрема лекове, сумње у његово стручно знање и неуређеност апотеке [12].

Апотека Наума Марковића опстала је 1879. године упркос поднетом захтеву апотекарског помоћника Николе Прона, са дипломом из Аустроугарске, да отвори апотеку у Врању или Лесковцу, коју није могао

да отвори без добијене финансијске помоћи врањског начелства [13].

Годину дана касније, 6. октобра 1880, још један фармацеут, Јован Штекер, затражио је и добио одобрење за отварање апотеке у Врању од Санитетског одељења Министарства унутрашњих дела. Међутим, како није могао да почне с радом у законском року од годину дана, изгубио је право на концесију за отварање апотеке у Врању [12].

У часопису „Народно здравље“ од 1. марта 1881. године (број 40) инспектор Санитетских завода др Младен Јанковић у извештају министру унутрашњих дела о затеченом стању апотека у Србији за 1880. годину каже да су готово све од 32 апотеке у власништву фармацеута и добро уређене, изузев врањске апотеке чији власник Наум Марковић, поред тога што није фармацеут, није писмен, нити уме да мери, тако да је његова апотека затворена и расписан је конкурс за отварање нове апотеке [14]. Међутим, апотека Наума Марковића наставила је с радом до почетка 1884. године уз дугогодишњу борбу коју је водила здравствена власт у намери да у свим крајевима Србије успостави квалитетну, сигурну и стручну фармацеутску делатност ради унапређења здравља и спречавања ширења заразних болести [15, 16].

Допринос фармацеута развоју болничке службе у Врању

Доношењем првих законских одредаба у виду „Правила о уређењу војно-апотекарске струке“ дефинисани су задаци фармацеута-провизора Главног депоа лекова и прибора из Главне војне болнице у Београду, а Законом о устројству војске, две године касније у састав војних болница ушла су „сместилишта за болничке приборе и лекове“ којима су се болнице у мирнодопском стању снабдевале санитетским материјалом и чувале ратне резерве лекова [17]. Године 1869. донето је „Правило за привремене војне болнице“, којима је регулисан рад апотека у саставу привремених војних болница [17].

У другој половини 19. века, према доступним изворима из 1878. и 1886. године, српски војни санитет чинила су 104 лекара, углавном странаца, као и 26 лекарских помоћника, 11 фармацеута и 9 фармацеутских помоћника [17, 18]. У то време у Србији је било 37 цивилних лекара који су радили као окружни лекари (17), срески лекари (10) и општински лекари (10) [19]. Све војноапотекарске установе биле су подељене на депое, апотеке и слагалишта, у којима су апотекарски кадар чинили руководиоци који су се називали војни апотекари и магистри фармације, који су били апотекарски помоћници. Војни апотекари могли су да стекну чин мајора, капетана прве и друге класе, али под много строжим условима у односу на лекаре, јер им је поред дипломе магистра фармације био потребан и докторат из хемије. Војни апотекарски помоћници могли су да напредују до чина поручника (апотекарски помоћник прве класе) и потпоручника (апотекарски

помоћник друге класе). Према подацима о попуњености привремених војних болница апотекарима из 1880. године, у привременој врањској болници постављен је апотекарски помоћник прве класе, фармацеут Стеван Варјачић, који је јануара 1881. године премештен у привремену војну болницу у Ђуприји уместо санитетског потпуковника, фармацеута Павла Новковића, који је умро од тифуса. Већ на лето поднео је оставку на војну службу, тако да је врањска војна болница остала без јединог фармацеута [17].

Према доступним изворима, нису сачувани подаци да ли је било школованог фармацеутског кадра 1881. године у новоотвореној Окружној болници, али постоје подаци да је у њој постојала привремена апотека за потребе болничких пацијената и амбулантно лечење. Поред овога, грађани Врања су се лековима снабдевали из приручних апотека које су држали окружни физикус др Фрањо Копше и контрактуални лекар среза Пчињског др Атанасије Кујас, а у граду је радила и апотека фелчера Наума Марковића, који, као што је већ речено, није био школовани фармацеут. Привремена апотека окружне болнице престаће с радом после отварања прве савремене апотеке, о чему су детаљно известили Крајновићева и сарадници [10] у раду посвећеном оснивању прве цивилне апотеке у Врању са школованим фармацеутом Велимиром Карићем.

Развој школске фармације у Врању од 1883. године до периода подруштљавања апотека

До 1883. године у врањском крају није било ниједне апотеке са школованим фармацеутом, те се ова година може узети за почетак развоја школске фармације, односно фармацеутске службе и услуге коју је пружао школовани кадар.

У Србији је област фармацеутске здравствене делатности била уређена прописима, уредбама и законима. Фебруара 1845. године донета су Правила за државну апотеку и за јавне апотеке у виду наредби [11]. Значајне су и две уредбе кнеза Милоша: једна из 1836. године, по којој су лекари били дужни да лече сиромашне људе бесплатно, а друга из 1837, којом се забрањивала продаја лекова без писаног одобрења полиције, која се искључиво добијала на основу рецепта школованог лекара [11]. Прва државна апотека у Србији, после Правителствене апотеке, почела је с радом 1836. године у Крагујевцу [9]. Први прави закон из фармацеутске области донет је 15. маја 1865. године под називом „Закон за апотеке и апотекаре и за држање и продавање лекова и отрова“ [11]. Уз овај закон донет је правилник под називом „Настављенија за апотеке и за постројавање и држање јавних апотека“. Рад целокупне здравствене струке уређује се 1881. године доношењем општег закона за целокупну санитетску струку под називом „Закон о уређењу санитетске струке и о чувању народног здравља“ [11].

Законом о уређењу санитетске струке и о чувању народног здравља одобрење за отварање апотека да-

вало се варошима које су имале до 2.000 становника и мање, а ако је број становника био већи од 6.000, могла се отворити друга апотека [11].

Годину дана пре отварања прве апотеке са школованим фармацеутом Врање је имало 8.291 становника [6].

Развој школске фармације у Врању крајем 19. и почетком 20. века представљен је хронолошки приказом фармацеута власника првих апотека у време када није постојала организована здравствена служба, већ се развој фармацеутске службе поистовећивао с људима који су били носиоци фармацеутске делатности.

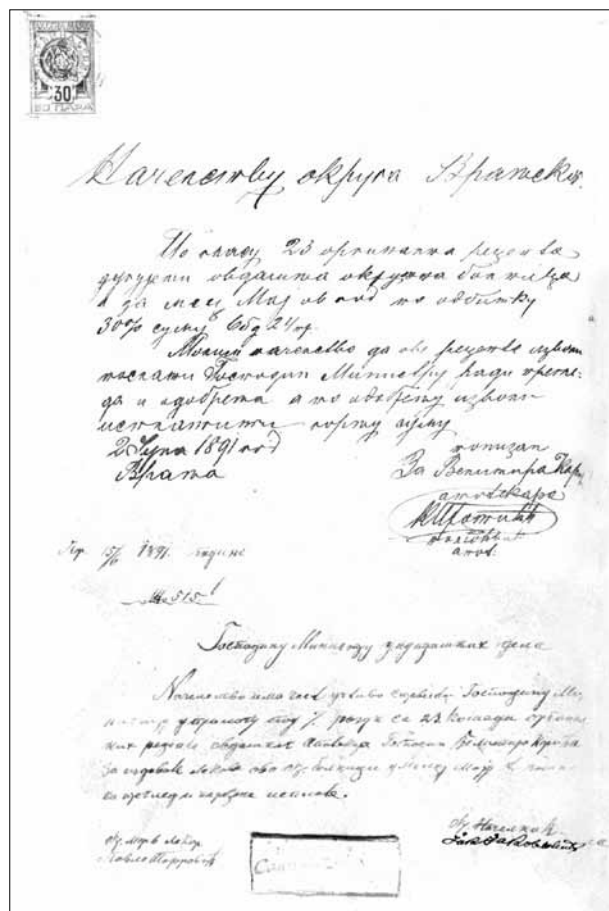
Први фармацеут који је отворио прву врањску апотеку био је Крагујевчанин Велимир Карић, који је као апотекарски помоћник био учесник првог српско-турског рата 1876–1877. године [17]. Према кондуит листи апотекара у округу врањском, фармацеут Карић добио је дозволу за отварање апотеке 9. марта 1882. године, која је *de facto* почела с радом на дан Светог Саве, 27. јануара 1883. године, скоро годину дана пре него што је и *de jure* пуштена у рад након прегледа комисије на челу са државним хемичарем др Фердинандом Шамсом [16, 20].

Отварање прве апотеке било је пропраћено бројним препискама фелчера Наума и фармацеута Велимира Карића (о чему су детаљно писали Марјановић и Крајновићева), што је као епилог имало укидање Наумове апотеке, а грађани Врања су се лековима снабдевали из прве апотеке са школованим фармацеутом [10, 16].

Добијањем концесије за отварање апотеке у Врању завршен је дугогодишњи период лечења врањског становништва непровереним лековима сумњивог квалитета, а настао је нови период школске фармације када су фармацеути с лекарима давали заједнички допринос развоју здравствене културе и ширењу здравих навика становника врањског краја. Новине се тешко усвајају, па су поједини Врањанци с неповерењем прихватили услуге школованих фармацеута, али су временом стекли поверење у племените људе који су их лечили и указивали на значај хигијене и превенције заразних болести.

Апотека Карића била је опремљена по узору на модерне бечке апотеке тога времена. Након отварања апотеке, Карић је у наредним годинама редовно пружао услуге издавања лекова болесницима врањске окружне болнице, а рачуне је фактурисао Министарству унутрашњих дела преко врањског начелства, о чему сведоче сачувани оригинали рачуна који се налазе у Музеју за историју фармације на Фармацеутском факултету Универзитета у Београду (Слика 1) [21, 22]. Као и сви интелектуалци тога времена, Карић је имао и друга интересовања, тако да се због политичког ангажовања 1905. године преселио у Београд и вратио концесију за апотеку у Врању.

Власници прве врањске апотеке су се мењали. Апотекар Јован Јовановић преузео је почетком 1906. године прву врањску апотеку и радио у њој од 1906. до 1910. године [4]. Остао је упамћен по саветима које је давао болесницима с хроничним обољењима и по посебно хуманом односу према сиромашнима. Пред почетак



Слика 1. Рачун апотекара Карића за лекове издате окружној болници у Врању
Figure 1. Pharmacist Karić invoice for the medicines issued for the district hospital in Vranje

Извор: Музеј за историју фармације, Фармацеутски факултет Универзитета у Београду
 Source: The Museum for History of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, University of Belgrade

Балканског рата 1911. године трећи власник прве врањске апотеке постаје апотекар Боривоје Марић [4]. После ослобођења 1922. године апотекар Марић предао је своју апотеку колеги, првом Врањанцу који је почео да се бави апотекарством, Александру Девеђићу [4].

Десет година након отварања прве, отворена је друга, савремена апотека у Врању. Михајло Јанковић је две године након завршетка студија у Бечу 1890. године добио концесију за ову апотеку [4]. Године 1901, након смрти старијег брата Петра, такође фармацеута, Михајло Јанковић, као једини наследник, продао је своју апотеку у Врању да би наследио апотеку свога брата у Крагујевцу, јер према тадашњем Закону, једно лице није могло бити власник две апотеке [4, 22].

Одобрењем Министарства унутрашњих дела, Шапчанин Петар Кушаковић, фармацеут, 1. фебруара 1901. године отворио је апотеку у Врању (Слика 2) [4]. Кушаковић се у својој апотеци бавио продајом индустријски израђених лекова који су се називали „лековити специјалитети“, али и изработом козметичких препарата који су се називали „апотекарски специјалитети“ и који су израђивани властитим комбинацијама апотекара према актуелној стручној литератури [23, 24]. У време када до-

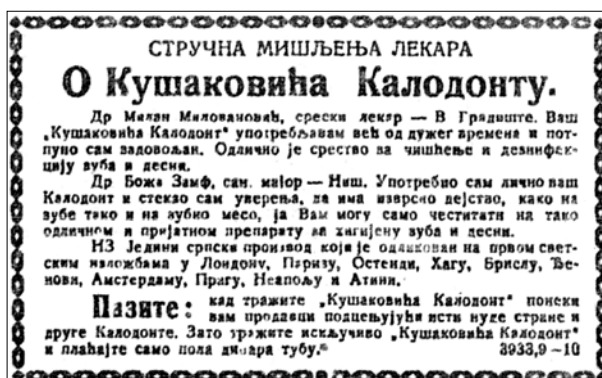


Слика 2. Фармацеут Петар Кушаковић
Figure 2. Petar Kušaković, pharmacist

Извор: Приватна архива породице Дединач, Врање
 Source: Dedinac family's private collection, Vranje

маћа фармацеутска индустрија није постојала и касније, када је била у зачецима (оснивање домаће фабрике „Раве ад.“ 1918. и „Југофармације д.д.“ основане 1922. године), апотеке су се снабдевале увозним лековима, а апотекари су се на различите начине довијали да снабдеју становништво потребним медикаментима. Израда апотекарских специјалитета била је веома цењена у народу [25]. Фармацеут Кушаковић задобио је поверење грађана Врања припремом различитих облика апотекарских специјалитета: крема, пасте за зубе, сапуна. Поверење су му указали лекари широм Србије који су у дневној штампи препоручивали грађанима његове апотекарске специјалитете (Слика 3) [26].

Најпознатији апотекарски специјалитет фармацеута Кушаковића била је паста за зубе којој је дао име „Српски калодонт“. Постала је познатија као „Кушаковићев калодонт“ (Слика 4), по узору на назив већ постојеће пасте за зубе, али се квалитетом, ценом и рекламом Кушаковић изборио за водеће место у Врању,



Слика 3. Препорука лекара за Кушаковићев калодонт у новинама „Политика“ (1. јануар 1912. године)
Figure 3. Doctor's recommendation for Kušaković toothpaste, named „Kusakovich Calodont“ in „Politika“ newspaper (January 1st, 1912)

Извор: Народна библиотека Србије, Београд
 Source: National Library of Serbia, Belgrade



Слика 4. Оригинални папирни омот „Српског калодонта“
Figure 4. Original paper wrapper of “Serbian Kalodont”

Извор: Приватна архива породице Дединац, Врање
Source: Dedinac family's private collection, Vranje

Србији, па и на светским изложбама [27]. Кушаковићев калодонт израђиван је у лабораторији за машинску израду лековитих специјалитета и козметичких производа у апотеци у Врању [24].

Визионарску идеју младог фармацеута Кушаковића да приближи услуге апотеке локалном становништву у граду, у којем још није било могућности за штампање реклама, остварио је тако што је направио прву штампарију у Врању, у којој је од 1906. до 1911. године повремено излазио бесплатан часопис „Кушаковићева честитка“, у којем је рекламиран Кушаковићев калодонт. У штампарији су такође штампани службени лист округа врањског под називом „Граничар“ и разне штампанице намењене грађанима, занатлијама и привреди, што указује на жељу младих, школованих фармацеута да, поред здравственог, дају и друштвени допринос развоју средине у коју су дошли да раде [28].

Због значајне улоге апотека и апотекара на здравствено стање становника, над њиховим радом вршен је строг надзор у погледу снабдевености и владања према народу у складу са Законом о реформи санитетске струке из 1879. године, који је ступио на снагу 1881. и садржао Закон за апотеке и апотекаре [11]. Према овом закону, окружни физикуси су и даље подносили извештај о раду фармацеута у виду кондуит листе. Тако је у кондуит листи од 20. јануара 1906. године (Слика 5) окружни физикус др Ђорђе Брзаковић забележио

[illegible]

Слика 5. Кондуит листа апотекара у врањском округу [20]
Figure 5. Conduit sheets of pharmacists in Vranje district [20]

Извор: Историјски архив Врања „31. јануар“, Врање
Source: Historical Archive of Vranje “January 31”, Vranje

основне податке о апотекарима врањског округа [20]. У делу оригиналне кондуит листе из Архива града Врања забележено је да је Петар Кушаковић био кажњен због продаје калодонта без претходно извршене анализе састава. Трагом оригиналних података, у Архиву Србије утврдили смо да је Кушаковић, након кажњавања, предао пасту за зубе на анализу државном хемичару; у недостатку архивске грађе о резултатима анализе, али на основу бројних реклама деценијама касније, јасно је да је састав пасте за зубе био одговарајући [20].

Након доласка Кушаковића у Београд 1912. године, другу врањску апотеку преузео је фармацеут Ђорђе Ристић на дан објаве Балканског рата, септембра 1912. године [4]. Окупацијом земље имовина и опрема апотека била је уништавана. Многе апотеке су остале без власника, који су погинули или умрли за време Првог светског рата [23]. Име Ђорђа Ристића налазило се на

списку војних апотекара-дневничара у саставу српске војске на Солунском фронту, која је 1. децембра 1918. године бројала 145 фармацеута и 144 апотекарска помоћника [17].

Преласком на рад у Београд, врањски апотекари Велимир Карић и Петар Кушаковић активно су доприносили развоју фармацеутске струке у Србији и снабдевању лековима у време када су грађани били остављени без најпотребнијих лекова [25]. Апотекар Петар Кушаковић постаје 21. јула 1919. године један од оснивача „Изиса д.д.“, акционарског друштва за индустрију и промет дрога и хемикалија, и улази у састав управе филијале ове фирме у Београду [25]. Исте године власник прве врањске апотеке, Велимир Карић, као председник Српског апотекарског друштва доноси одлуку да се што пре набаве најпотребнији лекови у иностранству и поделе апотекама у Србији [25].



Слика 6. Урбанистички план Врања
Figure 6. Urban plan of Vranje

Извор: Приватна архива породице Дединач, Врање
Source: Dedinac family's private collection, Vranje

Године 1930. фармацеут Александар Девеџић предаје своју апотеку Стојадину Миленковићу, који је наставао с производњом бројних козметичких препарата [4]. Након подруштљавања ове апотеке 1949. године, њен доскорашњи власник преузима вођење друге подруштљене апотеке [4].

Иако су Врањанци с неповерењем прихватили пioniри врањског здравства, одужили су им се тако што су првог фармацеута Карића именовали за народног посланика града Врања 1897. године, Грка др Атанасија Кујаса 1898. године поставили за градоначелника Врања, а две улице у Врању носиле су имена др Фрања Копшеа и фармацеута Петра Кушаковића (Слика 6).

Тек у четвртој деценији 20. века Врање добија комплетнију здравствену службу, коју су чиниле болничка, среска, општинска градска, општинска сеоска здравствена служба, служба социјалног здравственог осигурања и служба превентивне медицине. Овако проширена здравствена служба наметнула је потребу за отварањем и треће апотеке у Врању, коју је 1938. године отворио Врањанац, фармацеут Тома Стајић [4]. После ослобођења 1949. године Стајић је предао апотеку Дому народног здравља у Трговишту, а сам је почео да ради као администратор прве врањске државне апотеке [4].

После ослобођења Врања 1944. године, све три приватне апотеке радиле су по ранијем закону за приватне апотеке. Одлуком Градског народног одбора у Врању бр. 21206 од 14. октобра 1948. године, основана је Градска народна апотека у Врању као државно привредно предузеће локалног значаја [29].

ЗАКЉУЧАК

Постојање законске регулативе о уређењу фармацеутске делатности у оквиру здравствене службе ути-

цало је на то да Врање крајем 19. века добије прве две апотеке са школованим фармацеутским кадром који су снабдевали становништво Врања квалитетним лековима, санитетским материјалом и апотекарским специјалитетима. Углед, стручна спрема и неприкосновена примена строгих законских прописа у раду школованих фармацеута допринели су стварању поверења грађана у апотеке као делу здравствене службе у Врању. Заједно с првим лекарима, врањски фармацеути су континуитетом професионалног рада утицали на искорењивање примитивних и лоших здравствених навика и допринели развоју здравствене културе у Врању. Власници апотека су се мењали, али је био обезбеђен континуитет у медицинском снабдевању лековима и санитетским материјалом. Тридесетих година 20. века у Врању су радиле три приватне апотеке као део цивилних здравствених установа. Крајем 1948. све три апотеке су подруштљене и прерасле су у државно привредно предузеће локалног значаја под називом „Народна апотека у Врању“.

НАПОМЕНА

Рад је урађен у оквиру пројеката бр. 41004 (Душанка Крајновић) и бр. 175036 (Андријана Милошевић Георгиев), које финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

ЗАХВАЛНИЦА

Аутори захваљују Архиву Србије, Архиву града Врања, породици Дединац, која је одобрила коришћење приватне колекције породице Кушаковић, и декану Фармацеутског факултета Универзитета у Београду на дозволи за коришћење грађе Музеја за историју фармације.

ЛИТЕРАТУРА И ИЗВОРИ

1. Trajković B, Mihajlović Z. Školstvo u vranjskom kraju. Vranje: Međuopštinski prosvetno-pedagoški zavod Vranje; 1970.
2. Pešić M. Vranje. Vranje: Samoupravna interesna zajednica kulture Opštine Vranje; 1975.
3. Andrejević B. Osnovne karakteristike razvoja Vranja krajem XVIII i tokom XIX veka. In: Vranje kroz vekove. Vranje: Glavni odbor za obeležavanje devet vekova Vranja, SO Vranje; 1993. p.308-14.
4. Mihajlović D. Razvoj zdravstvene službe u Vranju od vremena carstva Nemanjića do polovine XX veka. Vranje: Muzej zdravstvene službe u Vranju; 1968.
5. Arhiv Srbije (1883): Sanitetsko odeljenje, Ministarstvo unutrašnjih dela Del. broj 31 – Konduit lista lekara u Okrugu Vranjskom za 1882. godinu.
6. Miličević ĐM. Kraljevina Srbija. Beograd: Državna štamparija Kraljevine Srbije; 1884.
7. Arhiv Srbije (1879): Sanitetsko odeljenje, Ministarstvo unutrašnjih dela Del. broj 190, 1043, 306, 4446.
8. Mihajlović D. Prilozi iz zdravstvene kulture Vranja i njegove okoline. In: Vranje kroz vekove. Vranje: Glavni odbor za obeležavanje devet vekova Vranja, SO Vranje; 1993. p.390.
9. Krajnović D, Jocić D, Keričan L, Stupar D, Gašić M, Perić B. Prva državna apoteka u Srbiji. Acta Medico-Historica Adriatica. 2012; 10(1):23-44.
10. Krajnović D, Arsić J, Milošević-Georgijević A, Manojlović J. The first pharmacy in Vranje with educated pharmacist and its development. Vojnosanit Pregl. 2014; 71(10):978-84.
11. Parojčić D. First Pharmacy Law from 1865 and its impact on the development of pharmaceutical legislation in Serbia. In: Zerobin C, Ledermann F, Willi-Hangartner R, editors. Akten des 35. Internationalen Kongresses für Geschichte der Pharmazie [CD-ROM]. Luzern: Veröffentlichungen der Schweizerischen Gesellschaft für Geschichte der Pharmazie band 25; 2001.
12. Arhiv Srbije (1881): Sanitetsko odeljenje, Ministarstvo unutrašnjih dela Del. broj 1047, 1771.
13. Arhiv Srbije (1879): Sanitetsko odeljenje, Ministarstvo unutrašnjih dela Del. broj 1043, 306, 4446.
14. Arhiv Srbije (1881): Sanitetsko odeljenje, Ministarstvo unutrašnjih dela – Časopis „Narodno zdravlje“ 1881; 40. (od 1. marta 1881; 40).
15. Arhiv Srbije (1880): Sanitetsko odeljenje, Ministarstvo unutrašnjih dela Del. broj 189.
16. Arhiv Srbije (1884): Sanitetsko odeljenje, Ministarstvo unutrašnjih dela Del. broj 221, 7448.
17. Stupar D. Vojna farmacija Srbije u XIX veku. Beograd: Naučno društvo za istoriju zdravstvene kulture Jugoslavije; 1977.
18. Stanojević V. Istorija srpskog vojnog saniteta; Naše ratno iskustvo. Beograd: Vojnoizdavački i novinski centar; 1992.

19. Jeremić R. Zdravstvene prilike u jugoslovenskim zemljama: do kraja devetnaestog veka. Zagreb: Škola narodnog zdravlja; 1935.
20. Istorijski arhiv Vranje, „31. januar“: Uprava i javne službe, Skupština opštine – Kondukt lista apotekara u okrugu vranjskom za 1905. godinu.
21. Arhiv Srbije (1883): Sanitetsko odeljenje, Ministarstvo unutrašnjih dela Del. broj 2823.
22. Marjanović V. Farmacija u Srbiji u XIX veku. Beograd: Vetprom; 1970.
23. Parojčić D. Spécialités médicamenteuses, leur fabrication et leur publicité en Serbie vers la fin du XIXe et le début du XXe siècle. *Revue d'histoire de la pharmacie*. 2004; 92(342):229-46.
24. Arsić J, Arsić S, Krajnović D, Marinković V, Jocić D, Milošević Georgiev A, et al. Kušaković's toothpaste: Advertisement for one pharmaceutical specialty at the beginning of the 20th century in Serbia. In: *Pharmacy World Congress*; Dublin; Ireland: International Congress of FIP; 2013. Available from: <http://fip.org/abstracts?page=abstracts&action=item&item=8457> [accessed 10 Nov 2013].
25. Delini A. Stanje farmacije u Srbiji između dva svetska rata 1918-1941. Beograd: Srbolek; 1967.
26. Narodna biblioteka Srbije [Internet]. Beograd: Digitalna kolekcija Narodne biblioteke Srbije, Politika 1912; Available from: <http://serbia-forum.mi.sanu.ac.rs/wb/?action=getbook&bookkey=3713#page/0/mode/1up> [accessed 10 Nov 2013].
27. Privatna arhiva porodice Dedinac, Vranje – Originalni papirni omot „Srpskog kalodonta“.
28. Monografija „Štamparija Nova Jugoslavija Vranje“. Vranje: Nova Jugoslavija; 1984.
29. Istorijski arhiv Vranje, „31. januar“: Uprava i javne službe, Skupština opštine – Zapisnik sa sastanka Gradskog narodnog odbora u Vranju od 14. oktobra 1948.

Contribution of Pharmacists to the Development of Healthcare Culture in Vranje by the End of the 19th Century and in the First Half of the 20th Century

Jasmina Arsić¹, Dušanka Krajnović², Srboljub Arsić³, Andrijana Milošević Georgiev², Valentina Marinković²

¹Pharmacy „Vranje“, Vranje, Serbia;

²Department of Social Pharmacy and Pharmaceutical Legislation, Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;

³Gynecology-Obstetrics Department, Health Center Vranje, Vranje, Serbia

SUMMARY

Introduction Healthcare enlightenment and healthcare culture in Vranje and its region were under Turkish influence until the liberation in 1878, when the organisation of education, schooling and healthcare were initiated in the Vranje region

Objective The aims of this study were to shed light on the beginning of the development of pharmaceutical personnel, and their contribution to healthcare culture development in Vranje and its region, with a focus on healthcare legislation and its impact on pharmaceutical service availability, and the analysis of pharmaceutical personnel development within the healthcare services.

Methods We used the methods of documentation analysis and the desk analysis of the secondary information.

Results At the beginning of the 19th century healthcare services in Vranje were still inexistent. After the liberation from the Turks, Naum's medical office with pharmacy was opened in Vranje. Although it did not comply with regulations, it presented the only formal source of supply of medications and sanitary mate-

rial, and as such it gave its contribution to healthcare service at that time in Vranje. Mr ph. Stevan Varjacić, 1st class pharmacy assistant, worked at a temporary hospital from 1880 until January 1881, supplying with medications soldiers and residents of Vranje. The development of pharmaceutical schooling began in 1883, when a pharmacy was opened by the pharmacist Velimir Karic according to the Law on Healthcare Organisation and People's Healthcare Maintenance. By the end of the 1930s there were ten civilian healthcare institutions in Vranje, even three of which were pharmacies. By the end of 1948, they were nationalized, and were renamed the City National Pharmacy of Vranje. **Conclusion** By the end of the 19th century, passing of the legislation on the regulations of pharmaceutical industry within healthcare services had an impact on Vranje that resulted in opening pharmacies with educated pharmaceutical personnel. Pharmacy owners changed, and the quality and continuity of medical supplies was always secured.

Keywords: healthcare culture; pharmacists; pharmacies; Vranje

Примљен • Received: 26/11/2013

Прихваћен • Accepted: 14/05/2014

Erratum

Alpha-1-Antitrypsin Deficiency in Children: Clinical Characteristics and Diagnosis: Erratum

In the article that appeared on pages 547–550 of the September-October 2014 issue of the Serbian Archives of Medicine (Srpski arhiv za celokupno lekarstvo), the last author's surname was misspelled (Baletić). It should read **Beletić**. The publisher and the first author of the article regret this error.

REFERENCE

Radlović N, Leković Z, Radlović V, Simić D, Topić A, Ristić D, Dučić S, Baletić A. Alpha-1-Antitrypsin Deficiency in Children: Clinical Characteristics and Diagnosis. Srp Arh Celok Lek. 2014 Sep-Oct; 142(9-10):547-50. (doi: 10.2298/SARH1410547R)

Alpha-1-Antitrypsin Deficiency in Children: Clinical Characteristics and Diagnosis: Erratum

У чланку који је објављен на странама 547–550 у септембарско-октобарској свесци из 2014. године часописа „Српски архив за целокупно лекарство“ поткрала се грешка у презимену последњег именованог аутора (Балетић). Његово презиме је **Белетић**. Издавач и првоименовани аутор чланка искрено жале због овог ненамерног пропуста.

РЕФЕРЕНЦА

Radlović N, Leković Z, Radlović V, Simić D, Topić A, Ristić D, Dučić S, Baletić A. Alpha-1-Antitrypsin Deficiency in Children: Clinical Characteristics and Diagnosis. Srp Arh Celok Lek. 2014 Sep-Oct; 142(9-10):547-50. (doi: 10.2298/SARH1410547R)

Имена рецензената који су рецензије радова доставили крајем 2013. и у 2014. години (закључно са 5. децембром 2014)

Захваљујем рецензентима, члановима Уређивачког одбора и сарадницима на приљезном раду, драгоценом ангажовању и сарадњи у остварењу нових стандарда прилога објављених у „Српском архиву за целокупно лекарство“. Квалитет рецензија је значајно побољшан, као и сагледавање потенцијалних плагијата, дуплих и тзв. салама публикација. Верујем да ће даље ангажовање допринети бржој обради радова и оправдати поверење аутора уз жељу да нам наступајућа 2015. година донесе још више успеха.

- | | |
|--|-----------------------------------|
| 1. Антић Вукашин | 42. Димковић Нада |
| 2. Апостоловић Светлана | 43. Добрић Силва |
| 3. Апостолски Слободан | 44. Додић Слободан |
| 4. Арсић-Арсенијевић Валентина | 45. Донфрид Бранислав |
| 5. Аћимовић Миодраг | 46. Драговић-Лукић Гордана |
| 6. Бабић Никола | 47. Драгојевић-Симић Викторија |
| 7. Баскић Дејан | 48. Ђорђевић Момчило |
| 8. Бацковић Душан | 49. Ђорђевић Предраг |
| 9. Белеслић Бранко | 50. Ђукановић Љубица |
| 10. Беслаћ-Бумбаширевић Љиљана | 51. Ђурић Златко |
| 11. Билановић Драгољуб | 52. Живић Саша |
| 12. Благојевић-Лазич Радмила | 53. Жувела Маринко |
| 13. Богдановић Андрија | 54. Ивановски Верица |
| 14. Богдановић Градимир | 55. Ивковић-Лучић Бранка |
| 15. Божић Милена | 56. Иланковић Никола |
| 16. Бреберина Милан | 57. Илић Мирослав |
| 17. Бумбаширевић Марко | 58. Илић Настас |
| 18. Васиљевић Јован | 59. Илић Слободан |
| 19. Васиљевић Младенко | 60. Илле Тајјана |
| 20. Вејновић Тихомир | 61. Ишпановић-Радојковић Вероника |
| 21. Влашки Јован | 62. Јаковић Радослав |
| 22. Вуковић Драган | 63. Јанковић Борко |
| 23. Вукомановић Владислав | 64. Јаношевић Љиљана |
| 24. Вукотић-Малетић Винка | 65. Јаношевић Мирјана |
| 25. Вучинић Предраг | 66. Јашовић-Гашић Мирослава |
| 26. Вучинић Славица | 67. Јевтић Марија |
| 27. Вучковић Чедо | 68. Јевтовић Ђорђе |
| 28. Гвозденовић Елеонора | 69. Јешић Милош |
| 29. Гојковић-Букарица Љиљана | 70. Јешић Снежана |
| 30. Голубовић Слободан | 71. Јешић-Вукићевић Рада |
| 31. Грбовић Лепосава | 72. Јовановић Ида |
| 32. Грга Ђурица | 73. Јовановић Марина |
| 33. Грозданов Јасмина | 74. Јовановић Милан |
| 34. Грујичић Даница | 75. Јовановић Светлана |
| 35. Давидовић Лазар | 76. Јовановић-Симић Јелена |
| 36. Данкуц Драган | 77. Јовановић-Срзентић Снежана |
| 37. Дачић Драгица | 78. Јовановић Тања |
| 38. Деклева Милица | 79. Јовић Миомир |
| 39. Делбуе Серена (<i>Delbue Serena</i>) | 80. Јокић Радојица |
| 40. Делић Драган | 81. Јорга Јагода |
| 41. Димитријевић Јован | 82. Карадаглић Ђорђије |

83. Кесић Весна
84. Кнежевић Тасић Јасмина
85. Ковачев-Завишић Бранка
86. Којић Звездана
87. Константиновић Витомир
88. Контић Ђорђе
89. Контић-Вучинић Оливера
90. Косановић Раде
91. Костић Љубомир
92. Костић Мирјана
93. Коцић Бранислава
94. Кривокапић Зоран
95. Кристофоровић-Илић Мирослава
96. Крстић Зоран
97. Крстић Миодраг
98. Лаврнић Драгана
99. Лалић Катарина
100. Лалошевић Душан
101. Лекић Предраг Чарлс
102. Лепшановић Зорица
103. Лечић-Тошевски Душица
104. Лешић Александар
105. Лукач Марија
106. Лучић Милош
107. Максимовић Живан
108. Максимовић Јован
109. Максимовић Славица
110. Марић-Бојовић Нађа
111. Мартинов-Цвејин Мирјана
112. Матицки Марио
113. Медић-Стојаноска Милица
114. Мијаиловић Милица
115. Мијаиловић-Борља Раденка
116. Миковић Жељко
117. Миланков Мирослав
118. Милановић Јасмина
119. Миленковић Бранислава
120. Миленковић Светислав
121. Миленковић-Петронић Драгица
122. Милићевић Мирослав
123. Миловановић Бранислав
124. Миловановић Срђан
125. Милосављевић Ивица
126. Милосављевић Томица
127. Милошевић Драгослав
128. Милошевић Павле
129. Мирковић Љиљана
130. Митровић Сања
131. Мицев Марјан
132. Муњиза Марко
133. Недељковић Јасминка
134. Недок Александар
135. Нешковић-Константиновић Зора
136. Николић Димитрије
137. Николић Љубиша
138. Николић Слободан
139. Новаковић Марјан
140. Павловић Милорад
141. Пејин Душан
142. Пејчић Љиљана
143. Перишић Зоран
144. Петровић Драган
145. Петровић Љубомир
146. Петровић-Тепић Снежана
147. Плавец Горан
148. Плешинац Снежана
149. Пљеша Стева
150. Половина Снежана
151. Поповић Бранислав
152. Потпара Татјана
153. Путниковић Биљана
154. Пуцар Ана
155. Радак Ђорђе
156. Радовановић Бојан
157. Радовановић Зоран
158. Радовановић Саша
159. Радојковић Милица
160. Ракић Снежана
161. Ракочевић Видосава
162. Ранђеловић Томислав
163. Ребић Предраг
164. Рисовић Душица
165. Ристић Слободан
166. Ристић-Медић Данијела
167. Савић Александар
168. Савић Бранислава
169. Самарџић Радован
170. Седлецки Катарина
171. Симић Снежана
172. Симић-Огризовић Сања
173. Симоновић-Бабић Јасмина
174. Спасић Михајло
175. Стаменковић Драгослав
176. Станимировић Бранко
177. Станковић Зоран
178. Станковић Милан
179. Станковић Небојша
180. Стефановић Александар
181. Стефановић Бранислав
182. Стефановић Владисав
183. Стефановић Душан
184. Стојановић Душица
185. Стојановић Јован
186. Стојановић Мирослав
187. Стојановић Роксанда
188. Стојковић Синиша
189. Стокић Едита
190. Столић Радојица
191. Сувајџић Нада
192. Тасић Велибор
193. Татић Вујадин
194. Тодоровић Гордана
195. Тодоровић Зоран
196. Тодоровић Љубомир
197. Тодоровић Милена
198. Томашевић Милоје
199. Трбојевић Божо
200. Тулић Иван

- 201. Ђук Владимир
- 202. Хабиб Наги (*Habib Nagy*)
- 203. Хаџи-Ђокић Јован
- 204. Хентова-Сенђанић Параскева
- 205. Царевић Момир
- 206. Чабаркапа Наташа
- 207. Човичковић-Штернић Надежда
- 208. Чоловић Милица
- 209. Џодић Радан

- 210. Швиртлих Неда
- 211. Шкодрић-Трифунуовић Весна
- 212. Шћепан Ивана
- 213. Шумарац-Думановић Мирјана

*Проф. др Павле Миленковић,
главни и одговорни уредник
„Српског архива за целокупно лекарство“*

Корисни линкови

www.srp-arh.rs
www.sld.org.rs
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

Пре подношења рукописа Уредништву часописа „Српски архив за целокупно лекарство“ сви аутори треба да прочитају Упутство за ауторе (*Instructions for Authors*), где ће пронаћи све потребне информације о писању и припреми рада у складу са стандардима часописа. Веома је важно да аутори припреме рад према датим пропозицијама, јер уколико рукопис не буде усклађен с овим захтевима, Уредништво може одложити објављивање рада или чак одбити његово публикување. Стога се ауторима и потенцијалним сарадницима саветује да пажљиво прочитају ово упутство пре него што приступе припреми рукописа за штампу у „Српском архиву за целокупно лекарство“.

ОПШТА УПУТСТВА. Оригинални и стручни радови се у целини достављају на енглеском језику са сажетком на енглеском и српском. Текст рада куцати у програму за обраду текста *Word*, фонтом *Times New Roman* и величином слова 12 тачака (12 pt). Све четири маргине подесити на 25 mm, величину странице на формат А4, а текст куцати с двоструким проредом, 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*. За прелазак на нову страну документа не користити низ ентера, већ искључиво опцију *Page Break*. 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 редоследом којим се појављују у тексту. Странице нумерисати редом у доњем десном углу, почев од насловне стране.

При писању текста на енглеском језику треба се придржавати језичког стандарда *American English* и користити кратке и јасне реченице. 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 у суперскрипту или супскрипту (нпр. ⁹⁹Tc, IL-6, O₂, B₁₂, 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.

КЛИНИЧКА ИСТРАЖИВАЊА. Клиничка истраживања се дефинишу као истраживања која се односе на једну здравствену интервенцију или на више њих, а 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 с Хелсиншким декларацијом и одобрење надлежног етичког одбора да се истраживање може извести и да је оно у складу с правним стандардима. Експериментална истраживања на хуманом материјалу и испитивања вршена на животињама треба да садрже изјаву етичког одбора установе и треба да су у сагласности с локалним правним стандардима.

ИЗЈАВА О СУКОБУ ИНТЕРЕСА. Уз рукопис се прилаже потписана изјава у оквиру обрасца *Submission Letter* којом се аутори изјашњавају о сваком могућем сукобу интереса или његовом одсуству. За додатне информације о различитим врстама сукоба интереса посетити интернет-страницу Светског удружења уредника медицинских часописа (*World Association of Medical Editors – WAME*; <http://www.wame.org>) под називом „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; завршном дотеривању верзије рукописа који се припрема за штампање.

Аутори треба да приложе опис доприноса појединачно за сваког коаутора у оквиру обрасца *Submission Letter*. 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 првој страници рукописа треба навести следеће: наслов рада без скраћеница; пуна имена и презимена аутора (без титула) индексирана бројевима; званичан назив установе 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 имејл 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 другој по реду страници документа треба приложити кратак садржај рада обима 100–250 речи. За оригинале радова 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 делове: Увод, Приказ болесника, Закључак; сегменте такође писати као посебан пасус који почиње болдованом речи. За остале типове радова сажетак нема посебну структуру.

КЉУЧНЕ РЕЧИ. Испод Кратког садржаја навести од три до шест кључних речи или израза. Не треба да се понављају речи из наслова, а кључне речи треба да буду релевантне или описне. У избору кључних речи користити *Medical Subject Headings – MeSH* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh>).

ПРЕВОД НА СРПСКИ ЈЕЗИК. На трећој по реду страници документа приложити наслов рада на српском језику, пуна имена и презимена аутора (без титула) индексирана бројевима, званичан назив установе у којима аутори раде, место и државу. На следећој – четвртој по реду – страници документа приложити кратак садржај (100–250 речи) с кључним речима (3–6), и то за радове у којима је обавезан кратак садржај на енглеском језику. 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.

Уколико је рад у целости на српском језику (нпр. рад из историје медицине, језика медицине и др.), потребно је превести називе прилога (табела, графикана, слика, схема) уколико их има, целокупни текст у њима и легенду на енглески језик.

СТРУКТУРА РАДА. Сви поднаслови се пишу великим масним словима (болд). Оригинални рад обавезно треба да има следеће поднаслов: Увод, Циљ рада, Методе рада, Резултати, Дискусија, Закључак, Литература. Преглед литературе чине: Увод, одговарајући поднаслови, Закључак, Литература. Првоименовани 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, иницијале, нити бројеве историја болести, нарочито у илустрацијама. Прикази болесника не смеју имати више од седам аутора.

Прилоге (табеле, графиконе, слике итд.) сместити на крај рукописа, а у самом телу текста назначити место које се односи на дати прилог. Крајња позиција прилога пре штампања рада зависиће од прелома текста.

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. Избежавати коришћење скраћеница у кратком садржају, али ако су неопходне, сваку скраћеницу поново објаснити при првом навођењу у тексту.

ДЕЦИМАЛНИ БРОЈЕВИ. У тексту рада на енглеском језику, у табелама, на графиконима и другим прилозима децималне бројеве писати са тачком (нпр. 12.5 ± 3.8), а у тексту на српском језику са зарезом (нпр. $12,5 \pm 3,8$). 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 српском 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 рубрику „Језик медицине“ до 3.000 речи; радови за остале рубрике могу имати највише 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 лако разумљива. Наслов треба откуцати изнад табеле, а објашњења испод ње. Табеле се означавају арапским бројевима према редоследу навођења у тексту. Табеле цртати 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. Куцати фонтом *Times New Roman*, величином слова 12 *pt*, с једноструким проредом и без увлачења текста. Коришћене скраћенице у табели треба објаснити у легенди испод табеле.

Уколико је рукопис на српском језику, приложити називе табела и легенду на оба језика. Такође, 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!).

СЛИКЕ. Сlike се означавају арапским бројевима према редоследу навођења у тексту. Примају се искључиво дигиталне фотографије (црно-беле или у боји) резолюције 300 dpi и формата записа *tiff* или *jpg* (мале, мутне и слике лошег квалитета неће се прихватати за штампање!). Уколико аутори не поседују или нису у могућности да доставе дигиталне фотографије, онда оригиналне слике треба скенирати као *Grayscale* (или у боји) у резолуцији 300 dpi и снимити их у оригиналној величини.

Уколико је рукопис на српском језику, приложити називе слика и легенду на оба језика.

Сlike се у свесци могу штампати у боји, али додатне трошкове штампе сноси аутори.

ГРАФИКОНИ. Графикони треба да буду урађени и достављени у програму *Excel*, да би се виделе пратеће вредности распоређене по ћелијама. Исте графиконе прекопирати и у *Word*-ов документ, где се графикони означавају арапским бројевима према редоследу навођења у тексту. Сви подаци на графикону куцају се у фонту *Times New Roman*. Коришћене скраћенице на графикону треба објаснити у легенди испод графикана.

Уколико је рукопис на српском језику, приложити називе графикана и легенду на оба језика.

СХЕМЕ (ЦРТЕЖИ). Схеме цртати у програму *CorelDraw* или *Adobe Illustrator* (програми за рад са векторима, кривама). Сви подаци на схеми куцају се у фонту *Times New Roman*, величина слова 10 *pt*. Коришћене скраћенице на схеми треба објаснити у легенди испод схеме.

Уколико је рукопис на српском језику, приложити називе схема и легенду на оба језика.

ЗАХВАЛНИЦА. Навести све сараднике 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, а цитирани чланци треба да буду лако приступачни читаоцима часописа. Стога уз сваку референцу обавезно треба навести DOI број чланка (јединствену ниску карактера која му је додељена) и PMID број уколико је чланак индексан у бази PubMed/MEDLINE.

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 апстракта као референце, а апстракте старије од две године не цитирати. Референце чланака који су прихваћени за штампу, али још нису објављени, треба означити са *in press* и приложити доказ о прихватању рада за објављивање.

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, не-објављеног и другог објављеног материјала) могу се 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 најбитнијих фактора за индексирање приликом класификације научних часописа.

ПРОПРАТНО ПИСМО (SUBMISSION LETTER). Уз рукопис обавезно приложити образац који су потписали сви аутори, а који садржи: 1) изјаву да рад претходно није публикован и да није истовремено поднет за објављивање у неком другом часопису, 2) изјаву да су рукопис прочитали и одобрили сви аутори који испуњавају мерила ауторства, и 3) контакт податке свих аутора у раду (адресе, имејл адресе, телефоне итд.). Бланко образац треба преузети са интернет-странице часописа (<http://www.srp-arh.rs>).

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 морају бити чланови Српског лекарског друштва (у складу са чланом 6. Статута Друштва), док први аутор мора бити и претплатник на часопис, за годину у којој се рад предаје Уредништву. Установе (правна лица) не могу преко своје претплате да испуне овај услов аутора (физичког лица). Уз рукопис рада треба доставити копије уплатница за чланарину и претплату, као доказ о уплатама. Аутори из иностранства нису дужни да буду чланови Српског лекарског друштва, нити претплатници на часопис за текућу годину. Додатне информације о чланарини и претплати могу се добити на телефоне 011/3245-149 и 011/3346-963, односно имејлом ([srparhiv@bvcom.net](mailto:srp-arh@bvcom.net)) и на интернет-страници часописа (<http://www.srp-arh.rs>).

СЛАЊЕ РУКОПИСА. Рукопис рада и сви прилози уз рад могу се доставити имејлом ([srparhiv@bvcom.net](mailto:srp-arh@bvcom.net)), електронски преко система за пријављивање на интернет-страници часописа (<http://www.srp-arh.rs>), препорученом поштом или лично, доласком у Уредништво. Уколико се рад шаље поштом или доноси у Уредништво, рукопис се доставља одштампан у три примерка и нарезан на CD (снимљени материјал треба да је истоветан 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 припрему рада знатно ће се скратити време целокупног процеса до објављивања рада у часопису, што ће позитивно утицати на квалитет чланака и редовност излагања свезака.

За све додатне информације, молимо да се обратите на доленаведене адресе и број телефона.

АДРЕСА:

Српско лекарско друштво
Уредништво часописа „Српски архив за целокупно лекарство“
ул. Џорџа Вашингтона 19
11000 Београд
Србија

ТЕЛЕФОН: 011/3245-149

E-MAIL: [srparhiv@bvcom.net](mailto:srp-arh@bvcom.net)

ИНТЕРНЕТ АДРЕСА: <http://www.srp-arh.rs>

ISSN 0370-8179

ISSN Online 2406-0895

Before submitting their paper to the Editorial Office of the Serbian Archives of Medicine, all the authors should read the Instructions for Authors, where they will find all the necessary information on writing their manuscript in accordance to the journal's standards. It is essential that authors prepare their manuscript according to established specifications, because failure to follow them may result in paper being delayed or rejected. Therefore, contributors are strongly encouraged to read these instructions carefully before preparing a manuscript for submission to the Serbian Archives of Medicine.

GENERAL INSTRUCTIONS. Original and professional papers should be written entirely and exclusively in the English language with a summary and title page in both English and Serbian. The text of the manuscript should be typed in MS Word using the Times New Roman typeface, and font size 12 pt. The text should be prepared with margins set to 25 mm and onto A4 paper size, with double line spacing, 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. In order to start a new page within the document, *Page Break* option should be used instead of consecutive enters. 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 within parenthesis (for example: [1, 2]), in order of appearance in the text. Pages are numbered consecutively in the right bottom corner, beginning from the title page.

When writing text in English, linguistic standard American English should be observed. Write short and clear sentences. 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., ⁹⁹Tc, IL-6, O₂, B₁₂, CD8).

If a paper is a part of a 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, the name, venue and time of the meeting should be written.

CLINICAL TRIALS. Clinical trial is defined as any research related to 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 summary.

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 competent 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. The manuscript must be accompanied by a disclosure statement from all authors (contained within the Submission Letter) declaring any potential interest or stating that the authors have no conflict of interest. For additional information on different types of conflict of interest,

please 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.

The authors should enclose the description of contribution to the article of every co-author individually (within the Submission Letter). 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 should be mentioned in the *Acknowledgment* section, with description of their activities, and their written consent.

TITLE PAGE. The first page of the manuscript (cover sheet) should include the following: title of the paper without any abbreviations; each author's full names and family names (no titles), indexed by numbers; official name, place and country of the institution in which authors work (in order corresponding to the indexed numbers of the authors); at the bottom of the page: name and family name, address, phone and fax number, and e-mail address of a corresponding author.

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 summary not exceeding 100–250 words should be typed on the second page of the manuscript. In the original article, the summary should have the following structure: Introduction, Objective, Methods, Results, Conclusion. Each segment should 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 should consist of the following: Introduction, Case Outline (Outline of Cases), Conclusion. Each segment should be typed in a separate paragraph using boldface. In other types of papers, the summary has no special outline.

KEYWORDS. Below the summary, 3 to 6 keywords or phrases should be typed. The keywords need not repeat words in the title and should be relevant or descriptive. Medical Subject Headings – MeSH (<http://www.nlm.nih.gov/mesh>) are to be used for selection of the keywords.

TRANSLATION INTO SERBIAN. The third page of the manuscript should include: title of the paper in the Serbian language; each author's full name and family name (no titles), indexed by numbers; official name, place and country of the institution in which authors work. On the fourth page of the manuscript the summary (100–250 words) and keywords (3–6) should be typed, but this refers only to papers in which a summary and keywords are compulsory. The terms taken from foreign literature should be translated into comprehensible Serbian. All foreign words or syntagms that have a corresponding term in Serbian should be replaced by that term.

If an article is entirely in Serbian (e.g. article on history of medicine, article for "Language of medicine", etc.), captions and leg-

ends of all enclosures (tables, graphs, photographs, schemes) – if any – should be translated into English as well.

STRUCTURE OF THE MANUSCRIPT. All section headings should be in capital letters using boldface. An original article should have the following section headings: Introduction, Objective, Methods, Results, Discussion, Conclusion, References. A review article includes: Introduction, corresponding section headings, Conclusion, References. The first named 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. A case report should consist of: Introduction, Case Report, Discussion, References. No names of patients, initials or numbers of medical records, particularly in illustrations, should be mentioned. Case reports cannot have more than seven authors.

All enclosures (tables, graphs, photographs, etc.) should be placed at the end of the manuscript, while in the body of the text a particular enclosure should only be mentioned and its preferred place indicated. The final arrangement (position) of the enclosures before printing will depend on page layout.

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 summary should be avoided, but if they have to be used, each of them should be explained again when first mentioned in the text.

DECIMAL NUMBERS. In papers written in English, including text of the manuscript and all enclosures, a decimal point should be used in decimal numbers (e.g. 12.5±3.8), while in Serbian papers a decimal comma should be used (e.g. 12,5±3,8). Wherever applicable, a number should be rounded up to one decimal place.

UNITS OF MEASURE. Length, height, weight and volume should be expressed in metric units (meter – *m*, kilogram – *kg*, liter – *l*) or subunits. Temperature should be in Celsius degrees (°C), quantity of substance in moles (*mol*), and blood pressure in millimeters of mercury column (*mm Hg*). All results of hematological, 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, photographs, graphs, schemes, sketches), title page and summary in Serbian – must not exceed 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 the manuscript, please 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 MS Word, 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 line spacing and no indent to draw the tables. Abbreviations used in tables should be explained in the legend below the respective table.

If the manuscript is entirely in the Serbian language, tables and corresponding legend should be both in Serbian and English. Also, the table cells should contain text in both languages (do not create two separate tables with a single language!).

PHOTOGRAPHS. Photographs should be numbered in Arabic numerals in order of citation in the text. Only original digital photographs (black-and-white or color), resolution of 300 dpi, and jpg or tiff format, are acceptable (small, blurry and photographs of poor quality will not be accepted for publishing!). If authors do not possess or are not able to provide digital photographs, then the original photos should be scanned as *Grayscale* (or RGB color) with resolution of 300 dpi, and saved in original size.

If the manuscript is entirely in the Serbian language, photographs and corresponding legend should be both in Serbian and English.

Photographs may be printed and published in color, but the expenses are to be covered by the authors.

GRAPHS. Graphs should be plotted in *Excel* in order to see the respective values distributed in the cells. The same graphs should be copied and pasted to the *Word* document, numbered in Arabic numerals by order of citation in the text. The text in the graphs should be typed in *Times New Roman*. Abbreviations used in graphs should be explained in the legend below the respective graph.

If the manuscript is entirely in the Serbian language, graphs and corresponding legend should be both in Serbian and English.

SCHEMES (SKETCHES). Schemes should be drawn in *Corel-Draw* or *Adobe Illustrator* (programs for drawing vectors, curves, etc.). The text in the schemes should be typed in *Times New Roman*, font size 10 pt. Abbreviations used in schemes should be explained in the legend below the respective scheme.

If the manuscript is entirely in the Serbian language, schemes and corresponding legend should be both in Serbian and English.

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 aid 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. Therefore, following each reference, its DOI number and PMID number (if the article is indexed for MEDLINE/PubMed) should be typed.

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 review articles, where maximum 50 is ac-

ceptable. The number of citations of original articles must be at least 80% of the total number of references, and the number of citations of books, chapters and literature reviews less than 20%. If monographs and articles written by Serbian authors could be included in the reference list, the authors are obliged to cite them. 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 (*Uniformed 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 databases. Examples of citing publications (journal articles, books and other monographs, electronic, unpublished and other published material) can 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 one of the essential factors of indexing for classification of scientific journals.

SUBMISSION LETTER. The manuscript must be accompanied by the Submission Letter, which is signed by all authors and includes the following: 1) statement that the paper has never been published and concurrently submitted for publication to any other journal; 2) statement that the manuscript has been read and approved by all authors who have met the criteria of authorship; and 3) contact information of all authors of the article (address, email, telephone number, etc.). Blank Submission Letter form can be downloaded from the journal's web site (<http://www.srp-arh.rs>).

Additionally, the authors should 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. In order to publish their article in *the Serbian Archives of Medicine*, all authors must be members of the Serbian Medical Society (according to the Article #6 of the Statute of the SMS) for the year in which

the manuscript is being submitted, and the firstly named author must be subscribed to the journal in the same year. Institutions (legal entities) cannot by their subscription cover this condition on behalf of the authors (natural persons). Copies of deposit slips for membership and subscription paid should be enclosed with the manuscript. 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 can be obtained via email address of the Editorial Office (srparhiv@bvcom.net) and on the journal's web site (<http://www.srp-arh.rs>).

SUBMISSION OF THE MANUSCRIPT. Manuscript and all enclosures can be sent by email (srparhiv@bvcom.net) or via the journal's web site (<http://www.srp-arh.rs>). If sent by registered mail or delivered in person at the Editorial Office in Belgrade, it should contain three printed copies and a CD with the version identical to that on paper.

NOTE. The papers not complying with these instructions will not be reviewed and will be returned to the authors for revision. Observing the instructions for preparation of papers for *the 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's issues.

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

PHONE: +381 11 3245 149

E-MAIL: srparhiv@bvcom.net

WEB SITE: www.srp-arh.rs

ISSN 0370-8179

ISSN Online 2406-0895

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

