

DRUŠTVO LEKARA VOJVODINE SRPSKOG LEKARSKOG DRUŠTVA
PREDSEDNIŠTVO
IZVRŠNI ODBOR

Predsednik: prof. dr DRAGAN DANKUC
Potpredsednik: prim. mr sc. med. VLADISLAVA STEJIN
Sekretar: prim. dr SLAVICA MALEŠEVIĆ
Prof. dr MARINA JOVANOVIĆ
Prof. dr BOGOLJUB MIHAJLOVIĆ
Dr OLGICA JUKIĆ NEATNICA
Prim. dr BRANISLAV KARDAŠEVIĆ

PREDSEDNICI PODRUŽNICA

Bačka Palanka - dr MIRJANA VALAN
Bačka Topola - dr LIVIA VARGA
Bečej - dr DUBRAVKA MIODRAGOVIĆ
Kikinda - mr sc. med. DUŠAN LUJANOV
Kovin - prim. dr stom. OLIVERA NIKOLIĆ
Kula - dr BLAGOJE MARKOVIĆ
Novi Sad - prof. dr KSENIJA BOŠKOVIĆ

Aktiv lekara Sremskih Karlovaca - prof. dr DRAGAN DANKUC
Aktiv stomatologa Novog Sada - dr BILJANA REBA
Odžaci - dr SOFIJA SARKANJAC DANILOVAC
Pančevo - dr JASMINA SAVKOVIĆ

Ruma - dr SNEŽANA BOJANIĆ STOJČIĆ
Senta - dr MARGIT PAJOR
Sombor - Apatin - dr DRAGANA MRĐENOV

Sremska Mitrovica - Šid - dr SLAVKO ARBANAS

Stara Pazova - Indija - dr NADA BRKIĆ MIŠIĆ
Subotica - dr BOJAN BAGI

Temerin - dr LJUBICA VUKOMANOVIĆ
Vrbas - prim. dr PRVOSLAV SEKICKI
Vršac, Plandište i Bela Crkva - dr ŽELJKO VILOTIJEVIĆ

Zrenjanin - dr SVETLANA DETKI

ČLANOVI PREDSEDNIŠTVA

Bačka Palanka - dr NEBOJŠA KOLAROV
Bačka Topola - dr LIVIA VARGA
Bečej - dr SINIŠA ŠJAJIĆ
Kikinda - dr BOJAN MARKOVIĆ
Kovin - dr ANĐELKA MITIĆ
Kula - dr ŽARKO ŠEVIN
Novi Sad - prof. dr MARIJA JEVTIĆ
Novi Sad - doc. dr SINIŠA MIRKOVIĆ

Odžaci - dr STANKA PROTIC
Pančevo - dr JASMINA SAVKOVIĆ
Pančevo - dr MIRJANA MARKOVIĆ LAZIĆ
Pančevo - dr RODIKA MIHAJLOV
Ruma - dr BILJANA LALIĆ
Senta - dr MARGIT PAJOR
Sombor - Apatin - dr MILAN GRBA
Sombor - Apatin - dr DRAGANA MRĐENOV
Sremska Mitrovica - Šid - dr ZORAN BELOMARKOVIĆ
Sremska Mitrovica - Šid - dr DAVOR PENJAŠKOVIĆ
Stara Pazova - Indija - dr NADA BRKIĆ MIŠIĆ
Subotica - dr MARIJA ĐURIĆ
Subotica - dr RADMILA PAVIĆ
Temerin - dr LJUBICA VUKOMANOVIĆ
Vrbas - dr GORDANA VUKIĆEVIĆ
Vršac, Plandište i Bela Crkva - dr LJUBINKA BARBIROVIĆ
Vršac, Plandište i Bela Crkva - dr STEVAN JOKIĆ
Zrenjanin - dr SVETLANA DETKI
Zrenjanin - prim. dr NEDELJKA BOŠKOV
Zrenjanin - dr VERA TAPADO

PREDSEDNICI SPECIJALISTIČKIH SEKCIJA I AKTIVA

Sekcija za alergologiju i kliničku imunologiju
Sekcija za anesteziiju i intenzivnu terapiju
Sekcija za bolesti zavisnosti
Dermatovenerološka sekcija
Sekcija za endokrinološke i metaboličke poremećaje
Epidemiološka sekcija
Sekcija za fizikalnu medicinu i rehabilitaciju
Gerijatrijska sekcija
Ginekološko-akušerska sekcija
Sekcija za hematologiju i transfuziologiju
Hirurška sekcija
Infektološka sekcija
Internistička sekcija
Kancerološka sekcija
Kardiološka sekcija
Sekcija za laboratorijsku medicinu
Sekcija opšte medicine
Sekcija za medicinsku informatiku
Sekcija za medicinu rada
Sekcija za nefrologiju i hemodijalizu
Neurološka sekcija
Oftalmološka sekcija
Otorinolaringološka sekcija
Sekcija za ortopedsku hirurgiju i traumatologiju
Sekcija za patologiju
Sekcija za radiologiju
Pedijatrijska sekcija
Pneumoftiziološka sekcija
Psihijatrijska sekcija
Reumatološka sekcija
Sekcija za psihoterapiju
Sekcija za saobraćajnu medicinu
Sekcija za sportsku medicinu
Sekcija za socijalnu medicinu
Stomatološka sekcija
Urološka sekcija
Sekcija za trombozu i hemostazu
Sekcija za urgentnu medicinu
Aktiv za kliničku farmakologiju
Aktiv oralnih hirurga
Aktiv za endoskopsku hirurgiju
Umetnička sekcija

Prim. dr sc. med. Dušica Stanojev Jovanović
Dr RADMILA JOVIŠEVIĆ
Doc. dr ALEKSANDRA DICKOV
Asist. dr sc. med. MILICA SUBOTIĆ
Prof. dr DRAGAN TEŠIĆ
Doc. dr PREDRAG ĐURIĆ
Doc. dr SNEŽANA TOMAŠEVIĆ TODOROVIĆ
Doc. dr VESNA TURKULOV
Prim. dr PETAR NOVAKOVIĆ
Asist. dr IVANA MILOŠEVIĆ
Prof. dr MILAN BREBERINA
Doc. dr RADOSLAVA DODER
Prof. dr EDITA STOKIĆ
Mr sc. med. dr SVETLANA SALMA
Prof. dr JADRANKA DEJANOVIĆ
Asist. dr VELIBOR ČABARKAPA
Mr sc. med. MILORANKA PETROV KIURSKI
Dr NORBERT ŠAŠVARI
Dr MIRJANA BOŽANIĆ KRNETA
Dr TATJANA STOJŠIĆ
Dr SVETLANA SIMIĆ
Doc. dr DESANKA GRKOVIĆ
Doc. dr SLOBODAN SAVOVIĆ
Doc. dr DOBRIVOJE MARTINOV
Dr BILJANA JELIĆ
Prof. dr SANJA STOJANOVIĆ
Prof. dr ALEKSANDRA DORONJSKI
Doc. dr BILJANA ZVEZDIN
Dr JOVANKA PETROVIĆ
Dr SNEŽANA STOJKOVIĆ
Dr RUŽICA KNEŽEVIĆ
Prim. dr KATICA MOŠORINAC
Doc. dr DAMIR LUKAČ
Dr DANIJELA STANKOVIĆ BARIČAK
Dr EMILIJJA JOSIĆ RANKOV
Prof. dr GORAN MARUŠIĆ
Dr SANJA GNIP
Prim. dr MILAN BOŽINA
Prof. dr ZDENKO TOMIĆ
Prof. dr SINIŠA MIRKOVIĆ
Prim. mr sc. med. EMIL FARKAŠ
Prof. dr MILORAD ŽIKIĆ

VOJVOĐANSKI OGRANAK

AKADEMIJE MEDICINSKIH NAUKA SLD

Prof. dr SVETOLIK AVRAMOV
Prof. dr MIHAJLO BAJIĆ
Prof. dr STOJAN BERBER
Prof. dr RADOSLAV BOROTA
Prof. dr RADOVAN CVIJANOVIĆ
Prof. dr BRANISLAV DANIČIĆ
Prof. dr PETAR DRAČA
Prof. dr MIROSLAVA ĐORĐEVIĆ DOKMANOVIĆ
Prof. dr ERVIN GEBAUER
Prof. dr BRANIMIR GUDURIĆ
Prof. dr TATJANA IVKOVIĆ LAZAR
Prof. dr ĐORĐE JAKOVLJEVIĆ
Prof. dr VERA JERANT PATIĆ
Prim. dr VLADIMIR JOKANOVIĆ
Prof. dr MARINA JOVANOVIĆ
Prof. dr TEODOR KOVAČ
Akad. ZORAN KOVAČEVIĆ
Prof. dr MIROSLAVA KRISTOFOROVIĆ ILIĆ
Prof. dr ALEKSANDAR KRSTIĆ
Prof. dr TIBOR LEPEŠ
Prof. dr LAZAR LEPŠANOVIĆ
Prof. dr ŽELIMIR MIKIĆ
Prof. dr NENAD OBRADOVIĆ
Prof. dr DUŠAN PEJIN
Prof. dr LAZAR POPOVIĆ
Prof. dr MILENA PROTIĆ-BANIĆ
Prof. dr STEVAN POPOVIĆ
Akad. NINOSLAV RADOVANOVIĆ
Prof. dr NEVENKA RONČEVIĆ
Prof. dr MILIĆ STANIŠIĆ
Prof. dr MILAN STANULOVIĆ
Prof. dr ĐURICA STOJŠIĆ
Prof. dr JOVAN STOJKOV
Prof. dr ĐORĐE TABORI
Prof. dr RADIVOJ TOPOLAC
Prof. dr TIHOMIR VEJNOVIĆ
Prof. dr BORIŠA VUKOVIĆ

Izdavačka delatnost Društva lekara Vojvodine Srpskog lekarskog društva, Novi Sad, Vase Stajića 9
Glavni i odgovorni urednik: prof. dr GORDANA DEVEČERSKI

MEDICINSKI PREGLED
ČASOPIS DRUŠTVA LEKARA VOJVODINE SRPSKOG LEKARSKOG DRUŠTVA
PRVI BROJ JE ŠTAMPAN 1948. GODINE.

Glavni i odgovorni urednik
Prof. dr LJILJA MIJATOV UKROPINA

Pomoćnici urednika
Doc. dr BILJANA SRDIĆ
Doc. dr VLADIMIR PETROVIĆ

REDAKCIJSKI ODBOR

Predsednik: prof. dr PETAR SLANKAMENAC
Sekretar: prof. dr VIKTOR TILL

Prof. dr STOJANKA ALEKSIĆ, Hamburg
Prof. dr KAREN BELKIĆ, Stockholm
Prof. dr JEAN-PAUL BEREGI, Lille Cedex
Prof. dr JELA BOROTA, Novi Sad
Prof. dr MILAN BREBERINA, Novi Sad
Prof. dr RADOVAN CVIJANOVIĆ, Novi Sad
Prof. dr GROZDANA ČANAK, Novi Sad
Prof. dr IVAN DAMJANOV, Kansas City
Prof. dr DRAGAN DANKUC, Novi Sad
Prof. dr GORDANA DEVEČERSKI, Novi Sad
Prof. dr RAJKO DOLEČEK, Ostrava
Prof. dr MIRJANA ĐERIĆ, Novi Sad
Prof. dr SRĐAN ĐURĐEVIĆ, Novi Sad
Prof. dr VERA GRUJIĆ, Novi Sad
Prof. dr TATJANA IVKOVIĆ LAZAR, Novi Sad
Prof. dr JÁNOS JAKÓ, Budapest
Prof. dr MARINA JOVANOVIĆ, Novi Sad
Prof. dr DRAGAN KATANIĆ, Novi Sad
Prof. dr ALEKSANDAR KIRALJ, Novi Sad
Prof. dr ALEKSANDAR KNEŽEVIĆ, Novi Sad
Prof. dr DRAGAN KOVAČEVIĆ, Novi Sad

Prof. dr SMILJANA MARINKOVIĆ, Novi Sad
Prof. dr MARIOS MARSELOS, Ioannina
Prof. dr LJILJA MIJATOV UKROPINA, Novi Sad
Prof. dr MIROSLAV MILANKOV, Novi Sad
Prof. dr IGOR MITIĆ, Novi Sad
Prof. dr NADA NAUMOVIĆ, Novi Sad
Prof. dr ANA OROS, Novi Sad
Prof. dr VERA JERANT-PATIĆ, Novi Sad
Prof. dr LJUBOMIR PETROVIĆ, Novi Sad
Prof. dr MIODRAG RADULOVAČKI, Chicago
Prof. dr JOVAN RAJS, Danderyd
Prof. dr ALEKSANDAR ROZENBERGER, Haifa
Prof. dr PETAR E. SCHWARTZ, New Haven
Prof. dr PETAR SLANKAMENAC, Novi Sad
Prof. dr VIKTOR TILL, Novi Sad
Prof. dr TAKASHI TOYONAGA, Kobe
Prof. dr KONSTANTIN VIKTOROVIĆ SUDAKOV, Moskva
Prof. dr NADA VUČKOVIĆ, Novi Sad
Doc. dr ZORAN VUJKOVIĆ, Banja Luka
Prof. dr PETAR VULEKOVIĆ, Novi Sad
Prof. dr RELJA ŽIVOJNOVIĆ, Antwerpen

Lektori za srpski jezik: Dragica Pantić i Biljana Batić

Lektor za engleski jezik: Jasminka Anojčić

Tehnički sekretar: Vesna Šaranović

Tehnička priprema: „Grafit“, Novi Sad

Izrada UDK i deskriptora: Biblioteka Medicinskog fakulteta, Novi Sad

MEDICINSKI PREGLED izlazi dvomesečno (šest dvobroja godišnje), u tiražu od 700 primeraka. Pretplata za pojedince sa teritorije Srbije za 2011. godinu iznosi 3.000,00 dinara (sa uračunatim PDV-om), a 4.000,00 dinara za pojedince van teritorije Srbije, a za ustanove 8.000,00 dinara (uz dodavanje PDV-a). Uplate se vrše na račun broj 340-1861-70 ili 115-13858-06, s naznakom „Dodatna članarina za Medicinski pregled“.

Copyright © Društvo lekara Vojvodine Srpskog lekarskog društva Novi Sad 1998.

**Rukopisi se dostavljaju sekretaru Redakcijskog odbora časopisa »Medicinski pregled« na adresu:
Društvo lekara Vojvodine Srpskog lekarskog društva, 21000 Novi Sad, Vase Stajića 9,
Tel. 021/528-767; Tel/Fax. 021/521-096;
E-mail: dlv@neobee.net; Web: www.dlv.org.rs**

SADRŽAJ

UVODNIK

Ljiljana Marković Denić STUDIJE PREVALENCIJE U NADZORU NAD BOLNIČKIM INFEKCIJAMA.....	353-356
--	---------

ORIGINALNI NAUČNI RADOVI

Gordana M. Mumović VOKALNA TERAPIJA POSLE PARCIJALNIH LARINGEKTOMIJA PRIMENOM KOMPRESIJE LARINKSA.....	357-361
Lidija Banjac VREDNOSTI CITOKINA U SERUMU KOD HRONIČNE PLUĆNE BOLESTI NOVOROĐENČETA.....	362-367
Alma Mekić Abazović, Ibrahim Šišić, Vladimir Kovčín, Hakija Bečulić, Senad Dervišević i Miralem Musić POREĐENJE EFIKASNOSTI I TOKSIČNOSTI DVA HEMIOTERAPIJSKA PROTOKOLA U TERAPIJI ODMAKLOG NESITNOČELIJSKOG KARCINOMA PLUĆA.....	368-372
Maja Pisarić i Sanja Nišević SENZITIVNOST NA ANKSIOZNOST KOD ADOLESCENATA SA SOMATOFORMNOM DISFUNKCIJOM VEGETATIVNOG NERVNOG SISTEMA I ADOLESCENATA SA INSULIN-ZAVISNIM DIJABETESOM MELITUSOM.....	373-376

PRETHODNA SAOPŠTENJA

Aleksandra Novakov Mikić, Snežana Brkić, Daniela Marić, Bojan Sekulić, Aleksandar Četković i Gorana Mitić TIOBARBITURNA KISELINA KAO MARKER OKSIDATIVNOG STRESA U TRUDNOČAMA KOMPLIKOVANIH PREEKLAMPSIJOM.....	377-380
---	---------

PREGLEDNI ČLANCI

Ksenija Božić, Ksenija Gebauer-Bukurov, Petar Slankamenac, Marija Knežević-Pogančev i Slobodan Sekulić JUVENILNA MIOKLONIČNA EPILEPSIJA: NEDOVOLJNO PREPOZNAT SINDROM.....	381-385
Zorica Jovanović i Svetlana Jovanović OTPORNOST NERVNIH ČELIJA NA OKSIDATIVNA OŠTEĆENJA.....	386-391
Ivana Divjak, Petar Slankamenac, Mirjana Jovičević, Tamara Rabi Žikić i Aleksandar Ješić DIJAGNOZA I ISHOD DISEKCIJE CERVIKALNE ARTERIJE.....	392-396

STRUČNI ČLANCI

Zora Jelesić, Vera Gusman, Mira Mihajlović Ukropina, Marija Kulauzov i Deana Medić REZISTENCIJA Escherichia Coli IZ FECESA ZDRAVIH OSOBA I IZ HRANE – INDIKATOR NIVOVA REZISTENCIJE NA ANTIBIOTIKE U POPULACIJI.....	397-402
Vesna Marjanović, Vesna Novak, Ljubinka Veličković i Goran Marjanović INCIDENCIJA I FAKTORI RIZIKA ZA NASTANAK PNEUMONIJE TOKOM MEHANIČKE VENTILACIJE BOLESNIKA SA TEŠKOM POVREDOM GLAVE.....	403-407
Smiljana Marinković, Radoica Jokić, Svetlana Bukarica, Aleksandra Novakov-Mikić, Nada Vučković i Jelena Antić HIRURŠKO LEČENJE NEONATALNIH OVARIJALNIH CISTA.....	408-412
Ivana Naumov i Atila Fenjveši KORELACIJA BRZOG UREA ZA TESTA I PATOHISTOLOŠKOG NALAZA GASTROBIOPSIJE SA POZITIVNIM IMUNOLOŠKIM TESTOM U DETEKCIJI HELICOBACTER PYLORI INFEKCIJE.....	413-417

PRIKAZI SLUČAJEVA

Aldin Jusić, Rasim Skomorac i Hakija Bečulić DORZALNA EKSTRUZIJA INTERVERTEBRALNOG DISKA KAO UZROK SINDROMA KAUDE EKVINE.....	419-421
--	---------

ISTORIJA MEDICINE

Živorad Marinković i Slobodanka Đukić ISTORIJSKO-MEDICINSKI PREGLED OBOLEVANJA VOJSKOVOĐA, VLADARA I DRŽAVNIKA OD SIFILISA.....	423-427
--	---------

CONTENTS

EDITORIAL

Ljiljana Marković Denić STUDIES OF PREVALENCE IN SURVEILLANCE OF HOSPITAL-ACQUIRED INFECTIONS.....	353-356
---	---------

ORIGINAL STUDY

Gordana M. Mumovic VOCAL THERAPY WITH LARYNX COMPRESSION AFTER PARTIAL LARYNGECTOMY.....	357-361
Lidija Banjac THE VALUES OF SERUM CYTOKINES IN CHRONIC LUNG DISEASE IN NEWBORN.....	362-367
Alma Mekić Abazović, Ibrahim Šišić, Vladimir Kovčín, Miralem Musić, Almir Fajkić, Hakija Bečulić and Senad Dervišević COMPARISON OF EFFICIENCY AND TOXICITY OF TWO CHEMOTHERAPY PROTOCOLS IN TREATMENT OF ADVANCED NON-SMALL CELL LUNG CANCER.....	368-372
Maja Pisarić and Sanja Nišević ANXIETY SENSITIVITY IN ADOLESCENTS WITH SOMATOFORM AUTONOMIC DYSFUNCTION AND ADOLESCENTS WITH INSULIN DEPENDENT DIABETES MELLITUS.....	373-376

PRELIMINARY RAPORTS

Aleksandra Novakov Mikić, Snežana Brkić, Daniela Marić, Bojan Sekulić, Aleksandar Četković and Gorana Mitić THIOBARBITURIC ACID REACTIVE SUBSTANCES AS MARKER OF OXIDATIVE STRESS IN PREGNANCIES WITH PRE-ECLAMPSIA.	377-380
---	---------

REVIEW ARTICLES

Ksenija Božić, Ksenija Gebauer-Bukurov, Petar Slankamenac, Marija Knežević-Pogančev and Slobodan Sekulić JUVENILE MYOCLONIC EPILEPSY: UNDER-DIAGNOSED SYNDROME.....	381-385
Zorica Jovanović and Svetlana Jovanović RESISTANCE OF NERVE CELLS TO OXIDATIVE INJU.....	386-391
Ivana Divjak, Petar Slankamenac, Mirjana Jovičević, Tamara Rabi Žikić and Aleksandar Ješić DIAGNOSIS AND OUTCOME OF CERVICAL ARTERY DISSECTION.....	392-396

PROFESSIONAL ARTICLES

Zora Jelesić, Vera Gusman, Mira Mihajlović Ukropina, Marija Kulauzov and Deana Medić RESISTANCE OF <i>Escherichia Coli</i> FROM HEALTHY DONORS AND FROM FOOD – AN INDICATOR OF ANTIMICROBIAL RESI- STANCE LEVEL IN THE POPULATION.....	397-402
Vesna Marjanović, Vesna Novak, Ljubinka Veličković and Goran Marjanović THE INCIDENCE AND RISK FACTORS OF VENTILATOR- ASSOCIATED PNEUMONIA IN PATIENTS WITH SEVERE TRAUMATIC BRAIN INJURY.....	403-407
Smiljana Marinković, Radoica Jokić, Svetlana Bukarica, Aleksandra Novakov-Mikić, Nada Vučković and Jelena Antić SURGICAL TREATMENT OF NEONATAL OVARIAN CYSTS.....	408-412
Ivana Naumov and Atila Fenjeviš CORRELATION BETWEEN RAPID UREASE TEST AND PATHOHISTOLOGICAL GASTROBIOPSY FINDING WITH POSITIVE IM- MUNOLOGICAL TEST IN DETECTING <i>HELICOBACTER PYLORI</i> INFECTION.....	413-417

CASE REPORT

Aldin Jusić, Rasim Skomorac and Hakija Bečulić DORSAL EXTRUSION OF INTERVERTEBRAL DISC AS A CAUSE OF CAUDA EQUINA SYNDROME.....	419-421
--	---------

HISTORY OF MEDICINE

Živorad Marinković and Slobodanka Đukić HISTORICAL AND MEDICAL REVIEW OF SYPHILLIS-AFFLICTED ARMY LEADERS, RULERS AND STATESMEN.....	423-427
---	---------

UVODNIK EDITORIAL

Medicinski fakultet, Beograd
Institut za epidemiologiju

Uvodnik
Editorial
UDK 614.2:616-022]-084

STUDIJE PREVALENCIJE U NADZORU NAD BOLNIČKIM INFEKCIJAMA *STUDIES OF PREVALENCE IN SURVEILLANCE OF HOSPITAL-ACQUIRED INFECTIONS*

Ljiljana MARKOVIĆ DENIĆ

Uvod

Bolničke infekcije (BI) – infekcije povezane sa zdravstvenim intervencijama, kako se odnedavno nazivaju prema programu za bezbednost pacijenata Svetske zdravstvene organizacije (SZO) [1], predstavljaju infekcije nastale tokom pružanja zdravstvenih intervencija u bolnici ili nekoj drugoj zdravstvenoj ustanovi. Obuhvataju infekcije koje nisu bile prisutne na prijemu u ustanovu ili pacijent nije bio u inkubaciji; predstavljaju najčešće neželjene događaje u zdravstvenim ustanovama širom sveta [2].

Nadzor nad BI podrazumeva sistematsko prikupljanje podataka zasnovano na standardnim definicijama, analizu i tumačenje rezultata, kao i upoznavanje sa rezultatima zdravstvenog osoblja odeljenja na kojima je nadzor vršen. Pored toga, uobičajeno je da se o rezultatima nadzora informišu komisija za nadzor nad BI u samoj zdravstvenoj ustanovi, upravni organi ustanove, a ukoliko u zemlji postoji i nacionalni sistem nadzora, podaci se dostavljaju i zaduženim službama na nacionalnom nivou.

Vrste nadzora nad bolničkim infekcijama

Postoji više vrsta nadzora nad BI, a podele se vrše na: a) osnovu načina prikupljanja podataka (aktivni i pasivni nadzor); b) prema izvoru podataka (nadzor baziran na laboratorijskim podacima i na podacima o bolesnicima); c) prema obimu prikupljanja podataka (sveobuhvatni i ciljani nadzor); d) prema vremenu izvođenja (prospektivan i retrospektivan) i e) prema tipu (studije incidencije i studije prevalencije) [3-5].

Nadzor nad BI putem praćenja incidencije (studije incidencije) predstavlja opserviranje svih bolesnika na nekom odeljenju ili samo određenih pacijenata. Radi otkrivanja BI najčešće se prate pacijenti na odeljenjima sa visokim rizikom od nastanka BI kao što su intenzivna nega [6,7] ili hirurģija [8,9]. Pored toga, cilj je i rano otkrivanje BI kod pacijenata sa plasiranim centralnim venskim kateterima [10,11], kod pacijenata na veštačkoj ventilaciji [12], pacijenata sa urinarnim kateterom [13] i dr. Nadzor se izvodi u određenom vremenskom periodu, tj. kontinuirano ili tokom nekoliko meseci u zavisnosti od broja osoblja koje ga vrši. Pomoću ove

vrste nadzora mogu se odrediti faktori rizika od nastanka BI. Međutim, ovaj nadzor je skup jer zahteva angažovanje većeg broja kvalifikovanog osoblja.

Studija prevalencije predstavlja jednostavniji, brži i jeftiniji metod nadzora.

Studije prevalencije u nadzoru nad bolničkim infekcijama

Studije prevalencije u bolnicama

Studija prevalencije se u principu izvodi tokom jednog dana na jednom odeljenju, ili u čitavoj bolnici ukoliko se radi o manjoj ustanovi. Može se izvoditi na svim odeljenjima, mada se nešto ređe sprovodi na odeljenjima sa povećanim rizikom od nastanka BI, gde se preporučuju studija incidencije [14,15]. Studije prevalencije se mnogo češće izvode na odeljenjima gde taj rizik nije tako visok [16,17]. Ipak, s obzirom da se ove studije relativno brzo izvode, vrlo često se sprovode u čitavoj bolnici [18-21]. Obučeno osoblje, najčešće sestra za nadzor nad BI i epidemiolog, obilaze sve pacijente hospitalizovane na dan izvođenja studije, pregledaju dostupnu medicinsku dokumentaciju, laboratorijske nalaze i u konsultaciji sa odeljenjskim lekarima postavljaju dijagnozu BI. Podaci se, najčešće, upisuju uz krevet pacijenta u prethodno pripremljen upitnik. Prikupljanje podataka o pacijentima koji su odsutni iz svoje sobe u vreme izvođenja studije zbog hirurģske, dijagnostičke ili terapijske procedure, obavlja se nakon povratka pacijenta. Upitnik obično sadrži podatke o demografskim karakteristikama pacijenta, faktorima rizika od nastanka BI (operacija, plasirani periferni ili centralni venski kateteri, urinarni kateter, mehanička ventilacija i dr), ordinirane antibiotike na dan studije i podatke o dijagnostikovanim BI (lokalizacija, izolovani mikroorganizam i njegova rezistencija na antibiotiku) ukoliko se oni unose direktno u računar, kada postoji bolnički informacioni sistem, umesto u papirnu verziju upitnika. Pored toga, senzitivnost ovakve metode u otkrivanju BI je veća, a omogućava korišćenje podataka zaposlenima na različitim odeljenjima bolnice u slučaju premeštaja bolesnika sa jednog na drugo odeljenje. Ujedno se odmah formira i registar pacijenata sa BI, što omogućava njihovu pravovremenu identifikaciju u slučaju ponovne hospitali-

Skraćenice

BI	– bolničke infekcije
SZO	– Svetska zdravstvena organizacija

zacije [22,23]. Studije prevalencije se mogu ponavljati u kraćim ili dužim vremenskim intervalima. Ukoliko se studija uvek radi po istoj metodologiji, uzroci niže prevalencije mogu biti sledeći: lošije dijagnostikovanje BI (nisu svi podaci prikupljeni, nisu uvek korišćene iste definicije ili se nije strogo pridržavalo postojećih definicija BI); u trenutku izvođenja studije bili su hospitalizovani samo pacijenti sa lakšim osnovnim oboljenjem, tako da su imali manji rizik od nastanka BI; hospitalizacija je kratko trajala, te pacijenti sa BI nisu bili prisutni u bolnici u trenutku studije. Moguće je i da je visina prevalencije realno niža usled primenjenog nadzora i adekvatnih mera prevencije BI. Viša prevalencija u nekom periodu može se tumačiti na sledeći način: marljivije dijagnostikovanje BI (motivisano osoblje, striktno pridržavanje definicija BI); postojanje epidemije BI u trenutku izvođenja studije; hospitalizacija pacijenata sa težim osnovnim oboljenjima koja imaju veći rizik od nastanka BI; duže trajanje hospitalizacije; povećan obim rada osoblja usled nedostatka osoblja ili dolaska novog kadra ili realno viša prevalencija BI.

Studije prevalencije na nacionalnom nivou

Studiju prevalencije kao metod izbora za sprovođenje nadzora nad BI na nacionalnom i internacionalnom nivou predložila je SZO još 1981. godine, kada je pod njenim rukovodstvom izvedena studija prevalencije BI u 47 bolnica iz 14 zemalja [24]. Nacionalne studije prevalencije izvedene su u više evropskih zemalja, Kanadi i SAD [25-34]. U mnogim zemljama sprovedeno je više nacionalnih studija prevalencije BI. U Španiji, na primer, nacionalne studije se izvode svake godine [35]. Zapaženo je da se ponavljanjem studija prevalencije vrši motivisanje i edukacija osoblja iz oblasti bolničkih infekcija [36]. Pored toga, kroz ponovljene studije može se uočiti i tendencija BI na nacionalnom nivou. U Srbiji su do sada izvedene tri nacionalne studije prevalencije BI: prva, 1999. godine u kojoj je učestvovalo 27 bolnica [37]; druga, 2005. godine sa 56 bolnica [38] i treća, 2010. godine sa 61 bolnicom. U zemljama Evropske unije, formiran je zajednički program nadzora nad BI (HELICS – *Hospitals in Europe Link for Infection Control through Surveillance*) u okviru koga se jedinstvenom metodologijom izvode studije prevalencije u zemljama članicama [39].

Podaci o bolničkim infekcijama prikupljeni putem studija prevalencije

Kako neki hospitalizovan pacijent može imati jednu, ali i više BI u trenutku izvođenja studije prevalencije, mogu se izračunati dva pokazatelja BI: prevalencija pacijenata sa bar jednom BI i prevalencija svih BI. Izračunavanje ovih pokazatelja predstavljeno je sledećim formulama:

$$\frac{\text{Prevalencija pacijenata sa BI} - \text{Broj pacijenata sa bar jednom BI u vreme izvođenja studije}}{\text{Ukupan broj pacijenata hospitalizovanih u vreme izvođenja studije}} \times 100$$

$$\frac{\text{Prevalencija BI} - \text{Broj svih BI u vreme izvođenja studije}}{\text{Ukupan broj pacijenata hospitalizovanih u vreme izvođenja studije}} \times 100$$

Uz prevalenciju pacijenata sa BI vrlo često se prikazuje i interval poverenja (IP) (engl. *Confidence Interval – CI*) koji govori da ukoliko bi ponovo uradili istu studiju može se, uz verovatnoću od 95% ili 99% (u zavisnosti za koji nivo verovatnoće se odluči onaj koji izvodi studiju), dobiti rezultat koji će se nalaziti u okviru izračunatih granica poverenja. Izračunavanje IP je predstavljeno sledećom formulom:

$$95\%IP = p_0 \pm z_{\alpha/2} (p_0 q_0 / N)^{1/2}$$

$$z_{\alpha/2} = 1,96$$

$$q_0 = 1 - p_0$$

Prevalencija BI može biti identična ili viša od prevalencije pacijenata sa bar jednom BI. Na osnovu objavljenih rezultata nacionalnih studija od 1995. do 2010. godine u evropskim zemljama, visina prevalencije BI iznosila je od 3,5% do 12% [40]. Prema sistematskom pregledu literature i meta analizi dostupnih podataka, u nerazvijenim zemljama prevalencija je viša, odnosno iznosi u proseku 15,5% (95% CI 12,6 - 18,9) [41].

Prema rezultatima studija prevalencije, zapaženo je da su infekcije mokraćnog sistema najčešće lokalizacije BI u razvijenim zemljama, dok su u manje razvijenim zemljama, ili zemljama koje su tek nedavno uspostavile nadzor nad BI, najčešće infekcije operativnog mesta. Tako su u prvoj nacionalnoj studiji u Srbiji najčešće bile infekcije operativnog mesta [37], dok su u drugoj i trećoj studiji najčešće infekcije mokraćnog sistema [38]. Kod infekcija operativnog mesta, posebno čistog ili čisto-kontaminiranog, mogu se uspešno primeniti mere prevencije, što je dovelo do smanjenja njihove učestalosti. Najvažniji faktor rizika od nastanka infekcija mokraćnog sistema je urinarni kateter. Kod pacijenata sa plasiranim kateterom rizik od nastanka BI nakon nedelju dana nošenja katetera raste geometrijskom progresijom, a smatra se da nakon mesec dana svi pacijenti sa kateterom imaju infekciju, te su tada mogućnosti prevencije vrlo ograničene [13].

Kroz studije prevalencije se može sagledati i zastupljenost prouzrokovala BI na svakom odeljenju jedne bolnice [42] ili na nacionalnom nivou. Prema podacima i iz razvijenih i iz nerazvijenih zemalja, Gram-negativni bacili su najčešći prouzrokovali BI. Pored njih, od Gram-pozitivnih prouzrokovala, najznačajniji je *Staphylococcus aureus* [43], čiji porast rezistencije predstavlja ozbiljan terapijski problem.

Značaj studija prevalencije bolničkih infekcija

Na osnovu rezultata studija prevalencije mogu se odrediti prioriteti u prevenciji i suzbijanju bolničkih infekcija na odeljenju, bolnici ili na nacionalnom nivou. U bolnici se može sagledati koja su odeljenja sa najvišom prevalencijom i gde najpre treba organizovati kontinuirani nadzor. Pored toga, mogu se sagledati najčešće lokalizacije BI i u odnosu na to definisati mere prevencije za svaku određenu lokalizaciju, na

primer za infekcije operativnog mesta, infekcije krvi, infekcije mokraćnog sistema i dr. Često izvođenje studija prevalencije povećava budnost svih zdravstvenih radnika u pogledu sprečavanja BI. Pred izvođenje studije prevalencije obično se vrši i obuka osoblja, što doprinosi povećanju nivoa znanja zaposlenih iz ove oblasti. Pored svega navedenog, treba istaći da su studije prevalencije lake za izvođenje i relativno su jeftine.

Kako nadzor nad bolničkim infekcijama predstavlja esencijalni način za njihovo smanjenje, a takođe i prvi i najvažniji korak u identifikaciji problema i prioriteta u zdravstvenoj ustanovi iz ove oblasti, pored studija incidencije, preporučuje se izvođenje i studije prevalencije, zbog svih navedenih karakteristika [40].

Literatura

1. World Health Organization. The burden of health care-associated infection worldwide. Available from: http://www.who.int/gpsc/country_work/burden_hcai/en/index.html
2. Classen D, Resar R, Griffin F, Federico F, Frankel T, Kimmel N et al. 'Global Trigger Tool' shows that adverse events in hospitals may be ten times greater than previously measured. *Health Affairs* 2011;3(4):581-9.
3. Horan T, Gaynes R. Surveillance of nosocomial infections. In: Wenzel RP, editor. *Hospital Epidemiology and Infection Control*. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2004. p. 1659-702.
4. WHO. Prevention of hospital-acquired infections: a practical guide. 2nd ed. Geneva: WHO; 2002.
5. Marković-Denić L, Šuljagić V. Nadzor nad bolničkim infekcijama. *Vojnosanit Pregl* 2006;63(8):749-53.
6. Suljagic V, Cobeljic M, Janković S, Mirovic V, Markovic-Denic L, Romić P, et al. Nosocomial bloodstream infections in ICU and non-ICU patients. *Am J Infect Control* 2005;33(6):333-40.
7. Lilly CM, Cody S, Zhao H, Landry K, Baker SP, Mc Ilwaine J, et al. Hospital mortality, length of stay, and preventable complications among critically ill patients before and after tele-ICU reengineering of critical care processes. *JAMA* 2011;305(21):2175-83.
8. Marković-Denić L, Mihajlović B, Čemerlić-Adić N, Nićin S, Pavlović K, Golubović M. Incidencija infekcija operativnog mesta posle operacija na otvorenom srcu. *Acta Chir Iugosl* 2010;57(2):45-8.
9. Wilson J, Ramboer I, Suetens C. HELICS-SSI working group. Hospitals in Europe link for infection control through surveillance (HELICS). Inter-country comparison of rates of surgical site infection-opportunities and limitations. *J Hosp Infect* 2007;65(Suppl 2):165-70.
10. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vital signs: central line-associated blood stream infections-United States, 2001, 2008, and 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2011;60(8):243-8.
11. Matthew F. The harder you look, the more you find: catheter-associated bloodstream infection surveillance variability. *Am J Infect Control* 2010;38(8):585-95.
12. Magret M, Amaya-Villar R, Garnacho J, Lisboa T, Díaz E, Dewaele J, et al. Ventilator-associated pneumonia in trauma patients is associated with lower mortality: results from EU-VAP study. *J Trauma* 2010;69(4):849-54.
13. Markovic-Denic L, Mijovic B, Jankovic S. Risk factors for hospital-acquired urinary tract infection: a case-control study. *Int Urol Nephrol* 2011;43(2):303-8.
14. Ilić M, Marković-Denić L, Canović D, Stefanović S, Tepić K. Infekcije operativnog mesta na Hirurškoj klinici Kliničko-bolničkog centra u Kragujevcu *Med Pregl* 2004;57(7-8):369-73.
15. Sudarmono P, Viwing V. Hospital acquired bacterial infection in Burns Unitat Cipto Mangunkusumo Hospital, Jakarta. *Microbiol Indones* 2007;1(1):23-6.
16. Javed M. Neonatal dermatology at tertiary care teaching hospital. *East J Med* 2010;15:90-2.
17. Harrison G, Jacques T Kilborn G, McLaws ML. The prevalence of recordings of the signs of critical conditions and emergency responses in hospital wards: the SOCCER study. *Resuscitation* 2005;65:149-57.
18. Andersen BM, Rasch M, Hochlin K, Tori Tollefsen K, Leiv Sandvik L. Hospital-acquired infections before and after healthcare reorganization in a tertiary University hospital in Norway. *Public Health (Oxf)* 2009;31(1):98-104.
19. Ilić M, Marković-Denić L. Nosocomial infections prevalence study in a Serbian university hospital. *Vojnosanit Pregl* 2009;66(11):868-75.
20. Ribas MR, Gontijo Filho P. Comparing hospital infections in the elderly versus younger adults: an experience in a Brazilian university hospital. *Brazil J Infect Dis* 2003;7(3):210-5.
21. Marković-Denić L, Čemerlić-Adić N, Mihajlović B, Pavlović K, Nićin S, Fabri M. Bolničke infekcije na kardiohirurgiji. *Med Pregl* 2010;63(11-12):851-4.
22. Leth RA, Møller JK. Surveillance of hospital-acquired infections based on electronic hospital registries. *J Hosp Infect* 2006;62:71-9.
23. Friedman C, Sturm LK, Chenoweth C. Electronic chart review as an aid to postdischarge surgical site surveillance: increased case finding. *Am J Infect Control* 2001;29:329-32.
24. Mayon-White RT, Ducel G, Kereselidze T, Tikomirov E. An international survey of the prevalence of hospital-acquired infection. *J Hosp Infect* 1988;11(Suppl A):43-8.
25. Eriksen HM, Iversen BG, Aavitsland P. Prevalence of nosocomial infections in hospitals in Norway, 2002 and 2003. *J Hosp Infect* 2005;60:40-5.
26. Floret N, Bailly P, Bertrand X, Claude B, Louis-Martinet C, Picard A, et al. Results from a four-year study on the prevalence of nosocomial infections in Franche-Comte: attempt to rank the risk of nosocomial infection. *J Hosp Infect* 2006;63:393-8.
27. Humphreys H, Newcombe RG, Enstone J, Smyth ET, McIlvenny G, Fitzpatrick F, et al. Four country healthcare associated infections prevalence survey 2006: risk factor analysis. *J Hosp Infect* 2008;69:249-57.
28. Kritsotakis EI, Dimitriadis I, Roubelaki M, Vounou E, Kontou M, Papakyriakou P, et al. Case-mix adjustment approach to benchmarking prevalence rates of nosocomial infection in hospitals in Cyprus and Greece. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29:685-92.
29. Lyytikäinen O, Kanerva M, Agthe N, Mottonen T, Ruutu P. Healthcare-associated infections in Finnish acute care hospitals: a national prevalence survey, 2005. *J Hosp Infect* 2008;69:288-94.

30. Sax H. Swiss-NOSO. Nationwide surveillance of nosocomial infections in Switzerland: methods and results of the Swiss Nosocomial Infection Prevalence Studies (SNIP) in 1999 and 2002. *Ther Umsch* 2004;61(3):197-203.

31. van der Kooij TH, Mannien J, Wille JC, van Benthem BH. Prevalence of nosocomial infections in the Netherlands, 2007-2008: results of the first four national studies. *J Hosp Infect* 2010;75(3):168-72.

32. Gordts B, Vrijens F, Hulstaert F, Devriese S, Van de Sande S. The 2007 Belgian national prevalence survey for hospital-acquired infections. *Hosp Infect* 2010;75(3):163-7.

33. Gravel D, Taylor G, Ogner M, Johnston L, Loeb M, Roth VR, et al. Point prevalence survey for healthcare-associated infections within Canadian adult-care hospitals. *J Hosp Infect* 2007;66:243-8.

34. Klevens RM, Edwards JR, Richards CL Jr, Horan TC, Gaynes RP, Pollock DA, et al. Estimating health care-associated infections and deaths in U.S. hospitals, 2002. *Public Health Rep* 2007;122(2):160-6.

35. Sánchez-Payá J, Bischofberger C, Lizan M, Lozano J, Muñoz Platón E, Navarro J, et al. Nosocomial infection surveillance and control: current situation in Spanish hospitals. *J Hosp Infect* 2009;72(1):50-6.

36. Gastmeier P, Sohr D, Rath A, Forster DH, Wischniewski N, Lacour M, et al. Repeated prevalence investigations on nosocomial infections for continuous surveillance. *J Hosp Infect* 2000;45:47-53.

37. Marković-Denić L, Drndarević D, Milić N. Studija prevalencije bolničkih infekcija u Srbiji. *Glas Inst Zašt Zdr Srb* 2000;74:37-80.

38. Marković-Denić L, Milić N, Knežević T. Druga nacionalna studija prevalencije bolničkih infekcija. *Glas Inst Javno Zdr Srb* 2007;79:5-85.

39. HELICS (Hospital in Europe Link for Infection Control through Surveillance). Prevalence surveys of nosocomial infections, 2004. Available from: <http://www.com/helics>.

40. World Health Organization. Report on the burden of endemic health care-associated infection worldwide: a systematic review of the literature. Geneva: WHO; 2011.

41. Allegranzi B, Nejad SB, Combescure C, Graafmans W, Attar H, Donaldson L, et al. Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries: systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2011;377(9761):228-41.

42. Mihajlović-Ukropina M, Medić D, Jelesić Z, Dautović R, Stefan-Mikić S, Sević S. Zastupljenost metilicilin-rezistentnih sojeva *Staphylococcus aureus* u kliničkim uzorcima bolnički lečenih pacijenata u toku 2007. godine. *Med Pregl* 2008;61(Suppl 1):27-30.

43. Kalauzov M, Medić D, Jovanović J, Mihajlović-Ukropina M, Stefan-Mikić S, Sević S. Rezistencija na antimikrobne lekove bakterija izolovanih iz hemokultura tokom 2007. godine. *Med Pregl* 2008;61(Suppl 1):21-6.

Rad je primljen 27. VI 2011.

Prihvaćen za štampu 27. VI 2011.

BIBLID.0025-8105:(2011):LXIV:7-10:353-356.

ORIGINALNI NAUČNI RADOVI ORIGINAL STUDIES

Clinical Centre of Vojvodina, Novi Sad
Phoniatics Ward, Department of Ear, Throat and Nose

Originalni naučni rad
Original study
UDK 616.22-089.168-085
DOI: 10.2298/MPNS1108357M

VOCAL THERAPY WITH LARYNX COMPRESSION AFTER PARTIAL LARYNGECTOMY

VOKALNA TERAPIJA POSLE PARCIJALNE LARINGEKTOMIJE PRIMENOM KOMPRESIJE LARINKSA

Gordana M. MUMOVIĆ

Summary – The aim of the study was to establish the effects of the vocal therapy by manual compression of the larynx on dysphonia due to a partial laryngectomy and compare them with the effects of the standard vocal therapy. The prospective study included 66 patients submitted to any partial laryngectomy type. The patients were randomly classified into two groups: Group I (33) receiving the standard vocal therapy, and Group II (33) submitted to larynx compression vocal therapy. The 6-week vocal treatment was performed. The treatment effects were evaluated by subjective and objective voice analysis methods. The subjective and objective acoustic voice analysis revealed a significant influence ($p < 0.05$) of either of the two vocal therapy modes on initial dysphonia. The larynx compression vocal therapy had better effects on the acoustic parameters: habitual fundamental frequency, mean fundamental frequency, standard deviation of fundamental frequency, maximal fundamental frequency, harmonics-to-noise ratio, and signal-to-noise ratio.

Key words: Voice Training; Laryngectomy; Dysphonia + rehabilitation; Voice Quality; Phonation; Speech Acoustics

Introduction

Partial laryngectomies belong to the group of open surgery techniques and preserving surgical procedures since their objective is to preserve swallowing, breathing and speaking functions without a permanent tracheostoma. The voice status and communication ability are important elements of the postoperative life quality. If the adequate communication is made impossible or impaired, as many as one fourth of the patients operated for laryngeal carcinoma develop a psycho-social distress of the depression type [1]. Only few studies have investigated the vocal techniques of voice rehabilitation after a partial laryngectomy [2]. The vocal therapy concept, aimed at contributing to good-quality phonation by vocal training, has been maturing in recent decades. As well as in other types of muscle training, the vocal training is aimed at increasing the strength and flexibility of muscles and improvement of their coordination. The investigations of the cricothyroid and thyroarytenoid muscle have confirmed the vocal training process results in the increased pitch and intensity range of the voice [3]. Dysphonia after partial laryngectomy may be treated by non-specific and specific vocal therapy modes [4]. It was as early as in 1910 when Gutzmann reported the vocal function improvement achieved by a manual (digital) compression applied on the cartilaginous larynx skeleton [5]. As a therapy technique, larynx compression was established by Seeman in 1919 [6]. Brodnitz described digital compressive tests: lateral manual compression, cricothyroid approximation, combination of lateral compression

and cricothyroid approximation, and anteroposterior compression, all improving dysphonia in insufficient glottis occlusion. Isshiki et al. applied manual compression tests in the course of the preoperative preparation for phonosurgery of the larynx skeleton [7]. Compression exerted on the thyroid and cricothyroid cartilage modifies the position, shape and tension of the vocal cords. The method is simple, non-invasive, requiring no instruments. The objective evaluation by aerodynamic tests, maximum phonation time (MPT), phonation quotient (PQ), and mean flow rate (MFR) significantly confirm beneficial effects of the manual compression on the glottis occlusion, as well as the objective acoustic analyses and the videostroboscopic finding. The lateral compression reduces the laryngeal gap and the amount of high-frequency noise components and improve breathy voice [7]. During phonation, the pressure sensitive receptors within the muscular spindles are activated, besides the others, sending the impulses about the position of the larynx in the neck, and the activities of the external laryngeal muscles [8]. In the therapy of the voice in organic laryngeal insufficiency, as well as in partial laryngectomy, Salimbeni, 1991 recommended the downward larynx compression, resulting in both dynamic tone lowering and better occlusion. In this way, the structures are brought into a better occlusion contact, producing a better proprioceptive sensitivity [9]. Samilan, 2002 reported the digital compression onto the cartilaginous frame of the larynx as the strategy in the laryngeal incompetence accompanying partial laryngectomy [10]. Mumovic 2004 applies this therapeutic method in the conservative treat-

Abbreviations

G	– grade
I	– instability
R	– roughness
B	– breathiness
A	– asthenicity
S	– strain
F0	– vocal fundamental frequency
Max F0	– maximal fundamental frequency
Min F0	– minimal fundamental frequency
Int min	– minimal intensity
Int max	– maximal intensity
HNR	– harmonics-to-noise ratio
SNR	– signal-to-noise ratio

ment of dysphonia in the recurrent nerve paresis and other types of insufficient glottis occlusion [11].

The aim of the investigation was to assess the effects of the laryngeal compression vocal therapy on dysphonia after the partial laryngectomy, and to compare them to the effects of the standard vocal therapy methods.

Material and Methods

The investigation included 66 male patients who had undergone any of the partial laryngectomy type. Seven types of surgery were performed: supraglottic laryngectomy, cordectomy, hemilaryngectomy, fronto-lateral laryngectomy, cricohyoepiglottopexy (CH-EP), near-total laryngectomy and supracricoid hemilaryngopharyngectomy (SCHLP). Each patient represented his self-control. The subjects were classified consecutively, as they had arrived. The investigation was carried out at the Department of Ear, Throat and Nose (ENT Department) of the Clinical Centre of Vojvodina, as a prospective study in the period from 2001 to 2008. The approval of the Ethical Committee of the Medical Faculty of Novi Sad as well as a written consent from each patient was provided. Group I (33) included the operated patients who received the standard vocal therapy, with the application of non-specific and specific vocal therapy regimens. The voice rehabilitation took six weeks at least, it was performed 2-3 times a week at the Phoniatrics Ward, and it also included a regular daily work at home. The vocal treatment was performed within six post surgical months. Group II (33) consisted of the operated patients who were submitted to

Table 1. Subjective acoustic analysis before and after vocal therapy
Tabela 1. Subjektivna akustička analiza glasa pre i posle vokalne terapije

	No compression/Bez kompresije			Compression/Sa kompresijom		
	Before TH	After TH	p	Before TH	After TH	p
	Pre TH	Posle TH		Pre TH	Posle TH	
G	2.66	1.98	p=0.000	2.65	2.06	p=0.000
I	1.85	1.23	p=0.000	1.97	1.35	p=0.000
R	2.23	1.70	p=0.000	2.32	1.74	p=0.000
B	2.53	1.75	p=0.000	2.67	1.80	p=0.000
A	1.92	1.11	p=0.000	2.30	1.16	p=0.000
S	2.55	1.84	p=0.000	2.67	2.06	p=0.000

the larynx compression vocal therapy. The compression onto the cartilaginous larynx skeleton was adjusted to each patient, selecting the compression direction producing the best phonation effects.

Methods of investigation included the following method:

1. The subjective acoustic voice analysis (by hearing perception). It was performed by applying the GI-RABS Scale [12]. The perceptual acoustic assessment was performed separately by a phoniatrician and a phonopedist in a sound-proof room. Phonation of all Serbian vowels was assessed, as well as a prolonged phonation of the vowel A and the selected phonetically balanced sentences and text. On the basis of the perceptual assessment, the following categories were defined: grade (G) - overall dysphonia grade, instability (I) - variability of the phonation quality, roughness (R) - harshness of the voice, breathiness (B) - pneumophonation, asthenicity (A) - weakness of the voice, and strain (S) - tension of the voice. Each parameter was assessed by both examiners independently, qualifying it by one of the four grades: 0 (no voice pathology), 1 (mild disorder), 2 (moderate disorder), and 3 (severe disorder). The assessment was in both examined groups performed at the beginning of vocal rehabilitation, then after six weeks of rehabilitation and six months after the surgery.

2. The objective acoustic voice analysis - The voice sample was provided in a sound-proof room, at usual peak 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 analysed by the computer system TIGER DRS, with a software version Dr Speech (4) Vocal Assessment, which made it possible to analyze the following parameters: habitual (most common) fundamental vocal frequency (FO) (Hz), mean fundamental vocal frequency (Mean FO), standard deviation (SD) FO, maximum (Max FO) and minimum fundamental vocal frequency (Min FO), maximum (Int max) and minimum phonation intensity (Int min) (dB), jitter % - the parameter suggesting a variable vibration frequency in short intervals, shimmer % - the parameter suggesting the amplitude variability in short intervals, harmonics-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 in the voice [4]. Due to the software possibilities of the computer system Dr Speech, three pathological types of the voice were identified: hoarse voice, harsh voice and breathy voice. Each type was assessed by four intensity scores: 0 - normal voice condition, 1 - mild deterioration, 2 - moderate deterioration, 3 - severe deterioration. In both groups, the computer voice analysis

Table 2. Values of numerical acoustic parameters before and after vocal therapy**Tabela 2.** Vrednosti numeričkih akustičkih parametara pre i posle vokalne terapije

Parametar Parameter	No compression (I) Bez kompresije (I)			Compression (II) Sa kompresijom (II)			I-II
	Before Pre	After Posle	p	After Posle	After Posle	p	
	Habitual F0	144.63		144.51	n.s.		
Mean F0	142.96	144.16	n.s.	154.44	133.53	0.008*	II
SD F0	5.37	3.44	n.s.	6.81	4.20	0.012*	II
Max F0	157.07	155.25	n.s.	168.78	149.52	0.039*	II
Min F0	128.45	131.91	n.s.	134.97	122.76	n.s.	
Int Max	78.76	78.97	n.s.	79.63	79.12	n.s.	
Int Min	75.08	76.29	n.s.	76.48	5.76	n.s.	
Jitter %	1.31	1.05	0.003*	2.08	1.55	0.001*	n.s.
Shimmer %	3.51	1.94	n.s.	3.01	2.44	n.s.	
HNR	12.83	13.78	n.s.	11.02	13.77	0.009*	II
NNE	-2.60	-3.24	0.035*	-1.58	-2.42	0.001*	n.s.
SNR	12.24	13.27	n.s.	10.65	12.62	0.032*	II

n.s. – no significance, * – significance

n.s. – nema signifikantne promene, * – signifikantna promena

was performed prior to the vocal therapy, 6 weeks after the therapy had been introduced, and six months after the surgery.

3. Statistical data processing - The data collected during the investigation were stored into the data base designed for that purpose. After the data had been loaded and checked, they were processed by the methods of descriptive and inferential statistics. The following parameters were calculated and presented: sample scope, arithmetical mean, median, range of values, standard deviation. The attributive features were presented by absolute and relative numbers, and the comparison of these data for both groups of patients was done by the chi square homogeneity test. The mean values for numerical features with normal distribution before and after the treatment were compared by the t test for matched samples, i.e. by Wilcoxon's test for the features measured by the ordinal scale. The numerical feature differences between the two examined groups were tested by the t test for independent samples, i.e. by Mann-Whitney's test for the features lacking a normal distribution. To compare the numerical feature values between the groups of patients, the mono-factorial variance analysis was applied, i.e. Kruskal-Wallis test, depending on the type of the data. The statistical data processing was performed by the program SPSS 14 for Windows.

Results

Table 1 presents variations of the patients' GIRBAS scale scores. The Wilcoxon test shows that all GIRBAS scale parameters are improved after the vocal therapy in both examined groups, without significant difference between them. By applying the non-parametric Wilcoxon's test for matched samples, a significant difference was detected in the scores of the objective parameters of hoarse, harsh and breathy

voice before and after the treatment in both examined groups ($p < 0.05$). No significant change of these values was recorded in either of the groups six months later, that suggesting that both groups had achieved a stable treatment effect. Using the non-parametric Mann-Whitney test, no significant treatment efficacy difference was recorded between the examined groups. **Table 2** shows the relevance of the treatment effects in the groups treated with or without compression using the Wilcoxon test for matched samples. It can be seen that the values of the parameters habitual FO, mean FO, SD FO, max FO, HNR and SNR were significantly improved approaching normal ones in the group treated by compression, but not in the group receiving the treatment without compression. Therefore, the voice therapy with larynx compression significantly contributes to the peak of the speech voice to approach the normal levels and considerably reduces the presence of noise components in the voice. For the parameters jitter % and normalised noise energy, the treatment proved effective in both groups, but further testing (Mann-Whitney test) revealed no difference between the groups. No difference was found in either of the examined groups between the parameters assessed after the treatment and six months after the surgery.

Discussion

Several authors apply the subjective (perceptual) voice analysis (GRBAS scale) in partial laryngectomy [13-15]. In our investigation, we have also used the parameter I (instability), which indicates variability of the vocal features during the continual speech and it may be recorded in postoperative dysphonia, probably due to the presence of both the old and the new phonation mechanisms. The obtained results suggest that both vocal therapy modes improve significantly all subjectively assessed elements of hoarseness, with a stable maintenance of the achieved effects. In our investigation, the subjective analysis revealed no differences between the two treatment modes. The objective assessment of the voice types as hoarse, harsh or breathy confirms the finding of the subjective perceptual voice analysis, revealing no differences between the two treatment modes. A scale with more gradation levels would probably reveal some differences between the therapeutic groups. Our analysis of the objective numerical acoustic parameters has revealed differences between the standard vocal therapy and the treatment with larynx compression. In all types of partial laryngectomies, except in subtotal laryngectomy (CHP and CHEP), an increased F0 was recorded, which is in correlation with other authors' findings [16,17]. The increased frequency may be explained by increased rigidity of the scar structures diverse in intensity, a shortened vibration segment, reduced mass of the voice generator and increased subglottic pressure [18]. The scar lesions stop the mucosal wave. The adductor muscles may have an elevated tonus. The objective acoustic evaluation of the vocal thera-

py effects has revealed significantly reduced habitual F0 values, approaching the normal ones only in the group receiving the vocal treatment with larynx compression. Salombeni [9] also reported that the larynx compression resulted in a better occlusion and dynamic reduction of F0. On the other hand, our results are opposed to Bron's opinion stating that the voice peak is conditioned by anatomic changes and cannot be altered by the vocal therapy [13]. The Max F0 values decreased after the vocal therapy only in the group with larynx compression, while the Min F0 values remained unchanged in both groups, suggesting that it was probably the lowest possible frequency of the habitual phonation. Intensity alterations are due to impaired occlusion, reduced muscle strength, altered subglottic pressure and reduced vibration amplitude [18]. Although the altered intensity values of the habitual phonation had been expected in our investigation, they were not significantly manifested. In addition, more detailed investigations of the effects of the vocal therapy on the voice intensity range after partial laryngectomy should be performed. The objective acoustic analysis has shown that the vocal therapy affects the jitter and shimmer parameters. Disorders of these parameters may be expected in insufficient glottis occlusion, irregular glottis edges, neural disorders and excessive lesions of the voice generator [18]. All these disorders are recorded in partial laryngectomy. The jitter % parameter has significantly approached normal values after either of the treatment modes, but when these were mutually correlated, no significant difference was recorded. Variability of the vibration amplitudes (shimmer %) did not significantly change

in either of the groups after the vocal treatment. Pneu- mophonia or noise components of the voice in partial laryngectomy may be of glottic and supraglottic origin. In the first case, it is the result of the turbulent air flow due to insufficient occlusion, and in the second case it is the result of the supraglottic constriction, which is probably a compensatory mechanism providing protection of the larynx from aspiration, i.e. enabling swallowing. Our investigation showed reduced noise components of the voice in both examined groups. However, the analysis of HNR and SNR parameters has revealed that the ratio between harmonic and noise components change in favour of the harmonic ones only after the vocal treatment with compression. It is possible that this vocal therapy mode has positive effects on reducing the noise of supraglottic origin, i.e. on improving the supraglottic resonant function. This vocal therapy mode could improve functional results of partial laryngectomy [19].

Conclusion

Postoperative vocal results and vocal therapy results in partial laryngectomy cannot be entirely predicted. The subjective (perceptual) and objective (computer) acoustic analyses of the voice have revealed significant effects of the vocal therapy on all pathological types of the voice after partial laryngectomy, gaining positive effects maintained over the next 6-month period at least. The objective numerical acoustic parameters have shown that the voice rehabilitation with compression of the larynx is more effective than the vocal treatment without larynx compression.

References

1. Davies L, Welch G. Epidemiology of head and neck cancer in the United States. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;135:451-7.
2. Rubin SJ, Satalof TR, Korovin SG, Gould JW. *Diagnosis and treatment of voice disorders*. New York, Tokio: Igaku-Shoin Medical Publishers; 1995.
3. Saxon GK, Schneider MC. *Vocal exercise physiology*. San Diego: Singular Publishing Group; 1995.
4. Traissac L. *Rehabilitation de la voix et de la deglutition apres chirurgie partielle ou totale du larynx*. Paris: Arnette; 1992.
5. Blaugrund MS, Taira T, Dren EA, Lin P, Ishiki N, Gould JW. Effects of lateral manual compression upon glottic incompetence: objective evaluations. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1990;99:249-55.
6. Mitrović S, Mumović G, Jović R, Kljajić V. Unilateralne pareze larinksa. *Med Pregl* 2003;56(1-2):59-62.
7. Brodnitz SF. The pressure test in mutational voice disturbances. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1958;67(1):235-40.
8. Gozaine CT, Clark FK. Function of laryngeal mechanoreceptors during vocalization. *Laryngoscope* 2005;115:81-8.
9. Salimbeni C, Alajmo E. The tone-dynamic method in the treatment of glottal insufficiency. *Folia Phoniatr* 1991;43:144-6.
10. Samlan AR, Webster TK. Swallowing and speech therapy after definitive treatment for laryngeal cancer. *Otolaryngol Clin North Am* 2002;35:1115-33.
11. Mumović MG. Konzervativni tretman disfonija. *Novi Sad: Medicinski fakultet*; 2004.
12. Dejonckere HP. Perceptual evaluation of pathological voice quality: reliability and correlations with objective measurements. *International symposium: Care of the professional voice and phonosurgery*; Sep 25-27, 1997. Athens: Singular Publishing Group; 1997. p. 131-5.
13. Bron L, Pashe P, Brosard E, Monnier P, Schweizer V. Functional analysis after supracricoid partial laryngectomy with cricothyroidopiglottopey. *Laryngoscope* 2002;112:1289-93.
14. Peretti G, Piazza C, Balzanelli C, Cantarella G, Nicolai P. Vocal outcome after endoscopic cordectomies for Tis and T1 glottic carcinomas. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003;112:174-9.
15. Mamede MCR, Riez AMH, Riez ANL, De Mello-Filho VF. Vestibular fold flap for post-cordectomy laryngeal reconstruction. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;132(3):478-83.
16. Biacabe B, Crevier-Buchman L, Hans S, Laccourreye O, Brasnu D. Vocal function after vertical partial laryngectomy with glottic reconstruction by false vocal fold flap: durational and frequency measures. *Laryngoscope* 1999;109:698-704.
17. Kim CH, Lim CZ, Kim K, Kim YH, Choi SH, Kim MK, et al. Vocal analysis after vertical partial laryngectomy. *Yonsei Med J* 2003;44(6):1034-9.
18. Hirano M, Bless MD. *Videostroboscopic examination of the larynx*. San Diego, California. Singular Publishing Group; 1993.
19. Mostafa BE, Youssef AM. Conservation surgery for early laryngeal carcinoma. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 2010;72(4):220-4.

Sažetak

Cilj istraživanja

Cilj istraživanja bio je utvrđivanje efekata vokalne terapije sa manuelnom kompresijom larinksa na disfoniju posle parcijalne laringektomije i upoređivanje sa standardnom vokalnom terapijom.

Ispitanici i metode

Prospektivnim ispitivanjem obuhvaćeno je 66 ispitanika muškog pola kod kojih je urađena neka od parcijalnih laringektomija. Bilo je zastupljeno 7 tipova operacija: supraglotična laringektomija, hordektomija, hemilaringektomija, frontolateralna laringektomija, krikohioidoepiglotopeksija, near-total laringektomija i suprakrikoidna hemilaringofaringektomija. Ispitivanje je sprovedeno u periodu 2001-2008. godine na Klinici za bolesti uva, grla i nosa Kliničkog centra Vojvodine. Ispitanici su slučajnim izborom podeljeni u 2 grupe: prva grupa (33), u kojoj je sprovedena standardna vokalna terapija specifičnim i nespecifičnim metodama, i druga grupa (33) kod koje je sprovedena vokalna terapija sa kompresijom larinksa. Vokalni tretman je trajao 6 nedelja unutar 6 postoperativnih meseci. Efekat tretmana je praćen subjektivnim i objektivnim metodama analize glasa.

Cljučne reči: *Vežbe glasa; Laringektomija; Disfonija + rehabilitacija; Kvalitet glasa; Fonacija; Akustika govora*

Rad je primljen 23. VIII 2010.

Prihvaćen za štampu 5. X 2010.

BIBLID.0025-8105:(2011):LXIV:7-8:357-361.

Rezultati istraživanja

Subjektivna (perceptualna) analiza i objektivna (kompjuterska) akustička analiza glasa pokazala je signifikantan uticaj ($p < 0,05$) oba tipa vokalne terapije u odnosu na početno stanje disfonije. Oba tipa vokalne terapije imaju stabilan terapijski efekat na glas koji se zadržava najmanje 6 meseci. Vokalna terapija sa kompresijom larinksa je imala prednost u pogledu akustičkih parametara: habitualna osnovna vokalna frekvencija, srednja vrednost osnovne vokalne frekvencije, standardna devijacija vokalne osnovne frekvencije, maksimalna vrednost osnovne vokalne frekvencije, odnos harmonijskih i šumnih komponenti glasa i odnos ukupnog zvučnog signala i šuma u glasu.

Zaključak

Postoperativni vokalni rezultati posle parcijalne laringektomije nisu u potpunosti predvidivi. Subjektivna i objektivna ispitivanja pokazala su koristan i stabilan efekat vokalne terapije na disfoniju posle parcijalne laringektomije. Individualno prilagođena vokalna terapija sa manualnom kompresijom na ostatak larinksa je u tome uspešnija jer koriguje visinu glasa i odnos šumnih i harmonijskih komponenti glasa.

Klinički centar Crne Gore Podgorica
 Institut za bolesti dece
 Centar za neonatologiju

Originalni naučni rad
Original study
 UDK 616.24-036.1-07-053.31
 DOI: 10.2298/MPNS1108362B

VREDNOSTI CITOKINA U SERUMU KOD HRONIČNE PLUĆNE BOLESTI NOVOROĐENČETA

THE VALUES OF SERUM CYTOKINES IN CHRONIC LUNG DISEASE IN NEWBORN

Lidija BANJAC

Sažetak – Hronična plućna bolest novorođenčeta je komplikacija mehaničke ventilacije. Dijagnoza se postavlja kod dece koja imaju više od 36 postkonceptijskih nedelja, imaju potrebe za dodatnim kiseonikom i abnormalne promene na radiografiji pluća. Cilj studije je trijaža novorođenčadi pod rizikom od nastanka bolesti. Radna hipoteza studije je da su vrednosti insulinu sličnog faktora rasta – tip 1, ispod 30 µg/l u 33. postkonceptijskoj nedelji povezane s pojavom hronične plućne bolesti. Verifikacija hipoteze ostvarena je kohorntnom, prospektivnom studijom. Učesnici studije su pretermimska novorođenčad gestacione starosti 33 nedelje ili kraće. Vrednost insulinu sličnog faktora rasta – tip 1 određivana je *enzyme immuno assay* metodom. Nismo našli povezanost serumskog insulinu sličnog faktora rasta – tip 1 i hronične plućne bolesti. Objašnjenje rezultata je da insulinu sličan faktor rasta ima drugačiju ulogu u različitim fazama bolesti. Smatramo da korekcijom termina za određivanje nivoa možemo dobiti povezanost niskih vrednosti insulinu sličnog faktora rasta – tip 1 i hronične plućne bolesti.

Gljučne reči: Citokini; Novorođenče; Prematurus; Insulinu sličan faktor rasta, tip 1; Enzimski imunološki test; Oboljenja novorođenčeta; Plućna bolest; Mehanička ventilacija + neželjeni efekti; Trijaža

Uvod

Preterminsko novorođenče ili prematurus je svako novorođenče rođeno pre punih 37 nedelja definicija je Svetske zdravstvene organizacije (SZO) iz 1961. godine. Zbog teškoća prilagođavanja na ekstrauterini život, potrebe za posebnom negom, zbog specifičnog morbiditeta i u odnosu na prognozu, pretermimska novorođenčad spadaju u grupu „ugrožene novorođenčadi”. Incidencija rađanja pretermimske novorođenčadi varira zavisno od područja i kreće se između 5 i 10% novorođene dece [1]. Za područje Crne Gore taj procenat, u poslednjih nekoliko godina, iznosi 4,5-6% [2].

Pretermimska novorođenčad i novorođenčad sa intrauterusnim zastojem rasta imaju veliki udeo u ukupnom perinatalnom morbiditetu i mortalitetu. Stoga su razumljivi napori da se spreči prevremeni porodaj, a već rođenoj preterminskoj novorođenčadi osiguraju optimalni uslovi koji će smanjiti delovanje faktora rizika od nastanka bolesti prematuriteta, pre svega prematurne retinopatije (ROP), hronične plućne bolesti prematuriteta (HPBN/CLD) i intrakranijalne hemoragije (ICH) [3].

Hronična plućna bolest novorođenčeta najčešća je i najteža komplikacija oksigenoterapije i mehaničke ventilacije [4]. Dijagnoza hronične plućne bolesti se postavlja kod dece koja imaju više od 36 postkonceptijskih nedelja (ili su starija od 28 dana) a i dalje imaju potrebe za dodatnim kiseonikom, a uz to imaju i abnormalne promene na radiografiji pluća.

Etiologija HPBN je složena i svi se etiološki faktori mogu podeliti u tri grupe: koji dovode do oštećenja pluća, predisponirajući faktori i faktori koji pomažu razvoj HPBN [4]. Hronična plućna bolest

novorođenčeta se manifestuje u četiri oblika: bronhopulmonalna displazija (BPD), sindrom respiratorne insuficijencije (RIS), hronična plućna insuficijencija prematuriteta (CPIP) i Wilson–Mikity sindrom. Bronhopulmonalna displazija je najčešći oblik hronične plućne bolesti, pa se često koristi i kao sinonim za HPBN [5].

Bronhopulmonalna displazija prvi put je opisana 1966. godine (Northway i saradnici) kod dece koja su imala bolest hijalinih membrana (nekadašnji naziv za respiratorni distes sindrom (RDS), a bila su lečena kiseonikom i nalazila su se na mehaničkoj ventilaciji. Ovaj hronični poremećaj je direktno povezan sa stanjeem zbog kojeg je terapija i primenjena [5].

Učestalost BPD se kreće 5-25% kod dece na mehaničkoj ventilaciji. Kod novorođenčadi sa telesnom masom manjom od 1000 gr kreće se do 50% [5].

Insulinu sličan faktor rasta tip 1 (IGF-1), raniji naziv somatomedin je polipeptid, koji je u serumu u visokom procentu vezan za binding proteine. Stvara se u toku čitavog života i dok ga u organizmu odraslih sintetiše jetra i u manjoj meri druga tkiva, fetalni IGF-1 sintetiše u najvećoj meri placenta. Posle prevremenog porođaja naglo pada vrednost IGF-1, zbog prekida sa izvorom koji je u placenti, ali nastavkom maturacije organa i organskih sistema, ponovo raste njegov nivo u serumu.

IGF-1 je bitan u fiziologiji i patofiziologiji ljudskog organizma. Od patofizioloških procesa učestvuje u patogenezi ROP, HPBN, ICH, nekrotičnog enterokolitisa (NEC), dijabetesa, ateroskleroze, osteoporoze i karcinoma.

Vrednosti IGF-1 u krvi odraslih kreću se 10-1000 µg/l. Interpretacija vrednosti IGF-1 kod odraslih je

Skraćenice

BPD	– bronhopulmonalna displazija
CLD	– hronična plućna bolest
IGF	– insulinu sličan faktor rasta
ICH	– intrakranijalna hemoragija
HPBN	– hronična plućna bolest novorođenčeta
NEC	– nekrotični enterokolitis
PAPP-A	– pregnancy-associated plasma protein-a
PTM	– porođajna telesna masa
RDS	– respiratorni distres sindrom
RIS	– sindrom respiratorne insuficijencije
ROP	– retinopatija prematuriteta

komplikovana, zbog širokog raspona normalnih vrednosti, koji varira zavisno od uzrasta, pola i pubertetskog statusa. Smatra se da su pretermimska novorođenčad sa koncentracijom IGF-1 ispod 33 µg/l u prolongiranom periodu pod velikim rizikom za kasniji razvoj bolesti prematuriteta.

U poslednje vreme, objavljen je veći broj radova o udruženosti niskih nivoa IGF-1 i visokog rizika od pojave bolesti prematuriteta, kao i udruženost niskih nivoa IGF-1 i kardiovaskularnih bolesti, karcinoma, dijabetesa tip 2, osteoporoze. Niske vrednosti IGF-a dovode se u vezu i sa usporenim postnatalnim rastom i razvojem [1].

Bolje poznavanje patogeneze bolesti prematuriteta olakšalo bi predikciju, prevenciju i terapiju bolesti prematuriteta.

Predmet kojim se ova studija bavi jeste utvrđivanje povezanosti vrednosti serumskog nivoa insulinu sličnog faktora rasta tip I (*Insulin like growth factor I*) i pojave hronične plućne bolesti novorođenčeta.

Radna hipoteza ove studije jeste da su vrednosti IGF-1 ispod 30 µg/l u 33. postkonceptijskoj nedelji povezane sa kasnijom pojavom hronične plućne bolesti prematuriteta.

Cilj istraživanja je iznalaženje mogućnosti rane trijaže novorođenčadi sa visokim rizikom od nastanka bolesti prematuriteta uopšte, a posebno hronične plućne bolesti.

Verifikacija hipoteze ostvarena je primenom kohortne, longitudinalne, prospektivne, randomizirane studije u kojoj je primenjen i „slepi dizajn”.

Materijal i metode

Studija je dizajnirana po tipu kohortne, prospektivne, longitudinalne, randomizirane studije, uz poštovanje principa „slepeg dizajna”.

Etički komitet Kliničkog centra Crne Gore u Podgorici odobrio je izradu ove studije (Saglasnost br. 03/01-3813/4) u skladu sa standardnom procedurom za rad Etičkog komiteta Kliničkog centra Crne Gore.

Učesnici studije su pretermimska novorođenčad (74 novorođenčeta) gestacione starosti 33 nedelje ili kraće (≤ 33 nedelje), koja su bila hospitalizovana u Centru za neonatologiju, Instituta za bolesti dece, Kliničkog centra Crne Gore, počev od aprila 2008. godine do jula 2009. godine. U studiju nisu uključivani novorođenčad sa upadljivim kongenitalnim anomalijama.

Formirana je baza podataka sa demografskim podacima, podacima iz anamneze trudnoće i porođaja, antropometrijskim merama na rođenju, dužinom gestacije, podacima iz kliničkog praćenja novorođenčeta – dijagnoza hronične plućne bolesti prematuriteta. Baza podataka je kasnije dopunjena i vrednostima serumskog IGF-1.

Uzorak krvi za određivanje IGF-1 ispitanicima je uziman u 33. postkonceptijskoj nedelji, postnatalno. Serum je zamrznut i čuvan u zamrzivaču (na temperaturi od -20 do -80° C) do kompletiranja serije uzoraka. Kvantitativna vrednost traženog biomarkera (IGF-1) u svim uzorcima rađena je istovremeno, pod istim uslovima, primenom imunohemijske ELISA (*enzyme linked immuno sorbent assay*) metode.

Evaluacija morbiditeta: Dijagnoza NBP je postavljena kod dece koja su imala više od 36 postkonceptijskih nedelja (ili su bila starija od 28 dana), a i dalje su imala potrebu za dodatnim kiseonikom, a uz to su imala i abnormalne promene na radiografiji pluća (tip 1 – mrljasta i homogena zasenčenja i tip 2 – grube, retikularne, prugaste i cistične promene). HPBN inače se manifestuje u četiri oblika, od kojih je najčešći BPD, pa je termin bronhopulmonalna displazija korišćen kao sinonim za NPBN.

Primarna kohorta (74 novorođenčeta), nakon dobijanja informacije o postojanju hronične plućne bolesti prematuriteta, podeljena je u dve grupe: novorođenčad sa hroničnom plućnom bolešću i novorođenčad bez hronične plućne bolesti.

Statistička obrada podataka podrazumevala je izračunavanje deskriptivnih mera, a potom primena statističkih testova i statističkih softverskih programa (NCSS, SPSS) za poređenje datih parametara u grupama. Statističkim testovima (T-test, F-test, Hi kvadrat test, Fišerov test tačne verovatnoće, ANOVA – analiza varijanse, Spirmanov neparametrijski korelacioni test, Pearsonov korelacioni test, regresiona analiza) tražena je potvrda radne hipoteze studije, statistička povezanost između niskih vrednosti serumskog IGF-1 i pojave hronične plućne bolesti.

Rezultati

Primarna studijska grupa imala je 74 pretermimska novorođenčeta. Kod 13 (17,57%) novorođenčadi u toku hospitalizacije postavljena je HPBN, dok je 61 novorođenče (82,43%) bilo bez znakova HPBN.

Polna struktura primarne grupe: 42 (56,8%) novorođenčeta muškog pola i 32 (43,2%) ženskog pola. Od muške novorođenčadi 6 (14,3%) novorođenčadi je obolelo od HPBN, dok je 36 (85,7%) bilo bez znakova bolesti. Od ženske novorođenčadi: kod 7 (21,9%) dijagnostikovana je HPBN, 25 (78,1%) nije pokazivalo znake HPBN. Primenom Pearsonovog Hi kvadrat testa, dobili smo da je $p=0,39$ ($p>0,05$). Primenom drugih testova (*Continuity Correction* $p=0,58$ *Likelihood Ratio* $p=0,39$ *Fisher's Exact Test* $p=0,54$ *Linear-by-Linear Association* $p=0,39$), takođe smo dobili da je $p>0,05$, što znači da ne postoji statistički značajna povezanost između pola i pojave HPBN.

Novorođenčad sa HPBN imala su prosečno gestaciono doba na rođenju od 28,54 nedelje (SD 1,33; SE 0,37), dok je prosečna gestacija novorođenčadi bez HPBN bila 31,74 nedelja (SD 1,44; SE 0,18). Primenom T-testa za poređenje prosečnih vrednosti, dobili smo da je $p < 0,01$ što govori o statistički visoko značajnoj povezanosti između dužine gestacije i pojave HPBN.

Prosečna porođajna telesna masa (PTM) novorođenčadi sa HPBN iznosila je 1 271,54 g (SD 235,97; SE 65,44). Novorođenčad bez HPBN u proseku su bila teška na rođenju 1 789,18 g (SD 373,34; SE 47,80). Primenom T-testa dobili smo da je $p < 0,01$, što govori da je povezanost između PTM i HPBN bila statistički visoko značajna.

Od 23 (31,1%) novorođenčeta iz višestruke trudnoće kod jednog (4,3%) novorođenčeta se razvila HPBN, dok su 22 (95,7%) bila bez HPBN. Od novorođenčadi koja nisu iz višestruke trudnoće, od 51 (68,9%), kod 12 (23,5%), ispoljila se klinička slika HPBN, a kod 39 (76,5%) nije. Primenom Hi kvadrat testa dobili smo da je $p = 0,045$ ($p < 0,05$), što znači da je postojala statistički značajna povezanost između višestruke trudnoće i HPBN.

Od 74 novorođenčeta iz primarne grupe, 32 (43,2%) je rođeno carskim rezom, 42 (56,8%) prirodnim putem. Troje (9,4%) novorođenčadi rođenih carskim rezom obolelo je od HPBN, dok je 29 (90,6%) bilo bez bolesti. Kod novorođenčadi rođenih prirodnim putem, 10 (23,8%) je obolelo, 32 (76,2%) nije. U svim primenjenim statističkim testovima: Hi-kvadrat $p = 0,106$, Fisher's Exact Test $p = 0,132$, Likelihood Ratio $p = 0,096$, Linear-by-Linear Association $p = 0,108$, dobili smo da je $p > 0,05$, odnosno da nema statistički značajne povezanosti između načina porođaja i nastanka hronične plućne bolesti.

Za ispitivanje povezanosti ocene vitalnosti na rođenju, As (Apgar score) i HPBN korišćen je Levene's Test za ispitivanje jednakosti varijansi. Dobijena je vrednost za $p = 0,009$, što znači da je između ocene vitalnosti na rođenju i kasnije pojave HPBN postojala statistički visoko značajna povezanost.

Iz primarne grupe 28 (38,4%) novorođenčadi je po rođenju reanimirano. Kod 8 (28,6%) kasnije je postavljena dijagnoza HPBN, dok kod 20 (71,4%) nije. Četrdeset i petoro (61,6%) novorođenčadi iz primarne grupe nije reanimirano na rođenju. Iz te grupe samo se kod četvoro (8,9%) ispoljila klinička slika HPBN, 41 (91,1%) nije imalo znakove HPBN. Za jedno (1,35%) novorođenče nismo imali informaciju o reanimaciji na rođenju. Primenom statističkih testova dobijene su vrednosti: Pearson Chi-Square $p = 0,027$, Continuity Correction $p = 0,060$, Likelihood Ratio $p = 0,029$, Fisher's Exact Test $p = 0,048$, Linear-by-Linear Association $p = 0,028$. U svim primenjenim testovima dobili smo da je $p < 0,05$ što znači da postoji statistički značajna povezanost između reanimacije na rođenju i kasnije pojave HPBN.

Od 33 (44,6%) novorođenčeta iz primarne grupe, koja su u toku hospitalizacije bila na mehaničkoj ventilaciji, kod 13 (39,4%) se ispoljila klinička slika HPBN, a kod 20 (60,6%) nije. Nije ventilirano 41 (55,4%) u

toku hospitalizacije. Sva neventilirana novorođenčad su kasnije bili bez znakova HPBN. Svi primenjeni statistički testovi (Pearson Chi-Square, Continuity Correction, Likelihood Ratio, Fisher's Exact Test, Linear-by-Linear Association) pokazali su visoko značajnu povezanost između primene mehaničke ventilacije i pojave HPBN ($p < 0,01$).

Novorođenčad sa HPBN prosečno su ventilirana 63,29 dana, dok su novorođenčad bez HPBN ventilirana u proseku 31,14 dana. Primenom neparametrijskih testova za poređenje (Mann-Whitney, Wilcoxon W i Z testa) dobili smo da je $p < 0,01$, što govori o visoko značajnoj povezanosti između dužine mehaničke ventilacije i HPBN.

Kod novorođenčadi sa HPBN, prosečni serumski nivo IGF-1 u 33. postkonceptijskoj nedelji iznosio je 23,18 $\mu\text{g/l}$ (SD 4,53; SE 1,26), kod novorođenčadi bez HPBN 23,86 $\mu\text{g/l}$ (SD 6,06, SE 0,77). Primenom F-test za određivanje razlika među varijansama dobijena je vrednost za $p = 0,471$, a primenom T-testa za poređenje razlika između srednjih vrednosti $p = 0,70$. Nema statistički značajne razlike u varijansama i srednjim vrednostima serumskog nivoa IGF-a kod novorođenčadi sa i bez HPBN ($p > 0,05$).

Diskusija

U Centru za neonatologiju, Instituta za bolesti dece, Kliničkog centra Crne Gore mehanička ventilacija se primenjuje od 1988. godine.

U proseku svako deveto hospitalizovano novorođenče u toku lečenja zahteva primenu mehaničke ventilacije. Prevrtno rođena deca čine 60% od ukupnog broja ventilirane novorođenčadi. Ekstremno nezrela novorođenčad, sa gestacijom kraćom od 28 nedelja, čine petinu ventilirane novorođenčadi. Prosečna gestaciona starost ventilirane novorođenčadi iznosi 33,87 \pm 5,55 nedelja. Prosečna telesna masa ventilirane novorođenčadi je 2 150 \pm 966 g. Faktor mehaničke ventilacije za Centar za neonatologiju iznosi 0,1. Prosečna dužina ventiliranja u danima iznosi 9,18 dana. Broj dana na respiraciji, potrebnih za jedno preživljavanje iznosi 17,98 dana [6].

Hronična plućna bolest novorođenčeta najčešća je i najteža komplikacija oksigenoterapije i mehaničke ventilacije [4]. HPBN, odnosno njena najčešća forma, BPD značajna je i zbog visokog mortaliteta [7].

Dijagnoza HPBN se postavlja kod dece koja imaju više od 36 postkonceptijskih nedelja (ili su starija od 28 dana) a i dalje imaju potrebe za dodatnim kiseonikom, a uz to imaju i abnormalne promene na radiografiji pluća. Ovaj hronični poremećaj se nastavlja direktno na stanje zbog kojeg je terapija i primenjivana, a to je najčešće respiratorni distres sindrom [5].

Northway je 1966. godine prvi put opisao klasični oblik bronhopulmonalne displazije. Dijagnoza je bazirana na progresivnim radiografskim promenama kod preterminske novorođenčadi koja su zbog RDS duže vreme zahtevala primenu mehaničke ventilacije i oksigenoterapije. Bancalarijeva definicija (1979) sem podataka o asistiranoj ventilaciji i radiografskim abnormalnostima, podrazumeva i potrebu za kiseonikom

u uzrastu starijem od 28 dana uz kontinuirano prisutne respiratorne simptome. Shennan (1988) dopunjuje definiciju bronhopulmonalne displazije. Po dopunjenoj definiciji zavisnost od kiseonika treba da bude prisutna posle 36 postkonceptijskih nedelja (PCA), ili posle 28. dana života, da bi se definisala BPD.

Etiologija HPBN je složena i svi se etiološki faktori mogu podeliti u tri grupe:

Faktori koji dovode do oštećenja pluća (toksičnost kiseonika, barotrauma, hiperinflacija, plućni intersticijski emfizem, *ductus arteriosus persistens*, opterećenje tečnošću);

Predisponirajući faktori (genetska predispozicija, nezrelost, RDS);

Faktori koji pomažu razvoj HPBN (infekcija, defekt u sintezi surfaktanta, poremećaj sistema elastaza/proteinaza, gastrofagealni refluks, oštećenje plućnog tkiva lipidima, horioamionitis majke) [4,8].

Hronična plućna bolest novorođenčeta se manifestuje u četiri oblika: BPD, RIS, hronična plućna insuficijencija prematuriteta (CPIP), *Wilson-Mikity* sindrom.

U BPD patohistološke promene nastaju u disajnim putevima, intersticijumu i krvnim sudovima. U disajnim putevima dolazi do hipertrofije glatke muskulature i žlezda, skvamozne metaplazije epitela i posledičnog hroničnog obliterišućeg bronhiolitisa. U intersticijumu dolazi do fibroze i do zastoja u razvoju alveola. U krvnim sudovima dolazi do hipertrofije glatke muskulature, nagomilavanja fibroznog tkiva u adventiciji, hiperplazije endotela, redukcije gustine kapilara.

Radiografske promene kod BPD se javljaju u dva tipa:

I TIP – mrljasta i homogena zasenčenja (sa dobrom prognozom);

II TIP – grube, retikularne, prugaste i cistične promene (sa lošijom prognozom).

Učestalost BPD se kreće 5-25% kod dece na mehaničkoj ventilaciji. Kod novorođenčadi sa telesnom masom manjom od 1 000 g kreće se i do 50% [9].

Patogeneza HPBN je i dalje nejasna. Odnedavno se smatra da su za razvoj HPBN odgovorni pulmonalna inflamacija, odnosno nekoliko proinflamatorna i antiinflamatorna u mukusu. Smatra se da su oni mogući trigeri za razvoj pulmonalne fibroze, glavne karakteristike HPBN. Zsigurno se zna da kod plućne fibroze adultnih IGF-I igra značajnu ulogu kao jak profibrogeni medijator i stimulator sinteze kolagena.

Rezultati sudije italijanskih autora iz 2006. godine pokazuju da kod preterminske novorođenčadi, kod koje će se razviti ROP i BPD, u serumu su perzistentno niski nivoi IGF-I, u mukusu je povećana koncentracija *free* IGF-I, u plućnom parenhimu povećana koncentracija PAPP-A (*pregnancy-associated plasma protein-a*). PAPP-A je metaloproteinaza koja odvaja vezujući protein 3 od aktivne forme IGF-1 i odgovorna je za nastanak slobodnog IGF-1 (*free* IGF-1). U zaključku ove studije se navodi da se odnos između slobodnog IGF-1 i PAPP-A može koristiti kao marker oštećenja pluća kod pretermine novorođenčadi [9].

Insulinu sličan faktor rasta tip 1 je polipeptid koji u svom sastavu sadrži 70 aminokiselina u jednom lancu,

sa tri intramolekularna disulfidna mosta i molekularnom težinom od 7 649 Daltona. Približno 98% IGF-1 je uvek vezan za jedan od 6 vezujućih (*binding*) proteina, od kojih je najviše zastupljen IGFBP-3.

IGF-1 se stvara u toku čitavog života. Najveći stepen produkcije je u pubertetu, a najniže vrednosti su u ranom detinjstvu i u starijim godinama.

U organizmu odraslih IGF-1 sintetiše jetra (u najvećoj meri kao rezultat stimulacije hormonom rasta), u manjoj meri ga sintetišu druga tkiva. Produkcija je smanjena kod slabije ishrane, neosetljivosti na hormon rasta, nedostatka receptora za hormon rasta.

Fetalni IGF tip 1, čiji nivo raste u 2. i 3. trimestru, što je povezano sa razvojem fetalnih tkiva sintetiše u najvećoj meri placenta i njegove se vrednosti mogu meriti u amnionskoj tečnosti. Posle prevremenog porođaja naglo pada vrednost IGF tip 1, zbog prekida sa izvorom koji je u placenti i amnionskoj tečnosti, ali nastavkom maturacije organa i organskih sistema, ponovo raste njegov nivo u serumu. Kod preterminske novorođenčadi IGF-1 će se i dalje smanjivati u uslovima siromašne ishrane, acidoze, hipotiroksinemije i sepse [9, 10].

U serumu odraslih i dece, u krvi pupčanika, u amnionskoj tečnosti mogu se meriti vrednosti IGF-1, za razliku od faktora rasta endotelnih ćelija (VEGF) koji sintetišu astrociti retine i koncentracija je povećana samo u korpusu vitreumu.

Vrednosti IGF-1 u krvi odraslih se kreću 10-1 000 µg/l, ne fluktuiraju puno u toku dana. Nema podataka o prosečnim vrednostima IGF-a kod terminske i preterminske novorođenčadi.

Insulinu sličan faktor rasta tip 1 je bitan i u fiziologiji i u patofiziologiji ljudskog organizma. IGF-1 deluje na skoro svaku ćeliju u ljudskom organizmu, a posebno na mišićne ćelije, ćelije hrskavica, koštane ćelije, ćelije jetre, bubrega, nerava, kože i pluća.

Od fizioloških procesa učestvuje u sistemu koji služi ćelijskoj komunikaciji, bitan je i u ćelijskoj proliferaciji i ćelijskoj apoptozi. Odnedavno se zna da IGF-1 učestvuje u ćelijskoj signalizaciji koja predstavlja osnovni mehanizam u održavanju homeostaze u celini. IGF-1 je posrednik mnogih efekata hormona rasta. Za IGF-1 se kaže da je somatski faktor rasta koji korelira sa PTM i gestacionom starošću [11].

Od patofizioloških procesa učestvuje u patogenezi ROP, HPBN, NEC, ICH, dijabetesa, ateroskleroze, osteoporoze, karcinoma.

Najnovije studije povezuju i samo prevremeno rođenje sa niskim vrednostima angiogenih faktora i sa prekidom angiogeneze u svim organima fetusa. O povezanosti prematuriteta i IGF-1 govori i otkriće da se gen (*locus* 15q26.3) u fetalnom genomu koji je odgovoran za sklonost ka prevremenom rođenju nalazi u regionu koji sadrži IGF1R gen koji kodira sintezu receptora za IGF-1 [12,13].

Hronična plućna bolest novorođenčeta, pretermine retinopatije i nekrotični enterokolitis su bolesti koje su vezane za prematuritet, često se udruženo javljaju što govori o mogućem, sličnom patogenom mehanizmu. Rezultati najnovijih studija pokazuju da prolongirano

niske vrednosti IGF-1, predstavljaju značajan faktor rizika od nastanka bolesti prematuriteta, dok se rizik od pojave bolesti smanjuje sa porastom vrednosti IGF-1, što indirektno govori o ulozi IGF-1 u patogenezi bolesti [7,10,14].

IGF-1 se proizvodi rekombinantno u velikim količinama upotrebom kvasca i *E. coli*. Ozbiljne kompanije su ispitivale IGF-1 u kliničkim studijama za različite indikacije uključujući i poremećaj rasta, dijabetes tip 1 i tip 2, amiotrofičku lateralnu sklerozu, ozbiljne opekotine i miotoničku muskularnu distrofiju. Rezultati kliničkih studija procenjuju da je efikasnost IGF-1 u dijabetesu tip 1 i tip 2, za redukciju Hgb A1C jednako dobra kao i kod primene insulina.

Cilj naše studije je ispitivanje povezanosti niskih vrednosti serumskog IGF-1 i pojave hronične plućne bolesti novorođenčeta.

Rezultatima dobijenim u našoj studiji ne možemo potvrditi teoriju da se na osnovu vrednosti IGF-1 (u 33. postkonceptcijskoj nedelji) može predvideti pojava bolesti prematuriteta uopšte i posebno pojava hronične plućne bolesti novorođenčeta.

Zaključak

Rezultati naše studije potvrdili su povezanost kratke gestacije, male porođajne telesne mase, asfiksije na

rođenju, mehaničke ventilacije i incidencije hronične plućne bolesti novorođenčeta. Nismo dobili povezanost niskih vrednosti insulinu sličnog faktora rasta – tip 1 i pojave hronične plućne bolesti novorođenčeta.

Međutim, smatramo da ne treba odustati od ideje da se na osnovu vrednosti serumskog insulinu sličnog faktora rasta – tip 1 vrši predikcija bolesti prematuriteta. Moguće je da insulinu sličan faktor rasta – tip 1 u različitim fazama patogeneze bolesti prematuriteta, ima različitu ulogu, kao što je to slučaj u primeru preturne retinopatije. Zato smatramo da ćemo uz korekciju termina za određivanje nivoa insulinu sličnog faktora rasta – tip 1, dobiti statistički značajnu povezanost između niskih vrednosti insulinu sličnog faktora rasta – tip 1 i hronične plućne bolesti novorođenčeta. Na taj način bio bi dokazan značaj insulinu sličnog faktora rasta – tip 1 u patogenezi hronične plućne bolesti novorođenčeta i omogućili bismo predikcije bolesti prematuriteta na osnovu nivoa insulinu sličnog faktora rasta – tip 1.

U planu je izrada nacionalne studije o faktorima rizika za nastanak bolesti prematuriteta, posebno preturne retinopatije u Crnoj Gori. Izračunaćemo srednju vrednost serumskog insulinu sličnog faktora rasta – tip 1 kod pretermijske i terminske novorođenčadi u Crnoj Gori.

Literatura

1. Löfqvist Ch, Sigurdsson J, et al. Longitudinal postnatal weight and insulin-like growth factor I measurements in the prediction of retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol* 2006;124:1711-8.
2. Banjac L, Dragaš Lj. Prijem pretermijske novorođenčadi u Centar za neonatologiju. *Med Zapisi* 2009;(Suppl 1):136.
3. Mardesić D. Bronhopulmonalna displazija. U: Mardesić D, i sar. *Pedijatrija*. Zagreb: Školska knjiga; 2001. str. 339-40.
4. Ramadani R. Dijagnostičke i terapijske intervencije u neonatologiji. Beograd: CIP; 2001. str. 213-8.
5. Nestorović B. Bronhopulmonalna displazija. U: Nestorović B, i sar. *Pedijatrijska pulmologija*. NIP „Dečje Novine-Izdavačka delatnost d.o.o.”; 2001. str. 98-9.
6. Banjac L. Indikacija za započinjanje i njihov uticaj na tok i trajanje mehaničke ventilacije (subspecijalistički rad). Beograd: Univerzitet u Beogradu; 2003.
7. Capoluongo E, Concolino P, et al. Is there a relationship between ELF free-IGF-1 levels and fibrotic process enhancement characterizing CLD development in neutropenic premature babies. *Pediatr Pulmonol* 2006;41(3):286-7.
8. Višnjevac J, Novakov-Mikic A, Nikolic A, Višnjevac N. Lamellar body count in amniotic fluid for assessing fetal lung maturity *Med Pregl* 2010;63(9-10):595-600.
9. Ramadani R. Rane komplikacije u toku mehaničke ventilacije sa intermitentno pozitivnim pritiskom u prevremeno rođene dece (doktorska disertacija). Beograd: Medicinski fakultet; 1989. str. 22-47.
10. Hellström A, Engström E. Postnatal serum insulin-like growth factor I deficiency is associated with retinopathy of prematurity and other complications of premature birth. *Pediatrics* 2003;112(5):1016-20.
11. Villegas-Becerril E, González-Fernández R, et al. IGF-I, VEGF and bFGF as predictive factors for the onset of retinopathy of prematurity (ROP). *Arch Soc Esp Ophthalmol* 2006;81(11):641-6.
12. Haataja R. Mapping a new spontaneous preterm birth susceptibility gene, IGF1R using linkage, haplotype sharing, and association analysis [serial online] 2011 Available from: <http://www.plos-genetics.org/article/info%3Adoi%F10.1371%2Fjournal.pgen.1001293>
13. Sebgupta N. Paracrine modulation of CXCR4 by IGF-1 and VEGF: implications for chorioidal neovascularization [serial online] 2010 May. Available from: <http://www.iovs.org/content/51/5/2697.full>
14. Hellström A, Niklasson A, Karin Segnestam K. IGF-1 Is Critical for normal vascularization of the human retina. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(7):3413-6.

Summary

Introduction

Chronic lung disease in the newborn is a complication of mechanical ventilation. The diagnosis of chronic lung disease is made in children of over 36 post-conceptual weeks' age who still require additional oxygen and who have abnormal chest x-ray findings. This study was aimed at triaging newborns at risk of developing chronic lung disease. The operating study hypothesis was that the values of insulin-like growth factor I below 30 µg/L in the 33rd post-conceptual week were associated with the development of chronic lung disease.

Material and Methods

The above hypothesis was verified by a cohort, prospective study, which included preterm newborns of 33 gestational weeks' age or less who were hospitalised at the Department of Neonatology of the Clinical Centre of Montenegro from April 2008 to July 2009. The blood sample was taken in the 33rd post-concep-

tual week and the insulin-like growth factor value was determined by the method of enzyme immunoassay.

Results

Our study results confirmed the theory of statistically significant correlation of the length of pregnancy and birth body weight with insulin-like growth factor serum level.

Discussion

We did not find any statistically significant correlation between the insulin-like growth factor serum value and chronic lung disease in the newborn. It is possible that the insulin-like growth factor has a different role at various stages of pathogenesis of diseases of prematurity.

Conclusion

We believe that by correcting the term for determining the levels we can get a significant correlation between low values of insulin-like growth factor -I and chronic lung disease.

Key words: Cytokines; Infant, Newborn; Infant, Premature; Insulin-Like Growth Factor I; Enzyme Multiplied Immunoassay Technique; Infant, Newborn, Diseases; Lung Diseases; Respiration, Artificial + adverse effects; Triage

Rad je primljen 28. IV 2010.

Prihvaćen za štampu 1. XI 2010.

BIBLID.0025-8105:(2011):LXIV:7-8:362-367.

Kantonalna bolnica Zenica, Odjel za onkologiju, Bosna i Hercegovina¹
 Kliničko-bolnički centar „Bežanijska kosa” Beograd
 Odeljenje za onkologiju²
 Kantonalna bolnica Zenica
 Odjel za neurohirurgiju³
 Odjel za hirurgiju⁴
 Medicinski fakultet Sarajevo, Institut za patofiziologiju, Bosna i Hercegovina⁵

Originalni naučni rad
Original study
 UDK 616.24-006.6-08:615.38
 DOI: 10.2298/MPNS1108368M

POREĐENJE EFIKASNOSTI I TOKSIČNOSTI DVA HEMIOTERAPIJSKA PROTOKOLA U TERAPIJI ODMAKLOG NESITNOĆELIJSKOG KARCINOMA PLUĆA

COMPARISON OF EFFICIENCY AND TOXICITY OF TWO CHEMOTHERAPY PROTOCOLS IN TREATMENT OF ADVANCED NON-SMALL CELL LUNG CANCER

Alma MEKIĆ ABAZOVIĆ¹, Ibrahim ŠIŠIĆ¹, Vladimir KOVČIN², Hakija BEČULIĆ³,
 Senad DERVIŠEVIĆ⁴ i Miralem MUSIĆ⁵

Sažetak – Cilj ovog istraživanja bio je da se uporedi efikasnost i toksičnost dva protokola *Cisplatin/Etoposid* i *Cisplatin/Vinorelbin*, te da se utvrdi koji od ovih protokola ima veću efikasnost, a manju toksičnost u lečenju odmaklog nesitnoćelijskog karcinoma pluća. Istraživanja su sprovedena na ukupno 60 bolesnika (dve grupe po 30) koji su u periodu januar–decembar 2005. godine lečeni na Odeljenju za onkologiju Kliničko-bolničkog centra „Bežanijska kosa”, Beograd, Srbija, zbog odmaklog nesitnoćelijskog karcinoma pluća sa hemioterapijskim protokolima *Cisplatin/Etoposid* (*Cisplatin 100 mg/m² D1* i *Etoposid 100 mg/m² D1, D3, D5*) i *Cisplatin/Vinorelbin* (*Cisplatin 100 mg/m² D1* i *Vinorelbin a 30 mg/m² D1, D8*) na četiri nedelje. Kod svih pacijenata analizirana je stopa odgovora, vreme do progresije, ukupno preživljavanje, te ukupna toksičnost. U statističkoj analizi podataka su korišteni X² test, Kaplan–Mejerova kriva i *Log-rank* test. Stope odgovora registrovane u obe grupe su nešto niže nego u ranije objavljenim studijama i nisu se statistički značajno razlikovale p=0,485. Statistički značajna razlika nije registrovana ni u pogledu vremena do progresije, niti kod ukupnog preživljavanja. Hemioterapijski protokol *Cisplatin/Etoposid* pokazao se kao toksičniji u smislu kako hematoloških (3% vs. 10%), tako i ukupnih toksičnosti (p=0,047). Oba protokola su u sprovedenoj studiji pokazala ekvivalentnu efikasnost, ali se zbog manje izraženih toksičnih efekata može preporučiti protokol *Cisplatin/Vinorelbin*.

Ključne reči: Nesitnoćelijski karcinom pluća; Hemioterapijski protokoli; Hemioterapijski protokoli + toksičnost; Ishod lečenja; Cisplatin; Etoposid; Vinblastin + analozi i derivati; Plućne neoplazme + terapija

Uvod

Karcinom pluća nastaje u zidu bronha ili plućnim ćelijama i za njegov razvoj je potrebno mnogo godina, s obzirom da je za transformaciju normalne ćelije u neoplastičnu neophodno više genetskih promena. Još od 1995. godine kada je objavljena meta analiza, zna se da se produženje preživljavanja ovih bolesnika može poboljšati primenom hemioterapije, tako da je hemioterapija jedini modalitet lečenja bolesnika obolelih od karcinoma pluća sa metastazama u udaljenim organima.

Krajem osamdesetih godina karcinom pluća se lečio monoterapijom.

U početku su se upotrebljavali lekovi prve generacije kao što su ifosfamid, vindesin, vinblastin i mitomicin.

Otkrićem lekova druge generacije – cisplatina i karboplatina, postignuti su revolucionarni rezultati za to doba [1-6].

No, najveće otkriće su lekovi treće generacije: takساني, irinotecan, topotecan, vinorelbin i gemcitabin koji pokazuju visoku aktivnost primenjeni kod pacijenata sa nesitnoćelijskim karcinomom pluća [2,5-13].

Prema rezultatima dve meta analize, standard u lečenju nesitnoćelijskog karcinoma pluća treba da budu dubleti [14-16].

Cilj ovog rada bio je da se uporede dva hemioterapijska protokola i da se utvrdi koji od njih ima veću efikasnost, a manju toksičnost.

Materijal i metode

Istraživanja su obavljena retrospektivno na Odeljenju za onkologiju Kliničko-bolničkog centra (KBC) „Bežanijska kosa”, Beograd, Srbija, u periodu januar–decembar 2005. godine, na 60 ispitanika podeljenih u dve grupe po 30.

U studiju su bili uključeni pacijenti sa histološkom potvrdom nesitnoćelijskog karcinoma pluća, čija je bolest bila u stadijumu lokalno odmakle (IIIB) ili metastatske bolesti (IV), a koji prethodno nisu bili tretirani hemioterapijom.

Drugi kriterijumi uključivanja bili su:

- prisustvo najmanje jedne bidimenzionalne lezije,
- adekvatan ECOG PS (0-3) Karnofsky PS,
- adekvatna fiziološka funkcija organa, definisana kao:

1. nivo hemoglobina (Hg) ≥ 9 g/dl
2. broj leukocita (Le) $\geq 4\ 000/\text{mm}^3$
3. broj neutrofila (Ne) $\geq 1\ 500/\text{mm}^3$
4. broj trombocita (Tr) $\geq 100\ 000/\text{mm}^3$

Skraćenice

KBC	– Kliničko-bolnički centar
RTG	– rendgen
CT	– kompjuterizovana tomografija
OS	– ukupno preživljavanje
PE	– Cisplatin, Etoposid
TTP	– vreme do progresije
CDDP	– Cisplatin

5. serumska koncentracija kreatinina $\leq 1,5$ x gornja granica normalnih vrednosti (N)

6. nivo serumskog bilirubina $\leq 1,5$ x N

7. nivo serumskih transaminaza (SGOT i SGPT) ≤ 3 x N.

Kriterijumi neključivanja pacijenata u studiju bili su:

- anamnestički podatak o prisustvu druge neoplazme, izuzev *basal cell* karcinoma kože i karcinoma *in situ* grlića materice,
- preegzistirajuće motorne ili senzorne neuropatije,
- aktivna infekcija,
- druga ozbiljna medicinska stanja koja bi mogla dovesti do nesposobnosti pacijenta da primi terapiju,
- demencija i značajno izmenjeni mentalni status koji bi mogli sprečiti razumevanje pacijenta o ciljevima studije i davanje usmenog informativnog pristanka za učešće u njoj.

Pre uključivanja u studiju, kod svih pacijenata bilo je obavezno ostvariti:

- punu anamnezu,
- fizikalni pregled,
- kompletna i diferencijalna krvna slika,
- laboratorijske analize (funkcionalne testove jetre i nivo serumskog kreatinina),
- sprovođenje dijagnostičkih metoda (rendgen (RTG) pluća ili kompjuterizovana tomografija (CT) toraksa, ultrazvuk ili CT abdomena, RTG kostiju).

Tokom studije procenjivani su:

Toksičnost

- hematološka (KKS, DKS – anemija, trombocitopenija, leukopenija gr I-IV)

– nehematološka:

- neurotoksičnost (parestezije i senzorna neuropatija),

– nefrotoksičnost (porast serumske koncentracije kreatinina),

- hepatotoksičnost (nivo bilirubina i nivo serumskih transaminaza),

– alopecija gr I-IV.

Terapijski odgovor

Inicijalne dijagnostičke procedure ponavljane su nakon svakog drugog ciklusa hemioterapije: RTG pluća, CT toraksa i abdomena, te ostale dijagnostičke procedure u zavisnosti od inicijalnog nalaza ili pojave simptoma koji bi ukazivali na novu lokalizaciju bolesti.

Preživljavanje

Kod svih pacijenata preživljavanje je računato od datuma početka prvog ciklusa hemioterapije, pa do datuma smrtnog ishoda bilo kog uzroka, a ukoliko ovaj podatak nije poznat, onda do datuma poslednje kontrole.

Standardni protokoli su primenjivani u dve grupe ispitanika, tako da su pacijenti grupe cisplatin (CDDP)/vinorelbin primali:

- cisplatin 100 mg/m² i.v. (D1)
- vinorelbin 30 mg/m² i.v. (D1, D8),
- a pacijenti grupe CDDP/etoposid primali su:
- cisplatin 100 mg/m² i.v. (D1)
- etoposid 100 mg/m² i.v. (D1, D3, D5)

– Intervali između ciklusa u ovoj grupi iznosili su četiri nedelje (32).

Od statističkih metoda korišteni su X² test, Kaplan–Mejerova kriva i Log rank test.

Rezultati

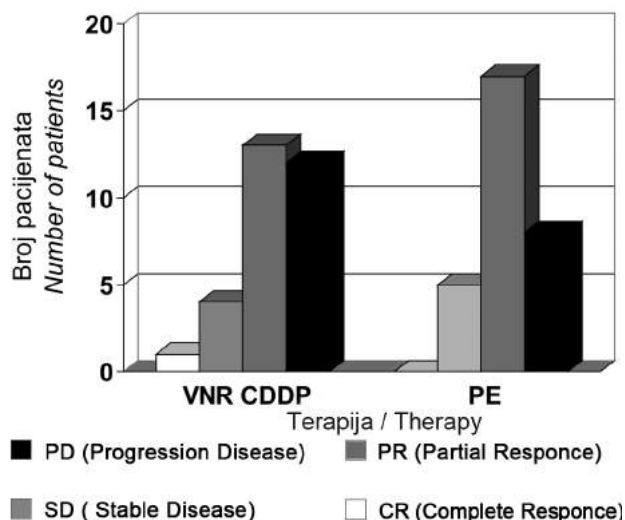
Na Odeljenju za onkologiju KBC „Bežanijska kosa” Beograd, Srbija, u periodu januar–decembar 2005. dijagnostikovano je i lečeno protokolom CDDP/vinorelbin 30 pacijenata sa lokalno odmaklim ili metastatskim karcinomom pluća. Kontrolnu grupu činilo je 30 pacijenata koji su lečeni protokolom CDDP/etoposid. Grupe su bile balansirane prema starosti, polu, kliničkom stadijumu i „performans statusu”. Dat je i prikaz karakteristika ispitivanih pacijenata (**Tabela 1**).

Tabela 1. Karakteristike ispitivanih pacijenata

Table 1 Characteristics of patients

Karakteristike <i>Characteristics</i>	CDDP, Vinorelbin (n=30)		CDDP, Etoposid (n=30)		p
	N	%	N	%	
Pol/ <i>Gender</i>					
Muški/ <i>Male</i>	24	80	26	87	p=0,365
Ženski/ <i>Female</i>	6	20	4	13	
Starost/ <i>Age</i>	45-72		50-71		
Prosečna starost/ <i>Median Range</i>	59		60		p>0,05
Performans status/ <i>Performance status</i>					
100%	28	94	26	87	
90%	1	3	4	13	p=0,238
80%	1	3	0	0	
Patohistološka dijagnoza <i>Pathohistological diagnosis</i>					
Adenokarcinom/ <i>Adenocarcinoma</i>	14	47	10	33	p=0,388
Planocelularni/ <i>Squamous-cell carcinoma</i>	16	53	19	66	
Gigantocelularni/ <i>Gigantocellular</i>	0	0	1	3	
Stadijum bolesti/ <i>Stage</i>					
Lokalno odmakli/ <i>Advanced</i>	13	43	13	43	/
Metastatski/ <i>Metastatic</i>	17	57	17	57	
Broj aplikovanih ciklusa <i>Number of cycles</i>	4.23		4.20		p>0,05
Prosečna starost/ <i>Median Range</i>	2-8		2-8		

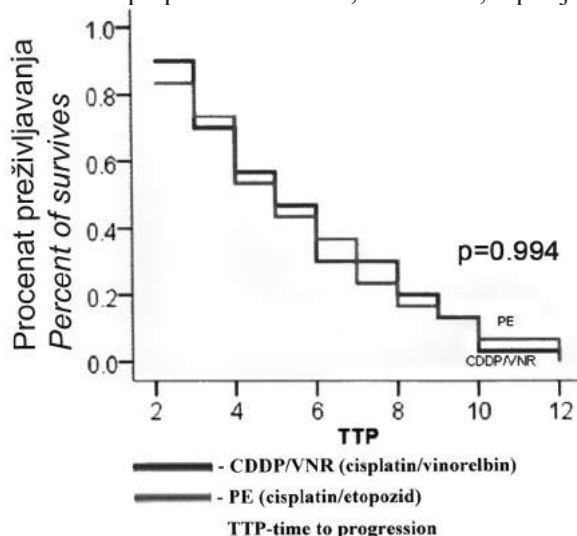
U grupi bolesnika koji su primali CDDP, vinorelbin, 24 bolesnika (80%) je bilo muškog, a 6 (20%) ženskog pola, dok je u grupi koji su primali CDDP, etoposid 26 bolesnika (87%) bilo muškog, a 4 bolesnika (13%) ženskog pola, bez statistički značajne razlike. Medijana starosti ispitanika iz grupe koja je primala CDDP, vinorelbin bila je 59 godina (od 45 do 72 godine), a ispitanika grupe koja je primala CDDP, etoposid – 60 godina (od 50 do 71 godina), bez statistički značaj-



VNR, CDDP – vinorelbin, cisplatin; PE – cisplatin, etopozid
Grafikon 1. Terapijski odgovori u dve hemioterapijske grupe procenjeni prema RECIST kriterijuma

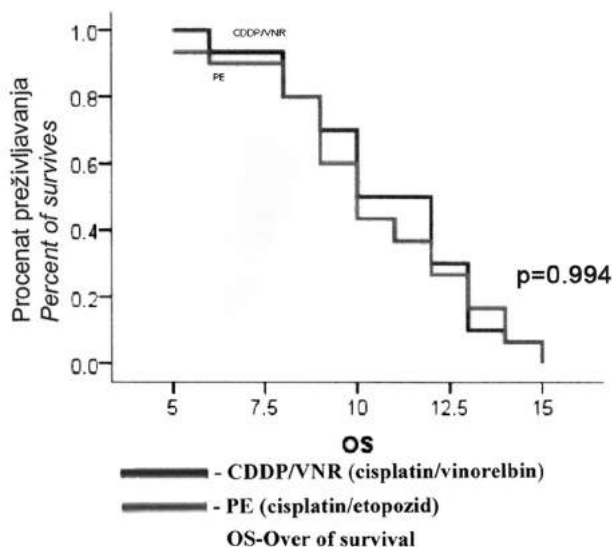
Graph 1. Therapeutic responses in two chemotherapeutic groups were evaluated according to the RECIST

ne razlike. Opšti status bolesnika procenjivan Karnofski skalom nije se statistički značajno razlikovao u dve grupe ispitanika: koja je primala CDDP, vinorelbin - 100% 94% bolesnika, 90% 3% bolesnika i 80% 3% bolesnika; koja je primala CDDP, etopozid - 100% 87% bolesnika, 90% 13% bolesnika. Planocelularni karcinom je bio češća patohistološka kategorija kod obe grupe ispitanika (53%). Terapijski odgovor je procenjivan na osnovu *Response Evolution Criteria in Solid Tumor* (RECIST) kriterijuma, i to na svaka 2 ciklusa hemioterapije. Dat je prikaz rezultata (**Grafikon 1**). Kod pacijenata lečenih po protokolu CDDP, vinorelbin, 1 pacijent



Grafikon 2. Razlika u vremenu do progresije između dva hemioterapijska protokola

Graph 2. The difference in time to progression between the two chemotherapy protocols



Grafikon 3. Razlika u ukupnom preživljavanju u dve hemioterapijske grupe

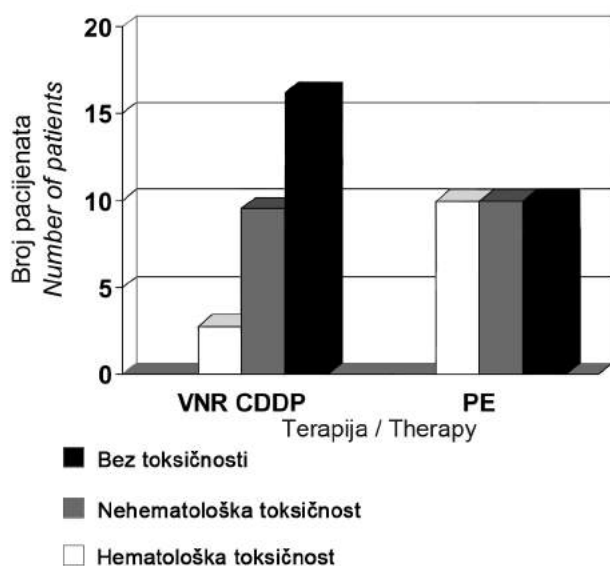
Graph 3. The difference in overall survival in two chemotherapeutic groups

(3%) je imao kompletan odgovor (CR), a u drugoj grupi pacijenata na CDDP – etopozid, nije bilo pacijenata sa kompletnim odgovorom (CR). Parcijalni odgovor (PR) imalo je 4 pacijenata (13%) lečenih po protokolu CDDP, vinorelbin, a na CDDP, etopozid, je imalo 5 pacijenata (17%). Stabilnu bolest (SD) na protokolu CDDP, vinorelbin imalo je 13 pacijenata (44%), a 17 pacijenata (57%) na protokolu CDDP, etopozid. Progresiju bolesti na režimu CDDP, vinorelbin imalo je 12 pacijenata (40%), a na režimu CDDP, etopozid, 8 pacijenata (27%). Takođe nije bilo statistički značajne razlike u vremenu do progresije (TTP), niti u ukupnom preživljavanju (OS) između ova dva hemioterapijska protokola (**grafikoni 2 i 3**), a na osnovu raspodele učestalosti nije dokazana statistički značajna razlika u stopama odgovora u dve grupe.

U ovom istraživanju registrovana je statistički značajna razlika samo u pogledu ukupne toksičnosti (**Grafikon 4**).

Diskusija

Još od kraja osamdesetih godina prošlog veka se zna da pojedini lekovi pokazuju značajnu aktivnost primenjeni kao monoterapija. U ovu grupu lekova prve generacije spadaju ifosfamid, vindesin, vinblastin i mitomicin. U grupu lekova druge generacije spadaju cisplatin i karboplatin koji su u terapiji nesitnoćelijskog karcinoma pluća postigli revolucionarne rezultate za to doba [1–7,14–16]. Od publikovanja meta analize u kojoj je analizirana primena cisplatinke hemioterapije u odnosu na najbolju suportivnu terapiju, koja je pokazala da hemioterapija bazirana na cisplatinu smanjuje rizik od smrti za 27%, dajući apsolutni benefit u jednogodišnjem preživljavanju od 10%, ova vrsta hemioterapije je postala zlatni standard u lečenju inoperabilnog nesitnoćelijskog karcinoma pluća [14].



Grafikon 4. Razlika u ukupnoj toksičnosti između dva hemioterapijska protokola

Graph 4. Differences in toxicity between the two chemotherapy protocols

U poslednjoj dekadi je dokazano da nekoliko lekova nove, tzv. treće generacije pokazuju visoku aktivnost primenjeni kod bolesnika sa nesitnoćelijskim karcinomom pluća [19,20]. U treću generaciju lekova se ubrajaju paclitaksel, docetaksel, irinotecan, topotecan, vinorelbin i gemcitabin. Dve meta analize zaključuju da standard u lečenju nesitnoćelijskog karcinoma pluća treba da budu dubleti [14-16].

Efikasnost vinorelbina u lečenju nesitnoćelijskog karcinoma pluća ispitivana je u 12 randomiziranih kontrolisanih kliničkih studija koje su poredile različite kombinacije vinorelbina sa različitim vrstama hemioterapije kao standardom. Pet randomiziranih studija je upoređivalo efikasnost različitih doza i kombinacija vinorelbina [15-20]. Fakuoka M. i saradnici su dokazali bolju efikasnost kombinacije vinorelbina sa cisplatinom u odnosu na monoterapiju vinorelbinom [13].

Le Sevalijer T. (Chevalier) i saradnici [15] navode bolje ukupno preživljavanje (OS) pacijenata kombinacijom vinorelbina sa cisplatinom, u odnosu na monoterapiju vinorelbinom.

U našem istraživanju registrovane su u obe terapijske grupe stope odgovora koje su nešto niže od stope

odgovora u ranije objavljenim studijama. Stope odgovora kombinacije CDDP, vinorelbin u ranije objavljenim studijama kretale su se od 26%, dok je u našoj studiji registrovana stopa odgovora od 15%. Objašnjenje je, svakako, u stadijumu bolesti, patohistološkom tipu tumora, te u načinu metastaziranja [1,3,5,13].

Nije dokazana statistički značajna razlika u vremenu do progresije $-p=0,994$ i u ukupnom preživljavanju $-p=0,793$ između ova dva protokola. Kompletan odgovor imalo je 3% pacijenata na protokolu CDDP, vinorelbin, na protokolu CDDP, etopozid niti jedan pacijent 0%. Parcijalni odgovor (PR) na protokolu CDDP, vinorelbin imalo je 13% pacijenata, a na protokolu CDDP, etopozid 17%. Stabilnu bolest na CDDP, vinorelbin imalo je 44% pacijenata, a na CDDP, etopozid protokolu 57% pacijenata. Progresiju bolesti (PD) na CDDP, vinorelbin protokolu je imalo 40% pacijenata, a na CDDP, etopozid 27%.

U ovoj studiji jedina statistički značajna razlika je registrovana u pogledu toksičnosti $p=0,047$ (**Grafikon 4**).

Registrovane su toksičnosti gradusa III i IV kod oba protokola, ali je protokol CDDP, vinorelbin pokazao znatno manje hematoloških, nehematoloških, kao i toksičnosti uopšte. U hematološke toksičnosti ubrajale su se: anemija, neutropenija i trombocitopenija, a u nehematološke nefrotoksičnost, neurotoksičnost i alopecija.

S obzirom da je lečenje lokalno odmaklog ili metastatskog nesitnoćelijskog karcinoma pluća samo paliativno, osim efikasnosti, mora se voditi računa i o toksičnosti hemioterapije, te o kvalitetu života pacijenata obolelih od nesitnoćelijskog karcinoma pluća.

Zaključak

Iako nešto niže nego u ranije objavljenim studijama, stope odgovora se nisu značajno razlikovale u dve grupe bolesnika. Takođe, vreme do progresije bolesti i ukupno preživljavanje dokazuju da su ova dva protokola apsolutno ekvivalentna u lečenju bolesnika sa lokalno odmaklim ili metastatskim nesitnoćelijskim karcinomom pluća. Rezultati ovog istraživanja su pokazali da je hemioterapijski protokol cisplatin, vinorelbin imao znatno manje hematoloških, nehematoloških, kao i toksičnosti uopšte, te bi kao takav, trebalo da bude preferirajući u lečenju lokalno uznapredovalog ili metastatskog nesitnoćelijskog karcinoma pluća.

Literatura

1. Fukuoka M, Masuda N, et al. A randomized trial in inoperable non small cell lung cancer: vindesine and cisplatin versus mitomycin, vindesine, cisplatin versus etoposide and cisplatin alternating with vindesine and mitomycin. *J Clin Oncol* 1991;9:606-13.
2. Yana T, Takada M, Origasa H, Ijima T, Yamamoto N, Nakagawa K, et al. New chemotherapy agent plus platinum for advanced non small cell lung cancer: a meta-analysis. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002;21:328.
3. Kelly K, Crowley J, Bunn P, Presant C, Grevstad P, Moinpour C. Randomized phase III trial of paclitaxel plus carboplatin versus vinorelbine plus cisplatin in the treatment of patients with

advanced non small cell lung cancer (NSCLC): a Southwest Oncology Group trial. *J Clin Oncol* 2001;19:3210-8.

4. Scagliotti G, De Marinis F, Rinaldi M, et al. Phase III randomized trial comparing three platinum-based doublets in advanced non small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2002;20:4285-91.

5. Fossella F, Pereira J, van Pawel J, et al. Randomized, multinational, phase III study of docetaxel plus platinum combinations versus vinorelbine plus cisplatin for advanced non small cell lung cancer: the TAX 326 Study Group. *J Clin Oncol* 2003;21:3016-24.

6. Lilienbaum R, Herndon J, List M, et al. Single-agent (SA) versus combination chemotherapy (CC) in advanced non small

cell lung cancer (NSCLC): a CALGB randomized trial of efficacy, quality of life (QoL), and cost-effectiveness. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002;21:1a.

7. Baggstrom M, Socinski MA, Hensing T, Poole C. Third generation chemotherapy regimens (3GR) improve survival over second generation regimens (2GR) in stage IIIB/IV non small cell lung cancer (NSCLC): a meta-analysis of the published literature. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002;21:306.

8. Aberola V, Camps C, Provencia M, Isla D, Rosell R, Vade-ll C. Cisplatin plus gemcitabine (CG) vs a cisplatin-based triplet vs nonplatinum sequential doublets in advanced non small cell lung cancer (NSCLC): a Spanish Lung Cancer Group phase III randomized trial (GEPC/98-02). *J Clin Oncol* 2003;21:3207-13.

9. Delbaldo C. Adding a second or a third drug to a chemotherapy regimen in patients with advanced non small cell lung carcinoma (NSCLC): a meta-analysis of the literature. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003;22:623.

10. Baggstrom M, Socinski MA, Hensing T, Poole C. Addressing the optimal number of cytotoxic agents in stage IIIB/IV non small cell lung cancer (NSLCC): a meta-analysis of the published literature. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003;21:306.

11. Baldini E, Tibaldi C, Ardizzoni A, et al. Cisplatin-vindesine-mitomycin (MVP) vs cisplatin-ifosfamide-vinorelbine (PIN) vs carboplatin-vinorelbine (CaN) in patients with advanced non small cell lung cancer (NSCLC): a FONICAP randomized phase II study. *Br J Cancer* 1998;77:2367-70.

12. Colleoni M, Vicario G, Pancheri F, et al. A randomized phase II trial of cisplatin plus mitomycin-C plus vinorelbine and carboplatin plus vinorelbine in advanced non small cell lung cancer. *Int J Oncol* 1997;10:619-22.

13. Depierre A, Chastang C, Quoix E, et al. Vinorelbine versus vinorelbine plus cisplatin in advanced non small cell lung cancer: a randomized trial. *Ann Oncol* 1994;5:37-42.

14. Stephens R, Fairlamb N, Gower N, et al. The big lung trial (BLT): determining the value of cisplatin-based chemotherapy for all patients with non small cell lung cancer (NSCLC). Preliminary results in the supportive care setting. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002;21:291.

15. Roszkowski K, Pluzanska A, Krzakowski M. A multicenter, randomized phase III study of docetaxel plus best supportive care versus best supportive care in chemotherapy-naive patients with metastatic or nonresectable localized non small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 2000;27:145-57.

16. Kovčín V, Jelić S, Radosavljević D, Babović N, Radulović S. Second line chemotherapy with high-dose of etoposide and cisplatin for lung cancer: lack of activity. In: Antypas G, ed. *Lung cancer*. Bologna: Monduzzi Editore; 1996. p. 545-9. (in Serbian).

17. Le Chevalier T, Brisgand D, Douillard JY, et al. Randomized study of vinorelbine and cisplatin versus vindesine and cisplatin versus vinorelbine alone in advanced non small cell lung cancer: results of a European multicenter trial including 612 patients. *J Clin Oncol* 1994;12:360-7.

18. Le Chevalier T, Brisgand D, Soria JC, et al. Long term analysis of survival in the European randomized trial comparing vinorelbine/cisplatin to vindesine/cisplatin and vinorelbine alone in advanced non small cell lung cancer. *Oncologist* 2001;6(Suppl 1):8-11.

19. Deza EG, Balbiani L, Coppola F, et al. Phase III study of navelbine (NVB) vs NVB plus cisplatin in non small cell lung cancer (NSCLC) stage IIIB or IV. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1996;15:394. (Ab. 1193).

20. Wozniak AJ, Crowley JJ, Balcezar SP, et al. Randomized trial comparing cisplatin with cisplatin plus vinorelbine in the treatment of advanced non small cell lung cancer (NSCLC): a Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol* 1998;16:2459-65.

Summary

Introduction

This study was aimed at comparing the efficiency and tolerability of two reference protocols Cisplatin and Etoposide and Cisplatin and Vinorelbine in advanced Non-Small Cell Lung Cancer.

Material and Methods

A total of 60 patients (two groups consisting of 30 patients) were treated for advanced Non-Small Cell Lung Cancer during the period from January to December 2005 according to the reference protocols (Cisplatin 100mg/m² D1; Vinorelbine 30 mg/m² D1, D8 on 4 weeks) and (Cisplatin 100 mg/m² D1; Etoposide 100 mg/m² D1, D3, D5 on 4 weeks) at the Department of Oncology of KBC "Bežanijska kosa". All patients were analysed for tumour response, progression free survival as well as for toxicity. χ^2 test, Kaplan Meiers curves and Log rank test were used for statistical analysis.

Key words: Carcinoma, Non-Small-Cell Lung; Antineoplastic Combined Chemotherapy Protocols; Antineoplastic Combined Chemotherapy Protocols + toxicity; Treatment Outcome; Cisplatin; Etoposide; Vinblastine + analogs and derivatives; Lung Neoplasms + drug therapy

Rad je primljen 20. VII 2010.

Prihvaćen za štampu 1. IV 2011.

BIBLID.0025-8105(2011):LXIV:7-8:368-372.

Results

Although the recorded response rates were a bit lower than in previously published trials, they were not significantly different $p=0.485$. No statistically significant difference was recorded in either progression free survival or overall survival. The chemotherapeutic Cisplatin/Etoposide protocol proved to be more toxic both in hematologic (3% vs. 10%) and total toxicities ($p=0.047$).

Conclusion

Our study proved both protocols to have equivalent efficacy. However, the Cisplatin, Vinorelbine protocol could be recommended because of its less expressed toxic effects.

Institute for Child and Youth Health Care of Vojvodina, Novi Sad¹
 Preschool Teacher Training College, Novi Sad, Serbia²

Originalni naučni rad
Original study
 UDK 616.891.6-053.6
 DOI: 10.2298/MPNS1108373P

ANXIETY SENSITIVITY IN ADOLESCENTS WITH SOMATOFORM AUTONOMIC DYSFUNCTION AND ADOLESCENTS WITH INSULIN DEPENDENT DIABETES MELLITUS

SENZITIVNOST NA ANKSIOZNOST KOD ADOLESCENATA SA SOMATOFORMNOM DISFUNKCIJOM VEGETATIVNOG NERVNOG SISTEMA I ADOLESCENATA SA INSULIN-ZAVISNIM DIJABETESOM MELITUSOM

Maja PISARIĆ¹ i Sanja NIŠEVIĆ²

Summary - Anxiety sensitivity is defined as a belief that anxiety or fear may cause illness, embarrassment, or additional anxiety. The main purpose of this study was to find out if there were differences among adolescents with insulin dependent diabetes mellitus, adolescents with somatoform autonomic dysfunction and their healthy peers in different aspects of psychological functioning and anxiety sensitivity. The sample consisted of 93 subjects, aged 12 to 16. Hamburg Neuroticism and Extraversion Scale, Child Behaviour Checklist and Childhood Anxiety Sensitivity Index were administered. The adolescents with somatoform autonomic dysfunction had significantly higher scores on neuroticism scale, different Child Behaviour Checklist subscales, and on anxiety sensitivity. Both groups with diagnosed illness had lower scores on extraversion scale compared to healthy peers. This study has shown that the adolescents with somatoform autonomic dysfunction are more prone to fears regarding bodily functioning, and that they are at a higher risk of developing an anxiety disorder.

Key words: Anxiety; Neurotic Disorders; Adolescent; Autonomic Nervous System Diseases; Somatoform Disorders; Diabetes Mellitus, Type 1; Questionnaires

Introduction

Anxiety sensitivity (AS) is usually defined as a fear of sensations related to anxiety developing from the belief that these sensations might have harmful somatic, psychological or social consequences [1]. The theoretical and practical significance of AS has been recognized only recently due to the expansion of cognitive theories of fears, phobias and panic attacks. Less is known of AS in children than about AS in adults. It is believed that children may learn to connect physiological symptoms with negative consequences as well as that the childhood may be the critical period for anxiety related problems [2]. Individual differences in AS are thought to be partly due to not only genetic factors, but also to different learning patterns. Learning may be related to experiences connected with bodily sensations, but also, although to a lesser extent, to a parental reinforcement of the child's role of a patient because of somatic sensations [3].

Previous research of AS in adolescents [4] showed that adolescents with somatoform autonomic dysfunction (SAD) differ from their healthy peers mostly in general anxiety sensitivity as well as in internalizing problems. It has also been found that they demonstrate more neurotic characteristics and less extraversion, especially the part of extraversion concept that is connected with social behaviour. The main features of SAD are based on objective signs of the vegetative nervous system, such as rapid heart beating, breathing, sweating, paleness, tremor, etc.

The question was whether adolescents with chronic illness developed AS more often than their healthy peers. Studies including persons with insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) have shown that they de-

velop anxiety and depression more often than it is the case in general population. One of possible complications of IDDM is hypoglycaemia, which is followed by physiological reactions including tremor, general weakness, confusion and lack of concentration. The main purpose of this study was to find out if adolescents with IDDM had higher neurotic characteristics, behaviour changes and higher AS when compared to adolescents with SAD and their healthy peers.

Material and Methods

The study sample consisted of 93 subjects aged from 12 to 16 years. They were assigned to one of three groups, each consisting of 31 subjects: adolescents with SAD, adolescents with IDDM and healthy adolescents. The participation in this study was voluntary, anonymous, and the informed consent was signed both by the adolescents and their parents. The healthy adolescents were pupils attending primary and secondary schools in Novi Sad. Both SAD and IDDM were diagnosed by a paediatrician-endocrinologist at the Institute for Child and Youth Health Care of Vojvodina in Novi Sad. There were no significant differences among subjects regarding gender or age (Wilks Lambda=0.97, (4, 178); p=0.54).

The following scales were administered:

1. *Hamburg Neuroticism and Extraversion Scale for Children and Adolescents* [5] (HANES), a questionnaire for self assessment of personality traits for children aged from 8 to 16 years. It contains three subscales: neuroticism, extraversion, and lie subscale. The questionnaire consists of 68 items to which a person should reply circling one of the two an-

Abbreviations

AS	– anxiety sensitivity
SAD	– somatoform autonomic dysfunction
IDDM	– insulin dependent diabetes mellitus
HANES	– Hamburg Neuroticism and Extraversion Scale for Children and Adolescents
CBCL	– Child Behavior Checklist
CASI	– Childhood Anxiety Sensitivity Index

swers "Yes" or "No". The test-retest scale reliability was, depending on subscale, from 0.62 to 0.75 [5].

2. *Child Behaviour Checklist* [6] (CBCL) is a questionnaire for children aged from 6 to 18 years. It consists of 113 items, and 9 subscales: withdrawal, somatic complaints, anxiety/depression, social problems, thought problems, attention problems, delinquent and aggressive behaviour, and other problems. There are three answers to choose from 0 – not true, 1 – sometimes true, and 2 – always true, that should be scored from 0 to 2 points. Cronbach Alpha coefficient of internal consistency in the sample of 459 children and adolescents aged from 12 to 18 years was 0.96, and the average test-retest reliability was $r = 0.89$ [6]. The questionnaire was not standardised on our population. The permission to use it in this study was obtained.

3. *Childhood Anxiety Sensitivity Index* [7] (CASI) is an instrument for assessing sensitivity to anxiety symptoms in children and adolescents. CASI is an 18 item Lykert type scale. It is answered by circling the answer that describes how often a person feels in a certain way, with three possibilities of frequency offered: "little", "some", or "a lot", scoring 1, 2, or 3 points. The final score is a sum of 18 items, which can go from 18 to maximum of 54, the higher the scores the higher AS. Cronbach Alpha coefficient in the sample of 62 children, both healthy and with SAD, aged from 12 to 16 was 0.84 [4]. CASI is not standardised on our population. It was translated into Serbian and used in our research with the permission of the authors¹.

Results

Data were processed with "Statistica 5.0 for Windows" [8], and Multiple analysis of variance and descriptive methods of analysis were used. The results (Table 1) show significant differences between the compared groups, Wilks' Lambda= 0.12, (32, 150); $p=0.00$. The adolescents with SAD (Table 2) had significantly higher scores on neuroticism scale, when compared to two other groups. The adolescents with IDDM or SAD described themselves with lower scores on extraversion scales compared to their healthy peers. When adolescents were compared by CBCL subscales, there were significant differences on withdrawal, somatic complaints, anxiety/depression, social problems, thought problems, and attention problems subscales. In subscales delinquency, aggressive behaviour or other problems, there were no differences among the compared groups. Anxiety sensitivity was shown to be the

Table 1. MANOVA Results**Tabela 1.** MANOVA rezultati

Variables Varijable	Mean square Effect/Srednji kvadrat efekta	Mean square Error/Srednji kvadrat greške	F(df1,2) 2,118	p-level p-nivo
Neuroticism 1/Neuroticizam 1	184,6559	23,82652	7,75002	,000784
Neuroticism 2/Neuroticizam 2	313,0430	20,06237	15,60349	,000002
Extraversion 1/Ekstraverzija 1	15,3226	1,24014	12,35549	,000018
Extraversion 2/Ekstraverzija 2	8,7849	3,02222	2,90678	,059799
Lie scale/L skala iskrenosti	2,0753	6,09964	,34023	,712519
Withdrawal/Povlačenje	71,3548	6,67240	10,69403	,000068
Somatic complaints Somatske žalbe	300,2043	9,02079	33,27916	,000000
Anxiety/Depression Anksioznost/depresivnost	347,1075	25,90036	13,40165	,000008
Social problems Socijalni problemi	44,3979	3,86093	11,49926	,000036
Thought problems Problemi mišljenja	94,0107	7,81004	12,03717	,000023
Attention problems Problemi pažnje	115,6559	10,16272	11,38040	,000023
Delinquent behaviour Delinkventno ponašanje	,2043	1,42796	,14307	,866888
Aggressive behaviour Agresivno ponašanje	18,6129	1,42796	1,27598	,284157
Other problems/Drugi problemi	194,7419	26,87814	7,24537	,001209
Anxiety sensitivity Senzitivnost na anksioznost	749,4516	13,92832	53,80777	,000000

highest in the adolescents with SAD, then in those with IDDM, while their healthy peers had the lowest scores.

Discussion

The research question in the study was directed at finding out possible differences in neuroticism, behavioural problems and AS level among adolescents with IDDM, adolescents with SAD and healthy adolescents. The data in this study showed that the adolescents with SAD had the highest scores on neuroticism scale when compared to two other groups. These adolescents portrayed themselves as more immature, more sensitive to their social environment and more prone to feeling insulted. They tend to be inattentive, to have doubts and change moods, mostly towards depressive feelings. In addition, they are more concerned about their health; they have more fears regarding future events, as well as higher anxiety and distractibility. Extraversion, defined through two subscales, E_1 , measuring joy because of being with others, and E_2 , measuring activity level, was statistically different for the subscale E_1 . Both adolescents with SAD and adolescents with IDDM described themselves as being less extroversive compared to adolescents with no illness.

CBCL revealed that the adolescents with SAD when compared to the adolescents with IDDM and healthy adolescents were more often withdrawn, had more somatic complaints, higher anxiety and/or depression, had more social problems, more thought problems, and more problems with attention. It was also shown that the adolescents with SAD had the highest scores on CASI.

1 Permission to use CASI was obtained through the project "Cognitive vulnerability to anxiety and depression" by Ljiljana Mihić, PhD.

Table 2. Means of variables**Tabela 2.** Aritmetičke sredine pojedinačnih varijabli

Variables Varijable	Adolescents with SAD <i>Adolescenti sa SDVNS</i>	Adolescents with IDDM <i>Adolescenti sa IZDM</i>	Healthy ado- lescents <i>Zdravi adolescenti</i>
Neuroticism 1/ <i>Neuroticizam 1</i>	28,93548	24,64516	24,77419
Neuroticism 2/ <i>Neuroticizam 2</i>	33,41935	30,16129	27,06452
Extraversion 1/ <i>Ekstraverzija 1</i>	15,74194	15,90323	17,03226
Extraversion 2/ <i>Ekstraverzija 2</i>	12,22581	11,16129	11,70968
Lie scale/ <i>L skala iskrenosti</i>	15,93548	16,22581	16,45161
Withdrawal/ <i>Povlačenje</i>	12,06452	10,45161	9,03226
Somatic complaints/ <i>Somatske žalbe</i>	15,83871	10,83871	10,12903
Anxiety/Depression <i>Anksioznost/depresivnost</i>	26,22581	21,54839	19,74194
Social problems/ <i>Socijalni problemi</i>	12,45161	11,64516	10,09677
Thought problems/ <i>Problemi mišljenja</i>	11,45161	8,45161	8,41935
Attention problems/ <i>Problemi pažnje</i>	16,90322	13,80645	13,35484
Delinquent behaviour <i>Delinkventno ponašanje</i>	12,80645	12,96774	12,90323
Aggressive behaviour <i>Agresivno ponašanje</i>	28,48387	27,35484	27,00000
Other problems/ <i>Drugi problemi</i>	28,48387	25,41936	23,51613
Anxiety sensitivity <i>Senzitivnost na anksioznost</i>	33,12903	27,09678	23,38710

These adolescents demonstrated more fear from somatic manifestation of anxiety, such as fear of breathing problems, high heart rates, vomiting, etc., as well as fear of inadequate mental and social functioning.

Although variables, such as somatic complaints, anxiety and depression, which make significant difference among groups represent relatively typical characteristics of people with SAD, this study showed that adolescents with SAD had more increased fears from bodily functioning, i.e. higher AS. It could be assumed that because of the present autonomous nervous system arousal, these adolescents would be more prone to develop some of anxiety disorders [9-11]. We should also bear in mind a sudden symptom appearance in SAD, with possible subjective experience and/or misinterpretation that it is uncontrollable. They may be wrongly understood and symptoms further reinforced, with consequent mounting feelings of fear.

Studies on signs and symptoms of SAD in persons with IDDM are not conclusive. Some of them have

shown that signs of autonomic dysfunction appear but in early phases of illness [12], while the results of other studies showed that there were no autonomic arousals in children and adolescents with good metabolic control [13,14]. For the adolescents in this study there were no data on illness duration and metabolic control, which is considered to be a weakness of this study, and should be assessed in further studies. One of the possible explanations regarding the results obtained in the adolescents with IDDM in our study might be that timely and adequately presented information regarding illness as well as procedures which may prevent complications could contribute to better coping with illness both in parents [15] and in children [16-18].

Adolescents with SAD interpret bodily sensations as terrifying. This belief is included in broader AS construct definition [1], which says that people with AS hold to the belief that bodily sensation have harmful somatic, psychological, or social consequences. Adequate approach to children and adolescents with IDDM, which assumes education and preparation for further suitable functioning and living with illness, would probably prevent dysfunctional interpretation of bodily sensations [16].

Conclusion

In this study we found that the adolescents with somatoform autonomic dysfunction, when compared to the adolescents with insulin dependent diabetes mellitus or healthy adolescents, had significantly higher scores on neuroticism scale, on Child Behaviour Checklist subscales (withdrawal, somatic complaints, anxiety/depression, social problems, thought problems, attention problems) and higher scores on anxiety sensitivity. Both groups with diagnosed illness had lower scores on extraversion scales compared to their healthy peers. Childhood Anxiety Sensitivity Index seems to be a sensitive instrument and it could be used as a good tool to identify adolescents who misinterpret autonomic arousal in a catastrophic way. It may show which adolescents may need extra attention in a preventive manner, even when there are no clear signs or symptoms of disorder, except somatomorf autonomic dysfunction. These adolescents may be at a higher risk of developing some anxiety disorders.

References

1. Reiss S. Expectancy model of fear, anxiety and panic. Clin Psychiatr Rev 1991;20:141-53.
2. Vulić-Prtorić A. Anksiozna osetljivost: fenomenologija i teorije. Suvrem Psihol 2006;9:171-93.
3. Olatunji BO, Wolitzky-Taylor KB. Anxiety sensitivity and the anxiety disorders: a meta-analytic review and synthesis. Psychol Bull 2009;6:974-99.
4. Pisarić M. Senzitivnost na anksioznost, osobine ličnosti i bihevioralni simptomi kod adolescenata sa neurovegetativnom distonijom (master rad). Novi Sad, Srbija: Filozofski fakultet; 2009.
5. Bele-Potočnik Ž, Hadžiselimović Dž, Tušak M. HANES: priručnik neuroticizma i ekstraverzije za djecu i omladinu. Ljubljana: Zavod SR Slovenije; 1977.
6. Achenbach TM. Manual for the child behavior checklist/4-18 and 1991 profile. Burlington: University of Vermont; 1991.
7. Silverman WK, Fleisig W, Rabian B, Peterson RA. Childhood anxiety sensitivity index. J Clin Child Psychol 1991;20:162-8.
8. StatSoft, Inc. STATISTICA for Windows [computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc; 1995.
9. Fulgosi A. Psihologija ličnosti. Zagreb: Školska knjiga; 1987.
10. McNally RJ. Anxiety sensitivity and panic disorder. Biol Psychiatry 2002;52:938-46.
11. McLaughlin NE, Stewart HS, Taylor S. Childhood anxiety sensitivity index factors predict unique variance in DSM-IV anxiety disorder symptoms. Cogn Behav Ther 2007;36:210-9.

12. Boysen A, Lewin MAG, Hecker W, Leichter HE, Uhlemann F. Autonomic function testing in children and adolescents with diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2007;8:261-4.

13. Scaramuzza A, Salvucci F, Leuzzi S, et al. Cardiovascular autonomic testing in adolescents with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: an 18-month follow-up study. *Clin Sci* 1998;94:615-21.

14. Koepp P, Hamm H. Function of the autonomic nervous system in children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. *Monatsschr Kinderheilkd* 1983;131:273-6.

15. Marteau TA, Johnston M. Determinants of beliefs about illness: a study of parents of children with diabetes, asthma, epilepsy, and no chronic illness. *J Psychosom Res* 1986;30:673-83.

16. Rovet J, Fernandes C. Insulin-dependent diabetes mellitus: cognitive aspects of chronic illness in children. In: Brown RT, ed. *Cognitive aspects of chronic illness in children*. New York: The Guilford Press; 1999. p. 142-71.

17. Nišević S. Značaj socijalne podrške kod adolescenata sa hroničnim oboljenjem. *Med Pregl* 2006;59(7-8):331-4.

18. Amer KS. Children's views of their adaptation to type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Nurs* 2008;34:281-8.

Sažetak

Uvod

Senzitivnost na anksioznost definiše se kao strah od senzacija u vezi sa anksioznosti koja nastaje iz verovanja da ove senzacije mogu da imaju štetne telesne, psihološke ili socijalne posledice. Postavljeno je pitanje da li se kod adolescenata sa nekom hroničnom bolešću, senzitivnost na anksioznost ispoljava u većem stepenu nego kod zdravih. Cilj ovog istraživanja bio je da se ispita da li postoje razlike između adolescenata sa insulin-zavisnim dijabetesom melitusom, adolescenata sa somatoformnom disfunkcijom vegetativnog nervnog sistema i zdravih u senzitivnosti na anksioznost i određenim aspektima psihološkog funkcionisanja.

Materijal i metode

U istraživanju je učestvovalo 93 ispitanika, uzrasta od 12 do 16 godina, ujednačenih u odnosu na pol i uzrast. Primljeni su: Hamburška skala neuroticizma i ekstraverzije za decu i omladinu, Lista provere dečjeg ponašanja i Indeks senzitivnosti na anksioznost kod dece.

Ključne reči: Anksioznost; Neurotski poremećaji; Adolescenti; Bolesti autonomnog nervnog sistema; Somatoformne disfunkcije; Dijabetes melitus, tip 1; Upitnici

Rad je primljen 12. IV 2010.

Prihvaćen za štampu 28. VI 2010.

BIBLID.0025-8105:(2011):LXIV:7-8:373-376.

Rezultati

Multivarijantnom analizom varijanse pokazano je da adolescenti sa somatoformnom disfunkcijom vegetativnog nervnog sistema imaju više skorove na skalama neuroticizma, supskalama Lista provere dečjeg ponašanja (povlačenje, somatske žalbe, anksioznost/depresivnost, socijalni problemi, problemi mišljenja, problemi sa pažnjom) i senzitivnosti na anksioznost.

Diskusija

U ovom uzorku adolescenti sa somatoformnom disfunkcijom autonomnog nervnog sistema svoju povećanu autonomnu pobudljivost interpretiraju na katastrofičan način, zbog čega su možda u grupi sa rizikom od razvoja različitih poremećaja.

Zaključak

Adekvatne i pravovremene informacije o bolesti, kao i o postupcima, koji mogu da preduprede razvoj mogućih komplikacija, doprinose boljem suočavanju sa bolešću i mogu da spreče pojavu disfunkcionalnih obrazaca mišljenja kod adolescenata sa hroničnim bolestima.

PRETHODNA SAOPŠTENJA PRELIMINARY REPORTS

Clinical Centre of Vojvodina, Novi Sad
Department of Gynaecology and Obstetrics¹
Department of Infectious Diseases²
Clinical Centre of Serbia, Belgrade
Institute of Gynecology and Obstetrics³
Clinical Centre of Vojvodina, Novi Sad
Institution for Thrombosis Prevention⁴

Prethodno saopštenje
Preliminary report
UDK 618.3:616.12-008.331.1]-07
DOI: 10.2298/MPNS1108377N

THIOBARBITURIC ACID REACTIVE SUBSTANCES AS MARKER OF OXIDATIVE STRESS IN PREGNANCIES WITH PRE-ECLAMPSIA

TIOBARBITURNA KISELINA KAO MARKER OKSIDATIVNOG STRESA U TRUDNOĆAMA KOMPLIKOVANIH PREEKLAMPSIJOM

Aleksandra NOVAKOV MIKIĆ¹, Snežana BRKIĆ², Daniela MARIĆ², Bojan SEKULIĆ¹, Aleksandar ĆETKOVIĆ³ and Gorana MITIĆ⁴

Summary - Pre-eclampsia is characterized by increased lipid peroxidation and diminished antioxidant capacity. The aim of the study was to establish concentration of thiobarbituric acid reactive substances as a marker of lipid peroxidation in normal pregnancies and in pregnancies complicated with pre-eclampsia, and to estimate the possibility of using thiobarbituric acid reactive substances as a screening method for development of pre-eclampsia. The study was conducted at the Department of Obstetrics and Gynaecology, Clinical Centre of Vojvodina. The study included 57 singleton pregnancies, gestation ≥ 24 weeks, of which 29 were healthy pregnancies and 28 were with pre-eclampsia, defined as systolic arterial pressure of ≥ 90 mmHg, diastolic of ≥ 145 mmHg, and 24h proteinuria of ≥ 300 mg. Thiobarbituric acid reactive substances concentrations evaluated by malondialdehyde equivalent standards (OxiSelect™ TBARS Assay Kit (malondialdehyde Quantitation), Cell Biolabs' OxiSelect™) showed that oxidative stress was more evident in the group with pre-eclampsia, though not statistically significant ($p=0.107$). There was no correlation of thiobarbituric acid reactive substance levels with gestation in either group. The differences between the level of thiobarbituric acid reactive substance concentrations in pre-eclampsia and healthy pregnancies indicate the possibility of using thiobarbituric acid reactive substances as a screening tool for the development of pre-eclampsia. Further studies with larger numbers of patients are needed in order to come to final conclusions.

Key words: Oxidative Stress; Pregnancy Complications; Thiobarbituric Acid Reactive Substances + diagnostic use; Pre-Eclampsia; Lipid Peroxidation; Malondialdehyde; Female; Hypertension; Proteinuria

Introduction

Pathological pregnancies resulting from placental changes can be found almost only in humans. These disorders, seen in about 30% of human pregnancies, include primarily spontaneous abortion and pre-eclampsia (PEE). In other mammals, the incidence of both of these disorders is very low [1], with PEE appearing only in one species of monkeys [2]. In humans, the modern way of life, which includes postponement of pregnancy and hyper caloric diet, may be the cause of increase in incidence of PEE [3]. PEE is a result of defective early trophoblast invasion – although trophoblast invasion is appropriate for concept implantation, it is inadequate for a full conversion of spiral arteries into low resistance channels [4]. A result of inadequate conversion of spiral arteries is retention of smooth muscles in their walls, so that vaso-reactivity of vascular pool persists in about 30–50%, which may lead not only to decreased perfusion of intervillous spaces, but also, more importantly, to inter-

mittent perfusion. Since the placenta and fetus continuously extract oxygen, the result may be transitory hypoxia [5] with consequential chronic damage.

Increased oxidative stress in placenta of women with PEE is well documented [6-8]. The imbalance of oxidative/antioxidative relation affects more sensitive tissues, which leads to lipid peroxidation. In cases of increased oxidative stress, lipid peroxidation leads to damage of unsaturated fatty acids in cell membranes [9]. Lipid peroxidation is directly involved in the process of maternal endothelial dysfunction by increase of thromboxane A2 production. The level of lipid peroxidation is increased in pregnancy above the non-pregnant levels even in normal pregnancies, which indicates certain degree of physiological oxidative stress [10,11]. Free fatty acids are particularly sensitive to oxidation and increase 15 to 20 weeks prior to PEE [12]. Changes in concentrations of some markers of oxidative stress precede the development of clinical symptoms, which indicates the primary phenomenon of chronic oxidative

Abbreviations

TBARS	– thiobarbituric acid reactive substances
TAS	– systolic arterial pressure
TAD	– diastolic arterial pressure
MDA	– malondialdehyde
PEE	– pre-eclampsia
oxLDL	– oxidative lipoprotein of the low density

stress [13]. Unlike in abortion, where the degeneration of placental tissue is fast and generalized, the placental degeneration is progressive in PEE and it may be compensated for a certain period of time, depending on the degree of initial placental defect and basal antioxidative capacity of placenta.

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) are biochemical parameters of oxi-redox homeostasis, pro-oxidative marker and well defined method for screening and monitoring of lipid peroxidation.

The aim of the study was to establish the concentrations of markers of oxidative stress in healthy pregnant women and pregnant women with symptoms of PEE.

Material and Methods

The study was conducted at the Department of Obstetrics and Gynaecology, Clinical Centre of Vojvodina, in the period April/December 2010, after getting the approval of Ethics Committee of Clinical Center of Vojvodina. Sixty patients were included in the study: 30 pregnant women with PEE formed the study group and 30 healthy pregnant women, with uncomplicated pregnancies were in the control group. All patients signed the informed consent to participate in the study.

The inclusion criteria for the study group were: primipara, singleton pregnancy, gestation of 24 weeks and more, systolic arterial pressure (TAS) of 90 mmHg and higher, diastolic arterial pressure (TAD) of 145 mmHg and higher, 24h proteinuria above 300 mg, lack of other complications except symptoms of pre-eclampsia. The inclusion criteria for the control group of healthy pregnant women were: primipara, singleton pregnancy, gestation of 24 weeks and more, no complications of pregnancy, no chronic diseases before and during the ongoing pregnancy. The exclusion criteria in the study group were the development of other complications except PEE symptoms, and in the control group, the development of any complications of pregnancy (high blood pressure, proteinuria, pathological values of carbohydrate metabolism, acute infections, bleeding, preterm rupture of membranes, preterm delivery, etc).

Two ml of plasma was taken from every patient, and frozen at -20 degrees of Celsius. TBARS levels were determined by the equivalent malondialdehyde (MDA) standards, according to the recommendations of test manufacturer (OxiSelect™ TBARS Assay Kit (MDA Quantitation), and the result was obtained by spectrophotometry.

Results

During the study, the results from 57 pregnant women were analyzed and divided into two groups -

Table 1. Comparison of gestations**Table 1.** Komparacija gestacija

Gestation/Gestacija	Groups/Grupe		Total/Ukupno
	PEE	No PEE/Nema PEE	
24	2	1	3
25	1	1	2
27	2	2	4
28	3	3	6
29	1	1	2
30	1	2	3
31	1	1	2
32	4	4	8
33	2	2	4
34	4	4	8
35	1	1	2
36	5	6	11
37	1	1	2
Total/Ukupno	28	29	57

PEE group (n=28 women) and the group of healthy pregnant women, the same gestations as the women in the study group (the control group, n=29). The gestations in both groups were adequately paired (**Table 1**).

The gestational age was approximately the same in the study subjects and the controls. The average gestation in the PEE group was 31.54 gestational weeks (min 24, max 37, SD=3.92), and in the control group, it was 31.9 gestational weeks (min 24, max 37, SD=3.66). The difference was not statistically significant (p=0.72) (**Table 2**).

Table 2. Gestational age**Table 2.** Gestacijska starost

Parameter/Parametar	N	Mean/Prosek	SD	Min	Max	p
Gestation PEE	28	31.54	3.92	24	37	0.721
Gestacija No PEE/Nema PEE	29	31.90	3.66	24	37	
Total/Ukupno	57	31.72	3.76	24	37	

The pregnant women were of approximately the same age in the study and in the control group, it being 30.43 years (SD 6.24), and 27.9 years (SD 5.7), respectively; the difference was not statistically important (p=0.116).

The difference of the TBARS in the two groups was established by a Mann Whitey non-parametric test because of the large amount of deviation found between the two groups. The average value of TBARS was 36 µM (min 9.6, max 112, SD 25) and 24.8 µM (min 5.71, max 56.3, SD 16.4) in the group with pregnant women with PEE and in the group of women without PEE, respectively. The difference between the concentrations of TBARS in the two groups was not statistically significant (p=0.107) (**Table 3**).

Table 3. TBARS Concentrations**Table 3.** TBARS koncentracije

Parameter/Parametar	N	Mean/Prosek	SD	Min	Max	P
TBARS With PEE/Ima PEE	28	36,0	25,0	9,60	112	0,107
No PEE/Nema PEE	29	24,8	16,4	5,71	56,3	
Total/Ukupno	57	30,3	21,6	5,71	112	

Discussion

Pregnancy-induced hypertension, pre-eclampsia and eclampsia are parts of hypertensive syndrome which is a life-threatening condition both for the mother and fetus [14]. Pregnancy itself is a state of increased oxidative stress, and the increase of the oxidative damage is considered important for the development of pregnancy complications such as PEE. TBARS values above 20 μM indicate oxidative stress, so that, based on the TBARS levels of the PEE group and the control group in our study, it is shown that oxidative stress is found in pregnancy, and that it is increased in the PEE group compared to the healthy controls, although not statistically significantly ($p=0.107$). Rajkfers et al [15] showed that the levels of oxidative lipoprotein of low density (oxLDL) were lower in women with PEE than in normotensive pregnant women of the same gestational age (181 ± 12 mmHg vs. 219 ± 14 mmHg; $p=0.027$), while there was no difference in the concentrations of TBARS. In this study, TBARS values were higher in women with PEE when compared with the TBARS values in pregnant women at term (3.8 ± 0.6 vs. 1.5 ± 0.2 ; $p=0.01$). In pregnant normotensive women, however, TBARS values were lower at term compared to the values in women with uncomplicated pregnancies in the early third trimester ($p<0.0001$), which indicates that plasma concentrations of TBARS decrease during the third trimester. The women with PEE had also lower values of plasma concentration oxLDL compared with the controls of the same gestations, which indicates that oxLDL may be a marker for PEE. In our study, there was no correlation of TBARS values with the gestation either in the PEE or in the healthy pregnant women group.

By comparing the concentration activity of calcium-activated adenosine triphosphatase (Ca-ATPase) and TBARS of plasmatic membranes from myometriums and trophoblast of normotensive women and women with PEE it was found that the activity of Ca-ATP myometrial and placental trophoblasts in women with PEE was about 50% lower than in normotensive women, while the TBARS levels were lower. This

can be the result of high cytosol concentrations of calcium in the smooth cells of blood vessels in women with PEE and it can be explained partly by the development of high pressure in these women [16].

Plasma concentrations of TBARS as a product of lipid peroxidation, protein carbonyl, the product of protein oxidation and a tumor necrosis factor α (TNF- α) and IL-6, which assesses the inflammation, are higher in the women with PEE than in normotensive women at around 20 gestational weeks [17].

In the meta-analysis of the studies done until 2008 in which the Cochrane database was used, it was shown that there was an increase of malondialdehyde, the product of lipid peroxidation, in the women with PEE when compared to the controls (95% CI: 0.76, 1.66). Compared with the controls, the total standardized difference in the values of TBARS in serum was by 1.62 nmol/mL higher in women with PEE (95% CI: 0.27, 2.96), while the serum concentrations of vitamin E and vitamin C were lower in PEE than in healthy women (95% CI: -1.77, -0.48; 95%CI: -1.03, -0.02). The overall standardized difference for superoxide dismutase, the important antioxidant enzyme, was -2.37 (95% CI: -4.76, 0.03), which is marginally statistically significant decrease in PEE compared to the controls. This study has shown that in PEE there are not only higher concentrations of markers of oxidative stress, but also lower concentrations of antioxidative substances [18].

Conclusion

Although the results of our study do not offer final conclusions about the mechanism of the role of oxidative stress in the pathogenesis of pre-eclampsia, they may have a role in further research in this field, with the larger numbers of patients since they show the differences in the level of enzyme activities in oxidative stress in pregnant women with pre-eclampsia and open new opportunities in defining markers for the screening of population of pregnant women for the development of pre-eclampsia.

References

1. Wilmut I, Sales DI, Ashworth CJ. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. *J Reprod Fert.* 1986;76:851-64.
2. Palmer AE, London WT, Sly DL, Rice JM. Spontaneous preeclamptic toxemia of pregnancy in the patas monkey (*Erythrocebus patas*). *Lab Anim Sci.* 1979;29:102-6.
3. Dietl J. Maternal obesity and complications during pregnancy. *J Perinat Med.* 2005;33:100-5.
4. Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, McFadyen IR, Van Assche FA. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol.* 1994;101:669-74.
5. Hung TH, Skepper JN, Burton G. In vitro ischemia-reperfusion injury in term human placenta as a model for oxidative stress in pathological pregnancies. *Am J Pathol.* 2001;159:1031-43.
6. Hubel CA, Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rogers GM, McLaughlin MK. Lipid peroxidation in pregnancy: new perspectives on preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161:1025-34.
7. Zusterzeel PLM, Rutten H, Roelofs HMJ, Peters WHM, Steegers EAP. Protein carbonyls in decidua and placenta of pre-eclamptic women as markers for oxidative stress. *Placenta.* 2001;22:213-9.
8. Vanderlie J, Venardos K, Clifton VL, Gude NM, Clarke FM, Perkins AV. Increased biological oxidation and reduced anti-oxidant enzyme activity in pre-eclamptic placentae. *Placenta.* 2005;26:53-8.
9. Brkic S, Tomic S, Maric D, Novakov Mikic A, Turkulov V. Lipid peroxidation is elevated in female patients with chronic fatigue syndrome. *Med Sci Monit* 2010;16(12):CR628-32.
10. Wang Y, Walsh SW. Increased superoxide generation is associated with decreased superoxide dismutase activity and

mRNA expression in placental trophoblast cells in preeclampsia. *Placenta*. 2001;22:206-12.

11. Walsh SW. Lipid peroxidation in pregnancy. *Hypertens Pregnancy*. 1994;13:1-31.

12. Lorentzen B, Endersen MJ, Clausen T, Henriksen T. Fasting serum free fatty acids and triglycerides are increased before 20 weeks of gestation in women who later develop preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 1994;13:103-9.

13. Scholl TO, Leskiw M, Chen X, Sims M, Stein TP. Oxidative stress, diet, and the etiology of preeclampsia. *Am J Clin Nutr*. 2005;81:1390-6.

14. Grujić I, Milasinović L. Hypertension, pre-eclampsia and eclampsia: monitoring and outcome of pregnancy. *Med Pregl* 2006;59(11-12):556-9.

15. Rajmakers MTM, van Tits BJH, Hak-Lemmers HLM, Roes ER, Steegers EAP, Peters WHM. Low plasma levels of oxidized low density lipoprotein in preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004;83(12):1173-7.

16. Carrera FC, Proverbio T, Proverbio F, Marín R. Preeclampsia and calcium-ATPase activity of plasma membranes from human myometrium and placental trophoblast. *Hypertens Pregnancy* 2003;22(3):295-304.

17. Bernardi F, Guolo F, Bortolin T, et al. Oxidative stress and inflammatory markers in normal pregnancy and preeclampsia. *J Obstet Gynecol Res*. 2008;34:948-51.

18. Gupta S, Aziz N, Sekhon L, Agarwal R, Mansour G, Li J, et al. Lipid peroxidation and antioxidant status in preeclampsia: a systematic review. *Obstet Gynecol Surv*. 2009;64(11):750-9.

Sažetak

Uvod

Preeklampsija je stanje povećane lipidne peroksidacije i smanjenog antioksidantnog kapaciteta. Cilj ovog istraživanja bio je da se utvrdi kretanje nivoa tiobarbituric kiseline (thiobarbituric acid reactive substances) kao markera lipidne peroksidacije u trudnoćama sa preeklampsijom i u zdravim trudnoćama, kao i da se sagleda mogućnost korišćenja ovog markera u skriningu populacije trudnica za razvoj preeklampsije.

Materijal i metode

Ispitivanje je sprovedeno na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Vojvodine, tokom 2010. godine. Ukupno je uključeno 57 jednodnih trudnoća gestacije 24 i više nedelja, 29 bez komplikacija trudnoće, 28 sa simptomima preeklampsije, koja je definisana kao stanje sa sistolnim arterijskim pritiskom od >90 mmHg, dijastolnim arterijskim pritiskom od >145 mmHg,

ključne reči: Oksidativni stres; Komplikacije u trudnoći; Tiobarbiturna kiselina + dijagnostička upotreba; Preeklampsija; Lipidna peroksidacija; Malonilaldehid; Žensko; Hipertenzija; Proteinurija

te 24-časovnom proteinurijom od >300 mg. Nivo tiobarbituric kiseline određivan je malondialdehidom ekvivalentnim standardima, shodno preporuci proizvođača (OxiSelect™ TBARS Assay Kit (MDA Quantitation), Cell Biolabs' OxiSelect™).

Rezultati

Koncentracije tiobarbituric kiseline bile su više kod trudnica sa preeklampsijom nego kod zdravih trudnica, mada ne statistički značajno ($p=0,107$). Nije bilo korelacije koncentracija tiobarbituric kiseline sa gestacijom ni u jednoj grupi.

Zaključak

Razlike u nivoima koncentracija tiobarbituric kiseline između trudnica sa preeklampsijom i zdravih trudnica ukazuju na mogućnost korišćenja tiobarbituric kiseline kao markera u skriningu za razvoj preeklampsije. Potrebna su dalja ispitivanja, sa većim brojem pacijenata radi donošenja konačnih zaključaka.

Rad je primljen 12. XI 2010.

Prihvaćen za štampu 25. XI 2010.

BIBLID.0025-8105:(2011):LXIV:7-8:377-380.

PREGLEDNI ČLANCI

REVIEW ARTICLES

Kklinički centar Vojvodine, Novi Sad
Klinika za neurologiju¹
Institut za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine²

Pregledni članak
Review article
UDK 616.853-07/-08
DOI: 10.2298/MPNS1108381B

JUVENILNA MIOKLONIČNA EPILEPSIJA: NEDOVOLJNO PREPOZNAT SINDROM

JUVENILE MYOCLONIC EPILEPSY: UNDER-DIAGNOSED SYNDROME

Ksenija BOŽIĆ¹, Ksenija GEBAUER BUKUROV¹, Petar SLANKAMENAC¹,
Marijan KNEŽEVIĆ POGANČEV² i Slobodan SEKULIĆ¹

Sažetak – Juvenilna mioklonična epilepsija genetski je determinisana, idiopatska generalizovana epilepsija od koje boluje oko 10% pacijenata sa epilepsijom. Sindrom juvenilne mioklonične epilepsije karakterišu mioklonični trzajevi koji se primarno javljaju posle buđenja, generalizovani tonično-klonični i ponekad apsanzni napadi, normalan neurološki nalaz i tipičan elektroencefalografski zapis. Juvenilna mioklonična epilepsija je najčešće neprepoznat epileptički sindrom. Ispravna i blagovremena dijagnoza je veoma važna jer se primenom adekvatnih antiepileptičkih lekova bolest može uspešno držati pod kontrolom. Iako je prognoza juvenilne mioklonične epilepsije povoljna, kod većine obolelih lečenje je doživotno, s obzirom na činjenicu da je po ukidanju terapije, rizik od ponovnog javljanja epileptičnih napada veliki.

Cljučne reči: Juvenilna mioklonična epilepsija; Dijagnoza; Antikonvulzivi; Znaci i simptomi; Neurološke manifestacije; Elektroencefalografija; Epileptični napadi; Epilepsija

Uvod

Juvenilna mioklonična epilepsija (JME) (Janzov sindrom) genetski je determinisan sindrom koji pripada grupi idiopatskih generalizovanih epilepsija (IGE). Prvi opis JME datira iz 19. veka kada je Pritchard (1822) identifikovao *mioklonus* kao *simptom epilepsije*, a Herpin (1867) detaljno opisao pacijenta sa verovatnom JME [1,2]. Tokom pedesetih godina prošlog veka, Janz i Christian su opisali ovaj sindrom kod 47 bolesnika pod nazivom *impulsivni petit mal* [3]. Termin *juvenilna mioklonična epilepsija* uveo je Lund, 1975. godine i on je ubzo prihvaćen i uvršten u internacionalni klasifikacioni sistem [4,5].

Juvenilna mioklonična epilepsija, kao najznačajni i najčešći tip IGE (26%), obuhvata oko 10% svih epilepsija [6]. Smatra se da je prevalencija i veća jer se u mnogim slučajevima dijagnoza JME previdi, a oboljenje pogrešno klasifikuje. Procenjuje se da je procenat pogrešne dijagnoze JME visok i do 90% što za posledicu ima kašnjenje u postavljanju dijagnoze i započinjanju lečenja [7, 8].

Etiopatogeneza

Neuroimidžing studije

Patofiziologija JME nije poznata. Zahvaljujući napretku neuroimidžing tehnologije moguće je kod nekih pacijenata sa IGE i JME detektovati mikroskopske, strukturne abnormalnosti moždane kore koje se označavaju terminom mikrodisinezija. Smatra se da su ove promene manifestacija malformacije razvoja kore čija uloga u epileptogenezi još uvek nije rasvetljena [9].

Rezultati kvantitativnog, magnetnorezonantnog imidžinga (MRI) mozga ukazuju da pojedini pacijenti sa JME imaju značajno veći volumen kortikalnih struktura (meziofrontalno, frontobazalno i u prednjim delovima talamusa) [10,11]. Primenom magnetnorezonantne spektroskopije (MRS) mozga nalazi se da je koncentracija N-acetil aspartata (NAA) smanjena u frontalnom režnju i u talamusu kod JME ali ne i kod drugih tipova IGE [12,13]. Oboleli sa sniženim frontalnim NAA imaju lošije rezultate egzekutivnih funkcija na neuropsihološkim testovima. Porast koncentracije frontalnog glutamata i glutamina ukazuje na povećanu neuronalnu ekscitabilnost [14]. Studije pozitron emisije tomografije (PET), takođe, potvrđuju da pacijenti sa JME mogu imati kortikalnu dezorganizaciju koja narušava i epileptogeni potencijal i kognitivno funkcionisanje frontalnog režnja [15].

Na osnovu dosadašnjih kliničkih, morfoloških i metaboličkih nalaza temelji se i pretpostavka da je JME frontalna varijanta multiregionalne, talamokortikalne epilepsije a ne generalizovani epileptički sindrom [16]. Aktuelan je stav da postoji potreba za sprovođenjem revizije klasifikacija sindroma IGE [6].

Genetika

Odavno je primećeno da u porodicama pacijenata sa JME postoje i drugi bolesnici sa epilepsijom. Između 50% i 60% pacijenata sa JME ima rođake, prvog i drugog reda, koji boluju od epilepsije [17]. Tip nasleđivanja JME još uvek nije u potpunosti razjašnjen. Najverovatnije da je nasleđivanje autozomno dominantno sa varijabilnom, nekompletnom, penetrantnošću. Učinjen je značajan napor u identifikovanju

Skraćenice

JME	– juvenilna mioklona epilepsija
IGE	– idiopatska generalizovana epilepsija
MRI	– magnetnorezonatni imidžing
MRS	– magnetnorezonatna spektroskopija
PET	– pozitron emisiona tomografija
NAA	– N-acetil-aspartat
HLA	– humani leukocitni antigen
SNP	– <i>single nucleotide polymorphisms</i>
GTKN	– generalizovano tonično-klonični napad
EEG	– elektroencefalogram
VPA	– valproat
LTG	– lamotrigin
LEV	– levetiracetam

vanju mutacija kod pacijenata i porodica sa JME. Prvi pokušaji (1988) ukazali su da se genski lokus za JME nalazi na kratkom kraku hromozoma 6 (6p) i da postoji bliska povezanost ovog gena sa humanim leukocitnim antigenom (HLA-BF) [18]. Do sada je identifikovano 15 različitih hromozomskih lokusa, mutacije 3 major gena, koje uzrokuju monogensku JME, i mutacije 2 SNP gena (engl. *single nucleotide polymorphisms* (SNP) *susceptibility alleles*), za koje se smatra da funkcionišu kao genetski faktor rizika za nastanak JME [19].

Mutacije tri major gena (GABRA1 na 5q34; CICN2 na 3q26 i *myoclonin1/EFHC1* na 6p12) zadovoljavaju kriterijume uzročnih JME gena. Smatra se da su one neophodne i dovoljne za nastanak JME fenotipa. Gen EFHC1, za razliku od druga dva major gena, ne kodira jonske kanale i ima proapoptički efekat [20]. Mutacija EFHC1 gena narušava normalnu apoptozu tokom postnatalnog razvoja centralnog nervnog sistema i dovodi do zadržavanja neželjenih neurona. Mikrodisge-nezija, saopštavana kod JME, bi mogla biti vidljiva manifestacija ovog procesa. Pal i saradnici su, 2003. godine, pokazali da je mutacija gena BRD2 (RING3) na hromozomu 6p21.3 (*SNP susceptibility gen*) uzrok autozomno recesivne JME kod jedne njujorske porodice. Gen BRD2 (RING3) je gen regulator nuklearne transkripcije tokom razvoja [21].

Neosporno je da je JME genetski heterogeno obojenje. Iako je otkriveno nekoliko major gena za JME i iako dobijeni nalazi daju moguće objašnjenje patogenetskih mehanizama, otkriveni geni doprinose razjašnjenju etiopatogeneze samo kod malog broja JME slučajeva sugerirajući multifaktorijalno i kompleksno nasleđivanje kod većine.

Kliničke karakteristike

Kod 80% pacijenata sa JME bolest počinje između 12. i 18. godine života [22]. Klinički, JME karakteriše kombinacija tri tipa epileptičnih napada: mioklonični, generalizovano tonično-klonični i apsansi.

Mioklonične napade imaju svi pacijenti i oni predstavljaju *sine qua non* dijagnoze JME. Mogu se javiti i kao jedini tip napada kod 3-5% pacijenata sa JME [23]. Javljaju se 30 minuta ili jedan sat nakon buđenja, retko u drugo vreme ukoliko pacijent nije umoran. Za mioklone trzajeve je karakteristično da

su kratkotrajne, bilateralne, obično simetrične, sinhrono mišićne kontrakcije koje predominantno zahvataju ramena i ruke. Amplituda i snaga trzajeva varira. Svest je uvek očuvana.

Generalizovani tonično-klonični napadi (GTKN) se javljaju kod > 90% pacijenata sa JME [22]. Ovim napadima obično prethode generalizovane mioklonične rastuće frekvencije i intenziteta. Predominatno se javljaju nakon buđenja.

Kod 1/3 pacijenata mogu se javiti i apsanski napadi. Apsansi su relativno retki, kratki, javljaju se u bilo koje doba dana, u budnosti. Težina apsansih napada je obrnuto proporcionalna uzrastu i oni su blaži ukoliko se jave posle 10. godine života [24,25].

Početak pojedinih tipova epileptičnih napada je uzrasno specifičan [26]. Retko, JME može početi ili postati klinički prepoznatljiva u adultnom dobu (*adultna mioklonična epilepsija*) [27].

JME je ne samo genetski već i klinički heterogen sindrom. Studija koju su sproveli Martinez-Juarez i saradnici (2006), ukazala je na postojanje četiri podgrupe JME. Najbrojnija je klasična JME (72%) sa mioklonim ili GTKN adolescentnog početka i sa retkim apsansima kod 1/3 pacijenata. Drugu po učestalosti čini podgrupa dečje apsanske epilepsije sa evolucijom u JME (18%). Preostale dve podgrupe su retke i obuhvataju JME sa apsansima u adolescenciji (7%) i JME sa astatičkim napadima (3%) [28].

Deprivacija spavanja i naglo buđenje (58,3%-89,5%), umor (73,7%) i konzumiranje alkohola (51,2%) najsnažniji su precipitatori miokloničnih i GTKN kod JME [29]. U precipitatore se ubraja i menzes (24,1%), mentalni napor (22,8%), stres i uzbuđenje (12,3%) [26]. Osim fotosenzitivnosti (30%-40%) česti su i drugi refleksi napadi: indukcija praksijom ($\geq 30\%$), perioralni refleksi mioklonus ($\sim 25\%$) i senzitivnost na zatvaranje očiju (3-4%) [30].

Dijagnoza i diferencijalna dijagnoza

Juvenila mioklonična epilepsija se lako dijagnostikuje s obzirom na karakterističan klaster miokloničnih i drugih generalizovanih epileptičnih napada, njihovu cirkadijalnu distribuciju, precipitirajuće faktore i tipični elektroencefalografski (EEG) zapis.

Kod pacijenata sa JME osnovna aktivnost na EEG-u je najčešće normalna [26]. U interiktalnom EEG-u se mogu registrovati generalizovana i iregularna izbijanja šiljak-talas i polišiljak-spor talas kompleksa frekvencije 3-5 Hz sa frontocentralnom predominacijom [31]. Hiperventilacija potencira EEG abnormalnosti a intermitentna fotostimulacija šiljak-talas izbijanja kod 1/3 bolesnika [26]. Iktalni EEG kod miokloničnih napada uvek beleži bilateralna pražnjenja višestrukih šiljak-talas kompleksa. Broj šiljaka u jednom kompleksu varira 5-20 i u pozitivnoj je korelaciji sa intenzitetom mioklonija. Šiljci su generalizovani, skoro uvek simetrični, visoke frekvencije (10-16 Hz), obično praćeni sporim talasom frekvencije 2,5-5 Hz [31,32]. Početak i maksimalna voltaža se vidi iznad frontalnih regiona [33,

34]. Na iktalnom EEG-u se mogu registrovati i klasični, pravilno formirani šiljak–talas kompleksi od 3 Hz, obično udruženi sa apsansima.

Suptilne fokalne abnormalnosti se mogu videti u EEG zapisu kod 30-50% pacijenata u vidu sporih talasa, šiljaka, oštirih talasa ili kao generalizovano izbijanje fokalnog početka predominantno frontalno [33,35].

Ukoliko je EEG normalan kod bolesnika sa klinički verovatnom JME, neophodno je uraditi EEG nakon deprivacije spavanja koji značajno povećava senzitivnost metode [32].

Elektrofiziološke studije kod obolelih od JME ukazuju na visoku amplitudu P25 i N33 somatosenzornih evociranih potencijala [36]. Neurološki nalaz i inteligencija su normalni kao i nalazi kompjuterizovane tomografije i magnetne rezonancije mozga. Ukoliko klinički i EEG nalaz ukazuju na dijagnozu JME, nema potrebe za imidžing dijagnostikom izuzev kod pacijenata sa refrakternom JME.

Na listi diferencijalno-dijagnostičkih teškoća na prvom mestu je juvenilna apsansna epilepsija za koju su tipični apsansi sa izraženom izmenom svesti, a ne mioklonični trzajevi sa cirkadijalnom distribucijom. Kod epilepsije sa grand mal napadima buđenja, za razliku od JME, nema miokloničnih napada. Diferencijalno-dijagnostički dolaze u obzir i apsansna epilepsija sa mioklonijom kapaka, epilepsija sa miokloničnim apsansima i, iako retke, progresivne mioklone epilepsije. Takođe, treba isključiti hipnagogne mioklonije (normalan fenomen) i stečene mioklonije (npr. kod postanoksičnih stanja).

Lečenje i prognoza

Opšteprihvaćeni principi lečenja epilepsije često nisu prihvatljivi u sindromu JME. Lečenje treba započeti odmah nakon prvog GTKN jer je GTKN kod JME obično prvi prepoznati epileptični napad nakon mnogih miokloničnih i apsansnih napada. Obustavljanje antiepileptične terapije, nakon postizanja dvogodišnje ili trogodišnje remisije, obično je pogrešna odluka s obzirom na visoku stopu relapsa kod JME (kod više od 80% pacijenata).

Terapija JME se bazira na primeni antiepileptičnih lekova i na kontroli precipitirajućih faktora. Tradicionalno, valproat (VPA) se smatra lekom prvog izbora [37]. Primenom valproata postiže se potpuna kontrola sva tri tipa epileptičnih napada kod ~80% pacijenata [38]. Povoljan odgovor se kod odraslih može postići i primenom malih doza VPA (500 mg/dan) [39]. Terapija valproatom može biti limitirana usled neželjenih dejstava ili odsustva efikasnosti kod oko 20% obolelih [40]. Tada se preporučuje alternativna monoterapija primenom antiepileptičkih lekova novije generacije. Lamotrigin (LTG),

iako efikasan kod većine, može dovesti do pogoršanja miokloničnih napada, posebno pri primeni visokih doza [41,42]. Topiramata je efikasan u kontroli GTKN i miokloničnih napada kod oko 60% pacijenata [43]. Sve je više dokaza da bi levetiracetam (LEV) mogao biti prva alternativa za VPA jer se dobro podnosi, ima mali interaktivni potencijal i efikasan je u kontroli i miokloničnih napada (58,3% vs 23,3% placebo). Primenom LEV može se postići potpuna remisija kod 80% pacijenata [41].

Efikasna je i kombinovana terapija VPA i LTG koja ima sinergistički efekat ali ima povećan teratogeni rizik i rizik od pojave kožne ospe. Smatra se da bi najbolji izbor mogao biti kombinacija LEV i LTG ili LTG i klonazepama (suzbija promioklonični efekat LTG).

Kod JME kontraindikovana je primena karbamazepina, okskarbazepina i fenitoina jer mogu pogoršati mioklonične i apsansne napade. Zbog neefikasnosti ne preporučuje se primena gabapentina, tiagabina, pregabalina i vigabatrina.

Uz adekvatnu antiepileptičku terapiju prognoza JME je povoljna. Prediktori farmakorezistencije su koegzistiranje sva tri tipa epileptičnih napada i udružnost psihijatrijskih problema. Lečenje je dugotrajno, kod većine i doživotno s obzirom da je rizik od relapsa po ukidanju terapije veliki.

Zaključak

Iako uobičajena, juvenilna mioklonična epilepsija se često pogrešno i kasno dijagnostikuje. Sa dijagnozom se kasni u proseku 8 godina (8,3±5,5 godina) [7, 44]. Osnovni klinički razlog je neprepoznavanje miokloničnih napada. Pacijenti se najčešće obraćaju lekaru nakon prvog generalizovanog tonično-kloničnog napada i obično spontano ne saopštavaju da imaju trzajeve smatrajući ih ili nevažnim ili normalnim fenomenom. Lekari, često, tokom intervjuja ne istražuju postojanje mioklonija i precipitirajućih faktora. Skloni su da mioklone trzajeve interpretiraju kao stres ili parcijalne epileptične napade. Nije retko da se apsansi pogrešno interpretiraju kao složeni parcijalni napadi a da se mišićni trzajevi pogrešno shvate kao fokalni motorni napadi. Zabuni doprinosi i relativno čest nalaz žarišnih abnormalnosti na elektroencefalogramu (30%). Elektroencefalogram treba uraditi pre započinjanja lečenja a za potvrdu dijagnoze presudna je serijska elektroencefalogramska registracija.

Korektna dijagnoza juvenilne mioklonične epilepsije ima značajan uticaj na tretman i ishod kod pacijenata. Kašnjenje u prepoznavanju narušava kontrolu napada, može dovesti do lošijeg uspeha u školi i socijalnih poteškoća kod deteta, do epileptičkog statusa pa čak i do smrti.

Literatura

1. Genton P, Gelisse P. Juvenile myoclonic epilepsy. *Arch Neurol* 2001;58:1487-90.
2. Herpin TH. Des ascès incomplets de l'épilepsie. Paris: J Balliere et fils; 1867.
3. Janz D, Christian W. Impulsiv-Petit mal. *Dtsch Z Nervenheilkd* 1957;176:346-86.
4. Lund M, Reintoft H, Simonsen N. Ein kontrolleret sociolog psykologisk undersøgelse af patienter med juvenil myoklon epilepsi. *Ugeskr Laeger* 1975;137:2415-8.
5. Commission on classification and terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia* 1989;30:389-99.
6. Zifkin B, Andermann E, Andermann F. Mechanisms, genetics, and pathogenesis of juvenile myoclonic epilepsy. *Curr Opin Neurol* 2005;18:147-53.
7. Panayiotopoulos CP, Tahan R, Obeid T. Juvenile myoclonic epilepsy: factors of error involved in the diagnosis and treatment. *Epilepsia* 1991;32:672-6.
8. Grunewald RA, Chroni E, Panayiotopoulos CP. Delayed diagnosis of juvenile myoclonic epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992;55:497-9.
9. Eriksson SH, Malmgren K, Nordborg C. Mycrodisgenesis in epilepsy. *Acta Neurol Scand* 2005;111:279-90.
10. Woermann FG, Free SL, Koepp MJ, et al. Abnormal cerebral structure in juvenile myoclonic epilepsy demonstrated with voxel-based analysis of MEI. *Brain* 1999;122:2101-8.
11. Betting LE, Mory SB, Li LM, et al. Voxel-based morphometry in patients with idiopathic generalized epilepsies. *Neuroimage* 2006;32:4988-502
12. Savic I, Lekvall A, Greitz D, et al. MR spectroscopy shows reduced frontal lobe concentrations of N-acetyl aspartate in patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia* 2000;41:290-6.
13. Lin K, Carrete H Jr, Lin J, et al. Magnetic resonance spectroscopy reveals an epileptic network in juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia* 2009;50(5):1191-200.
14. Koepp MJ, Duncan JS. Epilepsy. *Curr Opin Neurol* 2004;17:467-74.
15. Swartz BE, Simpkins F, Halgren E, et al. Visual working memory in primary generalized epilepsy: an 18FDG-PET study. *Neurology* 1996;47:1203-12.
16. Koepp MJ. Juvenile myoclonic epilepsy: a generalized epilepsy syndrome? *Acta Neurol Scand Suppl* 2005;181:57-62.
17. Delgado-Escueta AV, Greenberg DA, et al. Mapping the gene for juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia* 1989;30:S1-7.
18. Greenberg DA, Delgado-Escueta AV, Widelitz H. Juvenile myoclonic epilepsy may be linked to the BF and HLA loci on human chromosome 6. *Am J Hum Genet* 1988;31:185-92.
19. Delgado-Escueta AV. Advances in genetics of juvenile myoclonic epilepsies. *Epilepsy Curr* 2007;7(3):61-7.
20. Suzuki T, Delgado-Escueta AV, Aguan K, et al. Mutation in EFHC1 cause juvenile myoclonic epilepsy. *Nat Genet* 2004;36:843-9.
21. Pal DG, Evgrafov OV, Tabares P, et al. BRD2(RING3) is a probable major susceptibility gene for common juvenile myoclonic epilepsy. *Am J Hum Genet* 2003;73:261-70.
22. Renganathan R, Delanty N. Juvenile myoclonic epilepsy: under-appreciated an under-diagnosed. *Postgrad Med J* 2003;79:78-80.
23. Jain S, Padma MV, Maheshwari MC. Occurrence of only myoclonic jerks in juvenile myoclonic epilepsy. *Acta Neurol Scand* 1997;95:263-7.
24. Panayiotopoulos CP, Obeid T, Waheed G. Absences in juvenile myoclonic epilepsy: a clinical and video-electroencephalographic study. *Ann Neurol* 1989;25:391-7.
25. Panayiotopoulos CP, Obeid T, Waheed G. Differentiation of typical absence seizures in epileptic syndromes: a video EEG study of 224 seizures in 20 patients. *Brain* 1989;112:1039-56.
26. Panayiotopoulos CP, Obeid T, Tahan AR. Juvenile myoclonic epilepsy: a 5-year prospective study. *Epilepsia* 1994;35:285-96.
27. Gilliam F, Steinhoff BJ, Bittermann HJ, et al. Adult myoclonic epilepsy: a distinct syndrome of idiopathic generalized epilepsy. *Neurology* 2000;55:1030-3.
28. Martinez-Juarez IE, Alonso ME, Medina MT, et al. Juvenile myoclonic epilepsy subsyndromes: family studie and long-term follow-up. *Brain* 2006;129:1269-80.
29. Alfradique I, Vasconcelos MM. Juvenile myoclonic epilepsy. *Arq Neuropsiquiatr* 2007;65(4-B):1266-71.
30. Beghi M, Beghi E, Cornaggia CM, Gobbi G. Idiopathic generalized epilepsies of adolescence. *Epilepsia* 2006;47(Suppl 2):107-10.
31. Hrachovy RA, Frost JD Jr. The EEG in selected generalized seizures. *J Clin Neurophysiol* 2006;23:312-32.
32. Sousa NAC, Sousa PS, Garzon E, et al. EEG recording after sleep deprivation in a series of patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Arq Neuropsiquiatr* 2005;63:383-8.
33. Pedersen SB, Petersen KA. Juvenile myoclonic epilepsy: clinical and EEG features. *Acta Neurol Scand* 1998;97:160-3.
34. Mehendiratta MM, Aggarwal P. Clinical and EEG features of patients with juvenile myoclonic epilepsy (JME) from North India. *Seizure* 2002;11:431-6.
35. Alibert V, Grunewold A, Panayiotopoulos CP, et al. Focal electroencephalographic abnormalities in juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia* 1994;35:297-301.
36. Salas-Pung J, Tunon A, Diaz M, et al. Somatosensory evoked potentials in juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia* 1992;33:537-40.
37. Filipović D, Ivetić V, Marcikić-Rabi T, Naumović N, Lažetić B, Božić K, i sar. Mehanizmi epileptogeneze i antiepileptički lekovi. *Med Pregl* 1997;50(11-12):511-5.
38. Panayiotopoulos CP. Treatment of typical absence seizures and related epileptic syndromes. *Paediatr Drugs* 2001;3:379-403.
39. Hitirs N, Brodie MJ. Evidence-based treatment of idiopathic generalized epilepsies with older antiepileptic drugs. *Epilepsia* 2005;46(Suppl 9):S149-S153.
40. Kelemen A, Božić K, Žikić M, Gebauer K, Filipović D. Specifičnosti antiepileptičke terapije u razvojnom dobu. *Med Pregl* 1999;52(9-10):343-50.
41. Verrotti A, Manco R, Marco G, et al. The treatment of juvenile myoclonic epilepsy. *Expert Rev Neurother* 2006;6:847-54.
42. Bergey GK. Evidence-based treatment of idiopathic generalized epilepsies with new antiepileptic drugs. *Epilepsia* 2005;46(Suppl 9):S161-S168.
43. Sousa PS, Araujo Filho GM, Garzon E, et al. Topiramate for the treatment of juvenile myoclonic epilepsy. *Arq Neuropsiquiatr* 2005;63:733-7.

Summary

Introduction

Juvenile myoclonic epilepsy is an idiopathic, hereditary form of epilepsy. Although juvenile myoclonic epilepsy is a well defined clinical syndrome, attempts at diagnosing it commonly fail.

Etiopathogenesis

The exact cause of juvenile myoclonic epilepsy remains unknown. Clinical, morphological and metabolic data suggest a preferential role for frontal regions in this syndrome. Several major genes for juvenile myoclonic epilepsy have been identified, but these genes account for only a small proportions of juvenile myoclonic epilepsy cases, suggesting multifactorial or complex inheritance in most.

Clinical Manifestations

Juvenile myoclonic epilepsy is characterized by the triad of myoclonic jerks on awakening (all patients), generalized tonic-clonic seizures (>90% of patients) and typical absences (about one third of patients). Seizures have an age-related onset, circadian distribution and are frequently precipitated by sleep deprivation, fatigue and alcohol intake. Intelligence is normal.

Key words: Myoclonic Epilepsy, Juvenile; Diagnosis; Anticonvulsants; Signs and Symptoms; Neurologic Manifestations; Electroencephalography; Seizures; Epilepsy

Rad je primljen 1. IV 2010.

Prihvaćen za štampu 16. IV 2010.

BIBLID.0025-8105:(2011):LXIV:7-8:381-385.

Diagnosis

Juvenile myoclonic epilepsy diagnosis is based upon clinical criteria and typical electroencephalographic findings (generalized pattern of spikes and/or polyspikes and waves). All other tests are normal.

Treatment and Prognosis

Both medical treatment and counselling are important in the management of juvenile myoclonic epilepsy. Mono-therapy with valproate is the preferred treatment. Some of the newer antiepileptic drugs have been suggested as possible alternatives. Juvenile myoclonic epilepsy has a good prognosis. Lifelong treatment is usually considered necessary in vast majority of patients due to the increased risk of relapse if treatment is discontinued.

Conclusion

Juvenile myoclonic epilepsy is a common, although under-diagnosed epileptic syndrome. The clinician should study the occurrence of myoclonic jerks and should consider atypical presentations.

Medicinski fakultet Kragujevac
Katedra za patološku fiziologiju¹
Klinički centar Kragujevac
Klinika za oftalmologiju²

Pregledni članak
Review article
UDK 616-008.9:612.8
DOI: 10.2298/MPNS1108386J

OTPORNOST NERNVIH ĆELIJA NA OKSIDATIVNA OŠTEĆENJA

RESISTANCE OF NERVE CELLS TO OXIDATIVE INJURY

Zorica JOVANOVIĆ¹ i Svetlana JOVANOVIĆ²

Sažetak – Reaktivni oblici kiseonika se stvaraju u malim količinama u ćelijama tokom normalnog metabolizma. Oni su posebno aktivni u mozgu i nervnom tkivu gde učestvuju u različitim ćelijskim funkcijama, uključujući smrt i opstanak ćelije. Velika metabolička aktivnost i prisustvo prelaznih metala čine mozak idealnom metom za dejstvo slobodnih radikala. Pored toga, mozak je veoma osetljiv na oksidativni stres zbog visokog sadržaja lipida i relativno male regenerativne sposobnosti u odnosu na ostala tkiva. Smanjena efikasnost sistema glutationa u detoksikaciji peroksida doprinosi većem oksidativnom stresu u neuronima u poređenju sa ostalim nervnim ćelijama. Mikroglijalne ćelije su neophodne za normalno funkcionisanje centralnog nervnog sistema ali, s druge strane, poseduju veliki potencijal za proizvodnju reaktivnih jedinjenja kiseonika. Kada su prekomerno aktivisane i neregulisane, postaju neurotoksične. Mreže antioksidanasa u mozgu su dovoljno blage da omoguće slanje poruka, a istovremeno pruže adekvatnu zaštitu neurona od oksidativnog oštećenja.

Gljučne reči: Neuron; Oksidativni stres; Slobodni radikali; Glutation peroksidaza; Antioksidanti; Peroksiredoksini; Vodoni peroksid; Mikroglija; Neurodegenerativne bolesti

Uvod

Sve aerobne ćelije trpe oksidativna oštećenja, ali mozak je veoma osetljiv na oksidativni stres i pogodan za stvaranje slobodnih radikala [1,2]. Jedan od razloga je velika metabolička aktivnost, s obzirom da mozak troši oko 20% bazalne potrošnje kiseonika. U toku ćelijske respiracije 1-3% elektrona „izbegne” transportni lanac elektrona u mitohondrijama i reakcijom sa kiseonikom proizvede izvesnu količinu slobodnih radikala. Facchinetti i saradnici [3] ističu da mozak sadrži velike količine polinezasićenih masnih kiselina, koje su znatno osetljivije na peroksidaciju od mononezasićenih. Do oštećenja mozga mogu dovesti i proizvodi lipidne peroksidacije, kao što je 4-hidroksinonenal, koji je posebno citotoksičan za neurone, jer povećava koncentraciju intracelularnog kalcijuma, dovodi do inaktivacije transportera za glutamat i oštećenja neurofilamenata proteina [4]. Najveći deo gvožđa u mozgu se nalazi u sastavu feritina, a nešto u hemosiderinu [5,6]. Gvožđe uglavnom donosi transferin preko krvno-moždane barijere [5]. Oštećenjem mozga se oslobađaju joni gvožđa u oblicima koji su u stanju da kataliziraju reakcije slobodnih radikala [2]. Ovo „katalitičko” gvožđe može perzistirati, s obzirom da cerebrospinalna tečnost ima mali kapacitet za njegovo vezivanje.

Antioksidativni kapaciteti mozga su skromni. Aktivnost katalaze je niska u većini delova mozga; hipotalamus i supstancija nigra sadrže nešto veće koncentracije od kore i malog mozga [1]. Sistem glutationa je manje efikasan u detoksikaciji peroksida u neuronima nego u astrocitima [7].

Reaktivni oblici kiseonika napadaju glijalne ćelije i neurone, koji su postmitotske ćelije i zbog toga posebno osetljive na oksidativna oštećenja [8]. Postoje mnogobrojni eksperimentalni dokazi da oksidativna oštećenja dovode do programirane ćelijske smrti, odnosno apoptoze [9].

dativna oštećenja dovode do programirane ćelijske smrti, odnosno apoptoze [9].

Mozak i oksidativni stres

Od svih organa mozak je najpogodniji za stvaranje, a s druge strane najosetljiviji na dejstvo reaktivnih oblika kiseonika. Ovo svojstvo mozga je uslovljeno činjenicama da:

1. Nekroza ćelija ili poremećaj jonskih gradijenata (u ishemiji mozga, epilepsiji, neurodegenerativnim oboljenjima) dovodi do oslobađanja glutamata iz neurona, što povećava proizvodnju slobodnih radikala, koji i sami izazivaju oslobađanje ekscitatornih aminokiselina. Tako se stvara začarani krug u kome se ekscitatorne aminokiseline i reaktivni oblici kiseonika međusobno podstiču u nastanku oštećenja nervnih ćelija.

2. Mitohondrije u neuronima stvaraju superoksidni radikal ($O_2^{\bullet -}$), [10], a glavno mesto otpuštanja superoksidnog radikala u mitohondrijama je kompleks NADPH-koenzim Q reduktaze i redukovani oblik koenzima Q.

3. Jedan od pretpostavljenih mehanizama oštećenja neurona u oksidativnom stresu uključuje enzim poli(ADP-ribozo) polimerazu [11], koja je prisutna u neuronima i drugim ćelijama. Reaktivni oblici kiseonika mogu oštetiti put odgovoran za normalno održavanje nukleotidnog statusa, a kako su nukleotidi neophodni za vitalnost, smanjuje se postojanost neurona i povećava osetljivost na druge „stresove”.

4. Gubitak trofičke potpore može da dovede do oksidativnog stresa i apoptoze neurona za koju je delom odgovorna aktivacija enzima NADPH oksidaze, koja je najpre otkrivena u fagocitima, ali je danas poznato da je rasprostranjena u različitim tkivima, gde ima ulogu u odbrani i/ili signalizaciji [12].

Skraćenice

- NADPH – nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
- $O_2^{\bullet-}$ – superoksidni radikal
- NO^{\bullet} – azotni oksid
- ONOO – peroksinitrit anjon radikal
- CNS – centralni nervni sistem
- OH^{\bullet} – hidokrislni radikal
- GSH – redukovani glutation
- A β – beta amiloidni peptid
- NMDA – N-metil-D-aspartat
- ATP – adenozin trifosfat

NADPH oksidaza pokreće neophodne procese apoptoze u toku razvoja nervnog sistema, ali ako je izglubljena trofička potpora u razvijenom mozgu, ona može biti prekomerno aktivirana i dovesti do oštećenja i smrti neurona [13].

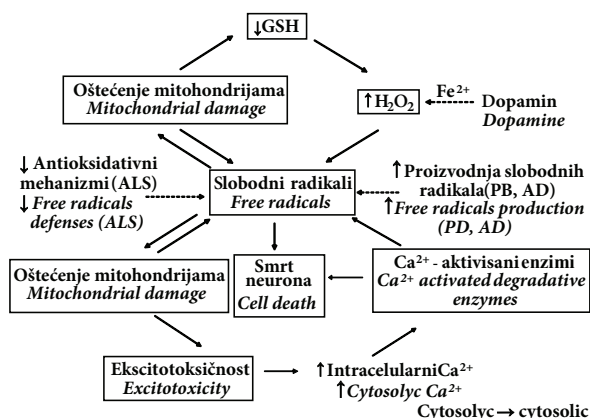
5. Hemoglobin je neurotoksičan. Ovaj protein se normalno bezbedno transportuje u eritrocitima, koji su bogati antioksidativnim enzimima. Međutim, izolovan hemoglobin reaguje sa vodonik-peroksidom (H_2O_2) i drugim peroksidima i stvara oksidanse, sposobne da pokrenu lipidnu peroksidaciju. Hemoglobin takođe vezuje azotni oksid (NO^{\bullet}), koji poseduje osobine slobodnog radikala i regulatora ćelijskih funkcija [14,15]. Ključna mesta akcije NO^{\bullet} na putu reakcija parcijalno redukovanih oblika kiseonika, je reakcija sa $O_2^{\bullet-}$ pri čemu nastaje peroksinitrit anjon radikal (ONOO). Druga reakcija je između NO^{\bullet} i proizvoda lipidne peroksidacije, koja dovodi do terminacije lanca lipidne peroksidacije. Dominantan činilac koji određuje da li će NO^{\bullet} ispoljiti protektivno ili toksično dejstvo je relativan odnos između brzine stvaranja i koncentracije NO^{\bullet} i mnogih tradicionalnih reaktivnih oblika kiseonika.

Mehanizmi citotoksičnog dejstva reaktivnih oblika kiseonika na neurone

Reaktivni oblici kiseonika imaju značajnu ulogu u nekim patološkim stanjima centralnog nervnog sistema (CNS), bilo da direktno oštećuju tkivo ili je njihovo stvaranje posledica oštećenja tkiva. Mehanizmi oštećenja tkiva slobodnim radikalima su različiti: lipidna peroksidacija, oksidativna modifikacija proteina, ekscitotoksičnost, metabolički poremećaji i poremećaji homeostaze intracelularnog kalcijuma.

Lipidi su intezivno proučavani zbog njihove kritične strukturne i funkcionalne uloge u membranama, kao i jednostavnosti metoda kojima lipidna peroksidacija može biti detektovana i merena. Opšte je prihvaćeno da je lipidna peroksidacija jedan od najvažnijih mehanizama oštećenja nervnih ćelija izloženih oksidativnom stresu. Poslednjih godina proteini zaokupljaju sve veću pažnju kao mete za reaktivne oblike kiseonika. Posledice oksidativne modifikacije proteina su različite počev od oštećenja jonskih transportnih sistema, gubitka sposobnosti ćelije da održava normalne jonske gradijente, kao i aktivacije odnosno deaktivacije različitih enzimskih sistema.

Reaktivni oblici kiseonika imaju ključnu ulogu u patogenezi starenja i sa starenjem povezanih obo-



Slika 1. Oksidativni stres i poremećaj mitohondrija u patogenezi neurodegenerativnih oboljenja

(PB – Parkinsonova bolest, ALS – amiotrofična lateralna skleroza, AD – Alchajmerova demencija, H_2O_2 – vodonik peroksid, GSH – redukovani glutation)

Fig. 1. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of neurodegenerative diseases

(PD - Parkinson's disease, ALS - Amyotrophic lateral sclerosis, AD - Alzheimer's disease, H_2O_2 - hydrogen peroxide, GSH - reduced glutathione)

ljenja, kao što su Parkinsonova bolest, amiotrofična lateralna skleroza i Alchajmerova demencija (**Slika 1**). Oksidativni stres nastaje zbog povećane proizvodnje reaktivnih oblika kiseonika (Parkinsonova bolest i Alchajmerova demencija) ili smanjene sposobnosti ćelija da ga neutrališu putem svojih unutrašnjih antioksidanasa (mutacija gena za superoksid dismutazu kod amiotrofične lateralne skleroze). Transportni lanac elektrona u mitohondrijama je značajan izvor slobodnih radikala i pretpostavlja se da akumulacija abnormalnih mitohondrija prethodi taloženju amiloida. Slobodni radikali se proizvode u neuronima i autooksidacijom malih molekula, kao što je dopamin, a kao međuprodukti ove reakcije nastaju melanin i H_2O_2 , koji u prisustvu gvožđa generišu veoma reaktivan hidroksilni radikal (OH^{\bullet}). Neki delovi mozga, posebno bazalne ganglije akumuliraju gvožđe, što ih čini veoma osetljivim na hronični oksidativni stres. Kod neurodegenerativnih oboljenja povećano je oslobađanje glutamata i drugih ekscitatornih aminokiselina koje povećavaju količinu intracelularnog kalcijuma, što je praćeno aktivacijom intracelularnih proteaza, fosfolipaza i endonukleaza, oštećenjem ćelijske membrane, padom energetske rezervi, jonskim disbalansom i oksidativnim stresom. S druge strane, poremećaj energetskog metabolizma i pojava izmenjenih mitohondrija smanjuju koncentraciju redukovanih glutationa (GSH) i slabe antioksidativnu zaštitu. Sve navedeno rezultuje oštećenjem neurona i proizvodnjom novih slobodnih radikala, što stvara začarani krug.

Brojna istraživanja su pokazala da slobodni radikali kod Alchajmerove demencije ubrzavaju agregaciju beta amiloidnog peptida (A β) koji deluje toksično. Amiloid beta izaziva oksidativni stres [16], proizvodi H_2O_2 [17] i hidroksinonenal [18] i dovodi do inaktiva-

cije transportnih enzima [19]. Da bi A β indukovao oksidaciju, neophodna su tri važna uslova: fibrilacija, prisustvo prelaznih metala i metionina 35 [20]. Agregacija i fibrilacija A β se događa samo ako je peptid „star” i ako ga ima u relativno velikim koncentracijama [21]. Važan uslov za agregaciju A β je i prisustvo prelaznih metala [22,23]. U senilnim plakovima je nađena povećana količina bakra, cinka i gvožđa. Amiloid beta i oksidativni stres su signali za pokretanje inflamatornog odgovora mikroglije i astrocita.

Istraživanja Van der Vlieta i Basta [24] ukazuju da oksidativni stres dovodi do poremećaja funkcije receptora i signalne transmisije. Reaktivni oblici kiseonika remete vezivanje liganda za membranske receptore, a takođe i vezivanje receptora za G-protein i efektorne enzime. Sulfhidrilne grupe proteina su posebno osetljive mete, a kako uglavnom svi receptori sadrže jednu ili više sulfhidrilnih grupa ili disulfidnih mostova, to njihova modifikacija remeti funkciju receptora. Tako npr. N-metil-D-aspartat (NMDA) receptori sadrže redoks modulatorno mesto sa sulfhidrilnim grupama, koje je odgovorno za aktivaciju ovih receptora. Prekomerna stimulacija NMDA receptora je praćena fenomenom ekscitotoksičnosti i oštećenjem neurona. Reaktivni oblici kiseonika ispoljavaju neurotoksično dejstvo oslobađanjem ekscitatornih aminokiselina ili inhibicijom njihovog iskorišćavanja [25].

Neki neurotransmiteri imaju sposobnost autooksidacije. Dopamin, njegov prekursor L-dopa, serotonin i noradrenalin reaguju sa O $_2$ stvarajući ne samo O $_2^{\cdot-}$, već i hinone/semihinone koji smanjuju rezerve redukovano glutaciona i vezuju se za sulfhidrilne grupe proteina [26]. U mozgu se stvaraju velike količine vodonik-peroksida, ne samo aktivnošću superoksid dismutaze (SOD), već i drugih enzima. Posebno su važne monoamino oksidaze A i B, enzimi koji se nalaze u spoljašnjoj membrani mitohondrija neurona i glijalnih ćelija i odgovorni su sa proizvodnju H $_2$ O $_2$ u mozgu [27].

S druge strane, sve više dokaza ukazuje da su reaktivni oblici kiseonika intraćelijski i međućelijski glasnici u mozgu. Od svih reaktivnih oblika kiseonika jedino H $_2$ O $_2$ poseduje sve osobine sekundarnog glasnika [28]. Postavlja se pitanje kako mreže antioksidanasa u mozgu mogu biti dovoljno blage da omoguću slanje poruka, a istovremeno, mogu da pruže adekvatnu zaštitu ćelija od oksidativnog oštećenja.

Selektivna osetljivost neurona na oksidativni stres

Dok reaktivni oblici kiseonika i azota deluju kao signalni molekuli u fiziološkim koncentracijama, preterana količina tih molekula dovodi do oštećenja i smrti neurona. Međutim odgovor neurona na oksidativni stres nije jedinstven u celom mozgu. Dok su mnogi neuroni veoma otporni na oksidativna oštećenja, postoje određene populacije neurona koje su osetljive [29]. Zbog te selektivne osetljivosti, ovi neuroni obično prvi ispoljavaju funkcionalni pad i smrt u toku normalnog starenja, ali i neurodegenerativnih oboljenja kao što je Alchajmerova demencija [30]. Glavni faktor koji posreduje u

osetljivosti neurona na oksidativna oštećenja je visok nivo oksidativnog stresa, velika potreba za reaktivnim oblicima kiseonika i azota u procesima signalizacije, mala proizvodnja ATP, disfunkcija mitohondrija i inflamatorni odgovor neurona. Selektivnoj osetljivosti na oksidativni stres doprinose i drugi spoljašnji i unutrašnji faktori, kao što je smanjena sposobnost oporavka oštećene DNA, nizak puferski kapacitet za kalcijum, ekscitotoksičnost glutamata.

Oksidativni i antioksidativni potencijal neurona i glijalnih ćelija

Glijalne ćelije (posebno astrociti) su otpornije na oksidativni stres od neurona i ispoljavaju neuroprotektivnu ulogu koja je povezana sa aktivnostima: ekspresijom antioksidativnih enzima, transportom i metabolizmom glukoze, sintezom glutaciona, recikliranjem vitamina C, koji se zatim oslobađa u ekstracelularnu tečnost, gde učestvuje u antioksidativnoj zaštiti neurona [31]. Desagher i saradnici [32] su ukazali da protektivni efekti astrocita u modulaciji neurotoksičnih efekata H $_2$ O $_2$ na neurone zavise u prvom redu od odnosa astrocita i neurona (dobro protektivno dejstvo ispoljava jedan astrocit na 20 neurona).

Rezultati naših ispitivanja pokazali su da su nerвне ćelije pijavice otporne na oksidativni stres izazvan oksidansom sa dugotrajnim dejstvom, vodonik-peroksidom. Ovaj podatak ukazuje da u ovom modelu oksidativnog stresa OH $^{\cdot}$ nije generisan, ili da ganglijske ćelije pijavice imaju efikasan antioksidativni sistem za detoksikaciju H $_2$ O $_2$ [33,34]. S druge strane, potvrđeno je da je organski peroksid, kumen hidroperoksid efikasniji neurotoksin i oksidans od H $_2$ O $_2$, a da je ovaj efekat potenciran sa bakrom [35–37].

Postoji mnogo dokaza da ćelije mikroglije, ako su prekomerno aktivisane i neregulisane mogu dovesti do oštećenja neurona [38,39]. Ove ćelije, proizvode reaktivne oblike kiseonika, ali i citokine. S druge strane, citokini mogu povećati proizvodnju reaktivnih oblika kiseonika i NO $^{\cdot}$ iz mikroglijalnih ćelija. Citokine proizvode i aktivisani astrociti. Na taj način mikroglija i astrociti ostvaruju važnu ulogu ne samo u zaštiti neurona od oksidativnih oštećenja, već i u patogenezi neurodegenerativnih oboljenja [40]. Mikroglijalne ćelije aktiviraju dve vrste nadražaja. Prvo, mikrogliju mogu aktivirati proinflamatorni okidači, kao što je A β , što je praćeno proizvodnjom reaktivnih oblika kiseonika i citokina koji su toksični za neurone. S druge strane, signali oštećenih neurona mogu takođe aktivirati mikrogliju. Ovaj kontinuirani i samoobnavljajući ciklus oštećenja/smrti neurona praćen neurotoksičnom aktivacijom mikroglije se naziva reaktivnom mikrogliazom i može biti osnovni mehanizam progresivne prirode različitih neurodegenerativnih bolesti, uključujući Alchajmerovu demenciju. NADPH oksidaza (koja se naziva i fagocitna oksidaza) je implicirana kao ključni mehanizam putem kojeg mikroglija dovodi do oštećenja, odnosno smrti neurona u odgovoru na A β [41].

S druge strane radi zaštite od oksidativnog oštećenja, mikroglijalne ćelije su razvile efikasne sisteme an-

tioksidativne zaštite. One sadrže velike količine glutati-ona, značajnu aktivnost antioksidativnih enzima, supe-roksid dismutaze, katalaze, glutation peroksidaze, glu-tation reduktaze, kao i enzima za regeneraciju NADPH. Dobar antioksidativni potencijal štiti mikrogljalne ćeli-je od oksidativnih oštećenja koja bi mogla narušiti važ-nu funkciju ovih ćelija u odbrani i regeneraciji mozga [42]. Svi delovi nervnog sistema sadrže SOD, enzim koji je odgovoran za otklanjanje $O_2^{\bullet-}$, katalizujući reak-ciju dismutacije, pri čemu nastaju H_2O_2 i O_2 [2,43] koji funkcioniše zajedno sa enzimima koji uklanjaju H_2O_2 . Enzimi za sintezu GSH i GSH peroksidaze su uglav-nom eksprimirani u glijalnim ćelijama [44]. Iako se sin-teza GSH javlja se u svim ćelijama u mozgu, glija je bo-gatija enzimima za sintezu GSH od neurona [45]. Relati-vna raspodela katalaze u neuronima i gliji je slabije definisana nego GSH i srodnih enzima. Aktivnosti ka-talaze su slične u neuronima i glijalnim ćelijama. Važ-nije je, međutim, zatvaranje katalaze u peroksidomima neurona i glije, što bi moglo [46], olakšati „beg” H_2O_2 signala.

Peroksiredoksini su nova familija antioksidativnih enzima koji su odgovorni za otklanjanje H_2O_2 (uz dva konvencionalna enzima: katalaza i glutation peroksida-za). Ovi enzimi katalizuju redukciju H_2O_2 , organskih hidroperoksida, kao i peroksinitrita [47], a zahtevaju re-dukciju posredstvom tioredoksina [48]. Papadia i sarad-nici [49] su pokazali da sinaptička aktivnost poboljšava aktivnost tioredoksina, olakšava redukciju oksidisanih peroksiredoksina i povećava otpornost neurona na oksid-ativni stres.

Otklanjanje kao i proizvodnja intraćelijskih gla-snika je precizno kontrolisan proces. Ovo se posebno odnosi na H_2O_2 , koji se lako pretvara u veoma reakt-ivni hidroksilni radikal. Današnji nalazi, ukazuju da je askorbat idealan antioksidans u neuronima zbog svoje sposobnosti da dopusti H_2O_2 - posredovanu sig-nalizaciju i da spreči patološke posledice koje bi mo-gle nastati zbog neregulisane proizvodnje H_2O_2 i OH^{\bullet} . Askorbat deluje ekstracelularno i sprečava posledice

dugotrajnog izlaganja dejstvu H_2O_2 , ali nema nika-kvog uticaja na modulaciju oslobađanja dopamina u strijatumu, koja je posredovana endogenim H_2O_2 [50].

Neuroglobin novi neuroprotektor?

Biološki sistemi su razvili zaštitne mehanizme u smislu prevencije od oksidativnog oštećenja. U novije vreme otkriveni su globini, citoglobini, koji su široko rasprostranjeni u tkivima kičmenjaka, a detektovani su u citoplazmi i jedru [51]. Od svih „novih” globina, neu-roglobin je izazvao najveće interesovanje, u prvom redu zbog svoje lokalizacije u neuronima i moguće uloge en-dogenog neuroprotektora. Neuroglobin je prvi put opi-san 2000. godine [52], a mnogo toga je ostalo nepoznato o njegovoj hemiji i funkciji. Rezultati istraživanja su po-kazali da se neuroglobin može svrstati u porodicu hi-poksijom-indukovanih proteina. Pokazano je da neuro-globin može zaštititi ćelije i od drugih (nehipoksičnih oštećenja) [53] što otvara mogućnosti za šire endogene (i potencijalno terapijske) uloge koje nisu ograničene is-ključivo na hipoksijsko-ishemijske poremećaje. Glavni istraživački izazov u ovom području u narednom perio-du će biti bolje razumevanje mehanizama protektivne uloge neuroglobina kod ishemijske mozga i neurodegene-rativnih oboljenja.

Zaključak

Slobodni radikali i drugi reaktivni oblici kiseonika proizvode se u ćelijama u toku različitih fizioloških i bi-ohemijskih procesa. Male koncentracije oksidanasa iza-zivaju ćelijski rast, veće indukuju apoptozu, a veoma velike nekrozu nervnih ćelija. Ovo ukazuje da reaktivni oblici kiseonika nisu isključivo štetni agensi, već mogu biti medijatori fizioloških funkcija, kao što je ćelijska si-gnalizacija. Raspodela antioksidanasa između glijalnih ćelija i neurona je presudna za zaštitu neurona od oksid-ativnih oštećenja i procesa signalizacije.

Literatura

- Halliwell B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs Aging* 2001;18:685-716.
- Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem* 2006;97:1634-58.
- Facchinetti F, Dawson VL, Dawson TM. Free radicals as mediators of neuronal injury. *Cell Mol Neurobiol* 1998;18(6):667-82.
- Ong WY, Lu XR, Hu CY, Halliwell B. Distribution of hydroxynonenal-modified proteins in the kainate-lesioned rat hippocampus: evidence that hydroxynonenal formation precedes neuronal cell death. *Free Radic Biol Med* 2000;28:1214-21.
- Burdo JR, Connor JR. Brain iron uptake and homeostatic mechanisms: an overview. *Biometals* 2003;16:63-75.
- Zecca L, Youdim MB, Riederer P, Connor JR, Crichton RR. Iron, brain ageing and neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurosci* 2004;5:863-73.
- Dringen R, Kussmaul L, Gutterer JM, Hirrlinger J, Ham-precht B. The glutathione system of peroxide detoxification is less efficient in neurons than in astroglial cells. *J Neurochem* 1999;72(6):2523-30.
- Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacology* 2001;40:959-75.
- Salganik RI. The benefits and hazards of antioxidants: controlling apoptosis and other protective mechanisms in cancer patients and the human population. *J Am Coll Nutr* 2001;20:464S-72S.
- Kudin AP, Debska-Vielhaber G, Kunz S. Characterization of superoxide production sites in isolated rat brain and skeletal muscle mitochondria. *Biomed Pharmacother* 2005;59:163-8.
- Schraufstatter IU, Hyslop PA, Hinshaw DB, Spragg RG, Sklar LA, Cochrane CG. Hydrogen peroxide-induced injury of cells and its prevention by inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;8:4908-12.
- Krause KH. Tissue distribution and putative physiological function of NOX family NADPH oxidases. *Jpn J Infect Dis* 2004;57:S28-S29.

13. Sanchez-Carbente MR, Castro-Obregon S, Covarrubias L, Narvaez V. Motoneuronal death during spinal cord development is mediated by oxidative stress. *Cell Death Differ* 2005;12:279-91.
14. Alayash AI. Oxygen therapeutics: can we tame haemoglobin? *Nat Rev Drug Discov* 2004;3:152-9.
15. Hill BG, Dranka BP, Bailey S, Lancaster J, Darley-Usmar V. What part of NO don't you understand? Some answers to the cardinal questions in nitric oxide biology. *J Biol Chem* 2010;285(26):19699-704.
16. Varadarajan S, Yatin S, Aksenova M, Butterfield DA. Review: Alzheimer's amyloid beta-peptide-associated free radical oxidative stress and neurotoxicity. *J Struct Biol* 2000;130:184-208.
17. Behl C, Davis JB, Lesley R, Schubert D. Hydrogen peroxide mediates amyloid beta protein toxicity. *Cell* 1994;77:817-27.
18. Mark RJ, Lovell MA, Markesbery WR, Uchida K, Mattson MP. A role for 4-hydroxynonenal, an aldehydic product of lipid peroxidation, in disruption of ion homeostasis and neuronal death induced by amyloid beta-peptide. *J Neurochem* 1997;68:255-64.
19. Mark RJ, Pang Z, Geddes JW, Uchida K, Mattson MP. Amyloid beta-peptide impairs glucose transport in hippocampal and cortical neurons: involvement of membrane lipid peroxidation. *J Neurosci* 1997;17:1046-54.
20. Su B, Wang X, Nunomura A, Moreira PI, Lee HG, Perry G, et al. Oxidative stress signaling in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2008;5(6):525-32.
21. Kontush A. Amyloid-beta: an antioxidant that becomes a pro-oxidant and critically contributes to Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med* 2001;31:1120-31.
22. Rottkamp CA, Raina AK, Zhu X, Gaier E, Bush AI, Atwood CS, et al. Redox-active iron mediates amyloid-beta toxicity. *Free Radic Biol Med* 2001;30:447-50.
23. Smaili S, Hirata H, Ureshino R, Monteforte PT, Morales AP, Muler ML, et al. Calcium and cell death signaling in neurodegeneration and aging. *An Acad Bras Cienc* 2009;81:467-75.
24. Van Der Vliet A, Bast A. Effect of oxidative stress on receptors and signal transmission. *Chem Biol Interact* 1992;85:95-116.
25. Mattson MP, Chan SL. Neuronal and glial calcium signaling in Alzheimer's disease. *Cell Calcium* 2003;34:385-97.
26. Spencer JP, Abd-el-Mohsen MM, Rice-Evans C. Cellular uptake and metabolism of flavonoids and their metabolites: implications for their bioactivity. *Arch Biochem Biophys* 2004;423:148-61.
27. Gal S, Zheng H, Fridkin M, Youdim MB. Novel multifunctional neuroprotective iron chelator-monoamine oxidase inhibitor drugs for neurodegenerative diseases. In vivo selective brain monoamine oxidase inhibition and prevention of MPTP-induced striatal dopamine depletion. *J Neurochem* 2005;95:79-88.
28. Forman H, Maiorino M, Ursini F. Signaling functions of reactive oxygen species. *Biochemistry* 2010;49(5):835-42.
29. Wang X, Michaelis EK. Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain. *Front Ag Neurosci* 2010;30:2-12.
30. Slankamenac P, Stefanović D, Zikić M. Neurology today. *Med Pregl* 2007;60(11-12):629-35.
31. Wilson JX. Antioxidant defense of the brain: a role for astrocytes. *Can J Physiol Pharmacol* 1997;75(10-11):1149-63.
32. Desagher S, Glowinski J, Premont J. Astrocytes protect neurons from hydrogen peroxide toxicity. *J Neurosci* 1996;16(8):2553-62.
33. Jovanović Z, Beleslin BB. Resistivity of leech Retzius nerve cells to long-lasting oxidant (abstract). *J Neurochem* 1997;66:S32.
34. Jovanović Z, Beleslin BB. Resistivity of leech Retzius nerve cells to long-lasting oxidant. In: Teelken A, Korf J, eds. Cellular, molecular and clinical aspects. New York: Plenum Press; 1997. p. 983-6.
35. Jovanović Z, Beleslin BB. Effects of long lasting oxidants on the electrophysiological properties of leech Retzius nerve cells. *Iugosl Physiol Pharmacol Acta* 2004;(40):55-64.
36. Jovanović Z, Beleslin BB. Citotoksično dejstvo kumen hidroperoksida na Retziusove nervne ćelije pijavice. *Med Čas* 2006;(1-2):13-8.
37. Jovanović Z. Uticaj oksidativnog stresa na elektrofiziološke karakteristike Retziusovih neurona pijavice (doktorska disertacija). Beograd: Medicinski fakultet; 2001.
38. Block ML, Zecca L, Hong JS. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. *Nat Rev Neurosci* 2007;8:57-69.
39. Block ML, Hong JS. Microglia and inflammation-mediated neurodegeneration: multiple triggers with a common mechanism. *Prog Neurobiol* 2005;76:77-98.
40. Duncan AJ, Heales SJ. Nitric oxide and neurological disorders. *Mol Aspects Med* 2005;26(1-2):67-96.
41. Block ML. NADPH oxidase as a therapeutic target in Alzheimer's disease (abstract). *BMC Neurosci* 2008;9:S8.
42. Dringen R. Oxidative and antioxidative potential of brain microglial cells. *Antioxid Redox Signal* 2005;7(9-10):1223-33.
43. Liochev SI, Fridovich I. Cross-compartment protection by SOD1. *Free Radic Biol Med* 2005;38:146-7.
44. Peuchen S, Bolanos JP, Heales SJ, Almeida A, Duchon MR, Clark JB. Interrelationships between astrocyte function, oxidative stress and antioxidant status within the central nervous system. *Prog Neurobiol* 1997;52:261-81.
45. Himi T, Ikeda M, Yasuhara T, Nishida M, Morita I. Role of neuronal glutamate transporter in the cysteine uptake and intracellular glutathione levels in cultured cortical neurons. *J Neural Transm* 2003;110:1337-48.
46. Dringen R, Pawlowski PG, Hirrlinger J. Peroxide detoxification by brain cells. *J Neurosci Res* 2005;79:157-65.
47. Rhee SG, Kang SW, Chang TS, Jeong W, Kim K. Peroxiredoxin, a novel family of peroxidases. *IUBMB Life* 2001;52:35-41.
48. Zhang P, Liu B, Kang SW, Seo MS, Rhee SG, Obeid LM. Thioredoxin peroxidase is a novel inhibitor of apoptosis with a mechanism distinct from that of Bcl-2. *J Biol Chem* 1997;272:30615-8.
49. Papadia S, Soriano FX, Leveille F, Martel MA, Dakin KA, Hansen HH, et al. Synaptic NMDA receptor activity boosts intrinsic antioxidant defenses. *Nat Neurosci* 2008;11(4):476-87.
50. Bao L, Avshalumov MV, Rice ME. Partial mitochondrial inhibition causes striatal dopamine release suppression and medium spiny neuron depolarization via H₂O₂ elevation, not ATP depletion. *J Neurosci* 2005;26(43):10029-40.
51. Burmester T, Ebner B, Weich B, Hankeln T. Cytochrome: a novel globin type ubiquitously expressed in vertebrate tissues. *Mol Biol Evol* 2002;19:416-21.
52. Burmester T, Weich B, Reinhardt S, Hankeln T. A vertebrate globin expressed in the brain. *Nature* 2000;407:520-3.
53. Fordel E, Thijs L, Martinet W, Lenjou M, Laufs T, Van Bockstaele D, et al. Neuroglobin and cytochrome overexpression protects human SH-SY5Y neuroblastoma cells against oxidative stress-induced cell death. *Neurosci Lett* 2006;410:146-51.

Summary

Introduction

Reactive oxygen species are particularly active in the brain and neuronal tissue, and they are involved in numerous cellular functions, including cell death and survival.

Brain and oxidative stress

A high metabolic rate and an abundant supply of the transition metals make the brain an ideal target for a free radical attack. In addition, the brain has a high susceptibility to oxidative stress due to the high lipid content and relatively lower regenerative capacity in comparison with other tissues.

Vulnerability of nerve cells to oxidative stress

The neurons are more vulnerable to oxidative stress than other brain cell types. In addition to the two conventional enzymes, catalase and glutathione peroxidase, peroxiredoxins remove in-

tracellular hydrogen peroxide by reducing it to water. The recent work increasingly supports the hypothesis that peroxiredoxins are not only antioxidant proteins, but they also play a role in cell signaling by controlling hydrogen peroxide and alkyl hydroperoxide levels. The accumulating evidence demonstrates that microglia can become deleterious and damage neurons. The overactivated microglia release reactive oxygen species that cause neuronal damage in neurodegenerative diseases.

Conclusion

The defense of nerve cells against reactive oxygen species - mediated oxidative damage is essential for maintaining the functionality of nerve cells. The ongoing studies show that neuron-gial compartmentalization of antioxidants is critical for the neuronal signaling by hydrogen peroxide as well as the neuronal protection.

Key words: Neurons; Oxidative Stress; Free Radicals; Glutathione Peroxidase; Antioxidants; Peroxiredoxins; Hydrogen Peroxide; Microglia; Neurodegenerative Diseases

Rad je primljen 27. V 2010.

Prihvaćen za štampu 24. VI 2010.

BIBLID.0025-8105:(2011):LXIV:7-8:386-391.

Klinički centar Vojvodine, Novi Sad
Klinika za neurologiju

Pregledni članak
Review article
UDK 616.831-005.4-02:616.13
DOI: 10.2298/MPNS1108392D

DIJAGNOZA I ISHOD DISEKCIJE CERVICALNE ARTERIJE

DIAGNOSIS AND OUTCOME OF CERVICAL ARTERY DISSECTION

Ivana DIVJAK, Petar SLANKAMENAC, Mirjana JOVIĆEVIĆ, Tamara RABI ŽIKIĆ i
Aleksandar JEŠIĆ

Sažetak – Spontana disekcija cervikalne arterije retka je neaterosklerotična vaskularna bolest nepoznate etiologije i uzrok ishemijskog moždanog udara kod mladih osoba i onih srednjeg uzrasta. Patogeneza ove bolesti nije razjašnjena. Aksijalni cervikalni prikaz pomoću metode magnetne rezonancije i magnetno-rezonantna angiografija omogućavaju tačnu dijagnozu disekcije cervikalne arterije, karotidne ili vertebralne. Antikoagulantna ili antiagregaciona terapija preporučena je terapija u akutnoj fazi disekcije cervikalne arterije kako bi se prevenirao primarni ili ponovni ishemijski događaj. Dosad nije završena nijedna randomizirana studija koja bi procenila efikasnost obe terapije. U toku je multicentrična, randomizirana studija koja bi trebalo da odgovori na pitanje o dejstvu antikoagulantne i antiagregacione terapije u slučajevima disekcije cervikalne arterije. U odnosu na druge uzroke moždanog udara kod mladih pacijenata, funkcionalni ishod je uopšteno dobar, ali socioprofesionalni efekti mogu biti nezadovoljavajući.

Cljučne reči: Disekcija unutrašnje karotidne arterije; Disekcija vertebralne arterije; Dijagnoza; Prognoza; Mladi ljudi; Magnetna rezonanca; Magnetno rezonantna angiografija; Antikoagulantna terapija; Fibrinolitička terapija; Inhibitori agregacije trombocita; Funkcionalni oporavak

Uvod

Spontana disekcija cervikalne arterije retka je neaterosklerotična vaskularna bolest nepoznate etiologije i uzrok je ishemijskog moždanog udara kod mladih osoba i onih srednjeg uzrasta. Patogeneza ove bolesti nije razjašnjena. Patološki, disekcija cervikalne arterije (DCA) manifestuje se u vidu hematoma u zidu cervikalne arterije (karotidne ili vertebralne), koji nastaje sekundarno usled rascepa intime ili direktno usled krvarenja unutar arterijskog zida uzrokovanim rupturom *vasa vasorum*. Intramuralni hematoma se može širiti prema intimi ili adventiciji, što rezultira stenozom ili aneurizmatskom dilatacijom arterije. Disekantna aneurizma nastaje usled uzdužnog cepanja intime arterije, kad se intramuralni hematoma proširi prema adventiciji. Posledice hematoma su lokalni simptomi i znaci, uključujući glavobolju ili bol u vratu izazvan rastezanjem arterije intramuralnim hematoma, koji stimuliše receptore osetljive na bol. Kao posledica javlja se Hornerov sindrom ili pareza kranijalnih nerava usled istežanja simpatičkih nervnih vlakana ili vlakana kranijalnih nerava proširenom karotidnom arterijom [1] ili rede povredom cervikalnih korenova [2] usled pritiska proširene vertebralne arterije.

Mehanizam kojim DCA izaziva ishemiju mozga ili retine u većini je slučajeva je embolija intralumininalnim trombom koji se formira na mestu rascepa intime [3]. Hemodinamički infarkt je takođe moguć. Subarahnoidalna hemoragija nastaje kad se disekcija proširuje u intrakranijalni deo krvnog suda. Intrakranijalne arterije nemaju spoljašnja elastična ograničenja, a imaju razređenu mediju i adventiciju u poređenju s cervikalnim arterijama, što je razlog sklonosti intrakranijalne arterije ka rupturi.

Radiološka dijagnoza

DCA se može manifestovati longitudinalnom, postepenom stenozom, okluzijom ili aneurizmom usled disekcije [4]. U seriji od 48 pacijenata sa DCA stenoza je bila najčešća u 48% slučajeva, okluzija u 35%, a aneurizma u 17% slučajeva [5].

Najtipičniji i specifičan znak DCA na aksijalnom prikazu arterije pomoću metode magnetne rezonancije (MRI) jeste proširena arterija s polumesečastim oblikom hiperintenzivnog signala koji je uzrokovan muralnim hematoma i ekscentrični hipointenzivni signal koji odgovara rezidualnom lumen. Ovaj znak se može videti na T-1 aksijalnom cervikalnom MRI skenu. U prvih nekoliko dana razvoja DCA muralni hematoma može biti izointenzivan [4]. Karakteristike DCA su luminalni zalistak, fals lumen, longitudinalna postepena stenoza i aneurizma usled disekcije. Prikaz dugačke stenoze posebno je suspektan na disekciju ukoliko je lokalizovana na nekoliko centimetara iznad bifurkacije i u trećem segmentu vertebralne arterije nakon što arterija vertebralis napušta transverzalne foramene i ulazi u foramen magnum s vizualizacijom normalnog kalibra krvnog suda iznad i ispod, u slučajevima kad se ne prikazuje ateroskleroza [4]. Karotidna ili vertebralna okluzija bez dokaza muralnog hematoma ne može biti dijagnostikovana kao disekcija ni kad se potpuno rekanališe ili se naknadno otkrije disekantna aneurizma ili duga stenoza. U ovom slučaju neophodno je radiološko praćenje.

Negativan imidžing cervikalne arterije ne isključuje potpuno dijagnozu DCA, posebno ako je dijagnostika urađena u kasnijem stadijumu kad se uspostavi rekanalizacija [6].

Skraćenice

DCA	- disekcija cervikalne arterije
DKA	- disekcija karotidne arterije
DVA	- disekcija vertebralne arterije
CT	- kompjuterizovana tomografija
MRI	- magnetna rezonancija
MRA	- magnetnorezonantna angiografija
TIA	- tranzitorni ishemijski atak

Angiografija kompjuterizovanom tomografijom (CT) je korisna za dijagnozu i indikovana je u slučajevima postojanja kontraindikacije za MR pregled ili nedostupnosti MR instrumenta. Konvencionalna angiografija, referentna metoda pre pojave MRI, više se ne preporučuje za dijagnozu DCA, ne samo zbog invazivnosti već i stoga što nije moguć prikaz hematoma u zidu arterije.

Kombinacija dupleksa u boji i dopler sonografije druga je neinvazivna metoda za dijagnozu DCA, ali se mora razmatrati jedino kao skrining metoda zato što zavisi od edukacije i sposobnosti ispitivača i nemogućnosti prikaza DCA lokalizovane blizu baze lobanje i unutar *foramina transversa* [4]. Iako je saopštena visoka senzitivnost ultrazvuka za dijagnozu DCA [7], ova metoda je loša za dijagnozu disekcije karotidne arterije s izolovanim Hornerovim sindromom [8]. Ova tvrdnja se objašnjava činjenicom da kod pacijenata s lokalnim simptomima disekcija retko uzrokuje stenozu s posleđičnim hemodinamičkim poremećajem i zbog toga se teže dijagnostikuje ultrazvukom [8]. Kad je DCA suspektna, pozitivan ili negativan kolor dupleks skener cervikalnih arterija zahteva potvrdu magnetnom rezonancijom ili CT angiografijom. Magnetna rezonancija visoke rezolucije od tri tesle [9] poboljšaće mogućnost razlikovanja intramuralnog hematoma od intraluminalnog tromba u slučajevima okluzivne disekcije u akutnoj fazi.

U slučajevima ishemijskog moždanog udara (MU), tranzitornog ishemijskog ataka (TIA) ili tranzitornog monokularnog slepila (*amaurosis fugax*) kod mladih osoba ili onih srednjih godina bez drugog potvrđenog uzroka, DCA se mora isključiti pomoću imidžinga arterija uključujući najmanje jednu imidžing tehniku, osim ultrazvučnih. Urgentan imidžing cervikalnih arterija neophodno je da se uradi u slučajevima Hornerovog sindroma ili ređe u slučajevima pareze donjih kranijalnih nerava udruženih s glavoboljom ili bolom u vratu. Magnetnorezonantna angiografija (MRA) i aksijalna cervikalna magnetna rezonancija neophodne su dijagnostičke metode, jer je disekcija često subadventicijalna, a identifikacija muralnog hematoma je esencijalna za dijagnozu DCA. Odgovarajuće ispitivanje cervikalnih arterija, uključujući MRI ili CT angiografijom neophodno je sprovesti u slučajevima skorašnje neuobičajene glavobolje ili bola u vratu nepoznatog uzroka, posebno u slučajevima kontinuiranog bola srednjeg ili jakog intenziteta, jer bol može biti jedini simptom DCA [10].

U periodu od januara 2001. do februara 2010. dijagnostikovana su 22 pacijenta s disekcijom karotidne arterije prosečnog uzrasta 39,02 godine, u rasponu 14–59 godina. Disekcija karotidne arterije (DKA)

dijagnostikovana je u svim slučajevima pomoću MRI i MRA. Kod tri pacijenta je urađena i CT angiografija, kod osam dopler sonografija [11], a kod 14 kolor dupleks sonografija.

Kod pacijenata sa DKA, stenozu je dijagnostikovana kod 19 (86,36%), a okluzija kod tri (13,63%) pacijenta. Moždani infarkt je dijagnostikovano pomoću metode MRI kod 18 (81,81%) pacijenata.

Tretman

Antikoagulantna ili antiagregaciona terapija jeste preporučena terapija u akutnoj fazi DCA kako bi se prevenirao primarni ili ponovni ishemijski događaj. Dosad nije završena nijedna randomizirana studija koja bi procenila efikasnost navedene terapije. U toku je multicentrična, randomizirana studija o disekcijama cervikalnih arterija i pacijentima s ishemijskim moždanim udarom (*Cervical Artery Dissections and Ischemic Stroke Patients – CADISP*), koja bi trebalo da odgovori na pitanje o dejstvu antikoagulantne i antiagregacione terapije u slučajevima DCA [12]. Ako je incidencija cerebralne ishemijske niske, kako je saopšteno u publikovanim radovima, bilo koje ispitivanje statistički je nesigurno u utvrđivanju efikasnosti obe terapije [13-15]. Sadašnji najbolji dokaz je Cochrane sistematska metaanaliza nerandomiziranih studija koje pokazuju ishod antiagregacione u odnosu na antikoagulantnu terapiju u odsustvu randomiziranih podataka [16]. Nije nađena signifikantna razlika u odnosu na mortalitet i onesposobljenost između ove dve grupe. U skorašnjem pregledu iz Velike Britanije, 50% doktora tretira pacijente sa DCA antikoagulantnom, 30% antiagregacionom i 15% koristi ili antikoagulantnu ili antiagregacionu medikaciju [17]. Antikoagulantna terapija se ponekad preferira u slučajevima visokostepene stenozu i okluzije s rizikom od embolizacije pre rekanalizacije ili u slučajevima pseudoaneurizme ukoliko infarkt nije opsežan. Antikoagulansi se ordiniraju kad se vidi tromb u lumenu arterije, kad postoje multiple ishemijske lezije u teritoriji arterije s disekcijom ili kad transkranijalni dopler sugeriše embolijski mehanizam. Antiagregaciona terapija je favorizovana kad postoji kontraindikacija za antikoagulanse ili kad je dijagnostikovano velik infarkt s visokim rizikom od hemoragične transformacije [18].

Predmet debate je primena antiagregacione terapije u slučajevima DCA s lokalnim simptomima. Antiagregaciona terapija bi mogla biti prioritarna u odnosu na antikoagulantnu u slučajevima intrakranijalne disekcije koja može voditi u subarahnoidalnu hemoragiju. Neki centri sistematski rade lumbalnu punkciju u slučajevima intrakranijalne disekcije. U jednom velikom registru pojedinačnih centara pacijenti sa DCA i intrakranijalnom ekstenzijom bez subarahnoidalne hemoragije imaju povoljan ishod s antikoagulantnom terapijom [19].

Optimalno trajanje antiagregacionog tretmana je nejasno i praćenje imidžing metodama je bitno za određivanje trajanja terapije. Antikoagulansi se ordiniraju do šest meseci, a dugotrajna prevencija s antitrombotnom terapijom se određuje u slučajevima re-

zidualne stenozе i okluzije. Duže praćenje se preporučuje kod pacijenata s bolestima vezivnog tkiva, porodičnom anamnezom za DCA ili fibromuskularnom displazijom, zato što imaju povišen rizik od recidiva. Sadašnje opservacione studije sugerišu da se trombolitička terapija ne daje pacijentima sa DCA ukoliko je udružena s akutnim ishemijskim moždanim udarom [20]. U našoj seriji pacijenata s disekcijom karotidne arterije ordinirali smo antikoagulantnu terapiju tokom prvih šest meseci, a u daljem periodu antiagregacionu terapiju.

Ishod

Proporcija pacijenata s kompletnom rezolucijom arterijske abnormalnosti varira u studijama i utvrđeno je da iznosi oko 46% za stenozе, 33% za okluzije i 12% za disekantnu aneurizmu u opštoj populaciji [21]. Kompletna rekanalizacija je najviše zastupljena kod pacijenata sa DCA koji su imali samo lokalne simptome i znakove [21]. U našoj seriji smo zabeležili okluziju arterije karotis interne bez rekanalizacije kod jednog pacijenta s lokalnim simptomima. Okluzije mogu voditi u rezidualnu stenozu, a rezidualne aneurizme mogu nastati nakon akutne faze u inicijalno stenotičnoj ili okludiranoj arteriji [22]. U opštoj populaciji u slučajevima DCA kompletna rezolucija ili stabilan rezidualan lumen je dokumentovan posle prosečnog praćenja u rasponu 0–29 godina i u 82% slučajeva tokom prvih godinu dana [21].

Ponovljeni događaji

Izgleda da su ponovljeni ishemijski događaji retki. Stopa ponovljene ishemijske je između 0% i 13,3% u prvoj godini [23]. Ponovljena ishemijska se najčešće javlja tokom prve nedelje nakon disekcije [23,24]. Multiple disekcije su najčešće bile udružene s povišenim rizikom od recidiva ishemijske [23] i anamnezom o hipertenziji [24]. Dve prospektivne studije aneurizmatičkih DCA nisu utvrdile nijedan ishemijski događaj nakon trogodišnjeg praćenja [25,26]. U drugoj seriji od 130 pacijenata sa DCA ponovljena ishemijska je korelirala s pogoršanjem karotidne stenozе u 5/6 slučajeva [27].

Ponovljena disekcija nije saopštena u jedinjoj populacionoj studiji sa praćenjem 48 pacijenata (srednje vreme praćenja bilo je 7–8 godina) [21]. U bolničkim serijama stopa ponovljene disekcije se kretala između 0–25,0% [24]. Faktori rizika od ponovljene DCA su mlađi uzrast, porodična anamneza za disekciju, vaskularni Ehlers-Danlos sindrom i fibromuskularna displazija. U našoj seriji pacijenata nismo registrovali ponovljeni događaj tokom praćenja [11].

Mortalitet i funkcionalni ishod

Mortalitet u akutnoj fazi u publikovanim serijama je nizak, manji od 5% [21,24,27,28], mada je vi-

soka stopa mortaliteta, čak do 23%, saopštena u ranijoj seriji kod pacijenata s teškom DCA s arterijskom okluzijom ili ishemijskim moždanim udarom [29,30]. Mortalitet pacijenata nakon DCA može biti potcenjen zato što pacijenti s izraženim formama DCA umiru pre primene metoda prikaza arterija. Disekcija karotidne arterije može biti uzrok akutne maligne cerebralne infarkcije u slivu arterije cerebri medije. Funkcionalni oporavak je opisan kao dobar kod oko tri četvrtine pacijenata sa DCA [6], ali je značajan i kvalitet života i socioprofesionalna integracija. Funkcionalni ishod nakon DCA nije bolji u odnosu na druge tipove ishemijskog moždanog udara kod mlade populacije. Cerebralna ishemijska, arterijska okluzija, karotidna lokalizacija, stariji uzrast i visok skor skale za moždani udar Nacionalnog instituta za zdravlje (*National Institutes of Health Stroke Scale* - NIHSS) na početku bolesti faktori rizika su udruženi s lošim funkcionalnim oporavkom [2]. U našoj seriji od ukupno 22 pacijenta, kod 20 (90,9%) pacijenata ishod je bio povoljan, a modifikovan Rankin skor bio je 0–2 [11].

Zaključak

Rano prepoznavanje i dijagnostika kod pacijenata sa disekcijom cervikalne arterije značajni su pošto je disekcija cervikalne arterije jedan od najvažnijih uzroka moždanog udara kod mlade populacije. Mada je ultrazvuk koristan za skrining, magnetna rezonancija s cervikalnim magnetnorezonantnom i kompjuterizovanom angiografijom su neophodne za postavljanje ili isključivanje dijagnoze.

Terapija i strategije prevencije se u sadašnjim uslovima baziraju samo na empirijskim podacima. Antiagregaciona ili antikoagulantna terapija se ordinira radi prevencije rekurentnog ishemijskog događaja.

Stopa mortaliteta je niska, ali verovatno potcenjena jer pacijenti s malignim infarktom često umiru pre postavljanja dijagnoze. U odnosu na druge uzroke moždanog udara kod mladih pacijenata funkcionalni ishod je uopšteno dobar, ali socioprofesionalni efekti mogu biti nezadovoljavajući.

Izgleda da su recidivi cerebralne ishemijske i disekcije cervikalne arterije retki, mada podaci ukazuju na to da su rani ishemijski događaji i kasne ponovljene disekcije cervikalne arterije potcenjeni.

Istraživanja imaju za cilj da poboljšaju razumevanje uticaja faktora okoline i genetskih faktora koji predisponiraju disekciju cervikalne arterije. Neophodna su saznanja o dugotrajnom ishodu disekcije cervikalne arterije. Bolje razumevanje patofiziologije i toka ove bolesti preko prospektivne multicentrične studije mogu biti od pomoći za poboljšanje terapijske i preventivne strategije.

Literatura

1. Struzeneger M, Huber P. Cranial nerve palsies in spontaneous carotid artery dissection. *J Neurosurg Psychiatry* 1993;56:1191-9.
2. Arnold M, Bousser MG, Fahrni G. Vertebral artery dissection: presenting findings and predictors of outcome. *Stroke* 2006;37:2499-503.
3. Lucas C, Moulin T, Deplanque D, Tatu L, Chavot D. Stroke patterns of internal artery dissection in 40 patients. *Stroke* 1998;29:2646-48.
4. Provenzale JM. MRI and MRA for evaluation of dissection on craniocerebral arteries: lessons from the medical literature. *Emerg Radiol* 2009;16:185-93.
5. Lee VH, Brown RD, Mandrekar JN, Mokri B. Incidence and outcome of cervical artery dissection: a population based study. *Neurology* 2006;67:1809-12.
6. Schievink WI. Spontaneous dissection of carotid and vertebral arteries. *N Engl J Med* 2001;344:898-906.
7. Benninger DH, Georgiadis D, Gandjour J, Baumgartner RW. Accuracy of color duplex ultrasound diagnosis of spontaneous carotid dissection causing ischemia. *Stroke* 2006;37:377-81.
8. Arnold M, Baumgartner RW, Stapf C. Ultrasound diagnosis of spontaneous carotid dissection with isolated Horner syndrome. *Stroke* 2008;39:82-6.
9. Bachmann R, Nassenstein I, Kooijman H. High-resolution magnetic resonance imaging (MRI) at 3.0 Tesla in short-term follow-up of patients with proven cervical artery dissection. *Invest Radiol* 2007;42:460-6.
10. Arnold M, Cimurciuc R, Stapf C, Favrole P, Berhet K, Bousser MG. Pain as the only symptom of cervical artery dissection. *J Neurosurg Psychiatry* 2006;77:1021-4.
11. Divjak I, Slankamenac P, Jovičević M, Rabi Žikić T, Lučić Prokin A, Jovanović A. Klinička prezentacija disekcije karotidne arterije u seriji od 22 pacijenta. *Med Pregl* 2011;64(11-12):u štampi.
12. Dabette S, Metso TM, Pezzini A, Engelter ST, Leys D, CADISP group. CADISP-genetics: an International project searching for genetic risk factors of cervical artery dissections. *Int J Stroke* 2009;4(3):224-30.
13. Lee VH, Brown RD, Mandrekar JN, Mokri B. Incidence and outcome of cervical artery dissection: a population based study. *Neurology* 2006;67:1809-12.
14. Giroud M, Fazolle H, Andre N, et al. Incidence of internal carotid artery dissection in the community of Dijon. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:1443.
15. Touze E, Gauthier JY, Moulin T, Meder JF, Bracard S, Mas JL. Risk of stroke and recurrent dissection after a cervical artery dissection: a multicenter study. *Neurology* 2003;61:1347-51.
16. Lyrer P, Engelter S. Antithrombotic drugs for carotid artery dissection. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;4:CD000255.
17. Menon RK, Markus HS, Norris JW. Results of a UK questionnaire of diagnosis and treatment in cervical artery dissection. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008;79:612.
18. Engelter ST, Brandt T, Dabette S. Antiplatelets versus anticoagulation in cervical artery dissection. *Stroke* 2007;38:2605-11.
19. Metso TM, Metso AJ, Helenius J. Prognosis and safety of anticoagulation in intracranial artery dissections in adults. *Stroke* 2007;38:1837-42.
20. Georgiadis D, Lanczik O, Schwab S. IV thrombolysis in patients with acute stroke due to spontaneous carotid dissection. *Neurology* 2005;64:1612-4.
21. Lee VH, Brown RD, Mandrekar JN, Mokri B. Incidence and outcome of cervical artery dissection: a population based study. *Neurology* 2006;67:1809-12.
22. Touze E, Gauthier JY, Meder JF, Mas JL. Prognosis of cervical artery dissection. *Front Neurol Neurosci* 2005;20:129-39.
23. Beletsky V, Nadareishvili Z, Lynch J, Shuaib A, Woolfenden A, Norris JW. Cervical artery dissection: time for a therapeutic trial? *Stroke* 2003;34:2856-60.
24. Touze E, Gauthier JY, Moulin T, Meder JF, Bracard S, Mas JL. Risk of stroke and recurrent dissection after a cervical artery dissection: a multicenter study. *Neurology* 2003;61:1347-51.
25. Touze E, Rndoux B, Meary E, Arquizan C, Meder JF, Mas JL. Aneurysmal forms of cervical artery dissection: associated factors and outcome. *Stroke* 2001;32:418-23.
26. Guillon B, Brunereau L, Biousse V, Djouhri H, Levy C, Bousser MG. Long-term follow-up of aneurysms developed during extracranial internal carotid artery dissection. *Neurology* 1999;53:117-22.
27. Arauz A, Hoyos L, Espinoza C, Cantu C, Barinagarrementeria F, Roman G. Dissection of cervical arteries: long-term follow-up study of 130 consecutive cases. *Cerebrovasc Dis* 2006;22:150-4.
28. Ditrich R, Nassenstein I, Bachmann R. Polyarterial clustered recurrence of cervical artery dissection seems to be rule. *Neurology* 2007;69:180-6.
29. Bogouslavsky J, Despland PA, Regli F. Spontaneous carotid dissection with acute stroke. *Arch Neurol* 1987;44:137-40.
30. Pozzati E, Giuliani G, Acciarri N, Nuzzo G. Long-term follow-up of occlusive cervical carotid dissection. *Stroke* 1990;21:528-31.

Summary

Introduction

Spontaneous dissection of the cervical artery is a rare non-atherosclerotic vascular disease of unknown aetiology and unclear pathogenesis that may be a cause of ischemic stroke in young adults.

Diagnosis

Precise diagnosis of dissection of the cervical artery – carotid or vertebral – is possible with cervical axial magnetic resonance imaging and magnetic resonance angiography.

Treatment

The recommended treatment in the acute phase of cervical artery dissection is anticoagulant or antithrombotic therapy, aimed at preventing a primary or recurrent ischemic event. There have been as yet no results of randomized controlled studies comparing efficacy of both treatments. An ongoing randomized multicentre study is expected to provide answers about the effects of these treatments in cervical artery dissection.

Outcome

Complete resolution of arterial abnormalities is achieved in around 46% of stenoses, 33% of occlusions, and 12% of dissecting aneurysms.

Key words: Carotid Artery, Internal, Dissection; Vertebral Artery Dissection; Diagnosis; Prognosis; Young Adult; Magnetic Resonance Imaging; Magnetic Resonance Angiography; Anticoagulants; Fibrinolytic Agents; Platelet Aggregation Inhibitors; Recovery of Function

Rad je primljen 11. V 2010.

Prihvaćen za štampu 15. XI 2010.

BIBLID.0025-8105:(2011):LXIV:7-8:392-396.

Recurrent events

Recurrence of cerebral ischemia and cervical artery dissection seems to be rare, although some data suggest that early ischemic and late cervical artery dissection recurrences could be underestimated.

Mortality and functional outcome

In comparison with other causes of stroke in young adults, the functional outcome of cervical artery dissection is good in contrast to its socio-professional effects, which may be unsatisfactory. The mortality rate of cervical artery dissection is low, although it may be underestimated since some patients with malignant infarction die before the diagnosis is established.

Conclusion

Further research is warranted to improve our understanding of the underlying pathophysiology, to assess the long-term outcome, and ultimately to provide treatment and prevention strategies.

STRUČNI ČLANCI

PROFESSIONAL ARTICLES

Institute of Public Health of Vojvodina, Novi Sad
Center for Microbiology

Stručni članak
Professional article
UDK 615.33.015.8
DOI: 10.2298/MPNS1108397J

RESISTANCE OF *ESCHERICHIA COLI* FROM HEALTHY DONORS AND FROM FOOD – AN INDICATOR OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE LEVEL IN THE POPULATION

REZISTENCIJA *ESCHERICHIAE COLI* IZ FECESA ZDRAVIH OSOBA I IZ HRANE –
INDIKATOR NIVOVA REZISTENCIJE NA ANTIBIOTIKE U POPULACIJI

Zora JELESIĆ, Vera GUSMAN, Mira MIHAJLOVIĆ UKROPINA,
Marija KULAUZOV and Deana MEDIC

Summary – *Escherichia coli*, being an important part of normal intestinal flora, is a frequent carrier of antimicrobial drug resistance markers and food is the most important vector of antimicrobial resistance genes between humans and animals. The aim of this study was to confirm the presence and frequency of resistance markers in *Escherichia coli* from intestinal flora and from food as an indicator of antimicrobial resistance level in the population. The experiment included 100 fecal *Escherichia coli* isolates from healthy donors, 50 isolated in 2007 and 50 in 2010, and 50 from food samples. The resistance markers were found in all groups of isolates. The resistance to ampicillin and cotrimoxazole was most commonly found. The finding of multi-drug-resistant strains and resistance to ciprofloxacin is important. The frequency of resistance markers was similar in food and feces. The results of this study show the need to introduce systematic monitoring of antimicrobial resistance of these bacteria.

Key words: *Escherichia coli*; Drug Resistance, Microbial; Drug Resistance, Bacterial + genetics; Anti-Bacterial Agents; Feces + microbiology; Food Microbiology; Humans

Introduction

For more than 60 years antibiotics have been the most important component of the therapy of infectious diseases in humans and animals. However, the widespread use of these drugs has resulted in the emergence of the resistance genes and dissemination of bacterial strains resistant to antimicrobial substances [1,2]. By the selective pressure, the irrational use and misuse of antibiotics in human and veterinary medicine, agriculture, animal husbandry and food production stimulates the development and spreading of resistance which affects the public health. Resistant bacteria are not constrained by political or biological borders; they are transmitted between human populations directly in the community or in the health care settings and indirectly through food, water and air [3]. The increased need for food because of the expansion of human population has resulted in the massive use of antimicrobials as the growth promoters and prophylactic food supplement in prevention of animal infectious diseases.

Food is the most important vector for dissemination of antimicrobial resistance between humans and animals and it can be the source of resistant pathogenic bacteria (*Salmonella spp*, *Campylobacter spp.*) and resistance genes that by mobile genetic elements can be transferred to pathogenic bacteria either directly or via a commensal bacterium, such as *Escherichia coli* or *Enterococcus spp.* [4].

Individual antimicrobial resistance of bacteria of the normal flora of each human and animal contributes to the total resistance in the population. *Escherichia coli* (*E. coli*) is the most common and the most important representative of normal, facultative anaerobic, intestinal flora and also one of the bacteria most commonly isolated from food. There are studies which show that a 7-day-long antibiotic treatment can cause the emergence of a great number of resistance markers in normal flora, and some of them can be preserved for 2 years. The long-lasting presence of resistance genes enables their exchange with pathogenic bacteria passing through the intestinal tract and increases the future treatment failure rate [5-7]. Some European countries have well-developed monitoring systems for antimicrobial resistance of indicator bacteria [8].

The aim of this study was to confirm the presence and frequency of resistance markers in *E. coli* from intestinal flora of healthy individuals and from food isolates as an indicator of antimicrobial resistance level in our population, and to examine the potential way of transfer of the resistance genes.

Material and Methods

The experiment included 100 fecal isolates of *E. coli* obtained from 100 healthy, adult donors submitted to sanitary inspection, chosen by the method of random sample; all of them signed their written consent to be included in the study. The first group of

Abbreviations

<i>E. coli</i>	– <i>Escherichia coli</i>
CLSI	– Clinical and Laboratory Standards Institute
Am	– ampicillin
Amc	– amoxicillin-clavulanic acid
Ce	– cephalixin
Cro	– ceftriaxone
Tzp	– piperacillin- tazobactam
Gm	– gentamicin
Sxt	– sulfamethoxazole-trimethoprim (cotrimoxazol)
Cip	– ciprofloxacin
Imp	– imipenem
Mem	– meropenem

50 isolates were collected in 2007 and the second group of 50 isolates in 2010.

Standard bacteriological methods for isolation of bacteria from stool and their identification were performed, using culture and biochemical examination [9] at the Department of Coprology, Center for Microbiology of the Institute of Public Health of Vojvodina.

During 2010 a total of 50 *E. coli* were isolated from food samples submitted to the routine examination at the Department of Sanitary Bacteriology, Center for Microbiology, as stipulated in the contract with the clients or on the sanitary inspector's request.

In the laboratory, food samples were processed using standard bacteriological methods, cultural and biochemical examination according to the methodology regulated by the Book of Regulations on the Methods for Microbiological Food Examination, published in the Official Gazette of SFRJ, No 25/80 [10].

All strains that were positive in the test for lactose and dextrose fermentation, methyl-red and indole production test and motility, and negative in citrate utilization, production of hydrogen-sulfide and urea hydrolysis test, were identified as *E. coli*.

For all the isolates of *E. coli*, antimicrobial susceptibility was examined by standard disc-diffusion method, according to the standard CLSI 2010 (Clinical and Laboratory Standards Institute) [11]. Bacterial inoculum was prepared from 24-hours pure culture of bacteria, as a suspension with density of approximately 0.5 McFarland. Inoculation of this suspension was performed by the swab, streaking the entire surface of the Mueller-Hinton agar with standardized inoculum. After inoculation, Petri dishes were left at room temperature to dry and then paper discs containing the known amounts of antimicrobial

agents were placed on the surface of the agar. After that, the material in Petri dishes was incubated for 16 to 18 hours at 37°C. The diameter of the zone of growth inhibition for each disc was measured and compared with the zone provided by discs manufacturer (BioRad, USA). The results were interpreted according to the CLSI standard 2010.

The spectrum of antimicrobial drugs that should be tested for bacteria from the family *Enterobacteriaceae* according to the CLSI standard and that are, at the same time, the drugs most commonly used in the therapy of human infectious diseases included the following: ampicillin (Am), amoxicillin-clavulanic acid (Amc), cephalixin (Ce), ceftriaxone (Cro), piperacillin-tazobactam (Tzp), gentamicin (Gm), cotrimoxazole (sulfamethoxazole-trimethoprim) (Sxt), ciprofloxacin (Cip), imipenem (Imp) and meropenem (Mem).

The statistically significant difference between certain data was determined by the methods of descriptive statistics and Pearson χ^2 -test.

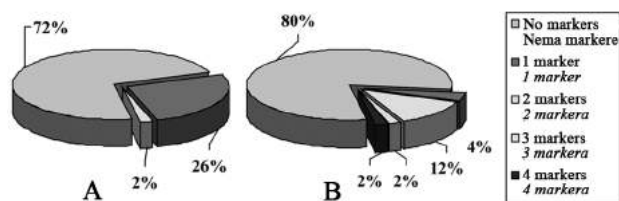
Results*Susceptibility of Escherichia coli from feces of healthy persons to antimicrobial drugs*

Out of 50 isolates of *E. coli* collected in 2007, 36 isolates (72%) were susceptible to all antibiotics tested. Thirteen isolates (26%) were found to be resistant to one antibiotic (ampicillin) and one isolate (2%) had 2 resistance markers (ampicillin and cotrimoxazole). The resistance to ampicillin was found in total of 14 isolates (28%). No resistance was detected to cephalosporines, gentamicin, ciprofloxacin and carbapenems.

Within 50 isolates of *E. coli* collected in 2010, 40 isolates (80%) were susceptible to all antibiotics tested. Ten isolates (20%) were resistant to ampicillin, 7 isolates (14%) to cotrimoxazole, 2 isolates (4%) to gentamicin, 1 isolate (2%) to cephalixin, and 1 isolate (2%) to ciprofloxacin. The resistance to one antibiotic (ampicillin) was present in 2 isolates (4%). Of 6 isolates (12%) resistant to two antibiotics, 5 were resistant to ampicillin and cotrimoxazole and 1 to ampicillin and cephalixin. Three resistance markers (ampicillin, gentamicin, cotrimoxazole), were found in 1 isolate (2%). The resistance to 4 antibiotics (ampicillin, gentamicin, cotrimoxazole, ciprofloxacin) was detected in 1 isolate (2%). No resistance was found to third generation cephalosporines and to carbapenems. (**Table 1**) (**Graph 1**).

Table 1. Resistance types of *Escherichia coli* isolates from feces of healthy donors (comparative data for isolates collected in 2007 and 2010)

Number of resistance markers Broj markera rezistencije	Resistance types of <i>E. coli</i> from 2007 Tipovi rezistencije <i>E. coli</i> iz 2007.	Number (%) of isolates Broj (%) izolata	Number of resistance markers Broj markera rezistencije	Resistance types of <i>E. coli</i> from 2010 Tipovi rezistencije <i>E. coli</i> iz 2010.	Broj (%) izolata Number (%) of isolates
0		36 (72%)	0		40 (80%)
1	Am	13 (26%)	1	Am	2 (4%)
2	Am-Sxt	1 (2%)	2	Am-Sxt Am-Ce	5 (10%) 1 (2%)
3			3	Am-Gm-Sxt	1 (2%)
4			4	Am-Gm-Sxt-Cip	1 (2%)
Total number/Ukupno		50 (100%)	Total number/Ukupno		50 (100%)



Graph 1. Comparative review of resistance markers in *E. coli* from healthy persons (A) isolated in 2007 and (B) isolated in 2010
Grafikon 1. Upporedni prikaz markera rezistencije *E. coli* zdravih osoba (A) izolovanih 2007. godine i (B) izolovanih 2010. godine

The comparison of results for these two groups of strains showed that the difference between the number of strains susceptible to all antibiotics tested in the year 2007 and 2010 was not statistically significant ($\chi^2=0.21$, $p>0.05$). A statistically significant number of *E. coli* isolates from the year 2010 had 2 resistance markers ($\chi^2=7.38$, $p<0.01$).

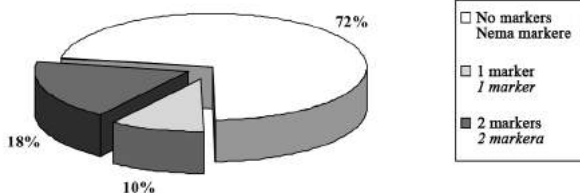
Susceptibility to antimicrobial drugs of Escherichia coli from food

Out of 50 *E. coli* isolated from food, 34 originated from meat, 9 from dairy products (fresh cheese and yogurt) and 2 from sesame, cumin and sandwiches and 1 from mushrooms.

Out of 50 *E. coli* isolates tested, 36 (72%) were susceptible to all antimicrobial drugs, while 14 (28%) were resistant: 5 isolates (10%) with 1 marker and 9 (18%) isolates with 2 resistance markers. The resistance to ampicillin was present in 3 (6%) isolates, and to cotrimoxazole in 2 (4%) specimens. The resistance to 2 antibiotics, to ampicillin and cotrimoxazole was found in 8 isolates (16%), while the resistance to ciprofloxacin associated with cotrimoxazole resistance was detected in 1 isolate (2%). (Table 2, Graph 2).

Table 2. Resistance types of *Escherichia coli* isolates from food
Tabela 2. Tipovi rezistencije *E. coli* izolovanih iz uzoraka hrane

Number of resistance markers Broj markera rezistencije	Resistance types Tipovi rezistencije	Number (%) of isolates Broj (%) izolata
0		36 (72%)
1	Ap	3 (6%)
	SXT	2 (4%)
2	Ap-SXT	8 (16%)
	Cip-SXT	1 (2%)
Total number/Ukupno		50 (100%)

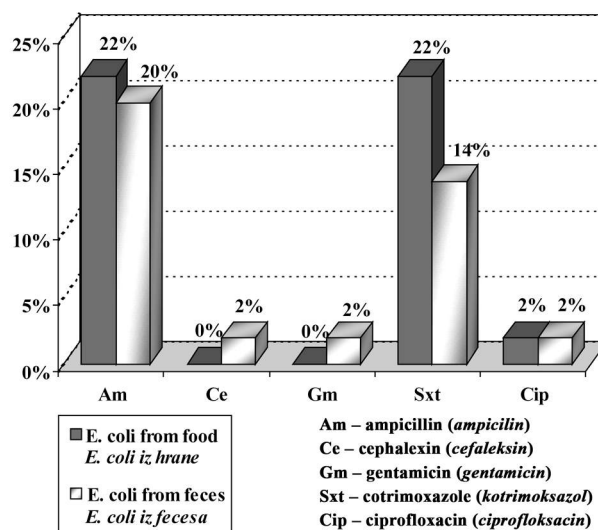


Graph 2. Percentage of resistance markers in *E. coli* isolates from food

Grafikon 2. Prikaz markera rezistencije izolata *E. coli* iz hrane u procentima

The comparison of antimicrobial resistance of *E. coli* strains originating from food and those from fec-

es isolated during 2010 showed similar percentage of resistant isolates to ampicillin and cotrimoxazole, the same percentage of resistant isolates to ciprofloxacin and presence of the resistance to cephalixin and gentamicin only in fecal isolates (Graph 3).



Graph 3. Comparative review of the percentage of resistant *E. coli* isolates from food and feces in 2010

Grafikon 3. Upporedni prikaz procenta rezistentnih izolata *E. coli* iz uzoraka hrane i fecesa u 2010. godini

Discussion

The consequences of antimicrobial resistance on the public health include a complicated therapy of infectious diseases and increased frequency of treatment failures, increased morbidity and mortality, longer hospitalization and increased expenses. Antimicrobial therapy affects not only pathogenic bacteria, but also the normal flora of the host. Antibiotics exert the selective pressure, bacteria that survive the treatment possess the resistance genes, which they can transfer to their descendants or exchange with other bacteria. In this way, antimicrobial drugs change the structure of normal bacterial inhabitants of the human body and turn the normal flora into a significant reservoir of resistance genes [12].

This study has confirmed the hypothesis about *E. coli* of normal intestinal flora being the reservoir of resistance genes. Since the presence of *E. coli* in food is usually the result of fecal contamination, food contaminated with these bacteria represents a potential way of transmission for antimicrobial resistance genes.

A certain increase of the resistance level in *E. coli* of normal intestinal flora was found in the period from 2007 to 2010 because the number of isolates that harbored 2 resistance markers was statistically significantly higher in 2010, and isolates with 3 and 4 markers emerged as well, whereas such strains were not found in 2007.

The majority of fecal isolates in both study years were resistant to ampicillin (28%, 20%) and cotrimoxazole (2%, 14%). The resistance to cephalixin, gen-

tamicin (4%) and ciprofloxacin (2%) emerged in 2010. The presence of 2 multi-resistant strains in 2010 is significant; however, there was no evidence of such strains in 2007. The resistance marker for ciprofloxacin, which was present in one isolate of *E. coli* and associated with markers for ampicillin, gentamicin and cotrimoxazole, could represent a great health problem for the human carrier if endogenous infection with those bacteria developed.

An investigation of resistance markers among children aged from 6 months to 6 years was conducted at the Athens University. Out of 181 isolates, 88 (48.6%) were found to be resistant to some of antibiotics tested, 74 (40.9%) to ampicillin, and 38 (21%) to cotrimoxazole. The fact that bacteria of infantile normal intestinal flora harbor approximately the same percentage of resistance markers to ampicillin as those found in adults is of great concern [13]. Bartoloni et al. found the carriage of 95% *E. coli* of normal flora resistant to ampicillin, 94% to sulfamethoxazole-trimethoprim, 21% to gentamicin and 18% to ciprofloxacin in the intestine of children from urban areas in Peru and Bolivia [5].

An investigation performed at the Karolinska Institute in Sweden revealed that out of the total of 141 isolates of *E. coli* of normal flora, 94 isolates (66.66%) were resistant to some of antimicrobials tested. The resistance to ampicillin was found in 43 isolates (30.5%) and to cotrimoxazole in 32 isolates (22.7%) [14]. The antimicrobial resistance was more common than in our investigation, but as in our study, the most common resistance markers were those to ampicillin and cotrimoxazole because of the frequent administration of these drugs. Resistant isolates in the normal flora were detected in the studies of the authors from Holland and China in a considerably greater percentage than in our investigation [15,16].

In Denmark, there is a system for annual monitoring of antimicrobial drug consumption in human and veterinary medicine, as well as of the emergence of antimicrobial resistance of bacteria in humans, animals and food. According to their annual report, the resistance to ampicillin and ciprofloxacin in *E. coli* from healthy volunteers is equal to the resistance of *E. coli* isolated from pork and chicken meat. The resistance to ampicillin of *E. coli* isolated from healthy volunteers (28%) is similar to our findings, but the resistance to gentamicin (7%) and ciprofloxacin (13%) is more frequent than in our study [8,17].

Many countries of European Union as well as America and Japan have recently introduced monitoring systems for examination of the resistance of not only human pathogenic bacteria, but also of these isolated from animals, especially animals grown for food industry, with the emphasis on *E. coli* [18-20]. Investigations performed by many scientific teams confirmed the emergence of multi-resistant *E. coli* strains isolated from food samples, as well as an increase of antimicrobial resistance in the past few years [17,21]. In 2009, the Danish monitoring system revealed ampicillin- and sulfonamide-resistant *E. coli* from pork in 29% and 38% of cases, respectively – the former being sim-

ilar to our data for this antibiotic and the latter significantly higher than in our case. In Denmark, the resistance to ciprofloxacin in broiler meat was 4.1% in comparison to 2% in our country, and the resistance to cephalosporines was not recorded, which is in accordance with our results [17].

Harada and Asai proved that due to the selective pressure the most common combination of resistance markers in *E. coli* isolates from food was ampicillin and cotrimoxazole, which is the same in our work [22]. In the antimicrobial susceptibility testing of 50 *E. coli* strains isolated from food, 22% isolates were found to be resistant to ampicillin and cotrimoxazole and only 2% to ciprofloxacin. By comparing our results with results of investigation of Adelaide et al, it was observed that the percentage of resistant *E. coli* strains isolated from food was significantly lower in our region [23].

Jakobsen with coauthors described the exceptional importance of asymptomatic carriage of multi-resistant *E. coli* strains that reached the intestinal tract via food, considering the increased number of urinary tract infections and endogenous infections of other localizations [24].

Johnson et al. in USA and Thorsteinsdottir with his team in Iceland have come to similar conclusions - that the food of animal origin is the most important source of *E. coli* as a potential pathogen, especially if it carries resistance genes. However, the antimicrobial resistance varies depending on the kind of food and its geographic origin because of different trends in administration of antibiotics in veterinary practice [25,26].

The statement that resistant strains are transferred across the borders via passengers, agricultural products and waterways has been corroborated by the investigation performed by the authors from University of Texas, Dallas on healthy volunteers-travelers without diarrhea, who had not used antibiotics and who were found to have acquired resistance to trimethoprim in 46% of cases, often associated with resistance to some other drugs (ampicillin 44%, ciprofloxacin 11%) after 3 weeks of traveling from the USA to Mexico. The resistance was probably the consequence of poor sanitary conditions and repeated intake of food and water contaminated by enteric bacteria [27].

Although animals raised on organic farms carry in their intestinal tract *E. coli* less resistant to antimicrobial drugs than that carried by animals from conventional farms, they do have resistance genes. These results indicate that the change in the pattern of antibiotic use does not have complete effect on the resistance loss in *E. coli* strains and that antimicrobial resistance emerges and accumulates more quickly than it disappears [28,29].

The data obtained in this study indicate that the prevalence of resistance markers in *E. coli* strains isolated in this region of our country is mostly lower than in other countries. However, the presence of resistance markers in enteric bacteria tested and in strains from food, and particularly the presence of multi-resistant bacteria in them as well as the resistance to ciprofloxacin, should be the signal that it is time to introduce monitoring of resistance in our country, not only for

pathogenic bacteria, but also for bacteria of human and animal normal flora and for isolates from food simultaneously with the antibiotics consumption monitoring and control. The final goal is to preserve the antimicrobial drug activity and to slow down the development and spreading of the antimicrobial resistance. Ban on antibiotics as growth promoters and prophylactic substances in animals would have a significant effect on resistance level decrease [6].

Fight against resistance requires interdisciplinary and intersectoral collaboration on both national and international level. The prudent use of antimicrobial drugs in all sectors is the key to the resistance prevention and control. The surveillance and monitoring of bacterial resistance and antibiotics consumption in human and veterinary medicine are important parts of the prevention and control since they provide use-

ful information on resistance trends essential for risk assessment and containment measures planning.

Conclusion

This study documented the presence of resistance markers to most commonly used antimicrobial drugs in *Escherichia coli* both from feces of healthy individuals and from food samples. The resistance to ampicillin and cotrimoxazole was the most frequent, but of great concern is the finding of multi-resistant strains and those resistant to ciprofloxacin. Resistance genes can be transferred via food and they are frequently exchanged within bacterial strains of normal flora. There is an urgent need for development of the universal system of permanent monitoring and surveillance of antimicrobial resistance.

References

1. Sević S, Stefan-Mikić S, Vukadinov J, Turkulov V, Doder R, Cvjetković D. Razvoj antimikrobne terapije. Med Pregl 2010; 63(Suppl 1):9-13.
2. Kulauzov M, Mihajlović-Ukropina M, Jelesić Z, Medić D, Kozoderović G. Ispitivanje osetljivosti bakterija na antimikrobne lekove i tumačenje rezultata. Med Pregl 2010;63(Suppl 1):17-21.
3. Allerberger F, Gareis R, Jindrak V, Struelens MJ. Antibiotic stewardship implementation in the EU: the way forward. Exp Rev Anti Infect Ther 2009;7(10):1175- 83.
4. Aehrstrup FM, Wegener HC, Collignon P. Reistance in bacteria of the food chain: epidemiology and control strategies. Exp Rev Anti Infect Ther 2008;6(5):733-50.
5. Bartoloni A, Pallecchi L, Benedetti M, Fernandez C, Vallejos Y, Guzman E, et al. Multidrug-resistant commensal *Escherichia coli* in children, Peru and Bolivia. Emerg Infect Dis. 2006;12(6):907-13.
6. Gusman-Pasterko V. Normalna crevna flora kao rezervoar gena rezistencije na antimikrobne lekove (magistarski rad). Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu; 2007.
7. Boerlin P, Reid-Smith RJ. Antimicrobial resistance: its emergence and transmission. Animal Health Res Rev 2008;9(2): 115-26.
8. Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food, animals and humans in Denmark. The 14 DANMAP report; 2009. Available from: [ftp://www.thepigsite.com](http://www.thepigsite.com)
9. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. Manual of clinical microbiology. 8th ed. Washington DC: ASM Press; 2003. p. 44-54, 1467-653.
10. Pravilnik o metodama vršenja analiza i superanaliza životnih namirnica. Sl list SFRJ 1980;(25).
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for disk susceptibility tests; approved standard – twentieth informational supplement. CLSI document M100-S20. 2010;30(1). Available from: <http://www.catalog.bd.com/bd.Cat>
12. Jernberg C, Löfmark C, Edlund C, Jansson JK. Long-term ecological impact of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. The ISME Journal 2007 February; 1: 56-66. Available from: <http://www.nature.com/ismej/journal/v1/n1/abs/ismej20073.a.html>
13. Vatopoulos AC, Verversou E, Petridou E, Moustaki M, Kyriakopoulos M, Kapogiannis D et al. High rates of antibiotic resistance among faecal flora *Escherichia coli* isolates in children from Greece. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1496-0691.1998.tb.x/full>.
14. Kronvall G, Larsson M, Boren C, Kahlmeter G, Bartoloni A, Rossolini GM, et al. Extended antimicrobial resistance screening of the dominant faecal *Escherichia coli* and of rare resistant clones. Int J Antimicrob Agents. 2005;26(6):473-8.
15. Bonten M, Stobberingh E, Philips J, Houben A. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* in fecal samples of healthy people in two different areas in an industrialized country. Infection. 1992;20(5):258-62.
16. Zhang XL, Wang F, Zhu DM, Wu S, Chen YD, Wang YQ, et al. The carriage of *Escherichia coli* resistant to antibiotics in healthy populations in Shanghai. Biomed Environ Sci. 1998;11(4):314-20.
17. Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food, animals and humans in Denmark. DANMAP 2009. 2010 September: 71-4. Available from: <http://milkworld.com.br/relatorios/post/>
18. Phillips I, Casewell M, Cox T, De Groot B, Friis R, Nightingale C, et al. Does the Use of Antibiotics in Food Animals Pose a Risk to Human Health? A Critical Review of Published Data. J Antimicrob Chemother. 2004; 53:28-52
19. Kojima A, Asai T, Ishihara K, Morioka A, Akimoto K, Sugimoto Y, et al. National monitoring for antimicrobial resistance among indicator bacteria isolated from food-producing animals in Japan. J Vet Med Sci. 2009;71(10):1301-8.
20. Zanella GN, Mikcha JM, Bando E, Siqueira VL, Macchini M Jr. Occurrence and antibiotic resistance of coliform bacteria and antimicrobial residues in pasteurized cow's milk from Brazil. J Food Prot. 2010;73(9):1648-7.
21. Baek E, Lee D, Jang S, An H, Kim M, Lee K, et al. Antibiotic resistance and assessment of food-borne pathogenic bacteria in frozen foods. Arch Pharm Res. 2009;32(12):1749-57.
22. Harada K, Asai T. Role of antimicrobial selective pressure and secondary factors on antimicrobial resistance prevalence in *Escherichia coli* from food-producing animals in Japan. J Biomed Biotechnol 2010;2010:180682.
23. Adelaide OA, Bii C, Okemo P. Antibiotic resistance and virulence factors in *Escherichia coli* from broiler chicken slaughtered at Tigoni processing plant in Limuru, Kenya. East Afr Med J. 2008;85(12):597-606.

24. Jakobsen L, Kurbasic A, Skjot-Ramussen L, Ejrnaes K, Porsbo LJ, Pedersen K, et al. *Escherichia coli* isolates from broiler chicken meat, broiler chickens, pork, and pigs share phylogroups and antimicrobial resistance with community-dwelling humans and patients with urinary tract infection. *Foodborne Pathog Dis.* 2010;7(5):537-47.

25. Thorsteinsdottir TR, Haraldsson G, Fridriksdottir V, Kristinsson KG, Gunnarsson E. Prevalence and Genetic Relatedness of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolated from animals, food and humans in Iceland. *Zoonoses Public Health.* 2010;57(3):189-96.

26. Johnson JR, McCabe JS, White DG, Johnston B, Kuskowski MA, McDermott P. Molecular analysis of *Escherichia coli* from retail meats (2002-2004) from the United States National antimicrobial resistance monitoring system. *Clin Infect Dis* 2009;49:195-201.

27. Haug DB, Jiang ZD, Ericsson CD, Adachi J, Dupont HL. Emergence of Trimetoprim-resistant *Escherichia coli* in healthy persons in the absence of prophylactic or therapeutic antibiotics during travel to Guadalajara, Mexico. *Scand Infect Dis.* 2001;33(11):812-4.

28. Zhang J, Wall SK, Xu L, Ebner PD. Contamination rates and antimicrobial resistance in bacteria isolated from "Grass-fed" labeled beef products. *Foodborne Pathog Dis.* 2010;7(11):1331-6.

29. Furtula V, Farrell EG, Diarrassouba F, Rempel H, Pritchard J, Diarra MS. Veterinary pharmaceuticals and antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolates in poultry litter from commercial farms and controlled feeding trials. *Poult Sci.* 2010;89(1):180-8.

Sažetak

Uvod

Escherichia coli kao deo normalne crevne flore može biti rezervoar gena rezistencije na antibiotike, a hrana je najznačajniji vektor za širenje rezistencije između ljudi i životinja. Cilj ovog rada bio je da se ispita osetljivost na najčešće korišćene antimikrobne lekove izolata *Escherichiae coli* iz stolica zdravih osoba i iz hrane, kao indikatorskog mikroorganizma za nivo rezistencije u našoj populaciji i da se utvrdi potencijalni put prenosa gena rezistencije na antibiotike.

Materijal i metode

Ispitana je osetljivost po 50 izolata *Escherichiae coli* iz fecesa zdravih osoba izolovanih 2007. i 2010. godine i 50 izolata iz hrane. Za izolaciju i identifikaciju bakterija korišćene su standar-

dne bakteriološke metode, a interpretacija rezultata antibiograma bila je u skladu sa Standardom iz 2010. godine.

Rezultati

Markeri rezistencije nađeni su u svim ispitanim grupama *Escherichiae coli*. Svi izolati su najčešće bili rezistentni na ampicilin i kotrimoksazol, u 2010. godini nalaze se i multirezistentni sojevi i rezistencija na ciprofloksacin, a tipovi rezistencije izolata iz stolice i hrane su vrlo slični.

Zaključak

Nalaz rastuće rezistencije na antimikrobne lekove, kako kod ešerihije normalne crevne flore tako i kod izolata iz hrane, pokazuje da je potrebno razviti sistem kontinuiranog sveobuhvatnog praćenja rezistencije bakterija na antibiotike.

Ključne reči: Ešerihija koli; Mikrobiološka rezistencija na lekove; Bakterijska rezistencija na lekove + genetika; Antibiotici; Feces + mikrobiologija; Mikrobiologija hrane; Ljudi

Rad je primljen 11. III 2011.

Prihvaćen za štampu 1. IV 2011.

BIBLID.0025-8105:(2011):LXIV:7-8:397-402.

Klinički centar Niš
Centar za anesteziju i reanimaciju¹
Medicinski fakultet Niš²

Stručni članak
Professional article
UDK 616.714.1-001-06:616.24
DOI: 10.2298/MPNS1108403M

INCIDENCIJA I FAKTORI RIZIKA ZA NASTANAK PNEUMONIJE TOKOM MEHANIČKE VENTILACIJE BOLESNIKA SA TEŠKOM POVREDOM GLAVE

THE INCIDENCE AND RISK FACTORS OF VENTILATOR- ASSOCIATED PNEUMONIA IN PATIENTS WITH SEVERE TRAUMATIC BRAIN INJURY

Vesna MARJANOVIĆ¹, Vesna NOVAK², Ljubinka VELIČKOVIĆ² i Goran MARJANOVIĆ²

Sažetak – Bolesnici sa teškom povredom glave su pod rizikom od nastanka pneumonije tokom mehaničke ventilacije, a cilj ove studije je da opiše incidenciju, etiologiju, faktore rizika za pojavu pneumonije i ishod bolesti. Retrospektivna studija je učinjena na 72 bolesnika sa teškom povredom glave, koji su zahtevali primenu mehaničke ventilacije duže od 48 sati. Pneumonija je evidentirana kod 31 bolesnika (43,06%). Sigurni faktori rizika za pojavu pneumonije su: prolongirana mehanička ventilacija (12,42 u odnosu na 4,34 dana, $p < 0,001$), duži boravak u jedinici intenzivne nege (17 u odnosu na 5 dana, $p < 0,001$) i povreda grudnog koša (51,61 u odnosu na 19,51%, $p = 0,009$) u odnosu na bolesnike bez pneumonije. Kod bolesnika sa pneumonijom evidentirana je povećana smrtnost (38,71 u odnosu na 21,95%, $p = 0,12$). Pojava pneumonije tokom mehaničke ventilacije bolesnika sa teškom povredom glave povećala je značajno morbiditet usled dužeg trajanja mehaničke ventilacije i boravka u jedinici intenzivne nege, usled povrede grudnog koša, bez uticaja na krajni ishod.

Ključne reči: Mehanička ventilacija + neželjeni efekti; Pneumonija; Faktori rizika; Povrede glave; Incidenca; Politrauma

Uvod

Bolesnici sa teškom povredom glave (TPG) pokazali su visok rizik od nastanka pneumonije tokom mehaničke ventilacije (MV) sa incidencijom od 28% do 40%. Time se pogoršava njihov neurološki ishod, prolongira boravak u jedinici intenzivne nege (JIN) i hospitalizacija, povećava stopa mortaliteta i cena lečenja [1,2]. Najčešći prouzrokoivači pneumonije tokom MV bolesnika sa TPG su *Streptococcus pneumoniae* u 6%, *Haemophilus influenzae* u 20%, *Staphylococcus aureus* u 22%, kao i Gram-negativne bakterije (*Pseudomonas aeruginosa*) kod 20% bolesnika [3]. Pojedini autori ističu uticaj mnogobrojnih faktora rizika na povećanje incidencije pneumonije tokom MV bolesnika sa TPG: imunosupresija nakon povrede glave (prisutna je značajna T-limfopenija kao i redukcija humoralnog imuniteta) [4], postojanje nižeg *Glasgow Coma Score* (GCS), visokog trauma skora [5,6], prethodno korišćenje antibiotika [7], prolongirano trajanje MV, duži boravak u JIN i duža hospitalizacija [8,9]. Nastanak pneumonije tokom MV komplikuje lečenje i krajnji ishod bolesnika sa TPG, pri čemu je evidentiran visok stepen smrtnosti (30 do 54%) [10]. Sa identifikacijom faktora rizika može se lakše i brže dijagnostikovati pneumonija tokom MV i učiniti terapijski postupci, koji će poboljšati klinički tok i ishod lečenja kod ovih bolesnika.

Cilj ove studije je da utvrdi incidenciju, etiologiju, faktore rizika za nastanak pneumonije tokom MV kao i njen uticaj na ishod lečenja bolesnika sa TPG.

Materijal i metode

Ova retrospektivna studija obuhvatila je 72 bolesnika sa TPG, koji su hospitalizovani u JIN Klinike

za neurohirurgiju Kliničkog centra Niš od 2001. do 2003. godine. Teška povreda glave je definisana sledećim kriterijumima: 1) vrednosti *Glasgow Coma Score* (GCS) 8 ili manje kod bolesnika sa izolovanom TPG; 2) vrednosti *Glasgow Coma Score* (GCS) 8 ili manji kod bolesnika sa TPG i povredom grudnog koša ili kostiju; 3) potrebom za intubacijom i mehaničkom ventilacijom pluća. Kriterijumi, koji su isključivali bolesnike iz ove studije su sledeći: 1) bolesnici mlađi od 18 godina, 2) prisustvo teških bolesti bez mogućnosti za povoljan ishod – moždana smrt ili srčani zastoj pre ulaska u JIN, 3) pozitivan nalaz trahealnog aspirata ili bronhoalveolarnog lavata (BAL) o postojanju pneumonije pre prijema u JIN, 4) prethodne plućne bolesti. Kliničko lečenje bolesnika započinjano je prema preporukama Američkog udruženja neurohirurga za lečenje bolesnika sa neurotraumom [11].

Klinički, laboratorijski i radiografski podaci su analizirani kod svih bolesnika sa TPG radi evidentiranja pneumonije, nastale nakon 48 sati od početka MV. Dijagnoza pneumonije tokom MV postavljena je na osnovu sledećih kliničkih parametara: hipertermije $>38,5^{\circ}\text{C}$ ili hipotermije $<36,5^{\circ}\text{C}$, prisustva purulentnog sputuma, leukocitoze $>10\,000/\text{mm}^3$ ili leukopenije $<3\,000/\text{mm}^3$, hipoksemije $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 250$ mmHg, prisustva novog plućnog infiltrata na radiografiji grudnog koša, pozitivnog kvantitativnog nalaza trahealnog aspirata ($\geq 10^6$ cfu/ml) ili BAL-a ($\geq 10^4$ cfu/ml) [12–14]. Mere prevencije pneumonije tokom mehaničke ventilacije kod bolesnika sa TPG učinjena je prema preporukama *National nosocomial infections surveillance system (NNIS)* [15], kao i antibiotska profilaksa cefuroksimom [7].

Skraćenice

MV	– mehanička ventilacija
TPG	– teška povreda glave
JIN	– Jedinica intenzivne nege
GCS	– Glasgow Coma Score
PaO ₂	– parcijalni pritisak kiseonika u arterijskoj krvi
BAL	– bronhoalveolarni lavat

Svi bolesnici sa TPG podeljeni su u 2 grupe – bolesnici sa izolovanom TPG i bolesnici sa TPG i pneumonijom. Oni su praćeni svakodnevno tokom lečenja u JIN, a analizirani su sledeći parametri: incidencija i etiologija (tip mikroorganizma) pneumonije tokom MV, starost, pol, vrednosti GCS, trajanje MV, dužina boravka u JIN, incidencija politraume (udruženost TPG sa povredom grudnog koša ili dugih kostiju) i traheotomije kao i ishod lečenja. Traheotomija je učinjena hirurškim putem tokom sedmog dana mehaničke ventilacije bolesnika.

Statistička analiza je učinjena korišćenjem kompjuterskog programa SPSS 10.0 Microsoft Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Deskriptivnom statističkom analizom prikazani su aritmetička sredina, standardna devijacija. Analitičkom statističkom metodologijom utvrđena je statistička značajnost međusobnih razlika frekvencija pojavljivanja određenih obeležja kod ispitanika. Testiranja su obavljena ² testom, Fisher exact testom, Mann Whitney U-testom i Studentovim t-testom. Merenje prediktornog uticaja ispitivanih parametara na pojavu pneumonije tokom MV urađeno je logističkom multivarijantnom regresionom analizom. Statistički je smatrana značajnom *p* vrednost manja od 0,05. Rezultati statističke analize prikazani su tabelarno.

Rezultati

Tokom analiziranog perioda, 72 bolesnika sa TPG su zahtevali primenu MV kao jedne od terapijskih postupaka, duže od 48 sati. Bolesnici su bili prosečne starosti 46 godina, sa predominacijom muškaraca (73,61%) i sa GCS koji je iznosio 5,95±2,34. Kod 50% analiziranih bolesnika je pored povrede glave evidentirano i postojanje traume grudnog koša ili dugih kostiju. Prosečno trajanje MV kod ovih bolesnika iznosilo je 8,48±5,76 dana, dužina boravka u JIN 9,86± 8,21 dana, pri čemu je kod 25% bolesnika izvršena traheotomija. Evidentirana je stopa mortaliteta kod ovih bolesnika od 29,17%. Osnovne karakteristike ispitivanih bolesnika sa TPG, koji su hospitalizovani u JIN, prikazane su u **Tabeli 1**.

Tokom MV bolesnika sa TPG, kod 31 bolesnika (43,06%) dijagnostikovana je pneumonija. Pneumonija je nastala nakon prosečno 7,4 dana od početka MV. U grupi bolesnika sa pneumonijom, kod 19 bolesnika (61,29%) identifikovan je monomikrobni, a kod 12 bolesnika (38,71%) polimikrobni prouzročivač pneumonije. Najčešće izolovani prouzročivači pneumonije su: *Pseudomonas aeruginosa* (32,72%), *Acinetobacter baumannii* (29,09%), *Staphylococcus aureus* (16,36%). Distribucija mikrobioloških patogena izolovanih kod bolesnika sa pneumonijom i TPG u JIN prikazana je u **Tabeli 2**.

Tabela 1. Osnovne karakteristike bolesnika sa teškom povredom glave

Table 1. Baseline characteristics of patients with traumatic brain injury (TBI)

Broj bolesnika/Number of patients (N)	72
Starost (g)/Age (y) (x±SD)	46,36±18,54
Muškarci/Men (%)	53/72 (73,61)
Žene/Women (%)	19/72 (26,39)
GCS na prijemu u bolnicu/GCS on admission (x±SD)	5,95±2,34
TPG (izolovana)/TBI (isolated) N (%)	36/72 (50)
TPG + politrauma/TBI + poly-trauma N (%)	36/72 (50)
MV (dani)/MV days (x±SD)	8,48±5,76
Dužina boravka u JIN (dani)/ICU length of stay (days) (x±SD)	9,86±8,21
Bolesnici sa pneumonijom/Patients with VAP N (%)	31/72 (43,06)
Traheotomija/Tracheotomy N (%)	18/72 (25)
Mortalitet bolesnika/Hospital mortality N (%)	21/72 (29,17)

MV - mechanical ventilation; ICU - Intensive Care Unit; VAP - ventilator associated pneumonia

Tabela 2. Distribucija monomikrobnih i polimikrobnih prouzročivača izolovanih tokom mehaničke ventilacije bolesnika sa pneumonijom

Table 2. Distribution of mono-microbial and poly-microbial pathogens isolated in patients with ventilator associated pneumonia

Izolovani mikroorganizmi/Microorganisms isolated	N (%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18 (32,72)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	16 (29,09)
<i>Staphylococcus aureus</i>	9 (16,36)
<i>Klebsiella spp</i>	5 (9,09)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4 (7,27)
<i>Enterobacter spp</i>	3 (5,45)

Bolesnici sa pneumonijom su mlađeg životnog doba (40,97±16,84 u odnosu na 50,51±18,92 god., *p*<0,03) i istog GCS (vrednost GCS 6) u odnosu na bolesnike bez pneumonije. Kod bolesnika sa pneumonijom evidentirano je prolongirano trajanje MV (12,42±5,52 u odnosu na 4,34±2,16 dana, *p*<0,001) u odnosu na bolesnike bez pneumonije, a logistička regresiona analiza pokazala je da prolongirana MV predstavlja značajan faktor rizika za nastanak pneumonije (OR 2,49, 95% CI 1,63-3,81, *p*<0,001). Kod bolesnika sa pneumonijom se uočava i duži boravak u JIN (17 u odnosu na 5 dana, *p*<0,001) u odnosu na bolesnike bez pneumonije. Logističkom regresionom analizom je pokazano da dužina boravka u JIN predstavlja značajan faktor rizika za nastanak pneumonije (OR 2,37, 95% CI 1,40-4,02, *p*<0,001). Bolesnici sa pneumonijom su češće politraumatizovani (pored povrede glave imaju i povredu grudnog koša ili dugih kostiju) u 61,29% u odnosu na 41,46%, *p*=0,11 kod bolesnika bez pneumonije, ali razlika nije bila statistički značajna. Bolesnici sa pneumonijom tokom MV su imali češću povredu grudnog koša u odnosu na bolesnike bez pneumonije (51,61 u odnosu na 19,51%, *p*=0,009), a logistička regresiona analiza pokazuje da povreda grudnog koša predstavlja značajan faktor rizika za nastanak pneumonije (OR 4,40, 95% CI 1,38-14,41, *p*=0,009). Fraktura dugih kostiju je jednako zastupljena, kod bolesnika sa pneumonijom i bez pneumonije tokom MV (9,67 u odnosu na 21,95%, *p*=0,28), a logistička regresiona analiza ukazuje da fraktura du-

Tabela 3. Parametri kod bolesnika sa ili bez pneumonije tokom mehaničke ventilacije**Table 3.** Parameters in patients with or without ventilator-associated pneumonia (VAP)

	Sa pneumonijom With VAP	Bez pneumonije Without VAP	p p-value
Broj bolesnika N (%) Number of patients N (%)	31/72 (43,06)	41/72 (56,94)	0,41
Starost (godine)/Age (y)	40,97 ± 16,84	50,51 ± 18,92	0,03
Muškarci/Men (%)	70,97	75,61	0,99
GCS na prijemu u bolnicu GCS on admission	6	6	0,32
MV (dani)/MV days (x±SD)	12,42 ± 5,52	4,34 ± 2,16	< 0,001
Dužina boravka u JIN (dani) (x±SD) ICU length of stay (days) (x±SD)	17	5	< 0,001
TPG + politrauma N (%) TBI + Polytrauma N (%)	19/31 (61,29)	17/41 (41,46)	0,11
TPG+povreda grudnog koša N (%) TBI + Chest injury N (%)	16/31 (51,61)	8/41 (19,51)	0,009
TPG+povreda dugih kostiju N (%) TBI + Bone injury N (%)	3/31 (9,67)	9/41 (21,95)	0,28
TPG (izolovana)/TBI (Isolated) N (%)	12/31 (38,71)	24/41 (58,54)	0,15
Traheotomija/Tracheotomy N (%)	17/31 (54,84)	1/41 (2,44)	< 0,001
Mortalitet/Hospital mortality N (%)	12/31 (38,71)	9/41 (21,95)	0,12

GCS - Galsgow coma score, MV - mechanical ventilation, ICU - Intensive Care Unit, TBI - traumatic brain injury

gih kostiju ne predstavlja značajan faktor rizika za nastanak pneumonije (OR 0,38, 95% CI 0,07–1,77, p=0,28). Traheotomija tokom MV je češće izvođena kod bolesnika sa pneumonijom (54,84 u odnosu na 2,44%, p<0,001). Kod bolesnika sa pneumonijom stopa mortaliteta je bila viša u odnosu na onu kod bolesnika bez pneumonije tokom MV (38,71 u odnosu na 21,95%, p=0,12). Regresiona analiza je pokazala da pneumonija nije značajan prediktor smrtnog ishoda kod ovih bolesnika (OR 1,58, 95% CI 0,61–4,10, p>0,05), ali se smrtni ishod kod bolesnika sa TPG i pneumonijom tokom mehaničke ventilacije očekuje 1,5 puta češće nego kod bolesnika bez pneumonije. Analiza navedenih parametara kod bolesnika sa pneumonijom i bez pneumonije tokom MV prikazana je u tabelama 3 i 4.

Tabela 4. Faktori rizika za pojavu pneumonije kod bolesnika sa teškom povredom glave u multivarijantnoj regresionoj analizi.**Table 4.** Risk factors for development of ventilator-associated pneumonia in patients with severe traumatic brain injury in multivariable regression analysis

	OR	95% CI	p
Dužina MV/MV days	2,49	1,63-3,81	0,001
Dužina boravka u JIN/ICU length of stay	2,37	1,40-4,02	0,001
TPG + povreda grudnog koša/TBI + Chest injury	4,40	1,38-14,41	0,009
TPG + povreda dugih kostiju/TBI + Bone injury	0,38	0,07-1,77	0,28
Mortalitet/Hospital mortality	1,58	0,61-4,10	0,12

Diskusija

Pneumonija je jedna od najčešćih nozokomijalnih infekcija kod bolesnika na MV, a kumulativni rizik za nastanak pneumonije iznosi 1% dnevno za ove bolesnike [16]. Narочito bolesnici sa TPG predstav-

ljaju visoko rizičnu grupu za nastanak pneumonije tokom MV. Zbog toga je ova grupa bolesnika predmet i daljeg istraživanja novih dijagnostičkih procedura, faktora rizika, terapijskih postupaka i preventivnih metoda tokom sprovođenja MV.

Incidencija pneumonije tokom MV u našoj studiji iznosila je 43,06%, što je u saglasnosti sa podacima Pieka i Bronchara, gde je evidentirana incidencija pneumonije kod 40,6% i 41,3% bolesnika sa povredom glave [17,18]. Suprotno tome, Berrouane i saradnici ukazuju na nižu incidenciju pneumonije tokom MV (26,2%), s obzirom da su ovom studijom obuhvaćeni bolesnici sa različitim intenzitetom neurotraume, a time i manjim rizikom za nastanak pneumonije [19]. U našoj studiji, svi analizirani bolesnici imali su GCS niži od 8 (prosečna vrednost GCS je 6), odnosno bili su sa istim intenzitetom neurotraume. Najveći rizik za nastanak pneumonije kod naših bolesnika se očekuje između sedmog i osmog dana MV, što je u saglasnosti sa studijom Berrouane i saradnika [19]. Najčešći prouzrokovalci pneumonije kod bolesnika u našoj studiji su *Pseudomonas aeruginosa* (32,72%), *Acinetobacter baumannii* (29,09%) i *Staphylococcus aureus* (16,36%). U studijama drugih autora evidentirani su najčešći prouzrokovalci pneumonija poput *Pseudomonas aeruginosa* u 29%, *Staphylococcus aureus* u 28%, *Klebsiella-Enterobacter* u 19% i *Acinetobacter* spp. u 18% [18,20]. U našoj studiji, uočeno je da su najčešći prouzrokovalci pneumonije *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*. Jedan od razloga za pojavu ovih multirezistentnih mikroorganizama može biti inicijalna primena cefuroksima u JIN. Ovakav mikrobiološki nalaz je u saglasnosti sa studijom Sirventa i saradnika [7].

Analizom naših bolesnika identifikovani su faktori rizika, koji mogu povećati incidenciju pneumonije tokom MV kao što su prolongirana MV, duži boravak u JIN i povreda grudnog koša. Sa dužim trajanjem mehaničke ventilacije i pojavom pneumonije povećava se potreba za hirurškom traheotomijom kod bolesnika sa teškom povredom glave. Tako prolongirana MV i duži boravak u JIN kod naših bolesnika može povećati rizik za pojavu pneumonije za skoro 3 puta. Ovi rezultati su i u saglasnosti sa podacima iz literature. Luna i saradnici [21] kao i Gadani i saradnici [22] su dokazali da duži period hospitalizacije, prolongirana MV predstavljaju nezavisne faktore rizika za nastanak pneumonije tokom MV, a Rocha i saradnici [20] u faktore rizika svrstavaju MV dužu od 7 dana i traheotomiju. Patel i saradnici [23] ukazuju da trauma i dužina MV mogu predstavljati faktore rizika za nastanak pneumonije. U našoj studiji, samo postojanje politraume ne predstavlja faktor rizika za nastanak pneumonije, već tip politraume. Tako povreda grudnog koša može povećati rizik za pojavu pneumonije preko 4 puta u odnosu na bolesnike bez pneumonije, dok povreda dugih kostiju nema uticaja na nastanak pneumonije tokom MV. Dobijeni rezultati iz naše studije su u saglasnosti sa podacima iz literature, u kojima je opisan negativan uticaj visokog trauma skora i povrede grudnog koša na povećanu incidenciju pneumonije tokom MV [6,8,24].

Zbog poteškoća u postavljanju dijagnoze, divergentnih kliničkih kriterijuma u mnogim studijama, još uvek nije jasno prikazan uticaj pneumonije nastale tokom MV na porast mortaliteta bolesnika [25]. U studiji Chastre i saradnika [3] opisano je da se stopa mortaliteta kod bolesnika sa pneumonijom kreće od 24% do 50%, a u nekim specifičnim stanjima i do 76%. Piek i saradnici [17] su takođe razmatrali pneumoniju kao neželjeni prognostički faktor kod bolesnika sa TPG. U našoj studiji, bolesnici sa pneumonijom su tokom MV pokazali veću stopu mortaliteta (38,71 u odnosu na 21,95%) u odnosu na bolesnike bez pneumonije, ali regresiona analiza nije pokazala da pojava pneumonije tokom MV bolesnika sa TPG predstavlja siguran faktor rizika za smrtni ishod. Dokazano je samo da se kod bolesnika sa pneumonijom očekuje 1,5 puta češće smrtni ishod u odnosu na bolesnike bez pneumonije. Zbog toga su potrebna

dalja istraživanja novih faktora rizika koji uzrokuju pojavu pneumonije tokom MV bolesnika sa TPG i smrtni ishod kod ovih bolesnika. U lečenju bolesnika sa TPG značajno je sprovesti sve preventivne mere tokom MV, kako bi se redukovala stopa mortaliteta.

Zaključak

Kod bolesnika sa teškom povredom glave postoji visok rizik za nastanak pneumonije tokom mehaničke ventilacije. Naše istraživanje je pokazalo da pojava pneumonije posebno povećava morbiditet ovih bolesnika usled prolongiranog trajanja mehaničke ventilacije, dužeg boravka u jedinici intenzivne nege i povrede grudnog koša. Dalje studije su neophodne u praćenju ostalih faktora rizika, koji mogu dovesti do pojave pneumonije kod ovih bolesnika.

Literatura

1. Fabregas N, Torres A. Pulmonary infection in brain injured patient. *Minerva Anesthesiol* 2002;68:285-90.
2. Ewig S, Torres A, El-Ebiary M, Fábregas N, Hernández C, González J, et al. Bacterial colonization patterns in mechanically ventilated patients with traumatic and medical head injury. Incidence, risk factors and association with ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:188-98.
3. Chastre J, Fagon JY. State of the art: ventilator associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:867-903.
4. Epifantseva NN, Borshchikova TI, Surzhikova GS, Churliaev IA, Dantsinger DG, Vialova VN, et al. The specific features of immune disorders in acute severe brain injury. *Anesteziol Reanimatol* 2009;(6):65-8.
5. Croce MA, Tolley EA, Claridge JA, Fabian TC. Transfusions result in pulmonary morbidity and death after a moderate degree of injury. *J Trauma* 2005;59:19-23.
6. Magnotti LJ, Croce MA, Fabian TC. Is Ventilator-associated pneumonia in trauma patients an epiphenomenon or a cause of death? *Surg Infect* 2004;5:237-42.
7. Sirvent JM, Torres A, El-Ebiary M, Castro P, de Batlle J, Bonnet A, et al. Protective effect of intravenously administered cefuroxime against nosocomial pneumonia in patients with structural coma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1729-34.
8. Croce MA, Fabian TC, Waddle-Smith L, Maxwell RA. Identification of early predictors for post-traumatic pneumonia. *Am Surg* 2001;67(2):105-10.
9. Tejerina E, Frutos-Vivar F, Restrepo MI, Anzueto A, Abroug F, Palizas F, et al. International Mechanical Ventilation Study Group. Incidence, risk factors, and outcome of ventilator-associated pneumonia. *J Crit Care* 2006;21:56-65.
10. Zygun DA, Laupland KB, Hader WJ, Kortbeek JB, Findlay C, Doig CJ, et al. Population based study of severe traumatic brain injury in a large Canadian health region. *Can J Neurol Sci* 2005;32:87-92.
11. The Brain Trauma Foundation. The American Association of Neurological Surgeons. The Joint Section on Neurotrauma and Critical Care. Trauma systems. *J Neurotrauma*. 2001;17(6-7):457-62.
12. American Thoracic Society and Infectious Disease Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:388-416.
13. Luna CM, Vujacich P, Niederman MS, Vay C, Gherardi C, Matera J, et al. Impact of BAL data on the therapy and outcome of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1997;111:676-85.
14. Fagon JY, Chastre J, Wolff M, Gervais C, Parer-Aubas S, Stéphan F, et al. Invasive and noninvasive strategies for management of suspected ventilator-associated pneumonia: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2000;132:621-30.
15. Emori TG, Culver DH, Horan TC, Jarvis WR, White JW, Olson DR, et al. National nosocomial infections surveillance system (NNIS): description of surveillance methods. *Am J Infect Control* 1991;19:19-35.
16. Mehta RM, Niederman MS. Nosocomial pneumonia. *Curr Opin Infect Dis* 2002;15:387-94.
17. Piek J, Chesnut RM, Marshall LF, van Berkum-Clark M, Klauber MR, Blunt BA, et al. Extracranial complications of severe head injury. *J Neurosurg* 1992;77:901-7.
18. Bronchard R, Albaladejo P, Brezac G, Geffroy A, Seince PF, Morris W, et al. Early onset pneumonia: risk factors and consequences in head trauma patients. *Anesthesiology* 2004;100:234-9.
19. Berrouane Y, Daudenthun I, Riege B, Emery MN, Martin G, Krivosic R, et al. Early onset pneumonia in neurosurgical intensive care unit patients. *J Hosp Infect* 1998;40:275-80.
20. Rocha Lde A, Vilela CA, Cezário RC, Almeida AB, Gontijo Filho P. Ventilator-associated pneumonia in an adult clinical-surgical intensive care unit of a Brazilian university hospital: incidence, risk factors, etiology, and antibiotic resistance. *Braz J Infect Dis* 2008;12:80-5.
21. Luna CM, Aruj PK. Nosocomial acinetobacter pneumonia. *Respirology* 2007;12:787-91.
22. Gadani H, Vyas A, Kar AK. A study of ventilator-associated pneumonia: incidence, outcome, risk factors and measures to be taken for prevention. *Indian J Anaesth* 2010;54(6):535-40.
23. Patel PJ, Leeper KV Jr, McGowan JE Jr. Epidemiology and microbiology of hospital-acquired pneumonia. *Semin Respir Crit Care Med* 2002;23:415-25.
24. Zygin DA, Zuege DJ, Boiteau PJE, Laupland KB, Henderson EA, Kortbeek JB, et al. Ventilator-associated pneumonia in severe traumatic brain injury. *Neurocrit Care* 2006;5:108-14.
25. Diaz E, Planas K, Rello J. Infection associated with the use of assisted-ventilation devices. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008;26:465-70.

Summary

Introduction

Patients with severe traumatic brain injury are at a risk of developing ventilator-associated pneumonia. The aim of this study was to describe the incidence, etiology, risk factors for development of ventilator-associated pneumonia and outcome in patients with severe traumatic brain injury.

Material and Methods

A retrospective study was done in 72 patients with severe traumatic brain injury, who required mechanical ventilation for more than 48 hours.

Results

Ventilator-associated pneumonia was found in 31 of 72 (43.06%) patients with severe traumatic brain injury. The risk factors for

ventilator-associated pneumonia were: prolonged mechanical ventilation (12.42 vs 4.34 days, $p < 0.001$), longer stay at intensive care unit (17 vs 5 days, $p < 0.001$) and chest injury (51.61 vs 19.51%, $p < 0.009$) compared to patients without ventilator-associated pneumonia. The mortality rate in the patients with ventilator-associated pneumonia was higher (38.71 vs 21.95%, $p = 0.12$).

Conclusion

The development of ventilator-associated pneumonia in patients with severe traumatic brain injury led to the increased morbidity due to the prolonged mechanical ventilation, longer stay at intensive care unit and chest injury, but had no effect on mortality.

Key words: Respiration, Artificial + adverse effects; Pneumonia; Risk Factors; Brain Injuries; Incidence; Multiple Trauma

Rad je primljen 25. VI 2010.

Prihvaćen za štampu 1. IV 2011.

BIBLID.0025-8105:(2011):LXIV:7-8:403-407.

Institute for Children and Youth Health Care of Vojvodina, Novi Sad
Paediatric Surgery Clinic¹
Clinical Centre of Vojvodina, Novi Sad
Clinic for Gynaecology and Obstetrics²
Institute for Pathology³

Stručni članak
Professional article
UDK 618.11-006-07/-08-053.31/.32
DOI: 10.2298/MPNS1108408M

SURGICAL TREATMENT OF NEONATAL OVARIAN CYSTS

HIRURŠKO LEČENJE NEONATALNIH OVARIJALNIH CISTA

Smiljana MARINKOVIĆ¹, Radoica JOKIĆ¹, Svetlana BUKARICA¹, Aleksandra NOVAKOV MIKIĆ²,
Nada VUČKOVIĆ³ and Jelena ANTIĆ¹

Summary – Medical experts are still at issue over the most suitable management of simple neonatal ovarian cysts exceeding 40mm and complex cysts of any size. The authors present surgical treatment of these cysts by classical laparotomy and laparoscopy. The study included 13 newborn babies surgically treated for 6 simple and 7 complex ovarian cysts. The diameter of the cysts ranged from 29 to 102mm. The age of children was from 2 days to 10 months. The open classical laparotomic approach was performed in 8 babies. In the laparotomy group, cystectomy was done in 3 infants with simple cysts. The other 5, presented with ovarian torsion, required salpingo-oophorectomy. Video – assisted cystectomy was the procedure for 3 simplex and one complex cyst with torsion. Laparoscopic adnexectomy was applied in one case with auto-amputated cyst. Our small study demonstrates that laparoscopy is as safe and effective as classical laparotomy in managing neonatal ovarian cysts, but with better cosmetic results.

Key words: Ovarian Cysts; Infant, Newborn; Infant; Laparoscopy; Laparotomy; Prenatal Diagnosis; Ultrasonography, Prenatal; Infant, Newborn, Diseases + surgery; Female

Introduction

Routine antenatal ultrasonography has increased the rate of detection of neonatal ovarian cysts. The first antenatal description of an ovarian cyst was made by Valenti in 1975 [1]. Ovarian cysts are the most frequent among intra-abdominal cysts in newborns [2]. The etiology of fetal ovarian cysts is not entirely clear. It seems that ovarian cysts arise from mature follicles [3,4]. The distinction between mature follicles and ovarian cysts is based on their size: those larger than 20 mm are considered pathological [5]. They could be usually diagnosed after the 28th gestation week (GW) [6]. Various complications of ovarian cysts may happen in perinatal period, such as adnexal torsion, intra-cystic hemorrhage and rupture. That could result in ovarian loss [2,7,8]. When a cystic abdominal mass is diagnosed in a female fetus and newborn, the differential diagnosis should be made for intestinal duplications, hydronephrosis, mesenteric-, omental- and urachal-cysts, cystic teratoma, intestinal obstruction, choledochal cysts or only bladder distension [9].

Nussbaum classified ultrasonographic (US) patterns of ovarian cyst masses into simple (S) cysts, which are anechoic, and complex (C) cysts, which have echogenic wall, with the presence of fluid, debris, septae, or solid particles [2,10,11].

Symptomatic neonatal ovarian cysts and complex cysts should be removed regardless of their size [12]. There is still a controversy regarding treatment of asymptomatic simple cysts and no consensus has been reached so far. However, the majority of authors agree that cysts exceeding 40 mm should be surgically treated [2,8,10-12].

Until recently, the method of choice in management of infantile ovarian lesions was the conventional surgical approach. First laparoscopic procedures for gonad problems in pediatric patients were reported by Gans in 1973 [13]. This series and other reports have demonstrated that laparoscopic surgery is a safe and effective method to manage emergency and elective adnexal conditions in infancy [2,7,12].

This study, aimed at assessing the morphologic nature of these cysts and opting for the best surgical treatment, included 13 newborns and infants with antenatally diagnosed ovarian cysts.

Materials and Methods

The study was designed as a retrospective analysis of 13 baby girls with ovarian cysts, who had been treated surgically in the period from 2007 to 2009 at our institution (**Table 1**). All ovarian cysts were diagnosed ultrasonographically in the prenatal period after the 30th

Table 1. Patients operated for ovarian cysts

Tabela 1. Operisani pacijenti sa ovarijalnim cistama

Ovarian cyst/Ovarijalna cista	No of patients/Broj pacijenata	US*- size/US-veličina (mm)	Age (days)/Uzrast (dani)	Laparotomy/Laparotomija	Laparoscopy/Laparoskopija
Simplex (S)	6	76.5 (55-102)	6 (2-14)	3	3
Complex (C)	7	53.4 (29-80)	56 (3-10 months/meseći)	5	2
Total/Ukupno	13	64.1 (29-102)	38 (2-10 months/meseći)	8	5

* US – ultrasonography/ultrasonografija

Abbreviations

US	– ultrasonography
GW	– gestation week
RDS	– respiratory distress syndrome

GW. There were 6 simple and 7 complex cysts. The median size of simple cysts on the preoperative US scan was 76.5 mm (range: 55-102 mm) while the median size of complex cysts was 53.4 mm (range: 29-80 mm). The mean diameter of all 13 cysts was 64.1 mm (range: 29-102 mm). Clinical symptoms, such as abdominal distension, syndrome of respiratory distress (RDS) and/or intestinal obstruction, were recorded in 6 infants.

The surgery was performed at the average age of 38 days (the age ranging from 2 days to 10 months). There were 4 cysts on the right and 9 on the left side.

After the postnatal confirmation of ovarian cysts, all patients with complicated cysts as well as with simple cysts exceeding 40mm were treated operatively. The traditional surgery was applied in 8 babies and video laparoscopy or any other type of video-assisted surgery was performed in the other 5. Our way of doing laparoscopy consisted of the open technique with 5-mm umbilical trocar into which a laparoscope of similar diameter was introduced. Two 5-mm trocars were usually introduced into the left and right lower quadrants. The first step was the exploration of the abdominal cavity followed by an inventory of the lesions in order to assess the nature of the cyst (necrotic or non-necrotic), the state of the ovarian parenchyma and the state of fallopian tube. The opposite ovary was carefully examined as well.

Results

The surgery was performed through a transverse supra-pubic incision in 8 cases (**Table 2**). Three of them had simple cysts (S) with diameters 57 mm, 60 mm and 85 mm. Abdominal distension was present in two infants. These uncomplicated cysts allowed total or subto-

tal excision and conservation of most of the laminated ovarian parenchyma. The histological examination of all specimens showed ovarian cysts of functional origin. The operation revealed the absence of contra lateral ovary in one baby. Another 5 cases had complex (C) cysts, coloured dark brown, with diameter from 40 to 80mm. Only one patient had signs of abdominal distension, intestinal obstruction and signs of RDS. They were operated on at the age of 3 days to 3 months. The surgery in one patient was done at the age of 10 months because the parents' consent had not been obtained before; during that period there were no complications nor a decrease in the diameter of cyst. Ovarian torsion by 720° was found in two newborns. Detorsion and cyst extirpation and ooforectomy with salpingectomy together with intramural excision of the intramural part of the oviduct were done. Auto amputation was verified in three cases. One cyst, set behind the bladder, was found to be free. The other was connected to the opposite adnexa. In both cases, residues of fallopian tubes were present after torsion and auto amputation. During the surgery, the cysts were removed, with complete resection of the tubal stump, which was done in order to reduce the risk of ectopic pregnancy in the future. In the third infant we found auto amputation, cyst of the right ovary was fixed to the mesentery and the terminal ileum, leading to the complete ischemia of intestinal length of 15 mm. Therefore, in addition to removing the cyst, we made resection of ischemic bowel and anastomosis as well. Anastomotic and wound dehiscence, peritonitis and sepsis complicated the postoperative recovery significantly in this patient. Histological expertise of all five complex cysts indicated the hemorrhagic ovarian infarction, with more or less present calcification, without distinguishing the presence of ovarian tissue. Clinical and ultrasonographic follow up of these patients over the next 3 years, at the most, showed no additional complications, but with the presence of a visible scar.

Table 2. Ovarian cysts treated by surgery - laparotomy**Tabela 2.** Ovarijalne ciste lečene hirurški - laparotomijom

No <i>Broj</i>	US*-appearance <i>US-slika</i>	US-size (mm) <i>US-veličina (mm)</i>	Clinical signs <i>Klinički simptomi</i>	Age (days) <i>Uzrast (dani)</i>	Operative finding – Procedure <i>Operativni nalaz – Procedura</i>
1.	Simple	85	Abdominal distension <i>Distenzija abdomena</i>	2	Cystectomy right and left ovary undeveloped <i>Cistektomija desno i agenezija jajnika levo</i>
2.	Simple	57	No/Ne	11	Cystectomy left/ <i>Cistektomija levo</i>
3.	Simple	60	Abdominal distension/ <i>Distenzija abdomena</i>	2	Cystectomy left/ <i>Cistektomija levo</i>
4.	Complex	80	Abdominal distension. Intestinal obstruction, RDS**/ <i>Distenzija abdomena, Intestinalna opstrukcija, RDS</i>	3	Auto amputation right, extirpation, ileum resection, anastomosis/ <i>Autoamputacija desno, ekstirpacija, resekcija ileuma, anastomoza</i>
5.	Complex	55	No <i>Ne</i>	6	Torsion left, Salpingo-oophorectomy <i>Torzija levo, Salpingo-ooforektomija</i>
6.	Complex	40	No <i>Ne</i>	10 months <i>10 meseci</i>	Auto amputation left, retrovesical, extirpation <i>Autoamputacija levo, retrovezikalno, ekstirpacija</i>
7.	Complex	55	No <i>Ne</i>	3 months <i>3 meseca</i>	Auto amputation left, connected with right adnexa, extirpation/ <i>Autoamputacija levo, vezana za desni jajovod, ekstirpacija</i>
8.	Complex	55	No <i>Ne</i>	30	Torsion left, Salpingo-oophorectomy <i>Torzija levo, Salpingo-ooforektomija</i>

* US – Ultrasonography/*ultrasonografija*; **RDS – Respiratory distress syndrome/*respiratorni distres sindrom*

Table 3. Laparoscopic management of ovarian cyst in five neonates**Tabela 3.** Laparoskopsko lečenje ovarijalnih cista kod petoro novorođenčadi

No Broj	US*-appearance US – slika	US – size(mm) US – veličina (mm)	Clinical signs Klinički simptomi	Age (days) Uzrast (dani)	Operative finding – Procedure Operativni nalaz – Procedura
1.	Simple	55	No/Ne	14	”Deroofing”, VAE** of cyst, left/VAE ciste levo
2.	Simple	100	Abdominal distension/Distenzija abdomena	3	”Deroofing”, VAE** of cyst, right/VAE ciste desno
3.	Simple	102	Abdominal distension/Distenzija abdomena	5	”Deroofing”, VAE** of cyst, left/VAE ciste levo
4.	Complex	29	No Ne	17	Auto-amputation left, VA*** adnexectomy Autoamputacija levo, VA adneksotomija
5.	Complex	60	Abdominal distension/Distenzija abdomena	4	Torsion left, VAE of cyst/Torzija levo, VAE ciste

* US – ultrasonography/ ultrasonografija; ** VAE – video assisted excision /video asistirana ekscizija; *** VA – video assisted/ video asistirana

Laparoscopic approach was performed in five patients (**Table 3**). There were three simple cysts (S), 55, 100 and 102 mm. All were operated during the first days of life. Aspiration, fenestration or deroofing and video-assisted, transparietal total or subtotal excision of the cyst with maximum preservation of ovarian tissue were performed in all these patients. All simple cysts belonged to the group of follicular cysts.

Video-assisted adnexectomy was performed in one patient, because of auto amputation of the fallopian tubes and cyst of the left ovary. A brown cyst was found in the right lower quadrant, connected to the coecum with the adhesions. After adhesiolysis and removal of cysts, the tubal abutment was completely resected. In another patient, who had a complex cyst, we found a cyst torsion of the left ovary, the presence of small amounts of greenish content in the abdominal cavity and adhesions to the surrounding organs. Detorsion and video-assisted cystectomy was done. Histological findings in these two children spoke in favour of hemorrhagic infarction, with no ovarian tissue present. The postoperative course in all laparoscopically operated patients was normal and their hospitalization was relatively short, uncomplicated. We followed them up for two years. The scars on the skin are practically invisible.

Discussion

Prenatal ultrasound scans now show many fetal ovarian cysts, with an incidence of 34% found in stillbirths. The etiology of these cysts is thought to be the consequence of maternal gonadotropin stimulation delivered through the placenta to the fetus. Due to a decrease in hormonal stimulation that occurs after birth, regression of simple cysts can be seen. Therefore, some authors use this conservative method in treating even larger cysts [2,14,15]. Simple ovarian cysts smaller than 40mm can be safely observed, their resolution can be followed by US examinations and the policy ‘wait and see’ can be applied. However, this was not the case presented in this study.

Complications of prenatal and postnatal ovarian cysts are rather frequent and their incidence ranges between 36% and 71% [16,17]. In our study, this incidence is a little higher than 50%, which corresponds to the data found in literature. A complication such as an auto amputation of ovarian cysts in infants under 1 year of age is extremely rare [18,19], although in our

series of 13 patients, auto amputation happened in 4 cases. Torsion is the most common complication because the newborn ovary has a long pedicle. Torsion is more common in larger cysts, exceeding 40 mm, when surgical treatment is indicated [12]. The outcome of torsion may appear as adhesion of necrotic ovary to the bowel or other organs, with possible intestinal obstruction, which was found in one of our patients. These and other complications, such as intestinal perforation, peritonitis or urinary obstruction, not only justify but require surgical treatment for all complex ovarian cysts, of all sizes, which was and still is our current protocol. Torsion has been observed to occur more frequently during fetal life than postnatally. For this reason, prenatal aspiration of these cysts has been used as a prevention by some authors [11]. However, as hormonal effect is still present during the antenatal life, the efficacy of these aspirations as a treatment has not been proved yet [20,21]. Therefore, our patients were not treated antenatally by cyst aspiration.

The most suitable management of ovarian cysts during the neonatal life is still an issue widely debated. Some surgeons still do echo-guided transparietal cyst puncturing as an alternative to surgery, without any complications [8,15,22]. According to others, these punctures should not be done because of a higher possibility of cyst refilling, leaking of its content and the resulting peritonitis, and also due to the danger of wrong or „blind” puncture which can have fatal outcome [23]. In addition, since echography cannot establish whether the lesion is benign or malignant, it is never advisable to puncture a cyst prior to the visual examination; therefore, we have not done that [17].

Until recently, most authors recommended the traditional surgery via an open lower abdominal laparotomy in patients with ovarian cysts, which is also presented in results section of our study. Some works have been published showing a safe and definite treatment of ovarian cysts larger than 40mm by minimal invasive laparotomy and principle “catch and suck” [24,25]. We did not use this technique in treating our patients in this study.

More recent studies have described the use of laparoscopy in treatment of ovarian cysts [9,15,17,19,26], and this method is mentioned in the second part of our study. The major advantage of laparoscopy is the possibility to examine the cyst much better, which is crucial for the evaluation of lesion. Furthermore, this method also enables the examination of the entire ab-

dominal cavity and all its organs. Owing to the technological development which has resulted in a very small size of instruments, a really minimally invasive surgery can be done using trocar and instruments with diameter of only 1.7 mm, 3 mm and 5 mm, at the most. Intraperitoneal cystectomy is a method of choice, whenever it is possible with preservation of the ovarian tissue. In cases when dissection is difficult, transperitoneal cystectomy or excision of cyst can be done. We often used this method as the so called "video assisted" procedure after aspiration and fenestration ("deroofting"). Contrary to open surgical procedures, laparoscopic treatment of ovarian cysts ends in only three punctiform scars, which give a satisfactory cosmetic appearance for the entire life. Formation of adhesions and a danger of developing life threatening complications, which can result from a conservative treatment, do not occur when minimally invasive surgical techniques, such as laparoscopy or classical laparotomy, are performed [11,27-29]. The postoperative follow up for

three years, at the most, did not show complications of any kind.

Conclusion

The choice of the method of treatment depends on the size and ultrasonographic appearance of the cyst. In order to achieve the optimal ovarian preservation and prevention of complications, surgery is justified in cases of simple cysts larger than 40 mm, and all complex cysts, because it allows a definitive diagnosis, evaluation of the condition of the ovary, the separation of inflammatory adhesions, removal of ovarian cysts and ovarian detorsion, as it has been confirmed by our study.

We conclude that laparoscopic technique, contrary to the traditional laparotomy, is safe and reliable for treatment of ovarian cysts in the neonatal period. Laparoscopy is a minimally invasive procedure with excellent cosmetic results.

References

1. Valenti C, Kassner EG, Yermakov V, Cromb E. Antenatal diagnosis of a fetal ovarian cyst. *Am J Obstet Gynecol* 1975;123:216-21.
2. Nussbaum AR, Sanders RC, Hartman JS, Dudgeon DL, Parmley TH. Neonatal ovarian cyst: sonographic pathologic correlation. *Radiology* 1988;168:817-21.
3. Grumbach MM, Kaplan SL. Fetal pituitary hormones and the maturation of central nervous system of anterior pituitary function. In: Gluck L, ed. *Modern perinatal medicine*. Chicago: Medical Publishers Year Book; 1975. p. 247-56.
4. Richardson GS. Hormonal physiology of the ovary. In: Gold JJ, Josimovich JR, eds. *Gynecologic endocrinology*. New York: Harper and Row; 1980. p. 123-46.
5. Giacoia GP, Wood BP. Ovarian cyst of the newborn. *Am J Dis Child* 1987;141:1005-6.
6. Gaudin J, Treguilly C, Parent P, Le Gun H, Chabaud JJ, Boog G, et al. Neonatal ovarian cysts with antenatal diagnosis. *Pediatr Surg Int* 1988;3:158-64.
7. Debeugny P, Huillet P, Cussac L, Bourgeot F, Bonneville M. Le traitement non opératoire systématique des kystes de l'ovaire de nouveau-né: a propos de 8 observations. *Chir Pédiatr* 1989;30:30-6.
8. Schmahmann S, Haller JO. Neonatal ovarian cysts: pathogenesis, diagnosis and management. *Pediatr Radiol* 1997;27:101-5.
9. Shimada T, Miura K, Gotoh H, Nakayama D, Masuzaki H. Management of prenatal ovarian cysts. *Early Hum Dev* 2008; 6:417-20.
10. Bagolan P, Gorlandino C, Nahom A, Bilancioni E, Trucchi A, Gatti C, et al. The management of fetal ovarian cysts. *J Pediatr Surg* 2002;37:25-30.
11. Foley PT, Ford WDA, Mcewing R, Furness M. Is conservative management of prenatal and neonatal ovarian cysts justifiable? *Fetal Diagn Ther* 2005;20:454-8.
12. Chiamonte C, Piscopo A, Cataliotti F. Ovarian cysts in newborns. *Pediatr Surg Int* 2001;17:171-4.
13. Gans SL, Berci G. Peritoneoscopy in infants and children. *J Pediatr Surg* 1973;8:399-405.
14. Tseng D, Curran TJ, Silen ML. Minimally invasive management of the prenatally torsed ovarian cyst. *J Pediatr Surg* 2002;37:1467-9.
15. Brandt ML, Helmuth MA. Ovarian cysts in infants and children. *Semin Pediatr Surg* 2005;14:78-85.
16. Hengsten P, Menardi G. Ovarian cysts in the newborn. *Pediatr Surg Int* 1992;7:572-4.
17. Esposito C, Garipoli V, Di Matteo G, De Pasquale M. Laparoscopic management of ovarian cysts in newborns. *Surg Endosc* 1998;12:1152-4.
18. Koike Y, Inoue M, Uchida K, Kawamoto A, Yasuda H, Okugawa Y, et al. Ovarian autoamputation in a neonate: a case report with literature review. *Pediatr Surg Int* 2009;25:655-8.
19. Jawad AJ, Zaghmout O, Al-Muzrakchi AD, Al-Hammadi T. Laparoscopic removal of an autoamputated ovarian cyst in an infant. *Pediatr Surg Int* 1998;13:195-6.
20. Galinier P, Carfagna L, Delsol M, Ballouhey Q, Lemasson F, Le Mandat A, et al. Ovarian torsion. Management and ovarian prognosis: a report of 45 cases. *J Pediatr Surg* 2009;44:1759-65.
21. Mizuno M, Kato T, Hebiguchi T, Yoshino H. Surgical indications for neonatal ovarian cysts. *Tohoku J Exp Med* 1998;186:27-32.
22. Kessler A, Nagar H, Graif M. Percutaneous drainage as the treatment of choice for neonatal ovarian cysts. *Pediatr Radiol* 2006;36:954-8.
23. Puligandla PS, Laberge JM. Lethal outcome after percutaneous aspiration of a presumed ovarian cyst in a neonate. *Seminars in Pediatr Surg* 2009;18:119-21.
24. Colby C, Brindle M, Moss RL. Minimally invasive laparotomy for treatment of neonatal ovarian cysts. *J Pediatr Surg* 2001;36: 868-9.
25. Ferro F, Iacobelli BD, Zaccara A, Spangoli A, Trucchi A, Bagolan P. Exteriorization – aspiration minilaparotomy for treatment of neonatal ovarian cysts. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2002;15:205-7.
26. Oak SN, Parelkar SV, Akhtar T, Pathak R, Vishwanath N, Satish KV, et al. Laparoscopic management of neonatal ovarian cysts. *J Indian Assoc Pediatr Surg* 2005;2:100-2.
27. Armentano G, Dodero P, Natta A, Magillo P, Sugliano GC. Foetal ovarian cysts: prenatal diagnosis and management. Report of two cases and review of literature. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1998;25:88-90.

28. Enriquez G, Duran C, Toran N, Piqueras J, Gratacos E, Aso C, et al. Conservative versus surgical treatment for complex neonatal ovarian cysts: outcomes study. *Am J Roentgenol* 2005;185:501-8.

29. Mittermayer C, Blaicher W, Grassauer D, Horcher E, Deuttinger J, Bernaschek G, et al. Fetal ovarian cysts: development and neonatal outcome. *Ultraschall Med* 2003;24:21-4.

Sažetak

Uvod

Za sada nema jedinstvenog stava o optimalnom lečenju neonatalnih jednostavnih ovarijalnih cista većih od 40 mm i komplikovanih, bilo koje veličine. Autori prikazuju hirurško lečenje ovakvih cista putem klasične laparotomije i laparoskopskim pristupom.

Material i metode

Studija je uključila 13 novorođenčadi i odojčadi, koja su hirurški lečena zbog postojanja 6 jednostavnih i 7 komplikovanih cista. Veličina cista bila je u opsegu od 29 do 102 mm. Uзраст dece se kretao između 2 dana i 10 meseci. Laparotomija je urađena kod 8 pacijenata, a kod 5 je primenjena laparoskopiska procedura.

Rezultati

Preoperativna ultrasonografska diagnoza bila je potvrđena kod svih operisanih beba. U grupi laparotomiranih koju je činilo 8 pacijenata, 3 je imalo jednostavne ciste i kod njih je izvedena cistektomija uz maksimalnu prezervaciju ovarijalnog tkiva. Kod preo-

stalih 5 je verifikovana ovarijalna torzija, od kojih se kod 3 bebe radilo o autoamputaciji. Tokom operacije, slobodne autoamputirane ciste su uklonjene iz abdomena. Kod druga dva pacijenta sa torkviranim adneksama morla je da se uradi salpingooforektomija. Laparoskopski tretman je primenjen kod 5 novorođenčadi. Video asistirana cistektomija je izvedena kod 3 jednostavne ciste i jedne komplikovane sa torzijom. Video asistirana adneksektomija bila je neophodna u jednom slučaju sa autoamputiranom cistom.

Zaključak

Ultrasonografija je metoda izbora u dijagnostici neonatalnih ovarijalnih cista. Naša studija pokazuje da visok rizik od gubitka ovarijuma potvrđuje neophodnost hirurškog tretmana neonatalnih jednostavnih cista većih od 40 mm i svih komplikovanih cista. U odnosu na klasičnu laparotomiju, laparoskopija nudi jednako siguran i koristan način lečenja ovarijalnih cista ali sa boljim estetskim rezultatima.

Ključne reči: Ovarijalna cista; Novorođenče; Odojče; Laparoskopija; Laparotomija; Prenatalna dijagnostika; Prenatalna ultrasonografija; Oboljenja novorođenčeta + hirurgija; Žensko

Rad je primljen 29. IX 2010.

Prihvaćen za štampu 25. X 2010.

BIBLID.0025-8105:(2011):LXIV:7-8:408-412.

Opšta bolnica „Dr Gere Ištvan” Senta
Služba za unutrašnje bolesti¹
Patomorfološka služba²

Stručni članak
Professional article
UDK 616.33/.34-022.7-07:579.84
DOI: 10.2298/MPNS1108413N

KORELACIJA BRZOG UREAZA TESTA I PATOHISTOLOŠKOG NALAZA GASTROBIOPSIJE SA POZITIVNIM IMUNOLOŠKIM TESTOM U DETEKCIJI *HELICOBACTER PYLORI* INFEKCIJE

*CORRELATION BETWEEN RAPID UREASE TEST AND PATHOHISTOLOGICAL GASTROBIOPSY FINDING
WITH POSITIVE IMMUNOLOGICAL TEST IN DETECTING HELICOBACTER PYLORI INFECTION*

Ivana NAUMOV¹ i Atila FENJVEŠI²

Sažetak – Cilj istraživanja bio je da se utvrdi korelacija između patohistološkog nalaza gastrobiopsije, brzog ureaza testa i pozitivnog serološkog testa u otkrivanju *Helicobacter pylori* infekcije. U radu su prikazani rezultati ispitivanja grupe od 250 pacijenta, kojima je urađena endoskopija u Kabinetu za gastroenterologiju Službe za unutrašnje bolesti Bolnice u Senti. Analizirani su najpre endoskopski nalazi, potom nalazi brzog ureaza testa (95 ispitanika je bilo pozitivno, odnosno 38%, a 155 negativno, odnosno 62% slučajeva), dok je imunološki test na *Helicobacter pylori* bio pozitivan kod svih 250 ispitanika (100%). Histološki test na *Helicobacter Like Organism* je bio pozitivan kod 105 ispitanika (42%), dok patolog potpisuje negativan nalaz kod 145 obolelih, što čini 58% svih slučajeva. U odnosu na patohistološki nalaz kao „zlatni standard” za serološki test izračunata je senzitivnost 100%, a specifičnost 0%, dok je za brzi ureaza test senzitivnost 90%, a specifičnost 100%. Imunološki test nije u korelaciji s drugim nalazima, a postoji visok stepen korelacije između brzog ureaza testa i histološkog testa ($r=0,927589261$). Izračunat je t -test=36,16513; $p=0,0001$; što ukazuje da je koeficijent korelacije statistički značajan ($p<0,01$).

Cljučne reči: *Helicobacter pylori* infekcije; Ureaza + analize; Endoskopija; *Helicobacter pylori* infekcije + imunologija; *Helicobacter pylori* infekcije + patologija; Senzitivnost i specifičnost

Uvod

Helicobacter pylori (HP) je bakterija koja je u žiži interesovanja gastroenterologa i onkologa celog sveta, s ozirom na činjenicu da je dokazan njen neposredni uticaj na nastajanje akutnog i hroničnog gastritisa, ulkusne bolesti, *Mucosa Associated Lymphoid Tissue* (MALT) limfoma i karcinoma želuca. Detekcija ove bakterije i njena eradikacija su neizostavni u algoritmu ispitivanja i lečenja oboljenja gastroduodenuma.

Bakterija sadrži čitav niz enzima i toksina, koji joj omogućuju da preživi u kiseloj sredini i ošteti sluznicu na kojoj se nalazi. Od enzima najvažniji su ureaza (razlaže ureu na amonijak i CO₂), proteolitički enzimi, metabolički enzimi (za aerobne i anaerobne uslove), toksični enzimi (fosfolipaza A-2 i C, alkohol dehidrogenaza), kao i enzimi katalaza i dismutaza koji neutrališu slobodne radikale. Glavni površinski antigen i endotoksin je lipopolisaharid, koji utiče na izgled kolonije ove bakterije (grube R ili glatke S kolonije). Oko 50% bakterija stvara vakuolizirajući egzotoksin (Vac-A) koji smanjuje viskoznost mukusa i dovodi do metaboličkih promena u epitelnim ćelijama. Analizom DNK bakterije otkriven je genom sa oko 20 gena (Cag-A odnosno *Cytotoxin Associated Gene*), koji dovodi do intenzivnog inflamatornog odgovora domaćina. Konačno HP infekcija dovodi do inflamacije mukoze, nagomilavanja ćelija upale i njihovog patološkog dejstva na mukozi želuca. Pomenuta bakterija može da dovede do antralnog hroničnog gastritisa i duodenalnog ulkusa, zatim do hroničnog aktivnog gastritisa i ventrikularnog ulkusa, potom do limfocitno-proliferativnog gastritisa i MALT limfoma i konačno do hroničnog atrofičnog gastritisa i

karcinoma želuca [1,2]. Svetska zdravstvena organizacija je 1994. godine stavila HP na listu karcinogena prvog reda za nastanak karcinoma želuca.

Cilj rada je da se utvrdi korelacija između pozitivnog imunološkog testa, brzog ureaza testa i patohistološkog nalaza u detekciji HP infekcije sluznice želuca. U tu svrhu ispitana je grupa od 250 ispitanika, kojima je urađena endoskopija u Kabinetu za gastroenterologiju Internog odeljenja Opšte bolnice u Senti, a koji su svi bili pozitivni na HP infekciju na serološkom testu.

Materijal i metode

U radu je obrađeno ukupno 250 ispitanika, kojima je urađena endoskopija i brzi ureaza test (BUT). Imunološki test na HP po metodi *Enzyme Linked Fluorescent* (ELFA) tehnike pomoću Vidas aparata (detekcija antitela iz grupe IgG) rađen je takođe kod svih 250 obolelih u Mikrobiološkoj službi Bolnice u Senti.

Vidas *Hp* IgG je automatizovan kvalitativni i kvantitativni test, koji služi za otkrivanje IgG antitela na *Helicobacter pylori* u humanom serumu ili plazmi (EDTA) koristeći Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA) tehniku (*Enzyme Linked Fluorescent „VIDAS Hp Assay”* proizvođača *Bi-Merieux, Marrey-France*). Imunološki test je svakako pomoć u dijagnostici infekcije ovom bakterijom kod odrasle populacije sa simptomima oboljenja gastroduodenuma. Princip analize se sastoji u povezivanju dvostruke enzimske imunološke probe sa finalnom fluorescenčnom detekcijom (ELFA). Interpretacija rezultata je sledeća:

Skraćenice

BUT	– brzi ureaza test
GERB	– gastroezofagealna refluksna bolest
ELFA	– <i>Enzime Linked Fluorescent Assay</i>
HLO	– <i>Helicobacter Like Organism</i>
Hp	– <i>Helicobacter pylori</i>
MALT	– <i>Mucosa Associated Lymphoid Tissue</i>
PPB	– blokator protonske pumpe

- $TV < 0,75$ negativan nalaz,
- $0,75 < TV < 1,00$ granična vrednost,
- $TV > 1,00$ pozitivan nalaz.

Brzi ureza test služi za otkrivanje enzima ureaze bakterije HP prisutne u bioptičkom materijalu želudačne mukoze. Korišćen je set za BUT proizvođača *Cambridge Life Sciences* iz Engleske. Ureaza Hp test se sastoji od kasete od dve posude, koje sadrže ureu, crveni fenol i puferske soli u obliku tableta i amp. pufera. Ukoliko je enzim prisutan u bioptatu dolazi do povećanja pH vrednosti, što će prouzrokovati promenu žute boje u ljubičastu, kada je test pozitivan.

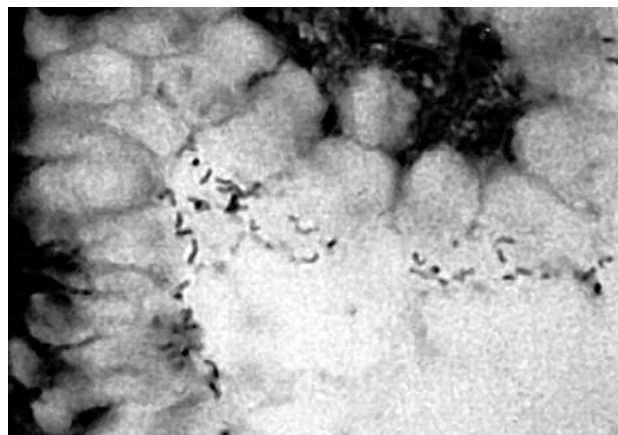
Nakon endoskopskog pregleda i ciljane biopsije sluzokože jednjaka, želuca i duodenuma - biopat je u bočici sa formalinom isti dan dostavljen Patomorfološkoj službi Bolnice u Senti. Biopsije su rađene klasičnim biopterima firme *Fujinone* i 2 isečka sluzokože antruma želuca i 2 isečka sluzokože korpusa želuca su uloženi u posebne bočice. Ukoliko je rađen i brzi ureaza test, još po jedan isečak sluzokože antruma i korpusa je uloženi u posebne komorice seta za BUT. Bioptički materijal je obrađen, a zatim su kalupi rezani ručnim erbotomom, potom su napravljeni histološki preparati, bojeni po metodi Giemsa (modifikovana metoda, gde je fiksacija rađena 10% neutralnim formalinom, a parafinski rezovi su do 6 mikrona; korišćen je 2% Giemsa rastvor u destilovanoj vodi).

Dobijeni rezultati su statistički obrađeni, izračunati su procenti (%), aritmetička sredina (\bar{x}), kao i koeficijent korelacije (r) a podaci su testirani t-testom.

Rezultati

Endoskopija je urađena kod ukupno 250 ispitanika, koji su imali pozitivan imunološki test na HP. Što se polne strukture tiče, bilo je 127 žena, što čini 50,8% svih slučajeva i 123 muškarca, odnosno 48,2% ispitanika. Starosna struktura obolelih ukazuje da je najviše pacijenata bilo u dobnim grupama 60-69 i to 66 ispitanika, što čini 26,4% slučajeva, zatim 70-79 godina sa 57 bolesnika odnosno 22,8%, konačno 50-59 godina, gde je evidentirano 47 ispitanika odnosno 19%. Endoskopski, kod svih 250 ispitanika hronični gastritis je bio glavna dijagnoza i verifikovan je u 100% svih slučajeva (**Slika 1**). Osim toga, endoskopija je verifikovala dodatne promene na sluzokoži jednjaka želuca i dvanaestopalačnog creva, koje su udružene sa hroničnim gastritisom:

- hronični ezofagitis kod 4 bolesnika (1,6%);
- hronični duodenitis kod 53 pacijenta (21,2%);
- ulkus želuca kod 30 obolelih (12%);
- ulkus bulbosa duodenuma kod 18 bolesnika (7,2%);
- polipi želuca kod 4 obolela (1,6%);



Slika 1. *Helicobacter pylori* pozitivni hronični gastritis - originalni histološki preparat (Giemsa, x 1 000)

Fig. 1. *Helicobacter pylori* positive gastritis - original histological preparation (Giemsa, x 1000)

- 1 polip duodenuma (0,4%);
- maligni tumori želuca kod 9 bolesnika (3,6%);
- maligni tumor jednjaka kod 1 pacijenta (0,4%);
- nalaz proširenih vena jednjaka kod 7 obolelih (2,8%);
- sindrom *Mallory Weiss* kod 3 bolesnika (1,2%);
- GERB kod 36 obolelih (14,4%).

Tabela 1 prikazuje endoskopski nalaz pacijenata sa hroničnim gastritisom.

Tabela 1. Detaljniji prikaz endoskopskog nalaza hroničnog gastritisa
Table 1. Details of chronic gastritis endoscopic finding

Endoskopski nalaz <i>Endoscopic finding</i>	Broj bolesnika <i>No of patients</i>	%
Eritematozni gastritis/ <i>Erythematous gastritis</i>	182	72,80
Erozivni gastritis (ravne erozije) <i>Erosive gastritis (flat erosions)</i>	26	10,40
Erozivni gastritis (uzdignute erozije) <i>Erosive gastritis (elevated erosions)</i>	11	4,40
Atrofični gastritis/ <i>Atrophic gastritis</i>	16	6,40
Hemoragijski gastritis/ <i>Hemorrhagic gastritis</i>	9	3,60
Gastritis sa hiperplazijom nabora <i>Gastritis with hyperplasia of folds</i>	6	2,40
Ukupno endoskopiranih ispitanika <i>Total number of endoscopies</i>	250	100,00

Što se duodenitisa tiče, takođe je bilo najviše ispitanika sa eritematoznim promenama sluzokože (53 obolela, odnosno 21,2%). Erozivni duodenitis (ravne erozije) je nalaz gastroenterologa kod 35 bolesnika, što čini 14% posmatrane grupe.

Patohistološkim pregledom kod svih 250 pacijenata je potvrđena dijagnoza hroničnog gastritisa (100%). Osim toga, patolog verifikuje sledeće dodatne nalaze, koji su udruženi sa hroničnim gastritisom:

- hronični duodenitis kod 48 bolesnika (19,2%);
- hronični ezofagitis kod 26 obolelih, odnosno kod 10,4% svih ispitanika;
- ulkus želuca kod 30 ispitanika (12%);
- MALT limfom kod 3 bolesnika, odnosno u 1,2% svih slučajeva;

- adenokarcinom želuca kod 9 pacijenata (3,6% od svih ispitanika);
- tubularni adenom želuca kod 3 obolela (1,2%);
- tubularni adenom gastera sa displazijom kod 1 bolesnika, što čini 0,4%;
- planocelularni karcinom jednjaka kod 1 obolelog, odnosno kod 0,4% svih ispitanika.

Tabela 2 prikazuje patohistološke nalaze kod pacijenata sa hroničnim gastritisom.

Tabela 2. Detaljniji prikaz endoskopskog nalaza hroničnog gastritisa
Table 2. Details of chronic gastritis endoscopic finding

Patohistološki nalaz <i>Pathohistological finding</i>	Broj ispitanika <i>No of patients</i>	%
<i>Gastritis chronica superficialis</i>	83	33,20
<i>Gastritis chr. superficialis cum atrophia mucosae antral</i>	40	16
<i>Pangastritis atrophicans</i>	29	11,60
<i>Gastritis chronica antral</i>	39	15,60
<i>Gastritis chronica atrophicans antral</i>	37	14,80
Autoimuni gastritis/ <i>Auto-immune gastritis</i>	12	4,80
Posledica ranijeg gastritisa <i>Resulting from previous gastritis</i>	10	4
Ukupno ispitanika/ <i>Total number of patients</i>	250	100

Pozitivan imunološki test na HP je bio nalaz kod svih 250 ispitanika, što čini 100% posmatrane grupe, sa srednjom vrednošću TV ($\bar{x}=3,8$). Brzi ureza test je rađen takode kod svih 250 ispitanika. Pozitivan nalaz je bio kod 95 obolelih (38%). Negativan test je bio nalaz kod 155 pacijenata, što čini 62% svih slučajeva.

Što se tiče patohistološke ekspertize na *Helicobacter Like Organism* (HLO), pozitivan nalaz je potpisao patolog za 105 ispitanika, što čini 42% svih slučajeva. Negativan nalaz je bio kod 145 pacijenata odnosno kod 58% ispitanika. Pomenuti nalazi su prikazani u **Tabeli 3**.

Tabela 3. Prikaz nalaza brzog ureaza testa i patohistološkog nalaza na HLO

Table 3. Patohistological HLO and Rapid urease finding

Brzi ureaza test <i>Rapid urease test</i>			Histološki nalaz na HLO <i>HLO histological finding</i>		
Nalaz <i>Finding</i>	Br. bolesnika <i>No of patients</i>	%	Nalaz <i>Finding</i>	Br. bolesnika <i>No of patients</i>	%
Pozitivan <i>Positive</i>	95	38	Pozitivan <i>Positive</i>	105	42
Negativan <i>Negative</i>	155	62	Negativan <i>Negative</i>	145	58

Zatim su u odnosu na patohistološku analizu na HLO (kao „zlatni standard“) izračunati specifičnosti, senzitivnost i prediktivnost za imunološki test i brzi ureaza test.

Takode u odnosu na patohistološku ekspertizu izračunat je koeficijent korelacije za brzi ureaza test i imunološki test na HP. Imunološki test je bio pozitivan u svim slučajevima i nije u korelaciji ni sa jednim testom i ne zavisi od njih. Upoređeni su samo nalazi brzog ureaza testa i histološkog testa na HLO. Korelacija između

Tabela 4. Senzitivnost, specifičnost i prediktivnost imunološkog testa na *Helicobacter pylori* i brzog ureaza testa

Table 4. Sensitivity, specificity and predictability of immunological *Helicobacter pylori* test and rapid urease test

	Imunološki test na <i>Helicobacter pylori</i> (%) <i>Immunological test for Helicobacter pylori (%)</i>	Brzi ureaza test (%) <i>Rapid urease test (%)</i>
Senzitivnost/ <i>Sensitivity</i>	100	90
Specifičnost/ <i>Specificity</i>	0	100
Sveukupna tačnost/ <i>Overall accuracy</i>	42	96
Pozitivna prediktivna vrednost <i>Positive predictive value</i>	42	100
Negativna prediktivna vrednost <i>Negative predictive value</i>	0	93,5

testova je $r=0,927589261$, a nakon t-testa dobijena je t-vrednost od $t=36,96593$ ($p=0,0001$ za $Df=248$). Na osnovu toga možemo zaključiti da je izračunati koeficijent korelacije statistički veoma značajan ($p<0,01$).

Diskusija

Ako uporedimo dobijene rezultate sa podacima iz nama dostupne literature izdvajamo mišljenje Krstić M., koji za optimalnu invazivnu dijagnostiku *Hp* infekcije predlaže: multiple biopsije sluznice antruma i korpusa želuca sa histološkim pregledom uz još jedan test (BUT ili kultura bakterije). Za minimum invazivne dijagnostike infekcije ovom bakterijom autor predlaže: BUT sa po jednim biopatom antruma i korpusa želuca. Za optimum neinvazivne dijagnostike sugerise: urea izdisajni test ili fekalni antigen test a imunološki test na HP samo u kombinaciji sa prethodnim testovima. Isti autor navodi i senzitivnost i specifičnost za sledeće dijagnostičke testove: histološki test na HLO (senzitivnost 88-95%, specifičnost 90-95%), brzi ureaza test (senzitivnost 90-95%, specifičnost 85-90%), imunološki – *Elisa* test (senzitivnost 80-90%, specifičnost 80-95%) i *neElisa* serologija (senzitivnost 60-85%, specifičnost 70-85%) [4]. Viara D. u rezultatima studije na 1 000 pacijenta sa dispepsijom upoređuje BUT i fekalni antigen test sa histološkim nalazom (nakon 1 min, 5 min, i 60 min.) i ističe za BUT senzitivnost 90,3%; 94,5% i 96,2%, a specifičnost čak i do 100% [5]. Autor nalazi i dobru korelaciju između antigen fekalnog testa i histološkog testa. Berry V. objavljuje svoje rezultate histološkog testa i BUT-a na 320 pacijenta obolelih od ulkusa želuca [6]. Brzi ureaza test bio je pozitivan kod 33 obolela (10,9%), a histološki nalaz na HLO je bio pozitivan kod 25 pacijenta (8,3%). Autor ističe senzitivnost za BUT 90-95%. Really T. G. komparira *Elisa* imunološki test iz krvi i salive u odnosu na histološki test (kao „zlatni standard“) kod 300 ispitanika [7]. *Elisa* test iz krvi je bio pozitivan kod 137 pacijenta (46%) sa senzitivnošću od 85% i specifičnošću od 78%. *Elisa* test iz salive je bio pozitivan kod 120 bolesnika (40%) gde je senzitivnost 84%, a specifičnost 70%. Milosavljević T. u zaključku o invazivnim i neinvazivnim dijagnostičkim metodama za detekciju HP infekcije ističe: „Ureaza

izdisajni test C 13 (senzitivnost 90-95%, specifičnost 90 do 100%). BUT (senzitivnost 90-98%, specifičnost 95%). Histološki test (senzitivnost 95-99%, specifičnost 89-98%). Serologija (senzitivnost 05%, specifičnost 85-90%). PCR (senzitivnost 94%, specifičnost 100%) [1].” Viara D. u svom radu navodi detaljno sve imunološke testove na HP i testira i zdrave osobe (davaoce krvi) i bolesne osobe (NUD, ulkusna bolest, karcinom želuca i vangastrični karcinom) [8]. Autor u zaključku navodi da uloga ovih testova tek treba da se definiše. On ih predlaže kao skrining proceduru, koja može da redukuje broj endoskopskih pregleda. Autor ih ne predlaže za praćenje efekta eradikacione terapije pomenute bakterije. Duggan A. analizira testiranje pacijenata na HP u primarnoj zdravstvenoj zaštiti pacijenata sa dijagnozom dispepsije [9]. Ona poredi histološki test (kao „zlatni standard”), *Elisa* test i *Flex-Sure* test (senzitivnost 92% i specifičnost 83-97%). Ukupno je testirano 762 pacijenata i autor ukazuje da postoji dobra korelacija između *Flex-Sure* testa i histologije ($p > 0,0001$). Delaney B. u svom radu, gde je prikazao rezultate ispitivanja na 343 pacijenata sa dispepsijom i gde je njih 100 bilo pozitivno

(testirani su ureaza izdisajnim testom C 13) [10]. Autor je zatim lečio 2 grupe pacijenata sa PPB i placebo. On ističe pojedinačne cene za različite dijagnostičke metode (gde je najskuplji ureaza izdisajni test, a najjeftiniji serološki test, dok je histološki test, po ceni, između njih).

Zaključak

Upoređivanjem patohistoloških nalaza, brzog ureaza testa i imunološkog testa na *Helicobacter pylori* izvode se sledeći zaključci:

Za optimalnu dijagnostiku *Helicobacter pylori* infekcije najmerodavnija je invazivna dijagnostika sa multiplim biopsijama iz više mesta u antrumu i korpusu želuca, sa patohistološkim pregledom uzetog materijala uz brzi ureaza test;

Imunološki *Elisa* test, kao je najmanje invazivan i najjeftiniji, pokazao se kao niskospecifičan test, te se stoga ne preporučuje čak ni za praćenje eradikacije *Helicobacter pylori* infekcije;

Koeficijent korelacije između patohistološkog testa i brozog ureaza testa statistički je veoma značajan.

Literatura

1. Milosavljević T, Jovanović D, Petrović V. *Helicobacter pylori*: 100 pitanja i odgovora. Vršac: M-G Marketing; 2000
2. Fenješi A, Naumov B, Kovač I. *Helicobacter heilmanni* (Gastrospirillum hominis) novi uzročnik gastritisa: prikaz slučaja. *Med Pregl* 1999;52(6-7-8):275-7.
3. Krstić M. Optimum i minimum dijagnoze *Helicobacter pylori* infekcije. Dostupno na: <http://org.rs/dogadjaji.htm>
4. Vaira D. Accuracy of new ultrafast rapid test to diagnose *Helicobacter pylori* infection in consecutive dyspeptic patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;31(2):331-8.
5. Berry V, Sagar V. Rapid Urease test to diagnose *Helicobacter pylori* infection. *JK Science* 2006;2:86-8.
6. Reilly TG, Poxon V, Sanders DSA, Elliott TSJ, Walt RP. Comparison of serum, salivary and rapid whole blood diagnostic

test for *Helicobacter pylori* and their validation against endoscopy based test. *Gut* 1997;40:454-8.

7. Vaira D, Holton J, Menegatti M, Landi F, Ricci C, Ali A et al. Blood test in management of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1998;43(Suppl 1):39-40.

8. Duggan AE, Elliott C, Logan RFA. Testing for *Helicobacter pylori* infection: validation and diagnosis yield a near patient test in primary care. *MBJ* 1999;319:1236-9.

9. Delaney BC, Qume D, Moayyedi P, Logan RFA, Ford A C, Elliott C, et al. *Helicobacter pylori* test and treat versus pump inhibitor in initial management of dyspepsia in primary care: multicentre randomised controlled trial (MRC-CUBE trial) *BMJ* 2008;336:651-4.

Summary

Introduction

Helicobacter pylori is a bacterium that has been in the limelight of gastroenterologists and oncologists worldwide since its immediate effect on the development of gastritis, ulcer disease, mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma and gastric cancer was proved. The aim of this study was to determine the correlation between the positive immunological test, rapid urease test and pathohistological finding in detecting *Helicobacter pylori* infection of the gastric mucosa.

Material and Methods

This retrospective study included 250 endoscopic findings of subjects having undergone endoscopy in the first half of 2010 at the Ward of Gastroenterology, Department of Internal Diseases, Hospital in Senta. The endoscopy procedure was performed by Fujinon endoscopes and the fast urease test was done by the Cambridge Life Science set from England. The immunological test was carried out by the Vidas apparatus applying the Enzyme-Linked Fluorescent Assay (ELFA) technique and the staining for the pathohistological analysis was done by the modified Giemsa method.

Results

The paper presents the results obtained by endoscopic examination of a group of 250 patients performed at the Ward of Gastroenterology, Department of Internal Diseases, Hospital in Senta. The endoscopic findings were the first to be analyzed then the rapid urease test findings, which showed that 95 (38%) patients were positive and 155 (62%) patients were negative; whereas the immunologic test for *Helicobacter pylori* was positive in all 250 patients (100%). The histological test for *Helicobacter-Like Organism* was positive in 105 subjects (42%), whereas it was negative in 145 patients, that being 58% of all the cases. Sensitivity, specificity and predictability of the serological test and the rapid urease test were calculated according to the pathohistological finding as the "gold standard" and they were found to be: sensitivity 100% and specificity 0% for the serological test and sensitivity 90% and specificity 100% for the rapid urease test. The immunologic test was not correlated with other findings, and there was a high level of correlation between the rapid urease test and histological test ($r=0.927589261$). The t-test was calcu-

lated to be 36.16513; $p=0.0001$; that indicating that the correlation coefficient was statistically significant ($p>0.01$).

Discussion

The obtained results were compared with the data found in the available literature sources.

Key words: *Helicobacter Infections; Urease + analysis; Endoscopy; Helicobacter Infections + immunology; Helicobacter Infections + pathology; Sensitivity and Specificity*

Rad je primljen 31. XII 200.

Prihvaćen za štampu 7. II 2011.

BIBLID.0025-8105(2011):LXIV:7-8:413-417.

Conclusion

It can be concluded that the most competent technique for the optimal diagnosis of Helicobacter pylori infection is the invasive one with the pathohistological examination of bioptates together with the rapid urease test.

PRIKAZI SLUČAJEVA

CASE REPORTS

Kantonalna bolnica Zenica, Bosna i Hercegovina
Služba za neurohirurgiju

Prikaz slučaja
Case report
UDK 616.711:616.833
DOI: 10.2298/MPNS1108419J

DORZALNA EKSTRUZIJA INTERVERTEBRALNOG DISKUSA KAO UZROK SINDROMA KAUDE EKVINE

DORSAL EXTRUSION OF INTERVERTEBRAL DISC AS A CAUSE OF CAUDA EQUINA SYNDROME

Aldin JUSIĆ, Rasim SKOMORAC i Hakija BEČULIĆ

Sažetak – Prikazali smo redak slučaj dorzalne migracije fragmenta prolabilanog intervertebralnog diskusa koji se klinički manifestovao kao sindrom kaude ekvine. Pacijent je primljen u Službu za neurologiju Kantonalne bolnice u Zenici zbog retencije urina i slabosti u nogama. Magnetna rezonancija lumbosakralnog segmenta kičme pokazala je kompresivnu masu u zadnjem epiduralnom prostoru nivoa L2/L3. Intraoperativno smo našli prolaps intervertebralnog diskusa. Nakon dekompresije, usledio je zadovoljavajući klinički oporavak.

Ključne reči: Sindrom kaude ekvine; Kauda ekvina + patologija; Ekstruzija intervertebralnog diska; Lumbalni pršljeni; Hirurška dekompresija; Magnetna rezonanca; Urinarna retencija

Uvod

Sekvestrirana hernijacija lumbalnog diskusa rezultat je delovanja snažnih biomehaničkih sila na lumbosakralni segment kičme [1]. Većina simptomatskih hernijacija javlja se u posterolateralnom smeru s mogućnošću migriranja sekvestra kranijalno ili kaudalno [2]. Migracija u zadnji epiduralni prostor vrlo je retka pojava zahvaljujući posebnoj anatomskoj strukturi [2-4] i uvek je praćena ozbiljnom kliničkom slikom [5].

U ovom radu smo prikazali pacijenta sa kliničkom slikom sindroma kaude ekvine uzrokovanim dorzalnom protruzijom intervertebralnog diskusa.

Prikaz slučaja

Pacijent starosti 53 godine primljen je na odeljenje neurologije radi slabosti u nogama i otežanog mokrenja. Odranije je na antiepileptičnoj terapiji i poznat je kao hronični alkoholičar. Tegobe su započele tri dana ranije bolovima u krstima sa iradijacijom u obe noge praćenim parestezijama, a dan pred hospitalizaciju osetio je slabost u nogama, uz nemogućnost izmokranja. U neurološkom nalazu evidentirana je parapareza sa hipotonijom miškulature, ugašeni refleksi na donjim ekstremitetima, hipoestezije u dermatomima L5 i S1 desno, te retencija urina.

Elektromioneurografija (EMNG) donjih ekstremiteta pokazala je znake toksične polineuropatije i leziju korena L4, L5 i S1 obostrano i umerenu leziju korena L3 desno.

Kompjuterizovana tomografija (CT) L/S kičme rađena je od L3 do S1 pršljena ne prikazujući prisustvo operabilnog supstrata.

Magnetna rezonancija (MRI) L/S kičme je pokazao ekstruziju intervertebralnog diskusa koji obuhvata duralnu vreću sa desne strane i migrira u zadnji epiduralni prostor komprimirajući je kranijalno do nivoa L1/L2 (**slike 1 i 2**).

Odmah po načinjenoj MRI dijagnostici (tri dana nakon pojave sindroma kaude ekvine), pacijent je podvrgnut operativnom zahvatu. Urađena je laminektomija L2/L3 sa bilateralnom medijalnom fasetektomijom.

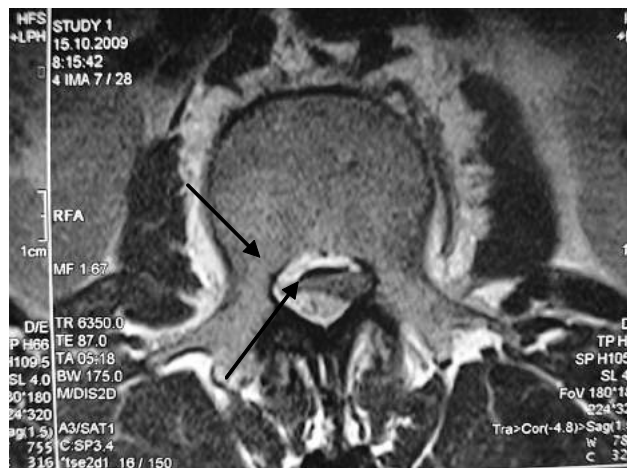


Slika 1. MRI lumbalne kičme, T2 sekvenca, sagitalni presek. Kompresivna masa u zadnjem epiduralnom prostoru na nivou L2/L3

Fig. 1. MRI of the lumbar spine, T2 sequence, sagittal view. Compressing mass in the posterior part of the epidural space at the L2/L3 level

Skraćenice

CT	– kompjuterizovana tomografija
MRI	– magnetna rezonancija
EMNG	– elektromioneurografija



Slika 2. MRI lumbalne kičme, T2 sekvenca, aksijalni presek. Kompresivna masa u desnom lateralnom i zadnjem epiduralnom prostoru na nivou L2/L3

Fig 2. MRI of the lumbar spine, T2 sequence, axial view. Compressing mass in the lateral and posterior part of the epidural space at the L2/L3 level

mijom. Intraoperativno se, već po odstranjenju ligg. flava, naišlo na prolabirani deo diskusa koji je odstranjen u dva veća komada. Nakon toga je postala evidentna reekspanzija duralne vreće. Prikazala su se oba korena L3, a ispod desnog korena se vizuelizuje anularni defekt kroz koji je materijal diskusa prolabirao.

Rani postoperativni tok karakterisao je postepeni oporavak neurološkog deficita te je pacijent upućen na intenzivni fizikalni tretman.

Godinu dana nakon operacije pacijent je samostalno pokretan i uredno kontrolira sfinktere.

Diskusija

Sekvestirana hernijacija lumbalnog diskusa nastaje kao rezultat delovanja snažnih biomehaničkih sila na lumbosakralni segment kičme [1]. U ukupnom broju klinički manifestnih diskus hernija, slučajevi sa sekvestracijom zastupljeni su od 5 [1] do 29% [3]. Klinički manifestni sindrom kaude ekvine, kao najdramatičnija komplikacija, javlja se kod 2-3% operisanih lumbalnih diskus hernija [6]. Najčešće su hernijacije diskusa usmerene dorzalno i dorzolateralno u prednji epiduralni prostor, a fragmentirani delovi diskusa obično migriraju bilo rostralno bilo kaudalno u jednakoj razmeri [7] što je uslovljeno specifičnom anatomskom strukturom, od-

nosno postojanjem zadnjeg ligamenta i njegovih veza [2,4]. Tipična lokalizacija fragmenta diskusa je u ventralnom aspektu korena, ređe u njegovoj aksili, a vrlo retko u posteriornom duralnom prostoru [8] predstavljajući sâm koren kao moćnu anatomsku barijeru. Objašnjenje za neuobičajenu dorzalnu migraciju fragmenta se može naći u blažim adhezijama između duralne vreće i fibroznog anulusa koje su rezultat ranijih, nesimptomatskih hernijacija diskusa što može da ubrza migraciju ka dorzalno [8]. Ukoliko je laceracija fibroznog anulusa locirana u lateralnom delu blizu pedikula, materijal diskusa može da migrira duž medijalne strane pedikula lateralno i dorzalno u odnosu na duralnu vreću [8]. Retka pojava dorzalne lokalizacije sekvestra je evidentna uzimajući u obzir mali broj opisanih slučajeva u literaturi [4,5], a u eksperimentalnim modelima sekvestrirane protruzije Božića i saradnika čak se ni ne spominje [1]. Metoda izbora u dijagnostici sindroma kaude ekvine je MRI [4]. U slučaju ekstraduralne hernijacije, fragment diskusa se vizuelizuje kao hipointenzna masa na T1, odnosno blaže hiperintenzna na T2 [3,7]. U diferencijalnoj dijagnozi prvenstveno dolazi u obzir apsces, hematoma ili ekstraduralni tumor.

U našem opisanom slučaju klinički razvoj bolesti je bio relativno brz. Započeo je bolovima i parestezijama da bi u nekoliko dana progredirao do težeg neurološkog deficita što je verovatno korespondiralo sa nastankom i migracijom sekvestra. EMNG nalaz je prvenstveno dijagnostikovao hronične neuropatske promene u vezi sa hroničnim alkoholizmom pacijenta nego sveže koje bi se očekivale s obzirom na obilan supstrat. CT analizom čak nije bio ni obuhvaćen nivo lezije. MRI je i ovaj put opravdao svoj status metode izbora u dijagnostici spinalne patologije prikazavši dorzalno pozicionirani ekstrudat hipointenzan na T1, odnosno hiperintenzan na T2 što se uklapa u radiološke standarde [9]. Intraoperativno je potvrđen dorzalni prolabirani fragment i nađen je defekt fibroznog anulusa u njegovom lateralnom aspektu što doprinosi opisanoj teoriji o mogućim razlozima dorzalne migracije sekvestra. Iako hirurška intervencija nije usledila u preporučenom roku od 48 sati [10] po pojavi simptoma kompresije kaude ekvine, oporavak je zadovoljavajući. Razlog kašnjenja je bio tehničke prirode.

Zaključak

Hernijacija intervertebralnog diskusa, sa sekvestracijom ili bez nje, čest je klinički entitet. Migracija sekvestra u dorzalni duralni prostor je izuzetno retka, ali uvek praćena teškom kliničkom slikom. U kliničkim slučajevima kompresije kaude ekvine, hitna magnetna rezonancija kičme je metoda izbora gde god je to moguće izvesti kao i hirurška dekompresija.

Literatura

1. Božić B, Kogler A, Negovetić L, Sajko T, Kudelić N. Sequenced extrusion of lumbar disc: experimental model, clinical picture, diagnosis and treatment. Acta Clin Croat 2003;42:213-6.
2. Walsh AJ, Martin Z, McCormack D. Cauda Equina Syndrome Secondary to Posterior Epidural Migration of a Lumbar

Disc Fragment: a Rare Phenomenon. Eur J Orthop Surg Traumatol 2004;14:30-1.

3. Jin-Sung K, Sang-Ho L, Nikhil JA. Dorsal extradural lumbar disc herniation causing cauda equina syndrome: a case report and review of literature. J Korean Neurosurg Soc 2010;47:217-20.

4. Şen O, Aydın MV, Erdogan B, Yıldırım T, Caner H. Cauda equina syndrome caused by posterior epidural migration of an extruded lumbar disc fragment. Turk Neurosurg 2001;11:108-10.

5. Şekerci Z, İldan F, Yüksel M, Gül B, Kıbıç C. Cauda equina compression due to posterior epidural migration of extruded lumbar disc. Neurosurg Rev 1992;15:311-3.

6. Radulović D, Tasić G, Joković M, Nikolić I. Uticaj hirurške dekompresije Kaude ekvine kod lumbalne diskus hernije na oporavak ledirane funkcije mokraćne bešike. Med Pregl 2004; 57(7-8):327-30.

7. Neugroschl C, Kehrlı P, Gigaud M, Regragui O, Maitrot D, Manelfe C, et al. Posterior extradural migration of extruded

thoracic and lumbar disc fragments: role of MRI. Neuroradiology 1999;41:630-5.

8. Myoung SK, Jin WH, Jong-Won L, Hyun KL. Posterior and lateral epidural migration of extruded lumbar disc fragments. J Korean Neurosurg Soc 2003;33:297-8.

9. Semnic R. Magnetna rezonanca kičme. Sremska Kamenica: Institut za onkologiju; 2009.

10. Kostuik JP, Harrington I, Alexander D, Rand W, Evans D. Cauda equina syndrome and lumbar disc herniation. J Bone Joint Surg Am. 1986;68:386-91.

Summary

We have presented a case of rare dorsally sequestered lumbar disc herniation manifesting as cauda equina syndrome. The patient was admitted to the Neurological Department of Canton Hospital Zenica due to urinary retention and weakness in both

lower extremities. Magnetic resonance imaging showed a compressing mass located in the dorsal extradural space at the L2-L3 level. An extruded intervertebral disc was found intraoperatively. The decompression was followed by good recovery.

Key words: *Polyradiculopathy; Cauda Equina + pathology; Intervertebral Disk Displacement; Lumbar Vertebrae; Decompression, Surgical; Magnetic Resonance Imaging; Urinary Retention*

Rad je primljen 14. X 2010.

Prihvaćen za štampu 25. XI 2010.

BIBLID.0025-8105:(2011):LXIV:7-8:419-421.

ISTORIJA MEDICINE HISTORY OF MEDICINE

Medicinska škola Zvezdara, Beograd
Institut za mikrobiologiju i imunologiju¹
Medicinski fakultet Beograd²

Istorija medicine
History of medicine
UDK 616.972(091)

ISTORIJSKO-MEDICINSKI PREGLED OBOLEVANJA VOJSKOVOĐA, VLADARA I DRŽAVNIKA OD SIFILISA

*HISTORICAL AND MEDICAL REVIEW OF SYPHILLIS-AFFLICTED ARMY LEADERS,
RULERS AND STATESMEN*

Živorad MARINKOVIĆ¹ i Slobodanka ĐUKIĆ²

Sažetak – Sifilis je bolest koja je promenila tok svetske istorije. To je seksualno prenosiva infekcija koju izaziva bakterija spiralnog oblika *Treponema pallidum*. Bolest se javljala pod različitim nazivima u prošlosti i imala značajno mesto u istoriji i literaturi tokom poslednjih nekoliko stotina godina. Od pojave prvih slučajeva sifilisa u XV veku u Evropi, ova bolest je tokom prošlosti bila predmet mnogih misterija i legendi. Smatra se da su je doneli Kolumbo i njegovi mornari iz Amerike na povratku u Evropu. Nakon toga, tokom istorije, za mnoge poznate ličnosti smatra se da su bolovale od sifilisa, poput političkih figura (Šarl VIII, kraljica Meri, Ekaterina Velika, Pavle I, Vladimir Lenjin), muzičara i književnika. Sifilis je hronično oboljenje, koje ako se ne leči prolazi kroz nekoliko stadijuma sa različitim manifestacijama na većem broju organa. Kongenitalni sifilis je poseban klinički entitet, a posledica je nelečene ili neotkrivene sifilistične infekcije trudnice. Sifilis postoji i danas i Svetska zdravstvena organizacija izveštava o oko 12 miliona novih slučajeva sifilisa godišnje. Iako je eradicacija sifilisa biološki moguća, političke, kulturne i logističke teškoće je otežavaju i čine manje verovatnom. Nažalost, umesto da bude polno prenosiva infekcija od istorijskog značaja, sifilis jos uvek, naročito u eri infekcije HIV-om, nastavlja da prkosi istraživačima i lekarima

Ključne reči: Istorija medicine; Sifilis; *Treponema pallidum*; Polno prenosive bolesti; Poznate ličnosti

Uvod

Sifilis je bolest koja je promenila tok svetske istorije. Od pojave prvih slučajeva sifilisa u XV veku u Evropi, ova bolest je tokom prošlosti bila predmet mnogih misterija i legendi. S obzirom na činjenicu da je u celom svetu kroz istoriju bolovao od ove bolesti veliki broj vladara, vojskovođa i državnika, koji su donosili najvažnije odluke u vezi sa sudbinom naroda, za sifilis se može reći da je bio značajan za kreiranje i ishod pojedinih istorijskih događaja [1].

Do podataka u vezi sa obolevanjem vladara i državnika od sifilisa kroz vekove je bilo jako teško doći jer se postojanje neke venerične bolesti kod njih uvek prikrivalo. Obavljanje državnih funkcija tokom bolesti nije prestajalo, iako se u tom periodu pacijentima uvek savetuje smanjenje svih aktivnosti. Ova činjenica je ponekad imala posledice značajne za određene narode i neke istorijske odluke [2].

Sifilis kao bolest

Sifilis je hronična polno prenosiva bolest koju izaziva bakterija *Treponema pallidum*. U preantibiotskoj eri to je bila najrasprostranjenija seksualno prenosiva bolest od koje je bolovao i umirao veliki broj ljudi. Danas, podaci Svetske zdravstvene organizacije ukazuju na postojanje oko 12 miliona novih slučajeva sifilisa godišnje [3].

Ukoliko se ne leči, sifilis je infekcija koja postupno progredira kroz seriju kliničkih stadijuma i dugih perioda latentne infekcije. Postojanje tri različita stadijuma bolesti definisao je prvi put francuski venereolog Philippe Ricord 1838. godine u monografiji *Traite des maladies veneriennes* [4]. Primarna lezija kod sifilisa označena je kao šankr i predstavlja ulceraciju koja je infektivna i koja spontano nestaje nakon nekoliko nedelja. Sekundarni sifilis posledica je razmnožavanja diseminovanih treponema i karakteriše ga stvaranje lezija na koži i unutrašnjim organima. Tercijerni sifilis koji uključuje neurosifilis, kardiosifilis i gumatozni sifilis, najčešće nastaje nekoliko godina nakon inicijalne infekcije, a nastala ireverzibilna oštećenja posledica su autoimunih reakcija [5].

Poreklo sifilisa

Kakvo je poreklo sifilisa, i odakle je „stigao” u Evropu u XV veku? Postoje tri teorije o poreklu ove bolesti – tzv. Kolumbova teorija, tzv. pre-Kolumbova teorija i tzv. evolutivna teorija [6]. Kolumbova teorija je najšire prihvaćena. Postojanje karakteristične periostealne reakcije i promena na kostima karakterističnim za sifilis nađenim na ostacima skeleta u Dominikanskoj Republici gde je i u vreme kada se Kolumbo iskrcao na svom putu za otkrićem Novog sveta, ukazuju na mogućnost da je ovaj istraživač na povratku iz Amerike doneo i sifilis kao bolest u Evropu (Kolumbova teorija)



Slika 1. Šarl VIII, kralj Francuske (1470-1498)
Fig. 1. Charles VIII, King of France (1470-1498)

[7]. Mišljenje istraživača koji podržavaju pre-Kolumbovu teoriju jeste da se sifilis prvo pojavio u Centralnoj Africi i da se proširio na evropsko tle nekoliko stotina godina pre Kolumbovog povratka iz Amerike. Evolutivna teorija je najmanje poznata od navedene tri. Postulat ove teorije je da su različite vrste unutar roda *Treponema* mutacijama nastale od istog soja bakterije. Prva bolest izazvana „originalnim” sojem bakterije bila je verovatno pinta koja se često javljala u Africi i Aziji, nakon koje se pojavljuje frambezija koja se širi po zemljama tropskog pojasa. Obe bolesti su nevenerične, benigne, ne zahvataju nervni ni kardiovaskularni sistem, a ni kongenitalna transmisija nije moguća. Tek godinama kasnije, kao posledica mutacija u genomu bakterije usled promenljivih klimarskih faktora, dolazi do pojave veneričnog sifilisa kao bolesti [6].

U stručnoj literaturi postoje podaci o mogućem postojanju sifilisa u Evropi i pre XV veka. Naime, Lascarator i Poulakou (1999) navode činjenice koje ukazuju na mogućnost da je Vizantijski car Justinijan (527–565) bolovao od sifilisa. Ovi autori iznose hipotezu da je car Justinijan dobio sifilis od svoje žene carice Theodore koja je pre udaje bila kurtizana u Aleksandriji. U istorijskim spisima se navode podaci da je car Justinijan imao disurične tegobe zbog „ulceracije na genitalijama” (što bi moglo da predstavlja prvi stadijum sifilisa), zatim da je imao ponavljajuće višegodišnje bolove i otok u kolenu (što bi moglo da bude posledica razvoja gumatoznih formacija karakterističnih za treći stadijum sifilisa), kao i da je u poslednjim godinama života pokazivao znake senilnosti (što

bi mogao biti jedan od znakova parenhimatoznog neurosifilisa) [8].

Prva epidemija sifilisa u Evropi

Tokom 1494. godine Šarl VIII je sa vojskom koju su činili najamni vojnici iz različitih evropskih zemalja izvršio invaziju na Italiju (Slika 1). Napulj je pao 1495. godine, ali već nakon nekoliko meseci vojska Šarla VIII se pretvorila u veliku razuzdanu i „bolesnu” rulju. Vrlo je izvesno da su se vojnici inficirali uzročnikom sifilisa od prostitutki koje su uvek pratile vojske na ratnim pohodima i ne znajući da su one mogući izvor zaraze. U bici kod Fornova 1495. godine Šarl VIII je izgubio svoju vojsku i italijansko kraljevstvo [9].

Tokom sramnog povratka kući, strani najamni vojnici su postali glavni prenosioci sifilisa i odgovorni za širenje epidemije ove bolesti kroz Evropu, a ne Kolumbovi mornari kako se to ranije mislilo. Epidemija je prvo zahvatila Italiju, Francusku, Nemačku i Švajcarsku, nakon toga Holandiju i Grčku, a posle 2 do 4 godine Englesku, Mađarsku i Rusiju [10]. Prvi slučajevi sifilisa na teritoriji bivših jugoslovenskih republika zabeleženi su već početkom XVI veka u regiji Zadra, Dubrovnika i Istre [11]. Prva bolnica koja je lečila obolele od sifilisa bila je *Hospitał Hôtel-Dieu* u Lionu. U oktobru 1495. godine vojnici Šarla VIII bili su prvi koje su od ove bolesti lečili francuski lekari [12]. Sifilis se iz Evrope brzo proširio u Indiju sa Vaskom de Gamom 1498. godine i, kasnije, u Japan 1512. godine [13].

Pošto je sifilis kao epidemijska bolest prvi put zabeležena u Evropi kod pripadnika Francuske armije nazvana je tada „francuskom bolešću” (engl. *French disease*) ili *Morbus gallicus*. Francuzi su bolest nazivali napuljskom bolešću jer su smatrali da su Italijani odgovorni za širenje sifilisa. Današnji naziv bolesti potiče iz poeme italijanskog pesnika i lekara Girolama Fracastera koji je 1530. godine bolest nazvao na latinskom *Syphilis sive morbus gallicus*. U ovoj poemi je Syphilus, pastir koji je živeo u vreme vladavine kralja Acithousa na Haitiju, izgubio ovce zbog suše. Kralj okrivljuje boga Sunca za gubitak, a ovaj se sveti slanjem strahovite bolesti na Haiti, od koje kao prva žrtva strada sam Syphilus [14].

Sifilis kod evropskih vladara

Mnogi istoričari smatraju da je engleska kraljica Meri I Tjodor (1516-1558) rođena sa kongenitalnim sifilisom. Njena majka, Katarina od Aragona, imala je šest neuspelih trudnoća a samo je kraljica Meri njeno živorođeno dete. Njen otac, Henri VIII, bolovao je od sifilisa [15]. Smatra se da je kongenitalno stečeni sifilis razlog za činjenicu da ona u braku sa Filipom II Španskim nije imala dece, što je za posledicu imalo osećaj nezadovoljstva koji je uticao na neke njene vladarske odluke [16].

Rezultati paleopatoloških studija na italijanskim mumijama iz doba renesanse iz Bazilike Saint Domenico Maggiore u Napulju su pokazala da je Marija od Aragona ili Markiza Vasta (1503-1568), imala promene koje odgovaraju obolelim od sifilisa. Elektronsko

mikroskopski snimci su ukazali na postojanje tipičnih treponema sa aksijalnim filamentima [17].

Devetnaesti vek je uveo novu medicinsku specijalnost – sifilologa, lekara specijalistu koji se bavio svim aspektima ove bolesti koja može da zahvati svaki organ i tkivo čovečjeg organizma. Postaje evidentno da hronični arahnoiditis koji se uočava kod obolelih od neurosifilisa, može rezultirati razvojem psihijatrijske bolesti. Sifilolozi su na taj način tumačili tzv. ludilo Ivana IV Vasiljeviča Groznog, ruskog cara koji je vladao od 1533. do 1584. godine, a tokom čijeg života su opisivane česte epizode njegove „mentalne bolesti” [18].

Jekaterina II Aleksejevna (1729-1796), poznata kao Katarina Velika, vladala je kao carica Rusije od 1762. do smrti 1796. godine (**Slika 2**). Bila je udata za Petra III od Rusije, ali je brak okarakterisan kao promašaj, najvećim delom zbog njenih brojnih neverstava.



Slika 2. Katarina Velika, carica Rusije (1729-1796)
Fig. 2. Catherine the Great, Empress of Russia (1729-1796)

U njenoj medicinskoj istoriji ne ukazuje se na to da je bolovala od primarnog ili sekundarnog sifilisa. Međutim, primarni šankr se pojavljuje na grliću materice kod žena u oko 25% slučajeva i može proći neprimećen, a sekundarni stadijum sifilisa kod žena često ima blagu kliničku sliku zbog čega je i uglavnom nedijagnostikovano. Ono što bi moglo mnogo više ukazivati na činjenicu da je bolovala od sifilisa jeste njena opstetrička anamneza. Njene prve dve trudnoće su se završile spontanom pobačajima, a prvo živorođeno dete bio je Pavle I. Četvrto dete, ćerka Ana, umrla je u prvoj godini života. Smatra se da je otac ove dece Sergej Saltikov, koji je bio pripadnik armijskih snaga i zbog velikog procenta obolelih od sifilisa među nji-



Slika 3. Pavle I, ruski imperator (1754-1801)

Fig. 3. Paul I, Emperor of Russia (1754-1801)

ma u to vreme, rizičan seksualni partner. Najbolja moguća potvrda da je Katarina Velika bolovala od sifilisa jeste u izgledu njenog sina Pavla (**Slika 3**). Ljudi su izgled njegovog lica opisivali kao čudan, govoreći da liči na buldoga ili pekinezera. Analizirajući njegove slike uočava se da je imao zdelasto lice (engl. *dish-face*), tipično za kongenitalni sifilis, kao i krivu tibiju (engl. *bowing-tibiae*) [19].

Sifilis u „novijoj” istoriji

Za Vladimira Iljiča Lenjina (1870-1924) takođe se danas pouzdano smatra da je bolovao i umro od sifilisa. Zvanična medicinska verzija Lenjinove bolesti ukazuje na to da je počela 1922. godine, mada se najverovatnije pojavila godinama ranije. Po zvaničnom izveštaju prof. Osipova, čuvenog ruskog psihijatra koji je lečio Lenjina, on je imao ireverzibilnu desnu hemiparezu sa motornom i senzornom afazijom i aleksijom. Nije bio u stanju da piše, mučile su ga užasne glavobolje, halucinacije i gubitak apetita. Od poslednjeg epileptičkog napada koji je trajao 50 minuta je i umro. Zvanična obdukcija je ukazala na „difuznu aterosklerozu, naročito u moždanim arterijama”. Sifilis kao moguća dijagnoza nije navođen u zvaničnim izveštajima. Potpisi i mišljenje prof. Kramera i dr. Kozhevnikova koji su prisustvovali obdukciji i tvrdili da su nađene patološke promene karakteristične za neurosifilis ne postoje u zvaničnom izveštaju. Specijalisti kojima je naknadno omogućen uvid u arhivu o Lenjinovoj bolesti ukazali su na to da su

postojali rezultati testiranja urina ali ne i krvi, iako je krv uzimana više puta za analizu, a dijagnostika sifilisa postavlja se upravo preko analiza iz krvi [20].

Dr Hesse, nemački istoričar medicine, koji se dosta bavio izučavanjem Lenjinove bolesti, ukazao je na problem steriliteta kod Lenjina, sugerišući kao razlog kombinovane dve polno prenosive bolesti – sifilis i gonoreju. Lerner i saradnici ukazuju na to da su hemipareze i afazija koje je imao Lenjin, karakteristične upravo za neurosifilis. Pre početka korišćenja antibiotika u lečenju obolelih od sifilisa, opšta pareza i *tabes dorsalis* sa ataksijom su kod njih bili izuzetno čest nalaz [20]. Lenjinova hronična bolest i rana smrt stvorile su politički vakuum koji je potpuno iskoristio Staljin preuzevši vlast za sledeće tri decenije.

Adolf Hitler (1889-1945) je još jenda od istorijskih ličnosti za koga se osnovano sumnja da je bolovao od sifilisa. Za period njegovog života do 1936. godine kada njegov lični lekar postaje dr Theodor Morell, dermatolog i sifilolog, sačuvana je samo sekundarna medicinska dokumentacija. Nagoveštaj da je Hitler bolovao od sifilisa zasniva se na prilično nejasnom podatku o postojanju primarne sifilistične infekcije u dobu od 20 godina, i ponavljajuće infekcije tokom Prvog svetskog rata, kao i kliničkih manifestacija sifilisa do kraja njegovog života [21]. Nivo fizičke i jasno uočljive mentalne deteoriracije posle 1942. godine tumači se postojanjem organskog oštećenja mozga čiji bi uzrok mogao biti neurosifilis (*dementia paralytica*). Gubitak memorije i smanjenje drugih mentalnih sposobnosti, iluzija veličine, paranoja, tremor i ataksični hod su znaci koji su postojali kod Hitlera u tom periodu, a mogli bi se objasniti postojanjem neurosifilisa. Serološki testovi za sifilis rađeni 1940. su bili negativni, ali to ne isključuje postojanje neurosifilisa [22].

Sifilis kod vojnika tokom ratnih sukoba

Krajem XIX veka 20% vojnika britanske armije i 54% vojnika britanske armije u Indiji bolovalo je od

sifilisa. U britanskim trupama stacioniranim u Indiji u drugoj polovini XIX veka sifilis je pravio ogroman problem u organizovanju vojnih akcija jer je kao uzročnik morbiditeta i razlog za hospitalizaciju vojnika bio na drugom mestu, odmah iza malarije. Godine 1885. u Indiji su bila hospitalizovana 522 na 1 000 vojnika, što je činilo polovinu britanske armije i gubitak više od milion „vojničkih dana”.

Tokom Prvog svetskog rata sifilis je bio dosta rasprostranjen među vojnicima evropskih armija. Britanci i Francuzi su smatrali da je prostitucija tokom rata „neophodno zlo” i nešto što je poželjno za moral vojnika, što je za posledicu imalo lako i brzo širenje svih polno prenosivih bolesti, pa i sifilisa. Amerikanci su, s druge strane, preduzimali uspešne mere za suzbijanje prostitucije, tako da je za vreme rata broj obolelih sa 350 inficiranih na 1 000 osoba, spao na 50 na 1 000 osoba [23].

Za vreme Drugog svetskog rata u SAD je incidenca sifilisa prelazila 500 000 slučajeva godišnje što ukazuje na veliki broj vojnika obolelih od ove polno prenosive bolesti [3].

Zaključak

Polno prenosive bolesti su kroz različita istorijska razdoblja uvek bile bolesti koje su ljudi prikrivali i tajno, a često i samostalno, lečili. Iako u manjem obimu nego ranije, sifilis postoji i danas, i na to oboljenje i moguće posledice moramo još uvek da mislimo. Iako je eradikacija sifilisa biološki moguća, političke, kulturne i logističke teškoće je otežavaju i čine manje verovatnom. Nažalost, umesto da bude polno prenosiva infekcija od istorijskog značaja, sifilis još uvek, naročito u eri infekcije HIV-om, nastavlja da prkosi istraživačima i lekarima.

Literatura

- Kaplan RM. Syphilis, sex and psychiatry, 1789-1925. Part 2. *Aust Psychiatry* 2010;18:22-7.
- Donchin Y. When leaders become ill. *IMAJ* 2006;8:744-5.
- LaFond RE, Lukehart SA. Biological basis for syphilis. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:29-49.
- Franzen C. Syphilis in composers and musicians - Mozart, Beethoven, Paganini, Schubert, Schumann, Smetana. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27:1151-7.
- Đukić S. *Tréponema pallidum*. In: Đurković-Đaković O, Jovanović T, Jevtović Đ, urednici. Perinatalne infekcije. Beograd: Velarta; 1995. p. 116-8.
- Sefton AM. The Great Pox that was...syphilis. *J Appl Microbiol* 2001;91(4):592-596.
- Rothschild BM. History of syphilis. *Clin Infect Dis* 2005;40(10):1454-63.
- Lasrctatos J, Poulakou-Rebelakou E. Did Justinian the Great (527-565 CE) suffer from syphilis? *Int J Dermatol* 1999;38:787-91.
- Singh AE, Romanowski B. Syphilis: review with emphasis on clinical, epidemiologic, and some biologic features. *Clin Microbiol Rev* 1999;12(2):187-209.
- Tognotti E. The rise and fall of syphilis in Renaissance Europe. *J Med Humanit* 2009;30:99-113.
- Gruber F. History of venereology in Croatia. *Acta Dermatovenerol Croat* 2009;17:247-62.
- Chevallier J. The arrival of the "grand pox" at the hôtel-Dieu de Lyon. *Hist Sci Med* 2008;42:29-38.
- Ross J. Shakespeare's chancre: did the bard have syphilis? *Clin Infect Dis* 2005;40:399-404.
- M'gasseb H. The controversy over the history of syphilis. *Tunis Med* 2009;87:491-3.
- Walker DG, Walker GJ. Forgotten but not gone: the continuing scourge of congenital syphilis. *Lancet* 2002;2:432-36.
- Knell RJ. Syphilis in renaissance Europe: rapid evolution of an introduced sexually transmitted disease? *Proc Biol Sci* 2004; (Suppl 4):174-6.
- Formaciari G. The Aragonese mummies of the Basilica of Saint Domenico Maggiore in Naples. *Med Secoli* 2006;18:843-64.
- Kaplan RM. Syphilis, sex and psychiatry, 1789-1925. Part 1. *Aust Psychiatry* 2010;18:17-21.

19. Morton RS. Did Catherine the Great of Russia have syphilis? *Genitourin Med* 1991;67:498-502.

20. Lerner V, Finkelstein Y, Witztum E. The enigma of Lenin's (1870-1924) malady. *Eur J Neurol* 2004;11:371-6.

21. Retief FP, Wessels A. Did Adolf Hitler have syphilis? *S Afr Med J* 2005;95:750-6.

22. Lieberman A. Adolf Hitler's cognitive disorder and how it affected his conduct of World War II. *Adv Neurol* 1999;80:459-66.

23. Amstey MS. The political history of syphilis and its application to the AIDS epidemic. *WHI* 1994;1:16-9.

Summary

Syphilis has changed the course of history. It is a sexually transmitted disease caused by spiral-shaped bacterium, Treponema pallidum. The disease has been known under many names during history, and has had a prominent role in history and literature for the last several hundred years. Since its recognition in 15th-century Europe as a new disease, syphilis has been the subject of great mystery and legends. Many believe that syphilis was brought to Europe by Columbus and his sailors, and, thereafter, many famous persons, such as political figures (King Charles VIII, Queen Mary I, Catherine the Great, Paul I, Vladimir Lenin), musicians and literary greats suffered from syphilis. Syphilis is a chronic,

multistage disease with diverse and wide-ranging manifestations. Congenital syphilis is of particular concern, where the lack of prenatal testing and antibiotic treatment of infected pregnant women results in congenital infection of the fetus. Syphilis exists even nowadays and according to the World Health Organization estimates, there are 12 million new cases of syphilis occurring each year. While syphilis eradication seems a biologically plausible goal, the major political, cultural, and logistic difficulties involved make it unlikely. Regrettably, rather than becoming an infection of historical significance, syphilis continues to challenge researchers and clinicians in the era of HIV.

Key words: History of Medicine; Syphilis; Treponema pallidum; Sexually Transmitted Diseases; Famous Persons

Rad je primljen 3. VIII 2010.

Prihvaćen za štampu 6. IX 2010.

BIBLID.0025-8105:(2011):LXIV:7-8:432-427.

POZIV SARADNICIMA

Pozivamo Vas da se pretplatite na časopis „Medicinski pregled”. Podsećamo Vas da je pretplata **OBAVEZNA** za sve saradnike časopisa, odnosno za sve one koji žele objavljivati svoje radove.

Molimo Vas da, ukoliko ste zainteresovani, a niste to do sada učinili, uplatite pretplatu za 2010. godinu u iznosu od **3.000,00 dinara (sa uračunatim PDV-om)** za članove sa teritorije Srbije, odnosno **4.000,00 dinara (sa uračunatim PDV-om)** za članove van teritorije Srbije uplatite direktno u Blagajni Društva lekara Vojvodine Srpskog lekarskog društva svakog radnog dana, ili na račun: **340-1861-70 ili 115-13858-06** s naznakom „Pretplata na časopis Medicinski pregled za 2010.” Ujedno Vas molimo da popunite donji formular i dostavite ga lično ili na adresu:

**Društvo lekara Vojvodine Srpskog lekarskog društva
Za ČASOPIS „MEDICINSKI PREGLED”
21000 NOVI SAD
Vase Stajića 9**

PRETPLATNIK ČASOPISA „MEDICINSKI PREGLED”

Ime, prezime i titula	
Adresa na poslu	
Adresa kod kuće	
Kontakt telefon	
Mobilni, E-mail adresa:	

Popuniti štampanim slovima

UPUTSTVO SARADNICIMA

Časopis „Medicinski pregled“ objavljuje radove iz različitih oblasti biomedicine, koji su namenjeni širim lekarskim krugovima. Radovi se objavljuju na srpskom jeziku sa proširenim engleskim sažetkom i priložima na srpskom i engleskom jeziku, a odabrani radovi objavljuju se u celini na engleskom jeziku sa sažetkom na srpskom jeziku. Radovi van srpskog govornog područja objavljuju se na engleskom jeziku. Autori radova moraju da budu pretplatnici Časopisa. Časopis objavljuje sledeće kategorije radova:

1. Uvodnici (editorijali) – do 5 stranica

Sadrže mišljenje ili diskusiju o nekoj temi važnoj za Časopis. Uobičajeno ih piše jedan autor *po pozivu*.

2. Originalni naučni radovi – do 12 stranica

Sadrže rezultate sopstvenih originalnih naučnih istraživanja i njihova tumačenja. Originalni naučni radovi treba da sadrže podatke koji omogućavaju proveru dobijenih rezultata i reprodukovanje istraživačkog postupka.

3. Pregledni članci – do 10 strana

Predstavljaju sažet, celovit i kritički pregled nekog problema na osnovu već publikovanog materijala koji se analizira i raspravlja, ilustrujući trenutno stanje u jednoj oblasti istraživanja. Radovi ovog tipa biće prihvaćeni samo ukoliko autori navođenjem najmanje 5 *autocitata* potvrde da su eksperti u oblasti o kojoj pišu.

4. Prethodna saopštenja – do 4 stranice

Sadrže naučne rezultate čiji karakter zahteva hitno objavljivanje, ali ne mora da omogući i ponavljanje iznetih rezultata. Donosi nove naučne podatke bez detaljnijeg obrazlaganja metodologije i rezultata. Sadrži sve delove originalnog naučnog rada u skraćenom obliku.

5. Stručni članci – do 10 stranica

Odnose se na proveru ili reprodukciju poznatih istraživanja i predstavljaju koristan materijal u širenju znanja i prilagođavanja izvornih istraživanja potrebama nauke i prakse.

6. Prikazi slučajeva – do 6 stranica

Obraduju *retku* kazuistiku iz prakse, važnu lekari-ma koji vode neposrednu brigu o bolesnicima i imaju karakter stručnih radova. Prikazi slučajeva ističu neobičajene karakteristike i tok neke bolesti, neočekivane reakcije na terapiju, primenu novih dijagnostičkih postupaka ili opisuju retko ili novo oboljenje.

7. Istorija medicine – do 10 stranica

Obraduje se prošlost s ciljem stvaranja kontinuiteta medicinske i zdravstvene kulture, a imaju karakter stručnih radova.

8. Druge vrste publikacija (feljtoni, prikazi knjiga, izvodi iz strane literature, izveštaji sa kongresa i stručnih sastanaka, saopštenja o radu pojedinih zdravstvenih ustanova, podružnica i sekcija, saopštenja Uredništva, pisma Uredništvu, novine u medicini, pitanja i odgovori, stručne i staleške vesti i *In memoriam*)

Priprema rukopisa

Kompletan rukopis, koji uključuje tekst rada, sve priloge i prpratno pismo, potrebno je poslati:

– u elektronskoj formi na adresu **dlv@neobee.net**, kao i

– odštampana 2 primerka rukopisa na adresu:

Društvo lekara Vojvodine Srpskog lekarskog društva (Medicinski pregled), Vase Stajića 9, 21000 Novi Sad.

Prpratno pismo

– Mora da sadrži svedočanstvo autora da rad predstavlja originalno delo, kao i da nije objavljivan u drugim časopisima, niti se razmatra za objavljivanje u drugim časopisima.

– Potvrditi da svi autori ispunjavaju kriterijume za autorstvo nad radom, da su potpuno saglasni sa tekstom rada, kao i da ne postoji sukob interesa.

– Navesti u koju kategoriju spada rad koji se šalje (originalni naučni rad, pregledni članak, prethodno saopštenje, stručni članak, prikaz slučaja, istorija medicine).

Rukopis

Za pisanje teksta koristiti *Microsoft Word for Windows*. Tekst treba otkucati koristeći font *Times New Roman*, na stranici formata A4, preredom od 1,5 (i u tabelama), sa marginama od 2,5 cm i veličinom slova od 12 pt. Rukopis treba da sadrži sledeće elemente:

1. Naslovna strana. Naslovna strana treba da sadrži kratak i jasan naslov rada, bez skraćenica, zatim kratki naslov (do 40 karaktera), puna imena i prezimena autora (najviše 6 autora) indeksirana brojkama koje odgovaraju onima kojim se u zaglavljju navode uz pun naziv i mesta ustanova u kojima autori rade. Na dnu ove stranice navesti titulu, punu adresu, e-mail i broj telefona ili faksa autora zaduženog za korespondenciju.

2. Sažetak. Sažetak treba da sadrži do 150 reči, bez skraćenica, sa preciznim prikazom problematike, ciljeva, metodologije, glavnih rezultata i zaključaka. U nastavku navesti do deset ključnih reči iz spiska medicinskih predmetnih naziva (*Medical Subjects Headings, MeSH*) Američke nacionalne medicinske biblioteke.

3. Prošireni sažetak na engleskom jeziku. Sažetak na engleskom jeziku treba da sadrži do 250 reči, sa izdvojenim celinama koje odgovaraju poglavljima u radu (za originalne, stručne radove i prethodna saopštenja: Uvod, Materijal i Metode, Rezultati, Diskusija i Zaključak).

4. Tekst rada

– Tekst originalnih članaka mora da sadrži sledeće celine: Uvod (sa jasno definisanim ciljem rada), Materijal i metode, Rezultati, Diskusija, Zaključak, spisak skraćenica (ukoliko su korišćene u tekstu) i eventualna zahvalnost autora onima koji su pomogli u istraživanju i izradi rada.

– Tekst prikaza slučaja treba da sadrži sledeće celine: Uvod (sa jasno definisanim ciljem rada), Prikaz slučaja, Diskusija i Zaključak.

– Tekst treba da bude napisan u duhu srpskog jezika, oslobođen suvišnih skraćenica, čija prva upotreba zahteva navođenje punog naziva. Skraćenice ne upotrebljavati u naslovu, sažetku i zaključku. Koristiti samo opšte prihvaćene skraćenice (npr. DNA, MRI, NMR, HIV,...). Spisak skraćenice koje se navode u radu, zajedno sa objašnjenjem njihovog značenja, dostaviti na poslednjoj stranici rukopisa.

– Koristiti mere metričkog sistema prema Internacionalnom sistemu mera (*International System Units – SI*). Temperaturu izražavati u Celzijusovim stepenima (°C), a pritisak u milimetrima živinog stuba (mmHg).

– Ne navoditi imena bolesnika, inicijale ili brojeve istorija bolesti.

Uvod sadrži precizno definisan problem kojim se bavi studija (njegova priroda i značaj), uz navođenje relevantne literature i sa jasno definisanim ciljem istraživanja i hipotezom.

Materijal i metode treba da sadrže podatke o načinu dizajniranja studije (prospektivna/retrospektivna, kriterijumi za uključivanje i isključivanje, trajanje, demografski podaci, dužina praćenja). Statističke metode koje se koriste treba da budu jasne i detaljno opisane.

Rezultati predstavljaju detaljan prikaz podataka dobijenih tokom studije. Sve tabele, grafikoni, sheme i slike moraju da budu citirani u tekstu, a njihova numeracija treba da odgovara redosledu pominjanja u tekstu.

Diskusija treba da bude koncizna i jasna, sa interpretacijom osnovnih nalaza studije u poređenju sa rezultatima relevantnih studija publikovanim u svetskoj i domaćoj literaturi. Navesti da li je hipoteza istraživanja potvrđena ili opovrgnuta. Izneti prednosti i ograničenja studije.

Zaključak u kratkim crtama mora da odbaci ili potvrdi pogled na problem koji je naveden u Uvodu. Zaključci treba da proizilaze samo iz vlastitih rezultata i da ih čvrsto podržavaju. Uzdržati se uopštenih i nepotrebnih zaključivanja. Zaključci u tekstu moraju suštinski odgovarati onima u Sažetku.

5. Literatura. Literatura se u tekstu označava arapskim brojevima u uglastim zagradama, prema redosledu pojavljivanja. Izbegavati veliki broj citata u tekstu. Za naslove koristiti skraćenice prema *Index Medicus*-u (<http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>). U popisu citirane literature koristiti Vankuverska pravila koja precizno određuju redosled podataka i znake interpunkcije kojima se oni odvajaju, kako je u nastavku dato pojedinim primerima. Navode se svi autori, a ukoliko ih je preko šest, navesti prvih šest i dodati et al.

Članci u časopisima:

* *Standardni članak*

Ginsberg JS, Bates SM. Management of venous thromboembolism during pregnancy. *J Thromb Haemost* 2003;1:1435-42.

* *Organizacija kao autor*

Diabetes Prevention Program Research Group. Hypertension, insulin, and proinsulin in participants with impaired glucose tolerance. *Hypertension* 2002;40(5):679-86.

* *Nisu navedena imena autora*

21st century heart solution may have a sting in the tail. *BMJ* 2002;325(7357):184.

* *Volumen sa suplementom*

Magni F, Rossoni G, Berti F. BN-52021 protects guinea pig from heart anaphylaxis. *Pharmacol Res Commun* 1988;20 Suppl 5:75-8.

* *Sveska sa suplementom*

Gardos G, Cole JO, Haskell D, Marby D, Pame SS, Moore P. The natural history of tardive dyskinesia. *J Clin Psychopharmacol* 1988;8(4 Suppl):31S-37S.

* *Sažetak u Časopisu*

Fuhrman SA, Joiner KA. Binding of the third component of complement C3 by *Toxoplasma gondii* [abstract]. *Clin Res* 1987;35:475A.

Knjige i druge monografije:

* *Jedan ili više autora*

Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical microbiology*. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

* *Urednik(ci) kao autor*

Danset J, Colombani J, eds. *Histocompatibility testing* 1972. Copenhagen: Munksgaard, 1973:12-8.

* *Poglavlje u knjizi*

Weinstein L, Schwartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Soderman WA Jr, Soderman WA, eds. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*. Philadelphia: Saunders; 1974. p. 457-72.

* *Rad u zborniku radova*

Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA,

Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editors. *Genetic programming*. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

* *Disertacije i teze*

Borkowski MM. *Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans* [dissertation]. Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002.

Elektronski materijal

* *Članak u Časopisu u elektronskoj formi*

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 1 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htmArticle>

* *Monografije u elektronskoj formi*

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

* *Kompjuterski dokument (file)*

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

6. Prilozi (tabele, grafikoni, sheme i fotografije).

Dozvoljeno je najviše šest priloga!

– Tabele, grafikoni, sheme i fotografije dostavljaju se kao posebni dokumenti, na posebnim stranicama.

– Tabele i grafikone pripremiti u formatu koji je kompatibilan sa programom *Microsoft Word for Windows*.

– Slike pripremiti u JPG, GIF TIFF, EPS i sl. formatu

– Svaki prilog numerisati arapskim brojevima, prema redosledu njihovog pojavljivanja u tekstu.

– Naslov, tekst u tabelama, grafikonima, shemama i legendama navesti na srpskom i na engleskom jeziku.

– Objasniti sve nestandardne skraćenice u fusnotama koristeći sledeće simbole: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, † ‡, † ‡ †.

– U legendama mikrofotografija navesti korišćenu vrstu bojenja i uvećanje na mikroskopu. Mikrofotografije treba da sadrže merne skale.

– Ukoliko se koriste tabele, grafikoni, sheme ili fotografije koji su ranije već objavljeni, u naslovu navesti izvor i poslati potpisanu izjavu autora o saglasnosti za objavljivanje.

– Svi prilozi biće štampani u crno-belom tehnici. Ukoliko autori žele štampanje u boji potrebno je da snose troškove štampe.

7. Dodatne obaveze

Ukoliko autor i svi koautori nisu uplatili članarinu za Medicinski pregled, rad neće biti štampan. Radovi koji nisu napisani u skladu sa pravilima Medicinskog pregleda, neće biti razmatrani. Recenzija će biti obavljena najkasnije u roku od 6 nedelja od prijema rada. Uredništvo zadržava pravo da i pored pozitivne recenzije donese odluku o štampanju rada u skladu sa politikom Medicinskog pregleda. Za sva dodatna obaveštenja obratiti se tehničkom sekretaru:

Društvo lekara Vojvodine

Vase Stajića 9

21000 Novi Sad

Tel. 021/521 096; 063/81 33 875

E-mail: dlv@neobee.net

INFORMATION FOR AUTHORS

Medical review publishes papers from various fields of biomedicine intended for broad circles of doctors. The papers are published in Serbian language with an expanded summary in English language and contributions both in Serbian and English language, and selected papers are published in English language at full length with the summary in Serbian language. Papers coming from non-Serbian speaking regions are published in English language. The authors of the papers have to be Medical Review subscribers.

This journal publishes the following types of articles: editorials, original studies, preliminary reports, review articles, professional articles, case reports, articles from history of medicine and other types of publications.

1. Editorials – up to 5 pages – convey opinions or discussions on a subject relevant for the journal. Editorials are commonly written by one author by invitation.

2. Original studies – up to 12 pages – present the authors' own investigations and their interpretations. They should contain data which could be the basis to check the obtained results and reproduce the investigative procedure.

3. Review articles – up to 10 pages – provide a condensed, comprehensive and critical review of a problem on the basis of the published material being analyzed and discussed, reflecting the current situation in one area of research. Papers of this type will be accepted for publication provided that the authors confirm their expertise in the relevant area by citing at least 5 auto-citations.

4. Preliminary reports – up to 4 pages – contain scientific results of significant importance requiring urgent publishing; however, it need not provide detailed description for repeating the obtained results. It presents new scientific data without a detailed explanation of methods and results. It contains all parts of an original study in an abridged form.

5. Professional articles – up to 10 pages – examine or reproduce previous investigation and represent a valuable source of knowledge and adaption of original investigations for the needs of current science and practise.

6. Case reports – up to 6 pages – deal with rare casuistry from practise important for doctors in direct charge of patients and are similar to professional articles. They emphasize unusual characteristics and course of a disease, unexpected reactions to a therapy, application of new diagnostic procedures and describe a rare or new disease.

7. History of medicine – up to 10 pages – deals with history in the aim of providing continuity of medical and health care culture. They have the character of professional articles.

8. Other types of publications – The journal also publishes feuilletons, book reviews, extracts from foreign literature, reports from congresses and professional meetings, communications on activities of certain medical institutions, branches and sections, announcements of the Editorial Board, letters to the Editorial Board, novelties in medicine, questions and answers, professional and vocational news and In memoriam.

Preparation of the manuscript

The complete manuscript, including the text, all supplementary material and covering letter, is to be sent

– in electronic format to the address dlv@neobee.net

– the 2 printed copy to the address

Drustvo lekara Vojvodine, Srpskog lekarskog društva (Medicinski pregled), Vase Stajića 9, 21000 Novi Sad

The covering letter:

– It must contain the proof given by the author that the paper represents an original work, that it has neither been previously published in other journals nor is under consideration to be published in other journals.

– It must confirm that all the authors meet criteria set for the authorship of the paper, that they agree completely with the text and that there is no conflict of interest.

– It must state the type of the paper submitted (an original study, a review article, a preliminary report, a professional article, a case report, history of medicine)

The manuscript:

Use Microsoft Word for Windows to type the text. The text must be typed in font Times New Roman, page format A4, space 1.5 (for tables as well), borders of 2.5 cm and font size 12pt. The manuscript should contain the following elements:

1. The title page. The title page should contain a concise and clear title of the paper, without abbreviations, then a short title (up to 40 characters), full names and surnames of the authors (not more than 6) indexed by numbers corresponding to those given in the heading along with the full name and place of the institutions they work for. Contact information including the academic degree(s), full address, e-mail and number of phone or fax of the corresponding author (the author responsible for correspondence) are to be given at the bottom of this page.

2. Summary. The summary should contain up to 150 words, without abbreviations, with the precise review of problems, objectives, methods, important results and conclusions. It is to be followed by up to 10 Key Words from the list of Medical Subject Headings, MeSH of the American National Medical Library.

3. The expanded summary in English language. It should contain up to 250 words, be structured into paragraphs corresponding to those in the paper (for original studies, professional articles and preliminary reports it should have: introduction, material and methods, results, discussion and conclusion).

4. The text of the paper. The text of original studies must contain the following: introduction (with the clearly defined objective of the study), material and methods, results, discussion, conclusion, list of abbreviations (if used in the text) and not necessarily, the acknowledgment mentioning those who have helped in the investigation and preparation of the paper.

– The text of a case report should contain the following: introduction (with clearly defined objective of the study), case report, discussion and conclusion.

– The text should be written in the spirit of Serbian language, without unnecessary abbreviations, whose first mentioning must be explained by the full term they stand for. Abbreviations should not be used in the title, summary and conclusion. Only commonly accepted abbreviations (such as DNA, MRI, NMR, HIV...) should be used. The list of abbreviations used in the text, together with the explanation of their meaning, is to be submitted at the last page of the manuscript.

– All measurements should be reported in the metric system of the International System of Units – SI. Temperature should be expressed in Celsius degrees (°C) and pressure in mmHg.

– No names, initials or case history numbers should be given.

Introduction contains clearly defined problem dealt with in the study (its nature and importance), with

the relevant references and clearly defined objective of the investigation and hypothesis.

Material and methods should contain data on design of the study (prospective/retrospective, eligibility and exclusion criteria, duration, demographic data, follow-up period). Statistical methods applied should be clear and described in details.

Results give a detailed review of data obtained during the study. All tables, graphs, schemes and figures must be cited in the text and numbered consecutively in the order of their first citation in the text.

Discussion should be concise and clear, interpreting the basic findings of the study in comparison with the results of relevant studies published in international and national literature. It should be stated whether the hypothesis has been confirmed or denied. Merits and demerits of the study should be mentioned.

Conclusion must deny or confirm the attitude towards the problem mentioned in the introduction. Conclusions must be based solely on the author's own results, corroborating them. Avoid generalised and unnecessary conclusions. Conclusions in the text must be in accordance with those given in the summary.

5. References. References are to be given in the text under Arabic numerals in parentheses consecutively in the order of their first citation. Avoid a large number of citations in the text. The title of journals should be abbreviated according to the style used in Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>). Apply Vancouver Group's Criteria, which define the order of data and punctuation marks separating them. Examples of correct forms of references are given below. List all authors, but if the number exceeds six, give the names of six authors followed by 'et al'.

Articles in journals

** A standard article*

Ginsberg JS, Bates SM. Management of venous thromboembolism during pregnancy. *J Thromb Haemost* 2003;1:1435-42.

** An organisation as the author*

Diabetes Prevention Program Research Group. Hypertension, insulin, and proinsulin in participants with impaired glucose tolerance. *Hypertension* 2002;40(5):679-86.

** No author given*

21st century heart solution may have a sting in the tail. *BMJ*. 2002;325(7357):184.

** A volume with supplement*

Magni F, Rossoni G, Berti F. BN-52021 protects guinea pig from heart anaphylaxis. *Pharmacol Res Commun* 1988;20 Suppl 5:75-8.

** An issue with supplement*

Gardos G, Cole JO, Haskell D, Marby D, Pame SS, Moore P. The natural history of tardive dyskinesia. *J Clin Psychopharmacol* 1988;8(4 Suppl):31S-37S.

** A summary in a journal*

Fuhrman SA, Joiner KA. Binding of the third component of complement C3 by *Toxoplasma gondi* [abstract]. *Clin Res* 1987;35:475A.

Books and other monographs

** One or more authors*

Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical microbiology*. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

** Editor(s) as author(s)*

Danset J, Colombani J, eds. *Histocompatibility testing* 1972. Copenhagen: Munksgaard, 1973:12-8.

** A chapter in a book*

Weinstein L, Shwartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Soderman WA Jr, Soderman WA, eds. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*. Philadelphia: Saunders; 1974. p. 457-72.

** A conference paper*

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

** A dissertation and theses*

Borkowski MM. *Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans* [dissertation]. Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002.

Electronic material

** A journal article in electronic format*

Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 1 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htmArticle>

** Monographs in electronic format*

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

** A computer file*

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

6. Attachments (tables, graphs, schemes and photographs). The maximum number of attachments allowed is six!

– Tables, graphs, schemes and photographs are to be submitted as separate documents, on separate pages.

– Tables and graphs are to be prepared in the format compatible with Microsoft Word for Windows programme. Photographs are to be prepared in JPG, GIF, TIFF, EPS or similar format.

– Each attachment must be numbered by Arabic numerals consecutively in the order of their appearance in the text

– The title, text in tables, graphs, schemes and legends must be given in both Serbian and English language.

– Explain all non-standard abbreviations in footnotes using the following symbols *, †, ‡, §, ||, ¶, **, † †, ‡ ‡.

– State the type of colour used and microscope magnification in the legends of photomicrographs. Photomicrographs should have internal scale markers.

– If a table, graph, scheme or figure has been previously published, acknowledge the original source and submit written permission from the copyright holder to reproduce it.

– All attachments will be printed in black and white. If the authors wish to have the attachments in colour, they will have to pay additional cost.

7. Additional requirements

If the author and all co-authors have failed to pay the subscription for Medical Review, their paper will not be published.

Papers which have not met the criteria of Medical Review will not be taken into consideration. The Editorial review of the paper will be announced not later than six weeks after the submission of the paper. The Editorial Board reserves the right to make a decision regarding the publication of the paper according to the policy of Medical Review even if the review is positive. Contact the technical secretary for all additional information:

Društvo lekara Vojvodine

Vase Stajića 9

21000 Novi Sad

Tel. 021/521 096; 063/81 33 875

E-mail: dlv@neobee.net