

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 GALIĆ
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

Lektor za srpski jezik: Dragica Pantić
Lektor za engleski jezik: Jasminka Anojčić
Tehnički sekretar: Vesna Šaranović
Tehnička podrška: „Grafit“, Novi Sad

Izrada UDK i deskriptora: Biblioteka Medicinskog fakulteta, Novi Sad

MEDICINSKI PREGLED izlazi dvomesečno (šest dvobroja godišnje), u tiražu od 1000 primeraka. Akontacija pretplate za pojedince sa teritorije Srbije za 2013. 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**

MEDICAL REVIEW
JOURNAL OF THE SOCIETY OF PHYSICIANS OF VOJVODINA OF THE
MEDICAL SOCIETY OF SERBIA
THE FIRST ISSUE WAS PUBLISHED IN 1948

Editor-in-Chief Prof
LJILJA MIJATOV UKROPINA, MD, PhD

Assistants to the Editor-in-Chief
Assist. Prof BILJANA SRDIC GALIC, MD, PhD
Assist. Prof VLADIMIR PETROVIC, MD, PhD

EDITORIAL BOARD

President: Prof PETAR SLANKAMENAC, MD, PhD
Secretary: Prof VIKTOR TILL, MD, PhD

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

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

Proof-reading for Serbian Language: Dragica Pantić
Proof-reading for English Language: Jasminka Anojčić
Technical Secretary: Vesna Šaranović
Technical Support: "Grafit" Novi Sad

UDK and descriptor prepared by: the Library of the Faculty of Medicine, Novi Sad

MEDICAL REVIEW is published two-monthly (six double issues per a year) in the circulation of 1000 copies. Advance payment for individuals from the territory of Serbia for the year 2013 is 3,000.00 dinars (the VAT being calculated in) and 4,000.00 dinars for the individuals outside the territory of Serbia, and 8,000.00 dinars (+ the VAT) for the institutions. The payments are to be made to the account number 340-1861-70 or 115-13858-06, with the remark "Additional membership fee for the Medical Review".

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

**The manuscripts are to be submitted to the secretary of the
Editorial Board of the journal "Medical Review" to the following address:
Društvo lekara Vojvodine Srpskog lekarskog društva, 21000 Novi Sad, Vase Stajica 9,
Tel. 021/528-767; Tel/Fax. 021/521-096;
E-mail: dlv@neobee.net; Web: www.dlv.org.rs**

SADRŽAJ

UVODNIK

Dragan Katanić HUMANA BIOMETEOROLOGIJA.....	281-284
--	---------

ORIGINALNI NAUČNI RADOVI

Aleksandar Zlatić, Miroslav Stojanović, Dragan Mihailović, Biljana Radovanović Dinić, Mlađan Protić i Radovan Veljković ULOGA DUODENOGASTRIČNOG REFLUKSA U NASTANKU PREKANCEROZNIH LEZIJA ŽELUCA – EKSPERIMENTALNA STUDIJA.....	285-291
--	---------

Branka Čančarević Đajić i Rade Vilendečić DIJAGNOSTIČKA EFIKASNOST BIOFIZIČKIH TESTOVA I CEREBROUMBILIKALNOG INDEKSA U PROCENI OKSIGENACIJE PLODA.....	292-296
---	---------

PREGLEDNI ČLANCI

Danijela Vučević, Đorđe Radak, Ivan Milovanović, Tatjana Radosavljević i Dušan Mladenović PATOFIZIOLOŠKI MEHANIZMI ANGIOGENEZE U ATEROGENEZI.....	297-306
--	---------

Radmila Sparić, Biljana Lazović, Sanja Mazić, Marina Đelić i Aleksandar Argirović PERITONIZACIJA U GINEKOLOGIJI I AKUŠERSTVU – PREGLED LITERATURE.....	307-310
---	---------

STRUČNI ČLANCI

Aleksandar Redžek, Svetozar Nićin, Milovan Petrović, Lazar Velicki, Miodrag Golubović i Nada Čemerlić Adić POTREBE AUTONOMNE POKRAJINE VOJVODINE ZA UVOĐENJEM PROCEDURE PERKUTANE IMPLANTACIJE AORTNE VALVULE.....	311-316
---	---------

Nevenka Bujandrić i Mirjana Krga Milanović ZNAČAJ IMUNOHEMATOLOŠKOG TESTIRANJA U NEONATALNOM PERIODU.....	317-321
--	---------

Benjamin Nalić, Ivana Mijatov i Saša Mijatov EPIDEMIOLOGIJA PRELOMA DONJE VILICE PACIJENATA LEČENIH NA KLINICI ZA MAKSILOFACIJALNU I ORALNU HIRURGIJU KLINIČKOG CENTRA VOJVODINE.....	322-325
--	---------

Nenad Lalović, Radovan Cvijanović, Miloš Mališ, Marko Ilić, Mirjana Ćuk i Iva Nikolić HIRURŠKA ANATOMIJA POČETNOG SEGMENTA SPOLJAŠNJE KRUŽNE BUTNE ARTERIJE.....	326-330
---	---------

PRIKAZI SLUČAJEVA

Mirjana Krga Milanović, Nevenka Bujandrić i Nataša Milosavljević Knežević PROBLEM DAVALACA KRVI RETKIH KRVNIH GRUPA SA IREGULARNIM ANTITELIMA.....	331-334
---	---------

SEMINAR ZA LEKARE U PRAKSI

Predrag Avramov, Milena Avramov, Mirela Juković, Vuk Kadić i Viktor Till VIRTUELNA SIMULACIJA KAO MODEL UČENJA U INTERVENTNOJ RADIOLOGIJI.....	335-340
---	---------

CONTENTS

EDITORIAL

<i>Dragan Katanić</i> HUMAN BIOMETEOROLOGY.....	281-284
--	---------

ORIGINAL STUDIES

<i>Aleksandar Zlatic, Miroslav Stojanović, Dragan Mihailović, Biljana Radovanović Dinić, Mlađan Protić and Radovan Veljković</i> THE ROLE OF DUODENOGASTRIC REFLUX IN FORMATION OF PRECARCINOGENIC GASTRIC LESIONS - AN EXPERIMENTAL STUDY.....	285-291
--	---------

<i>Branka Čančarević Đajić and Rade Vilendečić</i> DIAGNOSTIC EFFICACY OF BIOPHYSICAL TESTS AND CEREBRAL-UMBILICAL INDEX WHEN ASSESSING FETAL OXYGENATION.....	292-296
---	---------

REVIEW ARTICLES

<i>Danijela Vučević, Đorđe Radak, Ivan Milovanović, Tatjana Radosavljević and Dušan Mladenović</i> PATHOPHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF ANGIOGENESIS IN ATHEROGENESIS.....	297-306
---	---------

<i>Radmila Sparić, Biljana Lazović, Sanja Mazić, Marina Đelić and Aleksandar Argirović</i> PERITONEALIZATION IN GYNECOLOGY AND OBSTETRICS – REVIEW OF LITERATURE.....	307-310
--	---------

PROFESSIONAL ARTICLES

<i>Aleksandar Redžek, Svetozar Nićin, Milovan Petrović, Lazar Velicki, Miodrag Golubović and Nada Čemerlić Ađić</i> NECESSITY FOR INTRODUCING THE PROCEDURE OF PERCUTANEOUS AORTIC VALVE IMPLANTATION IN THE PROVINCE OF VOJVODINA.....	311-316
--	---------

<i>Nevenka Bujandrić and Mirjana Krga Milanović</i> THE IMPORTANCE OF IMMUNOHEMATOLOGY TESTING IN THE NEONATAL PERIOD.....	317-321
---	---------

<i>Benjamin Nalić, Ivana Mijatov and Saša Mijatov</i> EPIDEMIOLOGY OF LOWER JAW FRACTURE IN PATIENTS TREATED AT THE DEPARTMENT OF MAXILLOFACIAL AND ORAL SURGERY OF THE CLINICAL CENTRE OF VOJVODINA.....	322-325
--	---------

<i>Nenad Lalović, Radovan Cvijanović, Miloš Mališ, Marko Ilić, Mirjana Čuk and Iva Nikolić</i> SURGICAL ANATOMY OF THE INITIAL SEGMENT OF THE LATERAL CIRCUMFLEX FEMORAL ARTERY.....	326-330
---	---------

CASE REPORTS

<i>Mirjana Krga Milanović, Nevenka Bujandrić and Nataša Milosavljević Knežević</i> RARE BLOOD DONORS WITH IRREGULAR ANTIBODIES.....	331-334
--	---------

SEMINAR FOR PHISICIANS

<i>Predrag Avramov, Milena Avramov, Mirela Juković, Vuk Kadić and Viktor Till</i> VIRTUAL SIMULATION AS A LEARNING METHOD IN INTERVENTIONAL RADIOLOGY.....	335-340
---	---------

SUTENT[®] kapsule
sunitinib malat

TAZOCIN^{IV}™
piperacilin/tazobaktam

Tygacil[®]
tigeciklin

IV/Oral
ZYVOX[®]
(linezolid)

AROMASIN[®]
eksemestan tablete

EFECTIN[®] ER
Venlafaksin

NEURONTIN[®]
gabapentin

Xanax[®]
alprazolam

Zoloft[®]
(sertralin)

ZELDOX[®]
(ziprasidon)

Detrusitol[®]
tolterodin tartrat

SERMION[®] 30
nicergolin

VIAGRA[®]
(sildenafil citrat)

Genotropin[®]
somatotropin (rbe)

Aricept Evess
donepezil

Aricept[®]
donepezil

CELEBREX[®]
(CELEKOKSIB)

Fragmin[®]
dalteparin natrijum

Sortis[®]
atorvastatin

NORVASC[®]
amlodipin besilat

Inspira[®]
eplerenon

IV/PO
VFEND[®]
vorikonazol

Conbriza[®]

LYRICA[®]
PREGABALIN

Xalatan[®]
latanoprost

Xalacom[®]
latanoprost/timolol maleate

Prevenar 13[®]
Pneumokokna polisaharidna konjugovana vakcina, adsorbovana

VIBRAMYCIN[®] D
doksiciklin

Pfizer

Radimo zajedno za zdraviji svet!

Pfizer

Pfizer H.C.P. Corporation, Predstavništvo Beograd
Trešnjinog cveta 1/VI, 11070 Novi Beograd
Tel. 011/ 3630 000 • Faks 011/ 3630 033

UVODNIK EDITORIAL

Faculty of Medicine Novi Sad
Institute for Children and Youth Health Care of Vojvodina, Novi Sad, Serbia

Uvodnik
Editorial
UDK 551.586:613

HUMAN BIOMETEOROLOGY

HUMANA BIOMETEOROLOGIJA

Dragan KATANIĆ

The knowledge of the effects of weather and other environmental factors on wildlife has long been present in the folk tradition. The low-flying swallows herald a storm because the insects, which are their food, stay close to the soil then to avoid being swept away by the storm. It is known that disturbed electromagnetic field of the Earth disorients pigeons to find their way home, the bees may remain outside the hive, and the horses refuse to enter the closed area about five days before the earthquake. In these days, the newspapers publish an increased number of ads for lost pets (dogs) that roam around disoriented [1,2].

Changes in mood, behavior and numerous health problems in humans precede a change of the environmental factors (weather, full moon, earthquakes, solar storms) [3-5]. Prior to extreme weather changes (the rapid oscillations of atmospheric pressure over 20 millibars for 24 hours), almost everyone feels them and respond to them, while moderate weather changes (arrival of rain, snow, clouds) affect the chronically ill, children, the elderly and 30% of otherwise healthy and working age population [6-8]. Therefore, studies in biometeorology began seriously in the middle of the twentieth century for the military purposes and they became especially significant due to the global warming of the planet, which has led to more frequent weather changes since more water vapor is present in the atmosphere (enhanced water cycle).

Climate and weather are two distinctly separate terms. Climate is the average condition of the weather over a given area for a long period. Weather changes rapidly and it is studied within meteorology, while the climate changes more slowly and it is analyzed within climatology and paleoclimatology. Unlike biometeorology, which observes the influence of weather, the full moon, earthquakes and solar storms on humans and wildlife, bioclimatology studies global climate changes and their impact on the population (ecology, agriculture, problems with drinking water, epidemics).

The first scientific papers in the field of biometeorology were published around 1930, but the most significant ones appeared later and described the meteoropathic winds, causing a sharp increase in the number of hospital admissions or emergency calls [9,10]. They all blow over ionizing surface and change atmospheric electricity (air ions). Thus, the Sharav wind, blowing over the desert sand in Israel, brings severe migraines and high blood pressure in sensitive people. The Föhn, warm wind from the Alps, which blows across the snow, contributes to the shifts in psychological sphere and leads to the epidemic of suicides in Northern Italy. The Santa Ana winds blow across the desert in the United States of America (USA) causing the feeling of misery and migraines among the population of the big cities of California. Mediterranean wind Sirocco, blowing over the crests of the waves, causes irritability and aggression; it is known that in the old Republic of Dubrovnik, the criminals were punished less severely if the crime was committed when this wind was blowing.

In further studies, conducted mainly in two great world biometeorology centers (the USA and the Netherlands) the mechanism of meteoropathic interference was discovered. The approaching weather change is associated with changes in atmospheric electricity and increased level of positive ions in our part of the aerosphere (troposphere) from 1.2 to 1.3 [11,12]. Ionization occurs when the wind blows across the sand, snow or waves. When we breathe in the air with the increased concentration of positive ions, which gets into contact with the platelets in peribronchial tissue, the hormone serotonin is released. This hormone was named "serotonin" because it was first isolated from serum and due to its narrowing and tonizing effect on bronchi and blood vessels [13]. Serotonin is produced in the brain cells (neurons) and in the bowel wall (argentaffine cells) and it is deposited in the

Abbreviations

USA	– United States of America
POMC	– proopiomelanocortin
ADH	– anti-diuretic hormone

platelets (thrombocytes). Serotonin does not cross the blood-brain barrier (however, its precursor tryptophan does), and it should be in the optimal concentration, otherwise, a reduction leads to depression, while the high level generates serotonin syndrome in meteoropathic persons or in those with overdose of antidepressants (monoamine oxidase inhibitors).

By contracting the small smooth muscles in the walls of blood vessels and bronchi, serotonin increases blood pressure (causing palpitations, tremor, and migraines) and narrows the airways (producing an asthmatic crisis), thus increasing the number of hospital admissions of children with asthmatic bronchitis before it starts raining or snowing [14].

The effect of the imminent weather change is reflected in the increased intestinal motility and a higher number of miscarriages due to uterine contractions.

The basic weather parameters are atmospheric (barometric) pressure, temperature and humidity, the most important being the atmospheric pressure because it is the same outdoors and indoors and its extreme fluctuations contribute to the health complaints. Thus the advice in bioprognosis to stay indoors is obsolete - it is appropriate for chronic heart patients in temperature extremes only - the blood vessels constrict, blood pressure rises and the heart muscle is more under strain in cold weather and the blood vessels are wider and the myocardium is also strained in order to fill the volume in hot weather. Similarly, cold weather (due to narrowing of blood vessels) and warm weather (the slow flow) contribute to a higher incidence of thrombosis. The increased air humidity before rain decreases the atmospheric pressure (because water vapor is lighter than air), which provokes crisis in children and adults suffering from asthma. This happens for three reasons: (1) elevated serotonin constricts the airways by contracting the smooth muscles of bronchi, (2) water molecules in the air reduce the partial pressure of oxygen, and (3) lower atmospheric pressure allows inhalation allergens to uplift from the ground to the nose level.

The fourth important weather parameter is the ionization of air. The first one to talk about this was Benjamin Franklin (his experiment with the kite). A change in air molecule ionization occurs prior to the arrival of cyclonic activity, before the earthquake and during solar storms and the full moon [15].

Hypertensive crises associated with sudden changes in environmental factors occur due to the high levels of serotonin, which narrow the arterial blood vessels by twitching their myocytes (producing vasospasm). In addition, they are also caused by fluid retention before the hypertensive crisis

and migraine, which is manifested by increased thirst and fluid intake and puffy eye lids before crisis and profuse urination on the cessation of migraine attacks or after taking serotonin antagonists triptans.

The above mentioned corroborates the fact that serotonin, being an essential neurotransmitter important for the synthesis of stress hormone proopiomelanocortin (POMC), increases the production of anti-diuretic hormone (ADH). Although ADH receptor antagonists (vaptans) are getting increasing attention, triptans (serotonin 5-HT_{1B} and 5-HT_{1D} receptor agonists) are more important drugs for migraine, and in this way, they confirm the serotonergic mechanism of migraine crisis [16].

By definition, stress means adapting to new conditions. Thus, excluding the other known causes, a weather change (weather stress), full moon, imminent earthquakes and solar storms lead to increased secretion of POMC and adrenocorticotrophic hormone (ACTH), resulting in elevated cortisol levels and hyperglycemia in diabetics.

Questionnaires conducted through media often contain inappropriate questions such as "Are you bothered by rain?" This question is wrong because the symptoms appear before the weather changes due to the positive air ions and the symptoms gradually disappear with the first drops of rain and the arrival and inhalation of negative ions that stimulate monoamine oxidase, which breaks down serotonin. Making bioprognosis only on the basis of weather forecast, full moon phases and solar storms may mislead the patients because it is difficult to predict one important factor: strong earthquakes (magnitude exceeding 5 degrees of Mercalli scale) anywhere in the world or weak earthquakes in the region.

Due to the lowland terrain, the population of Vojvodina (the province on the north of Serbia) is exposed to frequent weather changes, especially in January-February and August-September. During these periods, the population usually requires higher doses of common antihypertensive drugs. Improvements of health condition felt during the stay at seaside resorts are mainly related to stable weather in the area and increased ionization of air due to the mechanical energy of waves (increased air ionization occurs in the vicinity of waterfalls and fountains, and under an intense shower, which is, therefore, often accompanied by good humor and singing). In these surroundings, the positive (bad) ions (being lighter than the negative ones) go to the upper layers, while the negative (good) ions remain in our environment. When meteoropathic winds blow toward the populated area, the first to arrive to a settlement are the positive ions followed by the negative ones.

Migraines are usually experienced by persons with weak connective tissue (laxity, hypermobility), and they are easily recognized by the bluish sclera, back pain, varicose veins, elastic joints, mitral valve

prolapse, easy bruising, folded gall bladder, gallstones as well as heavy periods and fibrocystic dysplasia of breasts in women. The vessels of these people, because of weakness of elastin fibres in their wall, are usually wide and therefore they have lower blood pressure (105/70 mm Hg), which suits them. A rapid increase in blood pressure to the so-called "normal" values of 120/80 mm Hg (or more) occurs before the weather change, the earthquake, during the full moon phase and solar storms, due to narrowing of the diameter of blood vessels (and fluid retention). The manifestations of this increase in blood pressure are cold hands and legs, neck tension, headaches in the temporal area, pain in the eyeballs, often with palpitation (up to paroxysmal tachycardia), chills and nausea. Many people mistake these manifestations for the manifestations of low blood pressure and consume caffeinated beverages. In consultation with their physicians, they should take a common antihypertensive drug or serotonin antagonist (triptans).

The classic sign of meteoropathy is pain in rheumatic joints, which can easily be explained by the fact that serotonin itself is a painful substance when given by injection. Therefore, the imminent weather change with the high levels of serotonin will cause pain in the previously damaged tissues - rheumatic joints, scars, burns, varicose veins and old fractures.

Health complaints of meteoropathic people are polymorphic and it is not surprising that a meteoropathic person is unfairly considered a malingerer or declared a mentally unstable person and usually treated with tranquilizers. Poorly educated doctors tend to consider biometeorology as a part of alternative medicine or homeopathy, which is completely wrong.

The full moon has a significant influence on wildlife. Marine fish spawn only during the full moon and they are later moved by a tidal wave to new living spaces. Sea turtles return to the place where they were born and lay their eggs there during the full moon nights. Corals multiply in the days of the full moon. In humans, the full moon period is characterized by fluid retention in the body, which is manifested by blood pressure elevation, insomnia, irritability, migraine, seizures as well as high rates of heart failure, stroke and suicides.

Prior to large tectonic earthquakes (far away or in proximity), pressure and friction of continental plates produce piezoelectricity and disturb electromagnetic field of the Earth, leading to the increased blood pressure, insomnia, tremor, itching and confusion in sensitive people [17]. The perception of the imminent earthquake saved many animals (elephants) from catastrophic tsunami in Indonesia in 2004 because they escaped to higher grounds in time driven by their instincts. Since the rudimentary biological alarms and meteoropathic complaints were not taken seriously, 250,000 people were killed on that occasion.

Meteoropathic people react 24h hours before rain or snow (sometimes 12-48 hours, depending on the speed of the weather front) and their health problems are not so much related to the actual weather seen through the window, but to one that will come the next day, which means that meteoropathic people are more sensitive than the barometer [18]. A common mistake found in some scientific papers and books is to compare the current weather parameters and health complaints. Health problems occur about 12 hours before an earthquake, during solar storms, and usually four days before the full moon. It is understood that the effect will be more pronounced when multiple environmental factors are associated.

Serotonin is an evolutionarily oldest neurotransmitter (chemical messenger between neurons) and it is found even in amoeba. It takes part in allergic response (in addition to histamine and other substances), so allergies are more pronounced before the storm. In people with schizophrenia, its level in cerebrospinal fluid is usually elevated and tend to get higher before the weather changes (rain, clouds, snow), thus worsening their condition. During the full moon, aggressive behavior and the number of crimes are on the rise; so, there are more police officers in the streets of London these days. Furthermore, arguments and fights break out easily on board a public transport vehicle during the full moon. Elevation of serotonin levels prior to a change of environmental factors enhances cravings for food and sex, therefore; rape, other criminal offences and traffic accidents are very frequent. Teleologically and evolutionarily, it is not surprising that human and animal populations register the approaching changes of environmental factors through appropriate receptors and feel them as an alarm for proper action – thus avoiding dangerous regions and situation in time, providing food supplies and finding sexual partners because disasters could last for days or months (e.g. monsoons).

Meteoropathy, like laxity (weak collagen and elastin) is dominantly inherited. By keeping diary of their condition and analyzing meteorological phenomena over 2-3 months, people can tell whether they are meteoropathic. Patients with chronic meteoropathic diseases (spastic-obstructive bronchitis, asthma, hypertension, migraine, epilepsy, rheumatic pain, recurrent urticaria) are neither labile personalities nor malingerers, but people with weak connective tissue (laxity, hypermobility) who register a sudden change of environmental factors and they should have a barometer and sphygmomanometer at home.

It is clear that cosmic forces, such as electricity, magnetism and gravity, significantly affect the human population. We perceive our surrounding by the pineal gland (which is a photosensitive body, important for day-night cycle), rhinencephalon (which registers changes in atmospheric electricity and pheromones) and crystals of mag-

netite in the hypothalamus (perceptions of change in the Earth's magnetic field). The common denominator of these senses is serotonin and its de-

rivatives (melatonin). All of the above suggests that the humankind is just a part of nature and subject to the laws of nature.

References

1. Katanić D, Vlaški J. Human biometeorology. Teaching climate change and the United Nations System- 2nd CEE/SEE regional colloquium: uvodno predavanje po pozivu. Ljubljana-Beograd; 2010.
 2. Katanić D. Biometeorology in aging. Biotechnology of cell regulation: abstract book. Siena, Italy: University of Siena; 1991. p. 43.
 3. Katanić D, Jovanović J, Trajković S. Promena barometarskog pritiska: precipitirajući faktor za napad opstruktivnog bronhitisa. *Acta Med Median* 1990;5:79-82.
 4. Jovanović S, Katanić D, Selaković-Buršić S. Serotonin u psihoneuroendokrinologiji. Prvi kongres pedijatar SR Jugoslavije sa međunarodnim učešćem: zbornik radova. Niš: Udruženje pedijatar SR Jugoslavije; 1994.
 5. Katanić D. Nasledljivost meteorosenzitivnosti. 7th international pediatric congress with international participation. Struga: Macedonian Pedijatrisians; 1994.
 6. Katanić D, Babić Lj. Growth hormone in the weather-stress. Growth hormone research society conference. London: GHRS; 1996.
 7. Katanić D, Gebauer E. Krvarenje kod hemofilije u funkciji meteoroloških promena i svetlu tkivnih hormona. *Med Pregl* 1990;43(5-6):218-20.
 8. Gebauer E, Katanić D. Bleeding in haemophilia dependent upon meteorological phenomena and tissue hormones. XIX international congress of the world federation of haemophilia: abstract book. Washington: World Federation of Haemophilia; 1990. p. 42.
 9. Katanić D, Gebauer E. Biometeorology and platelets. XI meeting of the international society of haematology: European and African division. Basel: ESH; 1991.
 10. Katanić D. Biometeorologija (serija od 4 emisije: 00-04h). Arhiva noćnog programa Radio Novog Sada (voditelj Ljiljana Živković). Novi Sad: Radio Novi Sad; 1987.
 11. Katanić D. Specijalni gost emisije Promenada: Biometeorologija. Novi SAd; TV Novi Sad; 1997.
 12. Katanić D, Kanazir V. Primena biojonizatora u jedinici intenzivne nege i terapije. Zbornik radova VI jugoslovenskog seminara o intenzivnoj terapiji i nezi deteta. Ljubljana: Univerzitet u Ljubljani; 1990.
 13. Katanić D, Vlaški J, Vuković D. Prolaktin u vremenskom stresu. X Pedijatrijski dani Vojvodine.: zbornik sažetaka. Novi Sad: Medicinski fakultet; 1992. ab 7.7.
 14. Katanić D, Crnomarković J. Biometeorologija u dijabetologiji. Zbornik radova Jugoslovenskih pedijatrijskih dana, Niš, 1993.
 15. Katanić D, Babić Lj. Prolaktin i kortizol u stresu uslovljenom meteorološkim promenama. V kongres endokrinologa Jugoslavije: zbornik sažetaka. Beograd: Udruženje endokrinologa Jugoslavije; 1993.
 16. Katanić D, Savić K, Stevanović S, Stevanović V. Biometeorologija i endokrinologija u medicinskoj rehabilitaciji. *Acta Med Median* 1991;30(7-8):55-9.
 17. Savić K, Katanić D, Nedeljković M. Meteorotropizam u dece sa cerebralnom paralizom. *Med Pregl* 1998;51(3-4):124-6.
 18. Katanić D, Vuković D. The weather stress. International congress "stress and stress related disorders." Modena, Italy: Parthenon Pub Group; 1990. p. 165.
- Rad je primljen 27. V 2013.
 Prihvaćen za štampu 27. V 2013.
 BIBLID.0025-8105:(2013):LXVI:7-8:281-284.

ORIGINALNI NAUČNI RADOVI ORIGINAL STUDIES

Clinical Centre Niš, General Surgery Clinic¹
University of Niš, Medical faculty²
Clinical Centre Niš, Institute for Pathology³
Gastroenterology and Hepatology Clinic⁴
Clinical Centre of Vojvodina, Novi Sad
Department for Abdominal, Endocrinal and Transplantation Surgery⁵
University of Novi Sad, Medical Faculty⁶

Originalni naučni rad
Original study
UDK 616.33-008-06
DOI: 10.2298/MPNS1308285Z

THE ROLE OF DUODENOGASTRIC REFLUX IN FORMATION OF PRECARCINOGENIC GASTRIC LESIONS - AN EXPERIMENTAL STUDY

ULOGA DUODENOGASTRIČNOG REFLUKSA U NASTANKU PREKANCEROZNIH LEZIJA ŽELUCA
– EKSPERIMENTALNA STUDIJA

Aleksandar ZLATIĆ^{1,2}, Miroslav STOJANOVIĆ^{1,2}, Dragan MIHAILOVIĆ^{2,3},
Biljana RADOVANOVIĆ DINIĆ^{2,4}, Mladan PROTIĆ^{5,6} i Radovan VELJKOVIĆ^{5,6}

Summary

Introduction. Duodenogastric reflux, commonly encountered as an aftermath of gastroenteroanastomosis, with or without gastric resection (*Billroth I*, *Billroth II*), vagotomy and pyloroplastic surgery, is known to cause inflammatory-dystrophic-metaplastic lesions of gastric mucosa. Our objective was to determine the effects of surgery-induced duodenogastric reflux on the development of precarcinogenic lesions or carcinoma in correlation with the reflux duration. **Material and Methods.** The experiment was performed on three groups of *Wistar* rats with 1) *Billroth II*-induced reflux surgery, 2) resection of the *Roux-en-Y* type reconstruction, and 3) control group with no resection. The aim of the experiment was to study the effects of duodenogastric reflux on the rat gastric mucosa in correlation with two different types of gastroenteroanastomosis 8, 16 and 24 weeks after the surgery. **Results.** In *Billroth II* group, hyperplastic changes were observed as early as in week 16. Statistically significant results were recorded in week 24, with 6.7% of metaplastic alterations, including dysplasia of all three degrees, dominantly severe dysplasia in 66.67%, early carcinoma in 20% and gastric carcinoma in 6.67%. In the *Roux-en-Y* group, gastric mucosa remained predominantly normal (60%), with somewhat increased frequency of gastritis and dysplasia in week 24. In the control group, the finding of normal gastric mucosa was constant. **Conclusion.** The experiment confirms that direct contact of duodenal juice with gastric mucosa associated with *Billroth II* resection causes precarcinogenic lesions. Development of adenocarcinoma caused solely by duodenogastric reflux, excluding a carcinogenic agent is possible 20 weeks after the experiment – earlier than suggested by previous researchers.

Key words: Duodenogastric Reflux; Precancerous Conditions; Gastric Mucosa; Gastritis; Stomach Neoplasms; Gastric Juice; Surgical Procedures, Operative; Adenocarcinoma; Rats, *Wistar*

Sažetak

Uvod. Poznato je da duodenogastrični refluks, koji se često javlja kao posledica gastroenteroanastomoze, sa resekcijom želuca ili bez nje (*Billroth I*, *Billroth II*), vagotomije ili piloroplastike, izaziva inflamatorno-distrofične-metaplastičke lezije gastrične mukoze. Cilj istraživanja bio je da se utvrde efekti postoperativnog duodenogastričnog refluksa na razvoj prekancerogenih lezija ili karcinoma, u korelaciji sa trajanjem refluksa. **Materijal i metode.** Eksperiment je obavljen na tri grupe *Wistar* pacova: 1) grupa u kojoj je refluks izazvan operativnim zahvatom *Billroth II*, 2) grupa sa resekcijom tipa *Roux-en-Y* i 3) kontrolna grupa, bez ikakve resekcije. **Cilj.** Razmatrani su efekti duodenogastričnog refluksa na gastričnu mukozu pacova, u korelaciji sa dva različita tipa gastroenteroanastomoze, 8, 16. i 24. nedelje posle operativnog zahvata. **Rezultati:** Kod *Billroth II* grupe, hiperplastične promene uočene su već u 16. nedelji. Statistički značajni rezultati dobijeni su u 24. nedelji, uključujući 6,7% metaplazija, displazija sva tri stepena; dominantno jake displazije – 66,7%; pojavu ranog karcinoma – 20% i karcinoma u 6,67% slučajeva. Kod *Roux-en-Y* grupe, gastrična mukozna je bila normalna u 60% slučajeva, sa nešto učestalijom pojavom gastritisa i displazije u 24. nedelji. Normalan nalaz kontrolne grupe bio je konstantan. **Zaključak.** Eksperiment potvrđuje da direktan kontakt duodenalnog soka sa gastričnom mukozom, usled *Billroth II* resekcije, izaziva prekancerogene lezije. Pojava adenokarcinoma izazvanog isključivo duodenalnim refluksom, bez kancerogenog agensa, moguća je u 20. nedelji eksperimenta – ranije nego što to navode prethodni istraživači.

Ključne reči: Duodenogastrični refluks; Prekancerозна stanja; Gastrična mukozna; Gastritis; Karcinomi želuca; Želudačni sok; Operativne hirurške procedure; Adenokarcinom; *Wistar* pacovi

Abbreviations

DGR	– duodenogastric reflux
EGR	– enterogastric reflux
B I	– Billroth I
B II	– Billroth II

Introduction

Since the first reports of duodenogastric reflux (DGR) 200 years ago, doctors have been intrigued with its potential role in the development of upper gastrointestinal tract disorders. Postresection syndromes include the long-recognized Dumping syndrome, efferent limb syndrome, "small stomach" syndrome, poor absorption syndrome and, lately, a particular nosological entity recognized as post-surgical reflux gastritis and slow stomach discharge [1]. Duodenogastric reflux, enterogastric reflux (EGR), bile reflux or alkaline reflux post-resection gastritis are all synonyms for a phenomenon that can be described as the "reflux of duodenal content through non-competent pyloric valvula, from duodenum to stomach, i.e., from duodenum and small intestines, through anastomosis, to stomach". Duodenogastric reflux is commonly encountered as an aftermath of gastroenteroanastomosis with or without gastric resection (Billroth I, Billroth II), vagotomy and pyloroplasty surgery, gastroduodenostomy, but also in non-operated patients. Billroth II (B II) resection type gastroenteroanastomosis and pylorus removal in Billroth I (B I) resection create conditions for constant duodeno-biliary-pancreatic juice reflux to the stomach, which cause inflammatory-dystrophic-metaplastic lesions of gastric mucosa consequently damaging its physiological functions and creating conditions for the development of some other diseases [2].

Considering these findings, our objective was to determine the effects of DGR following various types of gastroenteroanastomosis on the development of precarcinogenic lesions, or carcinoma, in correlation with the duration of such condition.

Material and Methods

The experiment was conducted at the Institute for Experimental Medicine of the Medical School, University of Niš, Serbia. The experiment included 90 experimental rats – male, Wistar species, their average weight being 225 grams (ranging from 130 to 320 grams), and the average age 8.5 weeks, obtained from the Medical School Niš Vivarium. The experimental study design involved two experimental groups and one control group. Each group was comprised of 30 animals. Three subgroups of 5, 10 and 15 animals were formed within each of the three groups, depending on when they were sacrificed (week 8, 16 and 24 after the surgery, respectively).

In order to trigger chronic duodenal reflux, the first experimental group was subjected to B II sur-

gery; the second one included the secretory stomach resection with Roux-en-Y reconstruction, while the third one, i.e. the control group was not subjected to any surgery. Ketamine hydrochloride was used as an anesthetic (Ketamidol 10%, Richter Pharma ag, Wels, Austria), administered pre-operatively in the doses of 0.1 ml per 100g/weight intraperitoneally. Anastomoses were performed by extramucosal stitches with adequately thick, monofilament sutures (Prolen, Ethicon®-7-0, 8-0). Following the surgical procedures, the animals were placed separately into adequately prepared cages. Each animal started to receive 5%-glucose, tap water and physiological solution in the ratio 1:1:1 twelve hours after the intervention; whereas soft food was induced 48 hours after the intervention. After 4 days, the animals were moved back to group cages for the rest of the experimental period. The control group received food and tap water only throughout the experiment.

The animals were sacrificed by administration of diethyl ether overdose. The stomach was then resected along the small pyloric curve from the pylorus to the cardia, and rinsed with the physiological solution. The materials were processed pathohistologically at the Institute for Pathology of the Clinical Centre, Niš. Fixed stomachs were cut into stripes (the average width being 2 mm) from the predefined regions and wherever pathological changes could be observed macroscopically. 45 µm (micrometre) paraffin sections were stained by the following methods: 1) Classic Hematoxylin and eosin stain method (HE), 2) Histochemical methods: a) Alcian Blue - Periodic acid Schiff (AB-PAS), Ph 2.5 - for mucosal (intestinal and pyloric metaplasia, dysplasia and carcinoma verification, b) Van Gieson – for collagen fiber, i.e., atrophic gastritis and scirrhous carcinoma variants (desmoplastic reaction).

Due to a large number of precarcinogenic lesions, pathohistological types and subtypes, and considering evident discrepancies between the Japanese pathologists' classification on one side and European and American pathologists on the other side, we decided to apply the lesion classification defined by V. Katić [3].

Statistical Processing

The obtained results were analysed and statistically processed by a descriptive statistics method and by applying the relevant statistical significance tests, illustrated in tables or graphically. The database was created in Microsoft Office Excel 2007, and SPSS programme, version 12.0 (Statistical Package for Social Sciences) was used for statistical processing. All statistical tests were considered passed if the probability of null hypothesis was equal to or smaller than 5%. Data were processed by: Pearson's χ^2 -test (chi-square test), Fisher-Freeman-Halton test (Fisher's exact test), Single-factor analysis of variance (ANOVA), including Brown-Forsythe correction, Tukey HSD test.

Results

In correlation of experimental groups with time, hyperplastic changes were proved in 80% of the cases, and gastritis in 20% of the cases in B II group. At week 16, the observed changes included hyperplasia in 30%, gastritis in 20% and dysplastic changes of dominantly mild type in 20% of the cases. At week 24, all three degrees of dysplasia were found, whereas severe dysplasia was the most dominant (66.67%), but the incidence of early carcinoma (20%) and carcinoma (6.67%) was surprisingly high considering the short duration of the experiment (**Table 1**). χ^2 -test has shown a statistically significant correlation between the pathohistological finding in the Billroth resection groups in all three time intervals ($p < 0.001$).

The additional analyses showed statistically significant differences between the group observed for 24 weeks and the two other groups, $p < 0.001$, $p = 0.011$. However, the 8- and 16-week groups did not show any statistically significant difference, $p = 0.336$. In Roux-en-Y group, the findings were similar in all three observed periods – normal gastric mucosa was proved in 60% of the animals; gastritis and hyperplasia in 20% each, resulting most probably from the surgical intervention (**Table 1**).

Pearson's test did not show any statistically significant correlations between the pathohistological findings in the sub-groups with Roux-en-Y reconstruction, in any of the three observed periods, $p = 0.983$. In the control group, the independence test did not show any significant statistical data among pathohistological findings in the non-operated group in any of the observed periods – a constant pathohistological finding was expected.

In the experimental groups, the test showed a statistically significant correlation between the observed periods and the pathohistological findings: $p = 0.01$; $p < 0.001$; $p < 0.001$ for 8, 16 and 24 weeks, respectively.

In terms of correlation of experimental groups with the type of operation, in B II group, where duodenogastric reflux was expected, 80% of hyperplastic changes and 20% of gastritis were found after 8 weeks. On the other hand, in Roux-en-Y group normal gastric mucosa was found in 60%, while hyperplasia and parastomal gastritis were found in 20% each after 8 weeks. Finally, no pathohistological changes of the gastric mucosa were observed in the control group 8 weeks after the experiment had been initiated (**Table 2**). Additional analyses among 8-week groups showed a statistically significant correlation between the pathohistological findings in the B II and control group: $p = 0.008$. No statistically significant correlation was found between the B II and control groups on one side and Roux-en-Y on the other side $p = 0.167$, $p = 0.444$. Sixteen weeks after DGR influence, a shift from precancerous lesions to more severe forms was recorded in B II group, resulting in 30% of hyperplasia, 20% gastritis, 20%

metaplasia and as much as 30% of mild or moderate dysplasia cases.

In Roux-en-Y group, no significant changes could be recorded after 8 weeks, i.e. the findings included normal mucosa in 50%, hyperplasia in 30% and gastritis in 20% of the cases as well as at the stomal ridge. As expected, no pathohistological changes were recorded in the control group (**Table 2**) 16 weeks after the experiment, the additional analyses suggest a statistically significant correlation of pathohistological findings among all groups $p = 0.033$, $p < 0.001$, $p = 0.033$.

Twenty-four weeks after inducing DGR into the gastric stump mucosa by B II intervention, significant differences were observed in the pathohistological finding. The finding of metaplasia was present in 6.7%, dysplasia in 66.7%, early gastric carcinoma in 20% and gastric adenocarcinoma in 6.7%. In Roux-en-Y group mucosa was also normal in 60%; hyperplasia was found in 20% and gastritis in 20%. All animals in the control group had a normal pathohistological finding (**Table 2**). In the groups observed for 24 weeks, the additional analyses indicated a statistically significant correlation of the pathohistological findings among all three groups: $p < 0.001$, $p < 0.001$, $p = 0.017$. The animals did not develop carcinoma in any of these regions 10 weeks after the beginning of the experiment. A high incidence of mild atypical hyperplasia (62.5%) was observed around anastomosis A. Erosions of superficial mucosa and penetration of glandular cysts into submucosa was also observed. A half (50%) of mild hyperplasia cases associated with anastomosis A and B were accompanied by ulcer.

In week 20, adenocarcinoma, in association with anastomosis A, was microscopically identified in 18.8% of the rats. Adenocarcinoma was diagnosed in 12.5% of the rats in association with anastomosis B. The 40-week group showed a significantly higher incidence of carcinoma (34.4%) associated with anastomosis A compared to anastomosis B (6.3%) ($P < 0.05$).

Discussion

Duodenogastric reflux is one of several identified risk factors for gastric carcinogenesis [4]. Other risk factors include *Helicobacter pylori* infection and smoking [5,6], which also increase DGR [7,8]. Increased levels of gastric acid have been intensely studied in relation to atrophic gastritis, intestinal metaplasia and dysplasia [9,10]. The experiments performed on rats confirm that DGR causes gastric carcinoma even without any additional exogenous carcinogens [11]. However, increased gastric levels of N-nitrous compounds in patients with gastric resection suggest that DGR contributes to nitrite transformation into potentially carcinogenous substances [12]. The effects of DGR on gastric carcinogenesis have been studied predom-

Table 1. Comparative analysis of pathohistological findings with regard to time
Tabela 1. Usporedna vremenska analiza patohistoloških nalaza

Type of surgery/Vrsta hirurgije	Time (weeks) Vreme (nedelja)	Pathohistological finding/Patohistološki nalaz						Total/Ukupno
		0	1	2	3	4	5	
BII	8		4 80%	1 20%				5 100%
	16		3 30%	2 20%	2 20%	3 30%		10 100%
	24				1 6.7%	10 66.7%	3 20%	1 6.7%
Roux-en-Y	8	3 60%	1 20%	1 20%				5 100%
	16	5 50%	3 30%	2 20%				10 100%
	24	9 60%	3 20%	3 20%				15 100%
Control Kontrola	8	5 100%						5 100%
	16	10 100%						10 100%
	24	15 100%						15 100%

Legend: Pathohistological findings: 0 - Normal mucosa, 1 - Hyperplasia, 2 - Gastritis, 3- Metaplasia, 4 - Dysplasia, 5 - Early carcinoma, 6 - Carcinoma

Legenda: Patohistološki nalaz 0 - Normalna mukoza, 1 - Hiperplazija, 2 - Gastritis, 3- Metaplazija, 4 - Displazija, 5 - Rani karcinom, 6 - Karcinom

inantly on animal stomach corpus, with resected antrum [13-15]. Reports on DGR role in antrum carcinogenesis are, therefore, rare [11,16]. It is not entirely clear how these alterations of mucosa, induced by DGR, lead to carcinoma. In humans infected by *Helicobacter pylori*, DGR causes reactive gastritis and increases intestinal metaplasia [9]. In experiments with animals, DGR induces mucosal corpus changes prior to carcinoma development or around the carcinoma-affected site. These changes include a loss of specific cells, hyperplasia of mucosal elements, adenocystic glandular proliferation, erosions and ulcer [17,18]. In addition, DGR enhances cell proliferation, extends cell cycle time and S-phase in corpus mucosa [19].

Among the numerous factors (e.g., hypochlorhydria, excessive growth of bacteria, hypogastriaemia and duodenogastric reflux), which contribute to the development of gastric stump carcinoma, long-term exposure of gastric mucosa to bile and pancreatic juice is singled out as a strong factor since stump carcinomas are frequently encountered on anastomosis. B II anastomosis is affected by greater reflux than that of B I [20-22]. Based on the previous research, as well as the assumption that B II is a reflux surgery, we decided to focus solely on the role of duodenogastric reflux in that group (along the 8, 16 and 24 weeks' timeline) without adding any carcinogens. Such results confirm a significant role of duodenogastric reflux in the formation of precarcinogenic

gastric lesions. We have further studied the process of carcinogenesis induced by DGR.

Biliary acids affect the gastric mucosa resulting in backward diffusion of H ions through the mucosa, which makes it easier for potential carcinogens to penetrate through the mucosal barrier towards the mucosal stem cells, where their effects are exerted [23,24]. In normal conditions, gastric content is sterile; however, duodenal juice reflux and decreased acid secretion can lead to bacteria colonization in the stomach. There is a solid correlation between the pathohistological findings between DGR quantity, gastric juice pH and the duration of contamination [25]. Higher pH values, nitrite levels and the number of bacteria with nitrate-reductase were found in patients after B II, compared to B I.

Takamiya et al. have reported on the results of an experimental study on rats, where the rats, which were subjected to BII gastrectomy, developed gastric stump carcinoma without any additional exposure to carcinogens [26]. This result was also supported by a couple of other studies and has been widely acknowledged. Such tumors, usually adenocarcinoma, occur at the gastrojejunal sites and are accompanied by pathohistological findings, including pseudo pyloric metaplasia, adenocystic changes and adenoma [19,27-29]. Atrophic gastritis, intestinal metaplasia, cystic glandular dilatation and foveolar hyperplasia are frequently encountered in rats with BII intervention around stoma.

Table 2. Comparative analysis of pathohistological finding with regard to surgery type
Tabela 2. Usporedna analiza patološkog nalaza prema vrsti hirurgije

Time (weeks) <i>Vreme (nedelja)</i>	Type of surgery <i>Vrsta hirurgije</i>	Pathohistological finding/ <i>Patohistološki nalaz</i>						Total <i>Ukupno</i>	
		0	1	2	3	4	5		6
8	Billroth II		4 80%	1 20%				5 100%	
	Roux-en-Y	3 60%	1 20%	1 20%				5 100%	
	Control gr.	5 100%						5 100%	
16	Billroth II		3 30%	2 20%	2 20%	3 30%		10 100%	
	Roux-en-Y	5 50%	3 30.0%	2 20%				10 100%	
	Control gr.	10 100%						10 100%	
24	Billroth II				1 6.7%	10 66.7%	3 20%	1 6.7%	15 100%
	Roux-en-Y	9 60%	3 20%	3 20%				15 100%	
	Control gr <i>Kontrolna grupa</i>	15 100%						15 100%	

Legend: Pathohistological findings: 0 - Normal mucosa, 1 - Hyperplasia, 2 - Gastritis, 3- Metaplasia, 4 - Dysplasia, 5 - Early carcinoma, 6 - Carcinoma

Legenda: Patohistološki nalaz: 0 - Normalna mukoza, 1 - Hiperplazija, 2 - Gastritis, 3- Metaplazija, 4 - Displazija, 5 - Rani karcinom, 6 - Karcinom

Such pathohistological findings were also recorded in rats with DGR [19,29]. There is a close correlation between postgastrectomic duodenal reflux, foveolar hyperplasia and the cell kinetics parameters [9,30]. Foveolar hyperplasia represents the reactive regeneration of gastric mucosa as a response to duodenal contact effects and includes an increased cell proliferation with the vertical shifting (cell shifting from the bottom towards the surface of crypts) and expansion of proliferating zone has been recorded following partial gastrectomy [31-34]. Such observation is in accordance with the results of cell kinetics monitoring in experimental carcinogenesis after B I and B II gastrectomy [35].

The results indicate that the direct contact of duodenal juice with gastric mucosa induces precarcinogenic lesions in correlation with the duration of exposure to DGR in such a way that the incidence of hyperplasia and ulcerous changes decreases as the experiment progresses, to be followed by an increased percentage of irreversible lesions and carcinoma around the anastomotic lesions. It is assumed that gastric stump carcinogenesis is also associated with the surgery-induced altered environment since several reports suggest the role of changed pH [21] or bacterial flora in gastric juice [36,37]. Several different types and degrees of gastritis were asso-

ciated with BII anastomosis. Some authors indicate a correlation between sub chronic ulcers, co-existent with adenocarcinoma [38]. Our findings do not support a direct histological correlation between these types of lesions.

From surgical perspective, the presented findings can be associated with the choice of surgical technique - procedure.

Conclusion

Long-term exposure of gastric mucosa to biliary and pancreatic juices is singled out as a powerful factor for gastric carcinoma development, which explains a high incidence of gastric stump carcinoma at anastomosis. Duodenogastric reflux is in direct correlation with the evidence of precarcinogenic lesions and duration of mucosal exposure to it. The direct contact of duodenal juice with gastric mucosa induces the formation of precarcinogenic lesions. The incidence of reversible changes is reduced in time, while the incidence of irreversible changes and carcinoma is increased. The incidence of Duodenogastric reflux-induced adenocarcinoma is possible as early as 20 weeks after the experiment, which is significantly earlier than reported by other authors. These findings should be checked on humans.

References

1. Peško PM, Simić AP. Complications in gastric and duodenal surgery: duodenogastric reflux. In: Gerzić ZB. Complications in digestive surgery. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2000. str. 314-7.
2. Theisen J, Peters JH, Fein M, Hughes M, Hagen JA, De-meester SR, et al. The mutagenic potential of duodenogastric reflux. *Ann Surg* 2005;241:63-8.
3. Katić V. Precarcinogenic gastric lesions. In: Katić V. Gastrum pathology. Beograd-Zagreb: Medicinska knjiga; 1989. str. 73-130.
4. Bahmanyar S, Ye W, Dickman PW, Nyrén O. Long-term risk of gastric cancer by subsite in operated and unoperated patients hospitalized for peptic ulcer. *Am J Gastroenterol* 2007;102:1185-91.
5. La Torre G, Chiaradia G, Gianfagna F, De Lauretis A, Boccia S, Mannocci A, et al. Smoking status and gastric cancer risk: an updated meta-analysis of case-control studies published in the past ten years. *Tumori*. 2009;95:13-22.
6. Dong QJ, Zhan SH, Wang LL, Xin YN, Jiang M, Xuan SY. Relatedness of *Helicobacter pylori* populations to gastric carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2012;18:6571-6.
7. Roxburgh JC, Whitfield PF, Hobsley M. Effect of acute cigarette smoking on gastric secretion. *Gut* 1992;33:1170-3.
8. Fukuhara K, Osugi H, Takada N, Takemura M, Lee S, Taguchi S, et al. Duodenogastric reflux eradicates *Helicobacter pylori* after distal gastrectomy. *Hepatogastroenterology* 2004; 51:1548-50.
9. Li XB, Lu H, Chen HM, Chen XY, Ge ZZ. Role of bile reflux and *Helicobacter pylori* infection on inflammation of gastric remnant after distal gastrectomy. *J Dig Dis* 2008;9:208-12.
10. Xia HH, Kalantar JS, Talley NJ, Wyatt JM, Adams S, Chueng K, et al. Antral-type mucosa in the gastric incisura, body, and fundus (antralization): a link between *Helicobacter pylori* infection and intestinal metaplasia? *Am J Gastroenterol* 2000;95:114-21.
11. Øvrebo KK, Svanes K, Aase S, Grong K, Kvinnsland S, Sørbye H. Gastric mucosa lesions induced by duodenogastric reflux increase penetration of N-[3H]-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine into corpus mucosa of rats. *Dig Dis Sci* 2002;47:2354-69.
12. Guadagni S, Walters CL, Smith PL, Verzaro R, Valenti M, Reed PI. N-Nitroso compounds in the gastric juice of normal controls, patients with partial gastrectomies, and gastric cancer patients. *J Surg Oncol* 1996;63:226-33.
13. Kondo S, Toyoda T, Maruyama A, Morita S, Sato H, Komachi Y, et al. Endoscopic observation of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced gastric carcinogenesis in rat using a newly-developed flexible endoscope. *Asian Pac J Cancer Prev* 2009;10:883-6.
14. Fossmark R, Qvigstad G, Martinsen TC, Hauso Ø, Waldum HL. Animal models to study the role of long-term hypergastrinemia in gastric carcinogenesis. *J Biomed Biotechnol* 2011;2011:doi975479.
15. Øvrebo KK, Svanes K, Aase S, Grong K, Sørbye H. Duodenogastric reflux increases the penetration of N-3H-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine into the antral mucosa of rats: a possible role for mucosal erosions and increased cell proliferation in gastric carcinogenesis. *Jpn J Cancer Res* 2002;93:484-94.
16. Min C, Hesheng L, Jihong C, Qiaoyun T, Xianzhen L, Chireyeth S. Effects and mechanism of changes of local neurotransmitters in rats' pylorus and bile reflux to the stomach with stress ulcer. *Dig Dis Sci* 2005;50:1898-903.
17. Rodrigues PA, Kobayasi S, Rodrigues MA. Does truncular vagotomy modify the proliferative gastric lesions induced in rats by duodenogastric reflux? *Acta Cir Bras* 2007;22:210-4.
18. Kondo K. Duodenogastric reflux and gastric stump carcinoma. *Gastric Cancer* 2002;5:16-22.
19. Aya M, Yashiro M, Nishioka N, Onoda N, Hirakawa K. Carcinogenesis in the remnant stomach following distal gastrectomy with Billroth II reconstruction is associated with high-level microsatellite instability. *Anticancer Res* 2006;26:1403-11.
20. Vere CC, Cazacu S, Comănescu V, Mogoantă L, Rogoveanu I, Ciurea T. Endoscopic and histological features in bile reflux gastritis. *Rom J Morphol Embryol* 2005;46:269-74.
21. Csendes A, Burgos AM, Smok G, Burdiles P, Braghetto I, Diaz JC. Latest results (12-21 years) of a prospective randomized study comparing Billroth II and Roux-en-Y anastomosis after a partial gastrectomy plus vagotomy in patients with duodenal ulcers. *Ann Surg* 2009;249:189-94.
22. Chan DC, Fan YM, Lin CK, Chen CJ, Chen CY, Chao YC. Roux-en-Y reconstruction after distal gastrectomy to reduce enterogastric reflux and *Helicobacter pylori* infection. *J Gastrointest Surg* 2007;11:1732-40.
23. Boni L, Benevento A, Shimi SM, Cuschieri A. Free radical production in the esophago-gastro-duodenal mucosa in response to acid and bile. *Dis Esophagus* 2006;19:99-104.
24. Andrews FM, Buchanan BR, Elliott SB, Al Jassim RA, McGowan CM, Saxton AM. In vitro effects of hydrochloric and lactic acids on bioelectric properties of equine gastric squamous mucosa. *Equine Vet J* 2008;40:301-5.
25. Lorusso D, Linsalata M, Pezzolla F, Berloco P, Osella AR, Guerra V, et al. Duodenogastric reflux and gastric mucosal polyamines in the non-operated stomach and in the gastric remnant after Billroth II gastric resection: a role in gastric carcinogenesis? *Anticancer Res* 2000;20:2197-201.
26. Takamiya H, Koufujii K, Shirouzu K. The influence of pylorus-preserving partial gastrectomy on carcinogenesis of residual gastric mucosa in the rat. *Surg Today* 2002;32:134-41.
27. Naresse LE, Kobayasi S, Rodrigues MA. Carcinogenesis of the upper gastrointestinal tract induced by N-methyl-N'-nitro-nitrosoguanidine and reflux of duodenal contents in the rat. *Acta Cir Bras* 2009;24:112-7.
28. Monteiro RL, Andreollo NA, Rodrigues MA, Araujo MR. Gastric proliferative lesions induced by duodenogastric reflux in rats. *Acta Cir Bras* 2006;21:207-13.
29. Chen KH, Mukaisho K, Sugihara H, Araki Y, Yamamoto G, Hattori T. High animal-fat intake changes the bile-acid composition of bile juice and enhances the development of Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma in a rat duodenal-contents reflux model. *Cancer Sci* 2007;98:1683-8.
30. Kono T, Imai Y, Ichihara T, Miyagawa K, Kanemitsu K, Ajiki T, et al. Adenocarcinoma arising in gastric inverted hyperplastic polyp: a case report and review of the literature. *Pathol Res Pract* 2007;203:53-6.

31. Arnold R. Diagnosis and differential diagnosis of hypergastrinemia. *Wien Klin Wochenschr* 2007;119:564-9.

32. Peetsalu M, Valle J, Härkönen M, Maaros HI, Peetsalu A. Changes in the histology and function of gastric mucosa and in *Helicobacter pylori* colonization during a long-term follow-up period after vagotomy in duodenal ulcer patients. *Hepatogastroenterology* 2005;52:785-91.

33. Shiotani A, Iishi H, Ishiguro S, Tatsuta M, Nakae Y, Merchant JL. Epithelial cell turnover in relation to ongoing damage of the gastric mucosa in patients with early gastric cancer: increase of cell proliferation in paramalignant lesions. *J Gastroenterol* 2005;40:337-44.

34. Matsui N, Yao T, Akazawa K, Nawata H, Tsuneyoshi M. Different characteristics of carcinoma in the gastric remnant: histochemical and immunohistochemical studies. *Oncol Rep* 2001;8:17-26.

Rad je primljen 13. VI 2013.

Recenziran 17. VI 2013.

Prihvaćen za štampu 27. VI 2013.

BIBLID.0025-8105:(2013):LXVI:7-8:285-291.

35. Zhukov NA, Akhmedov VA, Turilova NS, Eremeev SI. Functional and morphological characteristics of the gastric mucosa in duodenogastric reflux. *Eksp Klin Gastroenterol*. 2002;2:22-4.

36. Zhang C, Liu ZK, Yu PW. Effects of bile reflux and intra-gastric microflora changes on lesions of remnant gastric mucosa after gastric operation. *World J Gastroenterol* 2004;10:1537-9.

37. Gabriélian NI, Gorskaia EM, Snegova ND. Functions of gastrointestinal microflora and its postoperative disorders. *Antibiot Khimioter* 2000;45:24-9.

38. Furihata C, Takezawa R, Matsushima T. Potential tumor-promoting activity of bile acids in rat glandular stomach. *Jpn J Cancer Res* 1997;78:32-9.

Klinički centar Banja Luka, Banja Luka
Klinika za ginekologiju i akušerstvo

Originalni naučni rad
Original study
UDK 618.3-07-084
DOI: 10.2298/MPNS1308292C

DIJAGNOSTIČKA EFIKASNOST BIOFIZIČKIH TESTOVA I CEREBROUMBILIKALNOG INDEKSA U PROCENI OKSIGENACIJE PLODA

DIAGNOSTIC EFFICACY OF BIOPHYSICAL TESTS AND CEREBRAL-UMBILICAL INDEX WHEN ASSESSING FETAL OXYGENATION

Branka ČANČAREVIĆ ĐAJIĆ i Rade VILENDEČIĆ

Sažetak

Uvod. Perinatalni morbiditet i mortalitet su krajnji pokazatelji savremene antenatalne zaštite, koja ima odgovoran zadatak da verodostojno proceni respiratornu funkciju posteljice, fetalni rast i maturaciju posteljice sa ciljem rađanja živog i za život sposobnog deteta. Dijagnostički postupci antenatalne zaštite koje smo ispitivali u ovoj studiji su biofizički testovi (kardiotokografija i biofizički profil ploda) i doplersonografske metode merenja cerebroumbilikalnog indeksa. Postavljeni cilj je određivanje najefikasnijeg dijagnostičkog postupka u proceni stanja oksigenacije ploda. **Materijal i metode.** Ispitivanje je sprovedeno prospektivno i obuhvatilo je 119 trudnica. Svim ispitanicama je urađen kardiotokografija, biofizički profil ploda a doplersonografski je izmeren cerebroumbilikalni indeks. Na rođenju deteta je određivan pH krvi arterije umbilikalne i Apgar skor u 1. minutu. **Rezultati.** Rezultate smo obradili statistički, te odredili najefikasniji dijagnostički test u proceni oksigenacije ploda, a potom smo izračunali perinatalni morbiditet i mortalitet. Rezultati su pokazali da je najsenzitivniji antepartalni prediktor fetalne acidoze kardiotokografija, a najspecifičniji biofizički profil ploda. Perinatalni morbiditet je iznosio 24,37%, a perinatalni mortalitet 1,68%. **Zaključak.** Analizirajući rezultate, našli smo da su biofizički testovi visoko statistički značajni prediktori fetalnog stanja, kao i cerebroumbilikalni indeks. Analiza cerebroumbilikalnog indeksa i biofizičkih testova pokazala je da je cerebroumbilikalni indeks senzitivniji parametar od biofizičkog profila ploda, a specifičniji od nalaza kardiotokografije. Najsenzitivniji antepartalni prediktor fetalne acidoze je kardiotokografija, zatim cerebroumbilikalni indeks, a potom biofizički profil ploda, dok je najveću specifičnost pokazao biofizički profil ploda, zatim cerebroumbilikalni indeks te kardiotokografija. **Cljučne reči:** Potrošnja kiseonika; Prenatalna dijagnoza; Perinatalni mortalitet; Kardiotokografija; Dopler ultrasonografija; Faktori rizika; Cerebralne arterije + ultrasonografija; Umbilikalne arterije + ultrasonografija; Fetalni zastoj rasta; Apgar skor; Fetalna krv

Summary

Introduction. Perinatal morbidity and mortality are the ultimate indicators of antenatal care today, whose responsible task is to assess the respiratory function of the placenta, fetal growth and placental maturation in order to provide conditions for the delivery of a living and viable newborn. The diagnostic procedures of antenatal care tested within this study were the biophysical tests of cardiotocography and the fetal biophysical profile, along with the colour doppler evaluation of the cerebral-umbilical ratio. The objective of this study was to determine the most effective diagnostic procedure when assessing fetal oxygenation. **Materials and Methods.** The prospective study included 119 pregnant women. They all underwent cardiotocography, biophysical profile and colour doppler evaluation of the cerebral-umbilical ratio. The babies' umbilical artery blood pH was determined in the first minute upon birth, along with the Apgar score. **Results.** The results were processed statistically and the most effective diagnostic procedure for the evaluation of fetal oxygenation was selected, after which the rates of perinatal morbidity and mortality were calculated. The findings revealed that cardiotocography was the most sensitive antepartal predictor of fetal acidosis, while the fetal biophysical profile proved the most specific. The rates of perinatal morbidity and of perinatal mortality were 24.37% and 1.68%, respectively. **Conclusion.** The findings analysis revealed a high statistical significance of both biophysical tests and the cerebral-umbilical ratio evaluation as predictors of the fetal distress syndrome. The analysis of the cerebral-umbilical ratio and biophysical tests showed that the cerebral-umbilical ratio evaluation not only was more sensitive as a parameter compared to biophysical tests but it was also more specific than cardiotocography. Cardiotocography is the most sensitive antepartal predictor of fetal acidosis, followed by the cerebral-umbilical ratio, and the biophysical profile as the least sensitive. The biophysical profile proved to be the most specific, followed by the cerebral-umbilical ratio, and cardiotocography as the least specific. **Key words:** Oxygen Consumption; Prenatal Diagnosis; Perinatal Mortality; Cardiotocography; Ultrasonography, Doppler; Risk Factors; Cerebral Arteries + ultrasonography; Umbilical Arteries + ultrasonography; Fetal Growth Retardation; Apgar Score; Fetal Blood

Skraćenice

CTG	– kardiokotografija
CTG-NST	– <i>non stress test</i>
BPP	– biofizički profil ploda
AU	– <i>a. umbilicalis</i>
C/U	– cerebroumbilikalni indeks
ACM	– <i>a. cerebri media</i>
AS	– Apgar skor
PI	– indeks pulsabilnosti
SE	– senzitivnost
UZV	– ultrazvuk
SP	– specifičnost
PPV	– pozitivna prediktivna vrednost
NPV	– negativna prediktivna vrednost
P	– pouzdanost
LP	– lažno pozitivna vrednost
LN	– lažno negativna vrednost

Uvod

Najčešći uzrok perinatalnog morbiditeta i mortaliteta je hipoksija, te je u perinatalnom nadzoru najvažnija procena oksigenacije ploda, kako bi se pri poremećenoj oksigenaciji mogla doneti pravovremena odluka o završavanju trudnoće, pre nastajanja trajnih oštećenja ploda [1]. Za prepoznavanje hipoksijom ugroženog fetusa koristi se niz dijagnostičkih metoda (jednostavne, lako primenljive, neinvazivne, osetljive i specifične), među kojima prednost imaju kardiokotografija (CTG) i ultrazvuk (UZV). Biofizički testovi podrazumevaju CTG i biofizički profil ploda (BPP). Kardiokotografija je savremena dijagnostička metoda, danas u širokoj upotrebi za otkrivanje akutne i hronične fetalne patnje u trudnoći i u porođaju, a zasnovana je na istovremenoj registraciji fetalne srčane frekvencije i kontrakcija materice [2,3]. Za otkrivanje fetalne ugroženosti hipoksijom, posebno u visokorizičnim trudnoćama u trećem trimestru trudnoće, Manning i saradnici su 1980. godine uveli određivanje biofizičkog profila ploda [4]. Biofizički parametri su odraz aktivnosti centralnog nervnog sistema i ako su prisutne normalne biofizičke aktivnosti ploda, onda je prisutna i dobra oksigenacija ploda [4–6]. Zahvaljujući dopler sonografiji danas je ispitivanje majčine, fetalne i placentne cirkulacije standardna neinvazivna metoda u proceni stanja ploda i otkrivanja fetalne hipoksije. Odgovor na hipoksiju je centralizacija krvotoka. Ovaj mehanizam u početku štiti mozak od hipoksije, a kasnije produbljuje inverziju odnosa placentno-cerebralnog protoka i postaje poguban za fetus, jer mozak dobija neobnovljenu, slabo oksigenisanu krv koja nije stigla do posteljice [7–11]. Međutim, najobjektivnija i najpouzdanija metoda koja pokazuje stanje oksigenacije ploda je određivanje acidobaznog statusa krvi novorođenčeta. Asfiksija ploda podrazumeva udružnost hipoksije sa metaboličkom acidozom, a postnatalno je determinisana ako postoje simptomi kardijalne i respiracijske insuficijencije, te znaci neuroloških ispada. Perinatalni morbiditet i mortalitet su krajnji pokazatelji savremene antenatalne zaštite, koja ima

odgovoran zadatak da verodostojno proceni respiratornu funkciju posteljice (oksigenciju ploda), fetalni rast i maturaciju sa ciljem rađanja zdravog i za život sposobnog deteta.

Cilj istraživanja bio je da se utvrdi odnos dijagnostičke efikasnosti standardnih biofizičkih testova (CTG i BPP) i cerebroumbilikalnog indeksa (C/U) u proceni oksigenacije ploda.

Materijal i metode

Ispitivanje je sprovedeno prospektivnom studijom, kojom je obuhvaćeno 119 trudnica koje su hospitalizovane na Odjeljenju perinatologije Ginekološko-akušerske klinike u Banja Luci. Ispitivane trudnice su različitog starosnog doba i pariteta, sa različitim kliničkim dijagnozama, sa jednoplođnom trudnoćom bez kongenitalnih malformacija ploda i gestacijske starosti na porođaju od 27 nedelja i više. Od 119 ispitanica, bilo je 79,7% u starosnom dobu 18–35 godina, a nulipare su bile zastupljene u 47,9%.

Svim trudnicama, nakon uzetih anamnestičkih podataka i nakon kliničkog akušerskog pregleda urađen je CTG-NST (*non stress test*), BPP i merenje doplerom protoka kroz arteriju cerebri medija (ACM) i arteriju umbilicalis (AU).

CTG-NST analiza rađena je na kardiokotografu *Hewlett Packard 8040 A* u trajanju od 30 minuta i brzinom kretanja trake 1 cm u minutu. CTG zapise smo procenjivali po Kuvačić-Dražančićevom CTG indeksu [12] na normalne (0–2 boda), prepatološke (3–4 boda) i patološke (≥ 5 bodova).

Biofizički profil ploda smo procenjivali po Manningu (NST, disajni pokreti ploda, telesni pokreti i tonus ploda, te količina plodove vode) u trajanju od 30 minuta, a ocenili smo ga kao uredan (8–10 bodova), prepatološki (4–6 bodova) i patološki (0–2 boda). Sva merenja protoka doplerom kroz AU i ACM vršili smo u fazi fetalnog mirovanja, u fetalnoj apneji, koja se definiše odsustvom vidljivih promena oblika u više od 10 uzastopnih dopler talasa. Merenja smo radili na ultrazvučnom *real time* aparatu *General Electrics GE LOGIQ Book XP* konveksnom sondom od 3,5 MHz.

U analizi sonograma protoka kroz arterijske krvne sudove fetusa sagledali smo oblik talasa, a merili smo indeks rezistencije (RI) i pulsatilni indeks (PI). Odlučili smo se za analizu indeksa pulsabilnosti, a ne indeksa rezistencije, iz praktičnih razloga, jer se PI može koristiti i kod merenja visokih otpora i kada je završni dijastolni protok odsutan. Za sva izračunavanja smo koristili ugrađen softver UZV aparata. Izmerene vrednosti porredili smo sa standardnim vrednostima usklađenim za gestacijsko doba u fiziološkim trudnoćama. Cerebroumbilikalni indeks izračunavan je kao količnik pulsatilnog indeksa u arteriji cerebri medija (PI ACM) i pulsatilnog indeksa u arteriji umbilicalis (PI AU). Patološkim su smatrane vrednosti C/U manje od 1,08. Analizirali smo nalaze koji nisu bili stariji od sedam dana pre rođenja deteta, a ukoliko su rađeni više puta, analizirali smo poslednje. Nalazi koje smo analizirali u pa-

Tabela 1. Kardiotokografski nalaz i pH krvi arterije umbilikalis
Table 1. Cardiotocographic finding and umbilical artery blood pH

CTG	pH AU			Ukupno/Total
	Acidoza/Acidosis	Preacidoza/Preacidosis	Uredan/Normal	
Uredan/Normal	8 (9,5%)	18 (21,4%)	58 (69%)	84 (70,6%)
Prepatološki/Borderline	4 (33,3%)	4 (33,3%)	4 (33,3%)	12 (10,1%)
Patološki/Abnormal	8 (34,8%)	7 (30,4%)	8 (34,8%)	23 (19,3%)
Ukupno/Total	20 (16,8%)	29 (24,4%)	70 (58,8%)	119 (100%)

tološkim trudnoćama nisu bili stariji od 24 h pre rođenja deteta. Kardiotokografska analiza pre porođaja rađena je u intervalima kraćim od 24 sata. Definitivnu procenu stanja deteta na rođenju vršili smo određivanjem pH krvi iz arterije umbilikalis i ocenom vitalnosti novorođenčeta po rođenju nakon 1. i nakon 5. minuta po shemi Apgar skora (AS). Rezultate smo obradili statistički i izračunali efikasnost dijagnostičkih testova i C/U indeksa u proceni oksigenacije ploda. Efikasnost testa (tačnost, pouzdanost) dobili smo izračunavanjem prema formuli: stvarno pozitivni (SP) + stvarno negativni (SN)/ukupan broj ispitanica. Potom smo pratili kliničko stanje deteta i izračunali perinatalni morbiditet i mortalitet.

Rezultati

Analizom je obuhvaćeno 77 (64,7%) trudnoća bez komplikacija i 42 visokorizične trudnoće kod kojih su indikacije za hospitalizaciju obuhvatale preeklampsiju (15,1%), intrauterusni zastoj u rastu ploda (9,2%), hemoragiju (3,4%), šećernu bolest (1,7%), prethodne operacije na materici (2,5%), anemiju u trudnoći (1,6%) i polihidramnion (1,8%). U grupi visokorizičnih trudnoća svi porođaji su završeni carskim rezom i u toj grupi je bilo 40,47% (17/42) prevremenih porođaja. Ukupno je kod naših ispitanica carskim rezom završeno 94,1% porođaja i 7 spontanih vaginalnih porođaja sa normalnim intrapartalnim CTG zapisima.

Analizirajući ispitivanu grupu koju je činilo 119 trudnica, uredne CTG nalaze verifikovali smo kod 84 (70,6%) ispitanica. Iz te grupe smo kod 8 (9,5%) novorođenčadi verifikovali acidemiju na rođenju (pH AU < 7,20), a AS 4–7 kod jednog (1,2%) novorođenčeta. Pre patoloških CTG nalaza u našoj studiji smo imali kod 12 (10,1%) ispitanica, kod kojih je acidoza novorođenčadi verifikovana kod 4 (33,3%), a 3 (25%) novorođenčeta imala su AS 4–7 u 1. minutu po rođenju. Patološki CTG je verifiko-

van u 23 (19,3%) slučajeva od kojih je 8 (34,8%) bilo u acidozi, 6 (26,1%) imalo je AS 1–3, a 7 (30,4%) imalo je AS 4–7 (**Tabela 1**). Uredan BPP smo dobili u 92 (77,3%) slučajeva kod kojih je acidoza verifikovana kod 9 (9,8%) novorođenčadi, a jedno (1,1%) novorođenče je ocenjeno sa AS od 4 do 7.

Prepatološki BPP verifikovan je kod 22 (18,5%) ispitanika, sa prisutnom acidemijom pri rođenju je 6 (27,3%) novorođenčadi, dva (9,1%) novorođenčeta su ocenjena AS u 1. minutu 1–3 i 9 (40,9%) sa AS 4–7. Patološki BPP smo dobili kod 5 (4,2%) ispitanica i kod svih 5 (100%) na porođaju je verifikovana acidoza, a AS u 1. minutu je kod 4 (80%) novorođenčeta bio 1–3 i kod jednog (20%) 4–7 (**Tabela 2**).

Upoređujući ove dve metode i njihovu efikasnost u proceni fetalne acidoze dobili smo sledeće rezultate: senzitivnost (SE) CTG = 60%, a BPP = 25%, specifičnost (SP) CTG je 76,77%, a BPP iznosi 100%; pouzdanost (P) CTG = 73,95%, a pouzdanost BPP je 87,39. Veliki je procenat lažno pozitivnih (LP) vrednosti za CTG i iznosi 65,7%, dok kod BPP nema LP rezultata. Lažno negativan (LN) CTG nalaz smo verifikovali u 9,5% slučajeva, a BPP u 13,2%. Pozitivna prediktivna vrednost (PPV) CTG je 34,29%, a BPP 100%, dok je negativna prediktivna vrednost (NPV) CTG 90,48%, a BPP 86,84% (**Tabela 3**).

Statističkom obradom smo našli da obe metode pokazuju visoku statističku značajnost u proceni stanja ploda u odnosu na pH krvi arterije umbilikalis. U radu smo kod urednog C/U indeksa (80,7%) kod najvećeg broja ispitanika (66,7%) našli i uredan pH nalaz krvi AU kao i AS 8–10 u 1. minutu (95,8%) nakon rođenja. Patološka vrednost C/U indeksa je registrovana kod 23 (19,3%) ispitanika. U toj grupi najmanje je bilo urednih pH nalaza AU (6 ispitanika ili 26,1%), a najviše je bilo nalaza koji ukazuju na acidemiju ploda (10 ispitanika ili 43,5%), kao i na nizak AS na rođenju (13 ispitanika ili 56,5%). Senzitivnost ove metode u proceni fetalne acidoze je 50%, specifičnost je

Tabela 2. Odnos biofizičkog profila i pH krvi arterije umbilikalis
Table 2. The relationship between the biophysical profile and umbilical artery blood pH

BPP	pH AU			Ukupno/Total
	Acidoza/Acidosis	Preacidoza/Preacidosis	Uredan/Normal	
Uredan/Normal	9 (9,8%)	20 (21,7%)	63 (68,5%)	92 (77,3%)
Prepatološki/Borderline	6 (27,3%)	9 (40,9%)	7 (31,8%)	22 (18,5%)
Patološki/Abnormal	5 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (4,2%)
Ukupno/Total	20 (16,8%)	29 (24,4%)	70 (58,8%)	119 (100%)

86,87%, PPV = 43,48%, NPV = 89,58, P = 80,67%, LP = 56,50% i LN = 10,40%.

Od 42 ispitanice sa visokorizičnim trudnoćama, njih 13 (30,9%) imalo je patološki CTG nalaz, 4 (9,5%) patološki BPP, kod 19 (45,2%) ispitanica je verifikovana centralizacija krvotoka, a patološki dopler protok kroz AU kod 12 (28,5%) fetusa. Nizak AS (1-7) verifikovan je u toj grupi u 12 (28,5%), a acidoza na rođenju kod 8 (19,04%) novorođenčadi. Kod trudnoća bez komplikacija bilo je 15,5% (12/77) novorođenčadi u acidozi.

Od ukupno 119 ispitanika na Odeljenju intenzivne nege boravilo je 29 (27,4%) novorođenčadi duže od 24 h posle porođaja, a 20 (16,8%) je bilo u acidozi.

Od ukupnog broja ispitanika, posle porođaja umrla su dva pre vremena rođena deteta u prvih 7 dana i jedno 20. dan. Oba deteta koja su umrla u prvih 7 dana po rođenju bila su u acidozi, imala su nizak AS pri rođenju, patološke CTG i arterijske nalaze i pripadali su grupi iz visokorizičnih trudnoća. U ispitivanoj grupi trudnica nije bilo mrtvorođene dece.

Perinatalni mortalitet kod analiziranih ispitanika bio je ukupno 1,68% i perinatalni morbiditet 24,37%, a perinatalni mortalitet u grupi visokorizičnih trudnoća iznosio je 4,7%, dok ga u trudnoćama bez komplikacija nije bilo.

Diskusija

U navedenim rezultatima nađena je signifikantna korelacija fetalne acidoze i patološkog CTG nalaza. Podaci iz literature [13] pokazuju da je slabija povezanost između promena CTG i AS manjeg od 7, dok je veća povezanost patološkog CTG zapisa sa fetalnom acidozom, što se ne podudara sa našim rezultatima. Kuvačić i saradnici [14] našli su acidozu AU u 44,4% slučajeva koja je povezana sa prisustvom patološkog CTG, a Fleisher i saradnici u 57,9% i Painter u 72,7% slučajeva [14]. U ovoj studiji smo kod 34,8% ispitanika našli acidozu kojoj je prethodio patološki CTG nalaz.

Wilken i saradnici [15] nalaze sledeću povezanost CTG indeksa po Fisheru s AS novorođenčadi: kod normalnog CTG nije bilo niske Apgar ocene (7 i manje), kod suspektnog CTG bilo je 6,3% novorođenčadi sa AS 7 i manje, a kod patološkog CTG po rođenju bilo je 12,8% dece sa niskim AS.

U ovom radu smo kod patološkog CTG nalaza verifikovali 56,5% novorođenčadi sa niskim AS (1-7), što se slaže sa podacima iz literature [16].

Skrablin i saradnici [17] su u svom radu analizirali intrapartalni CTG kod dece koja su posle rođenja imala verifikovanu intrakranijalnu hemoragiju i našli lažno negativne rezultate u 29%, a lažno pozitivne u 17,5% slučajeva. Spenser i saradnici [15] našli su 52,8% LN i 38,9% LP, a Nelson i saradnici [18] našli su LN rezultate u 73,1%, a LP u 9,3% slučajeva.

Senzitivnost C/U indeksa u proceni fetalne acidoze je 50% što je manje nego u literaturi, specifičnost testa je 86,87% (u literaturi 89-93%), pozitivna prediktivna vrednost je 43,48% (u literaturi 83-95%), negativna prediktivna vrednost je 89,58% (u literaturi 85-93%), pouzdanost testa je 80,67%, lažno pozitivna vrednost je 56,5% i lažno negativna je 10,4% (u literaturi 5%) [16].

Cerebroumbilikalni indeks jeste parametar koji najbolje korelira sa acidobaznim statusom ploda i koji ima najveću efikasnost u predikciji respiratorne ugroženosti ploda, po čemu se izjednačava sa standardnim biofizičkim testovima [16,19].

C/U odnos ima značaja u određivanju stepena redistribucije fetalnog krvotoka i predikcije acidobaznog statusa na rođenju gde niska vrednost C/U odnosa odgovara nereaktivnom NST i lošem acidobaznom statusu na rođenju [20-22].

Efikasnost C/U indeksa u predikciji respiratorne ugroženosti ploda veća je od pojedinačne efikasnosti PI AU i PI ACM [16,20,21].

Fetalni C/U odnos dobijen spektralnom semikvantitativnom analizom vaskularne rezistencije u ACM i AU predstavlja pouzdan parametar za procenu fetalne kondicije. Veoma niske vrednosti C/U odnosa kod fetusa iz trudnoća sa preeklampsijom ukazuju da kod njih nastupa poremećaj u acidobaznoj ravnoteži, kao i da dolazi do pojave fetalnog distresa koji je praćen i povećanim neonatalnim mortalitetom [23,24].

Zaključak

Upoređujući biofizičke testove i njihovu vrednost u proceni fetalnog stanja, našli smo da je biofizički profil ploda specifičniji od kardiotokografije, a da kardiotokografija ima veću senzitivnost. Cerebroumbilikalni indeks ima veću senzitivnost

Tabela 3. Vrednosti pojedinih dijagnostičkih metoda u dijagnozi fetalne acidoze

Table 3. Values of diagnostic methods when diagnosing fetal acidosis

	SE/SE	SP/SP	PPV/PPV	NPV/FPV	P/R	LP/FP	LN/FN
PI AU	45%	92,93%	56,25%	89,32%	84,87%	43,8%	10,7%
PI ACM	5%	98,99%	50%	83,76%	83,19%	50%	16,2%
CU	50%	86,87%	43,48%	89,58%	80,67%	56,5%	10,4%
Ctg	60%	76,77%	34,29%	90,48%	73,95%	65,7%	9,5%
BPP	25%	100%	100%	86,84%	87,39%	0%	13,2%

SE – senzitivnost/sensitivity, SP – specifičnost/specificity, PPV – pozitivna prediktivna vrednost/positive predictive value, NPV – negativna prediktivna vrednost/negative predictive value, P/R – pouzdanost/reliability, LP/FP – lažno pozitivna vrednost/false positive value, LN/FN – lažno negativna vrednost/false negative value

u proceni fetalne acidoze od biofizičkog profila ploda i veću specifičnost od kardiotokografije. Posmatrajući i analizirajući cerebroumbilikalni indeks sa pH krvi arterije umiblikalis, u proceni intrauterinog stanja ploda, dobijeni rezultati u našem radu pokazuju visoku statističku značajnost, što se podudara sa rezultatima iz literature.

Najsenzitivniji antepartalni parametar u proceni fetalnog stanja je kardiotokografija, a zatim cerebroumbilikalni indeks, dok najveću specifičnost ima biofizički profil, a potom cerebroumbilikalni

indeks. Najveću pouzdanost u proceni fetalnog stanja ima biofizički profil ploda, potom slede cerebroumbilikalni indeks i kardiotokografija. Najefikasniji antepartalni pokazatelj fetalnog stanja podrazumeva integrisano korišćenje i parametara doplera i biofizičkih testova, njihovu pravilnu interpretaciju, a sve sa ciljem detekcije potencijalno i respiratorno ugroženog fetusa, te pravovremene odluke o vremenu i načinu završavanja trudnoće, čiji je imperativ rođenje živog i za kvalitetan život sposobnog deteta.

Literatura

1. Kuvačić I, Škrablin-Kučić S. Nadzor djeteta u trudnoći i porodu: nove spoznaje. Perinatologija danas. Zagreb: Nakladni zavod Matice Hrvatske; 2003. str. 125-45.
2. Baschat AA, Cosmi E, Bilardo CM, Wolf H, Berg C, Rigano S, et al. Predictors of neonatal outcome in early-onset placental dysfunction. *Obstet Gynecol* 2007;109(2):253-61.
3. Verburg BO, Jaddoe VWV, Wladimiroff JW, Hofman A, Witteman JCM, Steegers EAP. Fetal hemodynamic adaptive changes related to intrauterine growth: the generation R study. *Circulation* 2008;117(5):649-59.
4. Marković A. Prenatalne dijagnostičke procedure: Opstetricija I. Beograd: Novinsko-izdavačka ustanova Službeni list SRJ; 1996. str. 185-90.
5. Ferrazzi E, Bozzo M, Rigano S, Bellotti M, Morabito A, Pardi G, et al. Temporal sequence of abnormal Doppler changes in the peripheral and central circulatory systems of the severely growth-restricted fetus. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002;19(2):140-6.
6. Hecher K, Bilardo CM, Stigter RH, Ville Y, Hackelöer BJ, Kok HJ, et al. Monitoring of fetuses with intrauterine growth restriction: a longitudinal study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001;18(6):564-70.
7. Baschat A A, Gembruch U, Harman C R. The sequence of changes in Doppler and biophysical parameters as severe fetal growth restriction worsens. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001;18(6):571-7.
8. Oros D, Figueras F, Cruz-Martinez R, Padilla N, Meler E, Hernandez-Andrade E, Gratacos E. Middle versus anterior cerebral artery Doppler for the prediction of perinatal outcome and neonatal neurobehavior in term small-for-gestational-age fetuses with normal umbilical artery Doppler. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010;35(4):456-61.
9. Harrington KF. Making best and appropriate use of fetal biophysical and Doppler ultrasound data in the management of the growth restricted fetus. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000;16(5):399-401.
10. Babovic I, Plesinac S. Doppler examination in the evaluation of outcomes in pregnancies complicated by gestational hypertension and fetal intrauterine growth retardation: is it enough? *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2012;39(2):222-4.
11. Baschat AA. Arterial and venous Doppler in the diagnosis and management of early onset fetal growth restriction. *Early Hum Dev* 2005;81(11):877-87.
12. Kuvačić I, Dražančić A. Kardiotokografija u trudnoći. *Jugosl Ginekol Obstet* 1975;15:15-7.
13. Ivanišević M. Kardiotokografija i acidobazni status. *Gynecol Perinatal* 1998;8:81-41.
14. Kuvačić I. Nadzor fetusa u porodu. *Porodništvo* 1999: 177-86.
15. Dražančić A. Kardiotokografija: njeni dosezi i pretkazljivost. *Gynecol Perinatal* 2006;15(2):17-8.
16. Miković Ž. Hemodinamske promene procenjene color doppler tehnikom u evaluaciji intrauterusnog zastoja u rastu ploda (doktorska disertacija). Beograd: Medicinski fakultet; 1995.
17. Škrablin S, i sar. Perinatalno doba i dugoročni ishod. *Gynecol Perinatal* 2004;13:79-81.
18. Nelson K B, Ellenberg JH. Apgar scores as predictors of chronic neurologic disability. *Pediatrics* 1981;69:36.
19. Cerović N. Venska hemodinamika kod ploda sa intrauterusnom zastojem u rastu procenjena color Doppler tehnikom (magistarski rad). Beograd: Medicinski fakultet; 2000.
20. Jurišić A, Đukić M, Marković A. Fetal middle cerebral/umbilical artery Doppler ratio in prediction of fetal distress. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995;6(Suppl 2):98.
21. Nanthakomon T, Somprasit C. The value of middle cerebral artery-umbilical artery pulsatility index ratio in prediction of severe fetal growth restriction. *Thammasat Med J*. 2012;10(3):264-70.
22. Signorelli M, Taddei F, Frusca T. Reversal of compensatory flow in severe intrauterine growth restriction: middle cerebral artery and intracardiac volume flow modifications. *Minerva Ginecol* 2008;60(4):287-93.
23. Jurišić A, i dr. Fetalni cerebralno-umbilikalni dopler odnos u predviđanju fetalnog distresa kod trudnica sa preklampsijom. *Vojnosanit Pregl* 2010;67(6):487-92.
24. Cheema R, Bayoumi MZ, Gudmundsson S. Multivascular Doppler surveillance in high risk pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012;25(7):970-4.

Rad je primljen 19. XI 2012.

Recenziran 5. IV 2013.

Prihvaćen za štampu 27. VI 2013.

BIBLID.0025-8105:(2013):LXVI:7-8:292-296.

PREGLEDNI ČLANCI

REVIEW ARTICLES

Medicinski fakultet, Beograd
 Institut za patološku fiziologiju¹
 Institut za kardiovaskularne bolesti Dedinje, Beograd²

Pregledni članci
 Review article
 UDK 616.13-004.6-092
 DOI: 10.2298/MPNS1308297V

PATOFIZIOLOŠKI MEHANIZMI ANGIOGENEZE U ATEROGENEZI

PATHOPHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF ANGIOGENESIS IN ATHEROGENESIS

Danijela VUČEVIĆ¹, Đorđe RADAK², Ivan MILOVANOVIĆ¹, Tatjana RADOSAVLJEVIĆ¹ i
 Dušan MLADENOVIĆ¹

Sažetak

Uvod. Ateroskleroza je progresivna, višefaktorska, difuzna, multisistemska, hronična, inflamacijska bolest, kod koje postoji poremećaj vaskularnog, metaboličkog i imunostistema. Aterogeneza nije do kraja razjašnjena. U tom smislu posebno polje istraživanja predstavlja angiogeneza, imajući u vidu značaj koji proces stvaranja novih krvnih sudova ima u nastanku i razvoju ateromatoznog plaka. **Stadijumi angiogeneze.** Angiogeneza je složen biološki proces, koji obuhvata četiri precizno koordinisana stadijuma (vazodilataciju i povećanje propustljivosti zida krvnog suda, destabilizaciju krvnog suda i razgradnju matriksa, proliferaciju i migraciju endotelnih ćelija i formiranje i stabilizaciju novog krvnog suda). **Medijatori angiogeneze.** Neovaskularizacija je regulisana delikatnom ravnotežom između proangiogenih i antiangiogenih molekula. U regulaciji angiogeneze učestvuju brojni solubilni faktori rasta i inhibitori, citokini, proteaze, proteini ekstracelularnog matriksa, adhezivni molekuli, kao i hipoksija, inflamacija, stres smicanja, hipertenzija i interakcije između ćelija i vanćelijskog matriksa. S tim u vezi, novi krvni sudovi se formiraju zahvaljujući nishodnoj regulaciji angiogenih faktora, ili povišenoj koncentraciji angiogenih inhibitora. **Angiogeneza u tumoru.** U asimptomatskoj fazi kancerogeneze, maligni tumor je retko veći od 1-2 milimetra u prečniku. Međutim, porast njegovih metaboličkih potreba dovodi do stvaranja novih krvnih sudova, tj. tumor zadobija angiogeni fenotip. Molekulsku osnovu angiogenog prekidača čine povećano stvaranje angiogenih faktora i/ili gubitak angiogenih inhibitora. **Zaključak.** Stvaranje novih krvnih sudova značajno doprinosi nastanku i razvoju ateroskleroze.

Ključne reči: Ateroskleroza; Patološka neovaskularizacija; Vaskularni endotel; Aterosklerotski plak; Indukujući agensi angiogeneze; Inhibitori angiogeneze; Proteini angiogeneze; Medijatori inflamacije

Summary

Introduction. Atherosclerosis is a progressive, multifactorial, diffuse, multisystemic, chronic, inflammatory disease, which is manifested by disorders of vascular, immune and metabolic system. Pathogenesis of this disease is not fully understood. Accordingly, angiogenesis represents a special field of research due to its role in atherogenesis. **Steps of Angiogenesis.** Angiogenesis is a complex biological process, which requires the precise coordination of its four steps (vasodilatation and permeability, vessel destabilization and matrix degradation, endothelial cell proliferation and migration, and lumen formation and vessel stabilization). **Mediators of Angiogenic Process.** The process of forming new blood vessels is regulated by a delicate balance between proangiogenic and antiangiogenic molecules. Numerous soluble growth factors and inhibitors, cytokines, proteases, extracellular matrix proteins and adhesion molecules, as well as hypoxia, inflammatory process, shear stress, hypertension and interaction between cells and extracellular matrix strictly control the angiogenic process. Neovascularization is halted due to the downregulation of angiogenic factors or the increase of inhibitors of this process. **Tumor Vascularization.** In the asymptomatic phase of cancerogenesis, cancer rarely exceeds the diameter of 1-2 millimeters. However, when the metabolic demand increases, it leads to tumor vascularization. In this way, tumor switches to an angiogenic phenotype. The molecular basis of angiogenic switch refers to increased production of angiogenic factors and/or loss of angiogenic inhibitors. **Conclusion.** The contribution of angiogenic process has become increasingly meaningful in understanding the pathogenesis of atherosclerosis.

Key words: Atherosclerosis; Neovascularization, Pathologic; Endothelium, Vascular; Plaque, Atherosclerotic; Angiogenesis Inducing Agents; Angiogenesis Inhibitors; Angiogenic Proteins; Inflammation Mediators

Uvod

Angiogeneza podrazumeva nastanak, rast i razvoj novih krvnih sudova iz postojećih malih vena i kapilara.

Džon Hanter (John Hunter) [1].

Napomena

Ovaj rad je finansiran sredstvima iz projekta broj 175015 Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije.

Skraćenice

ADAM	– akronim (<i>A Disintegrin And Metalloproteases</i>)
AK	– aminokiselina
AM	– adrenomedulin
Ca ²⁺	– joni kalcijuma
CGRP	– peptid koji je povezan sa genom za kalcitonin (<i>calcitonin gene-related peptide</i>)
COOH	– karboksilna grupa
CRLR	– receptorski molekul nalik receptoru za kalcitonin (<i>calcitonin receptor-like receptor</i>)
EPC	– endotelne progenitorske ćelije koje vode poreklo od kostne srži
EPO	– eritropoetin
ERK1/2	– kinaze 1 i 2 čiju aktivnost regulišu ekstracelularni signali
ET-1	– endotelin-1
FGF	– faktor rasta fibroblasta (<i>fibroblast growth factor</i>)
aFGF (FGF-1)	– kiseli FGF
bFGF (FGF-2)	– bazni FGF
cGMP	– ciklični guanozin monofosfat
HIF-1 α	– faktor-1 α čije oslobađanje izaziva hipoksija (<i>hypoxia inducible factor-1α</i>)
ICP	– intracelularna petlja
MCP-1	– monocitni protein hemotakse-1 (<i>monocyte chemoattractant protein-1</i>)
MMP	– metaloproteinaze matriksa
NH ₂	– amino grupa
NO	– azot monoksid
PAMP	– <i>proadrenomedulin N-terminal 20 peptide</i>
PDGF	– trombocitni faktor rasta (<i>platelet derived growth factor</i>)
PI3K	– fosfoinozitol 3 kinaza
PLC γ	– fosfolipaza C γ
RAMPs	– <i>receptor-activity-modifying-proteins</i>
TNF α	– tumorski faktor nekroze α
VEGF	– vaskularni endotelni faktor rasta (<i>vascular endothelial growth factor</i>)
VGMĆ	– vaskularne glatke mišićne ćelije
VHL	– protein Fon Hipel-Lindau (<i>von Hippel-Lindau protein</i>)

U naučnim krugovima termin angiogeneza prvi je upotrebio engleski hirurg Džon Hanter 1787. godine, nastojeći da opiše neovaskularizaciju u rogu irvasa [1]. Angiogeneza predstavlja fiziološki proces, koji omogućava rast, razvoj i reparaciju

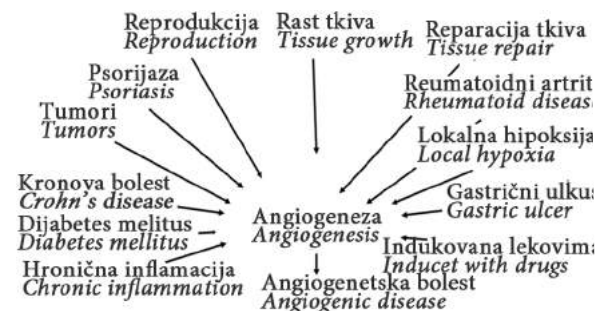
tkiva, kao i odvijanje reprodukcije funkcije (menstrualni ciklus, ovulacija, graviditet). Nasuprot tome, patološki razvoj mikrocirkulacije, koji se manifestuje prekomernom ili deficitarnom angiogenezom (angiogenezna bolest), uključen je u etiopatogenezu mnogih neoplastičnih i neneoplastičnih bolesti, uključujući i aterosklerozu (**Shema 1**) [2].

Ateroskleroza je progresivna, multifaktorska bolest, koja dovodi do očvršćavanja, zakrečavanja i suženja velikih arterija (aorte, karotidnih arterija, ilijačnih arterija, arterija mozga, koronarnih arterija) i arterija srednje veličine, sa predilekcionom lokalizacijom na mestima račvanja, odnosno njihovog odvajanja. U zavisnosti od lokalizacije, stepena suženja, anatomskih karakteristika vaskularne mreže i dužine trajanja okluzije, ateroskleroza i ishemija tkiva koju ona izaziva najčešće uzrokuju infarkt miokarda, moždani udar i perifernu vaskularnu bolest [3]. Aterogeneza je diskretan i podmukao proces koji počinje u ranom uzrastu i traje doživotno. Početne patološke promene se nalaze u intimi arterija. Osnovna karakteristična lezija je aterosklerozna ploča (plak – franc. *plaque*), tj. aterom (grčki *atheroma*) [4]. Po pravilu, ateroskleroza ostaje neotkrivena sve do kliničkog ispoljavanja njenih komplikacija (hemodinamički značajne stenozne krvnih sudova, fisure, rupture, hemoragije, tromboza, embolija, i dr.), koje dovode do smrti više od 19 miliona ljudi godišnje [5]. Ovoj bolesti, koja poslednjih nekoliko decenija poprima pandemijski karakter, s razlogom se pridaje veliki značaj na svim nivoima medicinskog istraživanja [3,4,6–11]. Međutim, uprkos velikoj pažnji koja se posvećuje proučavanju ateroskleroze, pokretač primarnog patološkog događaja još uvek je nepoznat. U tom smislu, posebno polje istraživanja predstavlja angiogeneza, imajući u vidu značaj koji proces stvaranja novih krvnih sudova ima u nastanku i razvoju ateromatoznog plaka. S tim u vezi, savremeno poimanje angiogenezu definiše kao formiranje novih krvnih sudova nastalih kao odgovor na dejstvo angiogenih faktora, koji se oslobađaju iz ishemijskih tkiva, tkiva koja se naglo razvijaju i/ili izrazito metabolički aktivnih tkiva [2,12–14].

Stadijumi angiogeneze

Angiogeneza je složen biološki proces, koji obuhvata četiri koordinisana stadijuma (vazodilataciju i povećanje propustljivosti zida krvnog suda, destabilizaciju krvnog suda i razgradnju matriksa, proliferaciju i migraciju endotelih ćelija, formiranje i stabilizaciju novog krvnog suda) [2].

Vazodilatacija i povećanje propustljivosti zida krvnog suda. Vazodilataciju krvnog suda doprinosi azot-monoksid (NO) osloboden iz endotelih ćelija, koji stimulišući guanilat-ciklazu dovodi do povećanja sinteze cikličnog guanozin-monofosfata (cGMP). Sintetisani cGMP, potom, izaziva relaksaciju glatke muskulature krvnog suda [12]. Pored toga, u endo-



Shema 1. Fiziološka i patološka angiogeneza
Scheme 1. Physiological and pathological angiogenesis

telnim ćelijama se formiraju organele, sastavljene od vezikula i vakuola, koje uzrokuju povećanu propustljivost zida krvnog suda. Naime, vezikule i vakuole su fenestrirane, čime je omogućena njihova međusobna komunikacija [15]. U toku angiogeneze fibrinogen i plazminogen, kao proteini plazme velike molekulske težine, koriste ove organele za svoj transport iz cirkulacije u okolno tkivo, u kojem će kasnije poslužiti kao vezivna potka kako bi se endotelne ćelije održale na okupu. U manjem obimu ekstravazacija proteina plazme vrši se i kroz međuendotelne ćelijske spojeve [16].

Destabilizacija krvnog suda i razgradnja matriksa. U ovom stadijumu angiogeneze, pre nego što endotelne ćelije započnu svoj rast, dolazi do odstranjivanja potpornih ćelija iz zida krvnog suda, tzv. pericita. Ovaj proces prati razgradnja bazalne membrane na koju naležu endotelne ćelije i remodelovanje perivaskularne strome. Tako strukturni proteini ekstracelularnog matriksa učestvuju u „pupljenju” krvnih sudova u tkivu u velikoj meri kroz interakcije sa integrinskim receptorima u endotelnim ćelijama. Preostali proteini vanćelijskog matriksa (npr. trombospondin i tenascin C) učestvuju u angiogenezi destabilizacijom interakcija ćelija i ekstracelularnog matriksa, što olakšava kontinuiranu ćelijsku migraciju, ili tako što razgrađuju ekstracelularni matriks i na taj način omogućavaju remodelovanje i urastanje novih krvnih sudova (npr. aktivator plazminogena i matriks metaloproteinaze /MMP/) [2].

Proliferacija i migracija endotelnih ćelija. Endotelne ćelije se normalno retko dele (jednom u tri godine). Zbog toga je, kada se izuzmu krvni sudovi uključeni u regeneraciju tkiva, ženski reproduktivni ciklus i graviditet, adulta vaskularna uglavnom „mirna” [12]. Međutim, u uslovima hronične inflamacije, koja je prisutna u aterosklerozno izmenjenom krvnom sudu, pod uticajem brojnih stimulatora angiogeneze, dolazi do proliferacije endotelnih ćelija. Ove ćelije, zatim, privučene hemoatraktantima migriraju kroz dezintegriranu bazalnu membranu u remodelovano i razmekšano perivaskularno polje [2].

Formiranje i stabilizacija novog krvnog suda. Nakon prelaska u područje smanjene vaskularizacije, endotelne ćelije se međusobno povezuju, grupišu u jedan sloj i stvaraju kapilarne formacije. Potom mezenhimske ćelije iz okolnog tkiva proliferišu i migriraju u pravcu ovih kapilarnih formacija, gde se diferenciraju u pericite, čime se završava proces stvaranja novog krvnog suda [2]. Na taj način, neovaskularizacija u ateromu povećava površinu za distribuciju inflamacijskih ćelija, pre svega leukocita. Tako, novi krvni sudovi ekspriimiraju veći broj vaskularnih ćelijskih adhezivnih molekula-1 (VCAM-1 → engl. *vascular cell adhesion molecule-1*) u poređenju sa endotelnim ćelijama koje pokrivaju plak. Uz to, oni omogućavaju bolju ishranu plaka kiseonikom i hranljivim materijama. Međutim, novi krvni sudovi su fragilni i

njihova ruptura dovodi do krvarenja u plaku, proliferacije vaskularnih glatkih mišićnih ćelija (VGMC) i povećanja matriksa [17]. Sloj intime bogat proteoglikanima, zajedno sa makrofagima, VGMC, limfocitima i mastocitima biva potisnut u područje između lipidne srži i endotelne površine. Lipidna srž plaka je, naročito na lateralnim ivicama i sa luminalne strane, ograničena novoformiranim kapilarima [18].

Medijatori angiogeneze

U regulaciji angiogeneze učestvuju brojni solubilni faktori, kao i faktori u vezi sa ćelijskom membranom (**tabele 1 i 2**) [2,14,19,20–23]. Interakcije ćelija i vanćelijskog matriksa, hemodinamički efekti (stres smicanja, engl. *shear stress*, povišen krvni pritisak, itd.), hipoksija i inflamacijski proces takođe su uključeni u regulaciju angiogeneze [12,16,24–26]. Prevaga stimulatora angiogeneze nad inhibitorima ovog procesa, podstiče i rast tumora, pojačava dinamiku hroničnog zapaljenja i ubrzava zarastanje rana i preloma [11,14,27].

Stimulatori angiogeneze. Do danas je otkriveno preko 112 faktora rasta endotelnih ćelija, od kojih su najviše proučeni vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF, engl. *vascular endothelial growth factor*) i faktor rasta fibroblasta (FGF, engl. *fibroblast growth factor*). Ova dva najpotentnija vaskularna mitogena deluju sinergistički u stvaranju novih i rastu već postojećih krvnih sudova [12]. Poznato je, takođe, da endotelni faktori rasta pokreću proliferaciju vaskularnih ćelija kao delovi kaskadne reakcije, u sadejstvu sa drugim biološki aktivnim molekulima, receptorima i putevima njihove signalne transdukcije [2]. S tim u vezi, za većinu medijatora angiogeneze utvrđeni su signalni putevi koje oni koriste u endotelnim ćelijama za ostvarivanje svog direktnog angiogenog efekta. Tako, na primer, VEGF svoje angiogeno dejstvo ostvaruje aktivacijom više signalnih molekula u endotelnim ćelijama, uključujući fosfolipazu $C\gamma$ (PLC γ), kinazu 1 i 2, čiju aktivnost regulišu ekstracelularni signali (ERK1/2), fosfoinozitol 3 kinazu (PI3K), protein-kinazu G (PKG), itd. Neki od ovih signalnih molekula, poput ERK1/2 su značajni za biosintezu i/ili aktivaciju transkripcijskog faktora Ets-1, koji vezivanjem za promotorski region određenih gena, učestvuje u stvaranju proteina ključnih za angiogenezu (β_3 subjedinice $\alpha_v\beta_3$ integrina, MMP, i dr.) [21]. Takođe je i za većinu drugih stimulatora angiogeneze pokazano da mogu podstaći stvaranje novih krvnih sudova pored ostalog i povećanjem sinteze Ets-1 i/ili njegovom aktivacijom u endotelnim ćelijama [13].

Po hemijskom sastavu VEGF je dimerički glikoprotein sa brojnim izoformnim oblicima. VEGF je u formi VEGF-A, -B, -C i D identifikovan kako u intaktnim ćelijama, tako i u ćelijama tumora, pri čemu VEGF-A označava VEGF u širem smislu, dok VEGF-C selektivno deluje na limfatičnu va-

Tabela 1. Najznačajniji proangiogeni molekuli
Table 1. The most important proangiogenic molecules

Aktivatori plazminogena	<i>Plasminogen activators</i>
Angiopoetini	<i>Angiopoietins</i>
Angiotenzin II	<i>Angiotensin II</i>
CXC hemokini sa ELR motivom	<i>CXC chemokines with ELR motif</i>
Endotelini	<i>Endothelins</i>
Eritropoetin (EPO)	<i>Erythropoietin (EPO)</i>
E-selektin	<i>E-selectin</i>
Familija vaskularnih endotelnih faktora rasta (familija-VEGF)	<i>Family of vascular endothelial growth factors (VEGF-family)</i>
Familija fibroblastnih faktora rasta (familija-FGF)	<i>Family of fibroblast growth factors (FGF-family)</i>
Faktori rasta slični insulinu (IGFi)	<i>Insulin-like growth factors (IGFs)</i>
Integrini	<i>Integrins</i>
Interleukini	<i>Interleukins</i>
Inhibitor aktivatora plazminogena (IAP)	<i>Plasminogen activator inhibitor (IAP)</i>
Leptin	<i>Leptin</i>
Metaloproteinaze matriksa (MMP)	<i>Matrix metalloproteinases (MMPs)</i>
Azot monoksid (NO)	<i>Nitric oxide (NO)</i>
Trombocitni faktor rasta (PDGF)	<i>Platelet derived growth factor (PDGF)</i>
Rezistin	<i>Resistin</i>
Neuropeptid Y (NPY)	<i>Neuropeptide Y (NPY)</i>
Transformišući faktor rasta β (TGF β)	<i>Transforming growth factor β (TGFβ)</i>
Tumorski faktor nekroze α (TNF α)	<i>Tumor necrosis factor α (TNFα)</i>
Urotenzin II	<i>Urotensin II</i>
Vaskularni ćelijski adhezivni molekul-1 (VCAM-1)	<i>Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)</i>
Vazoaktivni intestinalni peptid (VIP)	<i>Vasoactive intestinal peptide (VIP)</i>

skulaturu [2]. VEGF se nalazi u tkivima u malim količinama. Međutim, naglašena ekspresija ovog vaskularnog mitogena prisutna je u podocitima bubrega i ćelijama miokarda. VEGF ima ključnu ulogu u fiziološkoj angiogenezi, aterosklerozi, dijabetesnoj retinopatiji, reumatoidnom artritisu i razvoju brojnih tumora kod ljudi. Povećana produkcija VEGF iz imunih i inflamacijskih ćelija obolelih od reumatoidnog artritisa može posredovati u urastanju vaskularnog panusa u zglob [12]. Snižena koncentracija ovog vaskularnog mitogena u organizmu se dovodi u vezu sa olakšanim nastankom ulkusa na želucu i organskih disfunkcija u preeklampsiji [2].

VEGF doprinosi inicijalnoj vazodilataciji podstičući stvaranje NO. Pored toga, brojni endotelni faktori rasta, uključujući trombocitni faktor rasta (PDGF, engl. *platelet derived growth factor*), tumorski faktor nekroze α (TNF α), transformišući faktor rasta β (TGF β , engl. *transforming growth factor β*) i interleukin-1 β (IL-1 β) učestvuju u angiogenezi tako što podstiču ekspresiju VEGF, koji potom indukuje sintezu aktivatora plazminogena i MMP-1 u endotelnim ćelijama, i tako podržava remodelovanje perivaskularnog matriksa [21,28]. Članovi familije VEGF se vezuju za receptore (VEGFR-1, 2 i 3) koji imaju tirozin-kinaznu ak-

tivnost. U angiogenezi značajnu ulogu ima VEGFR-2, koji se nalazi na endotelnim ćelijama [21].

Do danas je izolovano preko 20 članova familije FGF i 4 različita receptora za FGF (FGF R), koji funkcionišu posredstvom aktivnosti tirozin-kinaze. FGF produkuju neadekvatno prokrvljena tkiva i tumori. Kiseli FGF (aFGF /FGF-1/) i bazni FGF (bFGF /FGF-2/) predstavljaju dva najrasprostranjenija oblika ovog stimulatora angiogeneze, koji se vezuju za sva četiri FGF receptora, delujući kao vaskularni mitogeni i faktori hemotakse za endotelne ćelije, fibroblaste i druge tipove ćelija. FGF-2 se ugrađuje u bazalnu membranu, a zatim oslobađa kad specifični enzimi razgrade ovu strukturu. Ovako oslobođeni faktor može da stimuliše proliferaciju VGMĆ, koja kasnije može dovesti ili do reparacije intime ili do još veće njene lezije, kao što je neointimalna hiperplazija [12]. Povišena koncentracija FGF-2 je nađena u mozgu i hipofizi. U endotelnim ćelijama Kapošijevog (*Kaposi*) sarkoma, kao i u serumu i urinu pacijenata sa uznapredovalim raznim tipovima karcinoma, takođe je prisutan povišen sadržaj FGF-2 [2]. Koncentracija bFGF je 23 puta niža kod obolelih od ulkusne bolesti u odnosu na zdrave osobe [12]. Oralna upotreba aFGF indukuje angiogenezu u ulceroznom slivu i ubrzava reparaciju oštećenja želudačne slu-

Tabela 2. Najznačajniji antiangiogeni molekuli
Table 2. The most important antiangiogenic molecules

Angiostatin	<i>Angiostatin</i>
Antitrombin III	<i>Antithrombin III</i>
Arestin	<i>Arrestin</i>
Endorepelin	<i>Endorepellin</i>
Endostatin	<i>Endostatin</i>
Fibulin	<i>Fibulin</i>
Fragment prolaktina	<i>Prolactin fragment</i>
Grelin	<i>Ghrelin</i>
Inhibitor aktivatora plazminogena (IAP)	<i>Plasminogen activator inhibitor (IAP)</i>
Interferon α (INF α)	<i>Interferon α (INFα)</i>
Interferon β (INF β)	<i>Interferon β (INFβ)</i>
Kanstatin	<i>Canstatin</i>
Kolagen XVIII	<i>Collagen XVIII</i>
Metaloproteinaze matriksa (MMP)	<i>Matrix metalloproteinases (MMPs)</i>
Natriuretikički peptidi	<i>Natriuretic peptides</i>
Prolaktin	<i>Prolactin</i>
Somatostatin	<i>Somatostatin</i>
Tkivni inhibitori MMP	<i>Tissue inhibitors of MMP</i>
Trombocitni faktor-4	<i>Platelet factor-4</i>
Trombospondin-1	<i>Thrombospondin-1</i>
Trombospondin-2	<i>Thrombospondin-2</i>
Troponin-1	<i>Troponin-1</i>
Tumstatin	<i>Tumstatin</i>
Vaskulostatin	<i>Vasculostatin</i>
CXC hemokini bez ELR motiva	<i>CXC chemokines free of ELR motif</i>

znice kod eksperimentalnih životinja. Pokazano je, takođe, da *Helicobacter pylori* proizvodi angiogene inhibitore, koji usporavaju proces izlječenja ulkusa na želucu [2].

Integrini imaju važnu ulogu u regulaciji angiogeneze. Tako, na primer, $\alpha_v\beta_3$ integrin, član β_3 potfamilije integrina, doprinosi angiogenezi na više načina. Vezivanjem MMP-2 i lokalizovanjem aktivne forme ovog enzima na prednjim krajevima krvnih sudova u nastajanju, $\alpha_v\beta_3$ integrin učestvuje u remodelovanju ekstracelularnog matriksa [2]. Takođe, $\alpha_v\beta_3$ integrin omogućava adheziju endotelih ćelija za proteine ekstracelularnog matriksa i njihovu migraciju kroz ovu sredinu, a održavanjem aktivnosti ERK1/2, $\alpha_v\beta_3$ integrin u kooperaciji sa drugim stimulatorima angiogeneze utiče i na proliferaciju, maturaciju i preživljavanje endotelih ćelija u toku angiogeneze [19].

Hemokini su familija sekretornih proteina, relativno male molekulske težine (8-12 kDa), čija je primarna funkcija da indukuju usmerenu migraciju ćelija (hemotaksiju) u pravcu mesta hemokinske produkcije. Na osnovu broja cisteinskih rezidua (C) na amino (NH_2) kraju hemokinskog molekula i umetnutih aminokiselina (X je umetnuta bilo koja aminokiselina osim cisteina) između njih, hemokini su podeljeni u četiri potfamilije označene

kao C, CC, CXC i CX₃C. Hemokini svoja biološka dejstva ostvaruju preko G-protein vezanih receptora eksprimiranih na površini ciljnih ćelija. Hemokinski receptori su glikoproteini prosečne dužine oko 350 aminokiselina (AK), sastavljeni od sedam transmembranskih domena (TM1-7), tri ekstracelularne petlje (ECP1-3) i tri intracelularne petlje (ICP1-3). Karboksilni (COOH) kraj receptora je smešten u citoplazmi, a NH_2 završetak se nalazi izvan ćelije. Preko NH_2 kraja i ECP receptori se vezuju za hemokine, a preko ICP i COOH receptori su povezani sa G-proteinom [29]. Imajući u vidu da gotovo svaka ćelija u organizmu, uključujući i one u sastavu tumora, može biti izvor hemokina i eksprimirati hemokinski receptor na svojoj površini, funkcije hemokina nisu ograničene samo na leukocite. Naime, pokazano je da hemokini takođe mogu delovati na endotelne ćelije [30]. Tako, CXCL1, CXCL2, CXC3, CXCL8 i CXCL9 stimulišu angiogenezu. Pokazano je, takođe, da od strukture NH_2 završetka zavisi ispoljavanje efekata CXC-hemokina na angiogenezu. Na primer, onkogeni povezani sa rastom (Gro, engl. *growth related oncogenes*) α , β i γ , interleukin-8 (IL-8), granulocitni protein hemotakse-2 (GCP-2, engl. *granulocyte chemoattractant protein-2*) i ENA-78 (engl. *epithelial neutrophil activa-*

ting protein 78) dele tri aminokiseline (Glu-Leu-Arg), tzv. ELR motiv. Članovi ove podgrupe hemotaktički deluju na endotelne ćelije *in vitro* i indukuju neovaskularizaciju u tkivu rožnjače *in vivo* [27].

Na osnovu dosadašnjih istraživanja, veliki su izgledi da epitet „angiogeni” ponesu i monocitni protein hemotakse-1 (MCP-1, engl. *monocyte chemoattractant protein-1*), u literaturi poznat i pod imenom CCL2, kao i CCL5 (RANTES, engl. *Regulated on Activation Normal T Expressed and Secreted*). Ovi biološki aktivni molekuli spadaju u CC hemokine, koji imaju dve cisteinske rezidue na svom NH₂ kraju koje se nalaze neposredno jedna uz drugu. CC hemokini se vezuju za CC receptore na ciljnim ćelijama. CCL2 i CCL5 oslobađaju endotelne ćelije, fibroblasti, ćelije tumora i makrofagi koji su povezani sa tumorima (TAMs, engl. *tumor-associated macrophages*). Smatra se da je funkcija ovih hemokina privlačenje monocita na mesto tkivnog oštećenja, koji, zatim, luče angiogene faktore sa direktnim delovanjem na endotelne ćelije [23,29]. S obzirom da je ekspresija MCP-1 u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa stepenom angiogeneze u području inflamacije, sugerisano je da ovaj hemokin može i direktno da utiče na angiogenezu vezivanjem za svoj CCR2 receptor na endotelnim ćelijama. U tom smislu, transkripcijski faktor Ets-1 uzet je u razmatranje kao potencijalna meta hemokina CCL2 za ostvarivanje njegove angiogene uloge. Takođe, CCL2 je značajno prisutan i u malignim tumorima sa izraženom angiogenezom, kao i u tumorima vaskularnog porekla čiji se nastanak povezuje sa pojavom patološke angiogeneze. Međutim, precizni molekularni mehanizmi angiogenog delovanja CCL2 u kancerogenezi još uvek su nepoznati [27,29].

Angiopoetini predstavljaju važne regulatore angiogeneze, koji se vezuju za transmembranski receptor Tie-2 i najverovatnije Tie-1. Ovi receptori su od esencijalnog značaja za pravilno formiranje i razvoj krvnih sudova. Tie receptori su deo familije receptora tirozin kinaze (RTK, engl. *receptor tyrosine kinase*), koja je podeljena na dve glavne podgrupe shodno AK sastavu (familija VEGF koja uključuje Flt-4 i Flk-1/KDR, i familija VEGF koja obuhvata Tek /Tie-2/ i Tie-1 receptore). Smatra se da angiopoetin-1 (angpt-1), koji sekretuju periciti, mezenhim i VGMC stabilizuje novoformirane krvne sudove. Angpt-2 sekretuju endotelne ćelije i VGMC. Prisustvo ovog biološki aktivnog molekula je uočeno u uterusu, ovarijumima, placenti, prostati, skeletnim mišićima, tankom crevu, srcu i nekim područjima mozga. Angiopoetini koriste isti domen za vezivanje sa Tie receptorima, dok Angpt-1 i Angpt-2 koji su neophodni za diferencijaciju i proliferaciju endotelnih ćelija mogu da se vezuju i sa drugim receptorima, uključujući integrine. Tie-2 receptor učestvuje u aktivaciji transkripcijskih faktora (STATs) 1, 2, 3 i 5. STAT 3 je bitan faktor u inicijaciji i regulaciji angiogeneze [20].

U regulaciji angiogeneze učestvuju i *endotelini* (ET). Endotel stvara endotelin-1 (ET-1), pored

ostalog, kao odgovor na stimulaciju TGF- β . ET-1 se, osim u vaskularnom tkivu, sintetiše i u mozgu [31]. Prekomerna ekspresija ovog endotelina i njegovih receptora je uočena i u kancerogenezi (karcinom pluća, karcinom debelog creva, i dr.). ET-2 i ET-3 su izoforme endotelina koje se sreću u tkivu mozga, bubrega, nadbubrežne žlezde i intestinalnog trakta. Danas se smatra da postoji i četvrti oblik endotelina označen kao vazoaktivni intestinalni kontraktor (VIC, engl. *vasoactive intestinal contractor*) [19]. ET_A i ET_B predstavljaju receptore za endoteline, spregnute sa G-proteinom, koji ima sedam domena vezanih za PLC i PKC. ET_A receptor ima najveći afinitet za ET-1, a najmanji za ET-3, dok ET_B receptor pokazuje podjednak afinitet za sva tri endotelina. Aktivnost ET_A i ET_B receptora određuje kakav će biti odnos između vazokonstrikcije i vazodilatacije. ET_A receptor glatkih mišića pokazuje veći afinitet za ET-1 nego ET-3, izazivajući vazokonstrikciju. Aktivaciju ET_A receptora prati aktivacija PLC, hidroliza fosfoinozitol difosfata (PIP₂) i mobilizacija intracelularnog kalcijuma (Ca²⁺) posredstvom diacil glicerola (DAG) i PKC. Istovremeno, aktiviraju se voltažno zavisni Ca²⁺ kanali, koji omogućavaju transmembranski ulazak Ca²⁺. Aktivacija ET_B receptora omogućava oslobađanje prostaciklina i nastaje vazodilatacija. U fiziološkim uslovima, koncentracija endotelina u cirkulaciji je veoma mala [31]. Međutim, aterogeneza podstiče produkciju endotelina, pri čemu je ekspresija endotelinskih receptora nishodno regulisana [19]. U takvim okolnostima, najznačajniji stimulus za povećano stvaranje i oslobađanje endotelina u humanim ateroskleroznim krvnim sudovima su oksidacijski modifikovani lipoproteini male gustine (oxLDL) [11]. Ovi proteini tom prilikom utiču i na aktivnost nekoliko proteaza članova ADAM (engl. *A Disintegrin And Metalloproteases*) familije (ADAM 8, 9, 10, 15 i 17), koji su uključeni u regulaciju angiogeneze [14]. Pored endotelinih ćelija, i VGMC, naročito one koje migriraju u intimu u toku aterogeneze, mogu proizvoditi endoteline, i na taj način doprineti ubrzanom razvoju neovaskularizacije [31]. Pored toga, nedavna istraživanja su pokazala da neovaskularizacija ateroskleroznih lezija favorizuje njihovu progresiju. Štaviše, tom prilikom je utvrđeno da VGMC koje učestvuju u stvaranju plaka zadržavaju proangiogeni fenotip. Smatra se, takođe, da bi ove ćelije mogle biti glavni organizatori angiogenog odgovora u ranoj fazi aterogeneze [13].

Eritropoetin (EPO) je glikoprotein koji proizvode hepatociti fetusa, a nakon rođenja u kori bubrega ga stvaraju peritubularne ćelije nalik fibroblastima. Faktor koji oslobađa hipoksija (HIF, engl. *hypoxia inducible factor*) indukuje njegovu gensku ekspresiju. EPO deluje preko dva receptorska molekula posredstvom signalnog puta koji obuhvata janus kinaze (JAK), STAT i PI3K, i na taj način stimuliše angiogenezu i rast tumora, a inhibira apoptozu [19].

Angiotenzin II (ANG) je oktapeptid koji deluje preko dva glavna podtipa G-proteinskih receptora, a to su AT₁-R i AT₂-R, koji su eksprimirani na vaskulaturi [19].

Adrenomedulin (AM) i *PAMP* (engl. *proadrenomedulin N-terminal 20 peptide*) su peptidi koji vode poreklo od proadrenomedulina i sintetisu se u srcu i krvnim sudovima. AM svoju funkciju ostvaruje preko receptora koji potiču od receptorskog molekula nalik receptoru za kalcitonin (CRLR, engl. *calcitonin receptor-like receptor*). CRLR, u zavisnosti od njegovih interakcija sa članovima familije proteina označenih kao RAMPs (engl. *receptor-activity-modifying proteins*) može da deluje ili kao peptid koji je povezan sa genom za kalcitonin (CGRP, engl. *calcitonin gene-related peptide*), ili kao receptor za AM. Tako RAMP₁ stvara CGRP R iz CRLR, dok RAMP₂ i RAMP₃ produkuju AM R označene kao AM₁-R i AM₂-R. AM ispoljava angiogeni efekat i u fiziološkim i u patološkim uslovima posredstvom AM₁-R i AM₂-R, koji aktiviraju MAPK (engl. *mitogen-activated protein kinase*), Akt kaskadni signalni put i kinazu uključenu u fokalne adhezivne procese. AM stimuliše razvoj vaskularnih kolaterala kao odgovor na akutnu ishemiju. Povišena koncentracija ovog angiogenog molekula je nađena i u različitim tipovima karcinoma. Slično AM, PAMP dovodi do migracije endotelnih ćelija i ubrzanog rasta tumora [19].

Urotenzin-II je ciklični peptid sastavljen od 11 AK, koji preko receptora označenog kao UT-R stimuliše neovaskularizaciju u srcu, velikim arterijama, mikrovaskulaturi nervnog tkiva i nekoliko tumorskih ćelijskih linija [19].

Adipociti sekretuju citokine (VEGF i TNF- α) i adipokine (*leptin*, *adiponektin* i *rezistin*), koji su uključeni u modulaciju angiogeneze. U ljudi leptin je peptid sastavljen od 167 AK, koji nastaje kao produkt transkripcije *ob* gena. Ovaj adipokin funkcioniše posredstvom specifičnih receptora (Ob-Ra, -b, -c, -d, -e i -f). Endotelne ćelije eksprimiraju Ob-Ra i Ob-Rb, a zatim proliferišu posredstvom aktivacije STAT 3 i ERK1/2. U placenti je povišena koncentracija leptina, koja obezbeđuje održavanje vaskularne propustljivosti [19].

Adiponektin je produkt masnog tkiva, koji kod ljudi egzistira ili kao peptid čiju strukturu čini 230 AK (deluje preko receptora označenog kao adipor₂), ili kao globularna forma proteina sastavljena od 147 AK (deluje preko adipor₁). Smatra se da adiponektin doprinosi vaskularnom remodelovanju sprečavanjem oslobađanja IL-8 iz endotelnih ćelija, što utiče na aktivnost nuklearnog faktora- κ B (NF- κ B), protein-kinaze zavisne od cikličnog adenozin-monofosfata (cAMP-PK) i PI3K-Akt kaskada [19].

Rezistin je adipokin koji deluje kao stimulator angiogeneze podstičući proliferaciju VGMC posredstvom ERK1/2 i PI3K signalnih puteva [19].

Neuropeptid Y (NPY) u eksperimentalnim uslovima preko receptora koji su vezani sa G protei-

nom, označenih kao Y₁-R i Y₂-R, stimuliše proliferaciju VGMC aorte, dok putem Y₂-R i Y₅-R podstiče rast i neovaskularizaciju neuroblastoma [19].

Deficitarna angiogeneza karakteriše srčanu slabost i oštećenja tkiva izazvana *lokalnom hipoksijom* i ishemijom. Oboljenja bubrega i gubitak koštane mase karakteriše progresivan gubitak mikrovaskulature. Plućnu fibrozu i emfizem takođe karakterišu redukovani angiogeni signali. U stanjima lokalne hipoksije uzrokovane vaskularnom ishemijom podstaknuto je oslobađanje HIF-1 α i VEGF, koji utiču na stvaranje novih krvnih sudova (kolaterala) [16]. Tako, u slučaju arterijske okluzivne bolesti, kod koje uglavnom usled ateroskleroze dolazi do stenoze i okluzije perifernih, koronarnih, renalnih, cerebralnih i drugih arterija, sudovne grančice suženih vaskularnih stabala preuzimaju njihovu funkciju. One tada ne samo da nastavljaju da snabdevaju krvlju kapilarno korito, već i preusmeravaju krv oko obolelog segmenta. Štaviše, u takvim okolnostima povećava se stres smicanja u suženim arterijama, dovodeći do proširenja kolaterala. U nekim slučajevima kolateralizacija nastala na ovaj način je bila efikasna u sprečavanju razvoja ishemije u mirovanju ili čak u toku stresa [12]. Međutim, kod većine obolelih od arterijske okluzivne bolesti kolaterale nisu u mogućnosti da snabdeju tkivo dovoljnom količinom krvi, što dovodi do hipoksije. S tim u vezi, intenzivno se istražuju angiogeni faktori rasta koji bi u terapijskom smislu kompletno premostili prepreku kod obolelih od koronarne i periferne arterijske bolesti. Preklinička ispitivanja farmakološkog stvaranja kolaterala (angiogeneza indukovana lekovima) na eksperimentalnim modelima miokardne ishemije i ishemije donjih ekstremiteta dala su ohrabrujuće rezultate [2]. Članovi FGF familije su prvi korišćeni kao potencijalna terapija periferne vaskularne bolesti i ishemijske bolesti srca i mozga [32]. Naime, bFGF je aplikovan zčečevima sa akutnom perifernom ishemijom u dnevnoj dozi od 1 do 2 μ g. Nakon dvonedeljnog tretmana, u donjim ekstremitetima životinja angiografskim merenjem kapilarne gustine ustanovljeno je znatno povećanje broja kolateralnih krvnih sudova. Do sličnog rezultata se došlo i korišćenjem eksperimentalnog modela ishemije ekstremiteta pacova, koja je postignuta ligiranjem femoralne arterije. Time je bFGF postao dobar kandidat za terapiju periferne vaskularne bolesti, što je dalo podsticaj da se na kardijalnim eksperimentalnim modelima nastave istraživanja njegovog farmakološkog potencijala. Tako je na eksperimentalnom modelu infarkta miokarda, koji je izazvan arteficialnim stvaranjem tromba u levoj koronarnoj arteriji, pokazano da bFGF dovodi do smanjenja veličine infarkta, povećanja arterijske i kapilarne mreže u blizini infarktne zone, kao i oporavka funkcije miokarda. Slično tome, korišćenjem eksperimentalnog kardijalnog modela ishemije izazvane vazokonstriktivnim sredstvima, došlo se do zaključka da bFGF nakon aplikovanja u periadventički prostor u blizini ishemijske zone izaziva po-

većanje protoka kroz koronarne arterije i u skladu s tim, smanjenje progresije bolesti [12].

Nedavna istraživanja su istakla mogućnost korišćenja HIF-1 α u terapijske svrhe, s obzirom da ovaj stimulator angiogeneze, kao glavni transkripcijski faktor koji se oslobađa u ishemijskim uslovima, ima ulogu u modulaciji ćelijskog metabolizma, a takođe učestvuje i u procesima ćelijske proliferacije i diferencijacije [16]. Osim toga, u toku su ispitivanja koja će razjasniti u kom stepenu VEGF može biti pogodan za lečenje pacijenata sa ishemijskim oštećenjima tkiva [2]. Pokazano je da oslobađanje VEGF izazvano ishemijom istovremeno stimuliše endotelne progenitorske ćelije koje vode poreklo od kostne srži (EPC), pa one prelaze u ishemijsko područje i potom se inkorporiraju u neovaskularizovana cirkulacijska korita. Smatra se da EPC dovode do proliferacije rezidentnih endotelnih ćelija i potencijalno rezidentnih matičnih ćelija. Pored toga, EPC mogu da učestvuju u reendotelizaciji vaskularnih implanata, kao i u neovaskularizaciji rana na koži i kancerogenezi. Mehanizam kojim se EPC iz kostne srži navode (engl. *homing*) da migriraju ka mestima povrede još nije poznat [32]. Na značaj proliferacije rezidentnih endotelnih ćelija u angiogenezi ukazala su i eksperimentalna istraživanja neovaskularizacije u tkivima zahvaćenim *hroničnom inflamacijom*. Tom prilikom je uočeno da se za približno hiljadu dana obnovi preko bilion endotelnih ćelija koje oblažu skoro 1 000 m² površine, koliko zbirno zauzimaju krvni sudovi odraslog čoveka telesne težine 70 kg. Pokazano je, takođe, da je čak i mali procenat proliferacije endotelnih ćelija koji nastaje kao odgovor na arterijsku okluziju ili dejstvo egzogenih faktora rasta dovoljan da se obezbedi osnova za formiranje novog krvnog suda [12]. U uslovima hronične inflamacije, formirani novi krvni sudovi mogu da uzrokuju dodatno rasplamsavanje zapaljenjskog procesa, što se uočava u različitim patološkim stanjima (aterosklerozi, reumatoidnom artritisu, psorijazi, itd.) [11, 12]. Tako, kod osoba koje boluju od reumatoidnog artritisa angiogeneza doprinosi rastu i održavanju sinovijskog panusa [2]. Slično tome, kod obolelih od psorijaze prekomerno aktivirani keratinociti proizvode i sekretuju stimulator angiogeneze, koji dovode do formiranja novih krvnih sudova u koži. Neovaskularizacija je prisutna i u epidermisu, koji predstavlja avaskularni deo kože, u kome novoformirani krvni sudovi doprinose nastanku psorijaznog plaka [12].

Inhibitori angiogeneze. Inhibitori angiogeneze normalno štite vaskularni endotel od mitogenih stimulusa. Više od 300 potencijalnih inhibitora je identifikovano, od kojih se 80 nalazi u fazi kliničkih ispitivanja [2]. *Trombospondin-1* je heparin-vezujući protein ekstracelularnog matriksa, koji inhibira proliferaciju endotelnih ćelija u različitim tkivima, uključujući i tumore [27]. *Angiostatin* indukuje regresiju velikih tumora i inhibira rast primarnih tumora do 98% [2]. *Endostatin* predstavlja C-terminalni proteolitički fragment kolagena XVIII,

koji ulazi u sastav bazalne membrane. Smatra se da ovaj angiostatik indukuje apoptozu endotelnih ćelija i inhibira aktivnost MMP [2]. *Somatostatin* je inhibitor angiogeneze koji je u organizmu prisutan u vidu dve biološki aktivne forme (somatostatin 14 i somatostatin 28). On deluje preko pet podtipova receptora spregnutih sa G proteinom (SST1-R, SST2-R, SST3-R, SST4-R i SST5-R). Kod ljudi krvni sudovi imaju povećan broj SST1 receptora, dok je ekspresija SST2 i SST4 receptora snižena. Nasuprot tome, izrazita zastupljenost SST2 receptora uočava se u krvnim sudovima tumora. Putem ovih receptora somatostatin inhibira proliferaciju endotelnih ćelija, ili do ovog efekta dovodi indirektnim putem, suprimirajući produkciju VEGF [19]. U angiostatike se ubraja i *grelin*, koji u brojnim tkivima i organima preko svojih GHS-R1a i GHS-R1b receptora značajno snižava aktivnost tirozin-kinaze i ERK1/2, i na taj način inhibira dejstvo FGF-2 [19]. *Natriuretčki peptidi* (atrijalni natriuretčki peptid/*ANP*) i moždani natriuretčki peptid/*BNP*, engl. *brain natriuretic peptide*), koji se sintetišu u srcu, kao i natriuretčki peptid endotelnih ćelija (*CNP*) inhibitori su angiogeneze koji u krvnim sudovima čoveka sprečavaju proliferaciju endotelnih ćelija vezivanjem za tri podtipa receptora (A-R i B-R, koji modulišu kalijumske kanale putem produkcije cGMP, i C-R, čija aktivnost ne zavisi od guanilatciklaze). Natriuretčki peptidi do ovog efekta dovode i indirektnim putem, posredstvom nishodne regulacije VEGF sistema. Pokazano je, takođe, da bi prekomerna ekspresija neuropeptida mogla da bude uzrok relativne nedelotvornosti spontane neovaskularizacije kod nekih pacijenata sa hroničnom srčanom ishemijom, kao i njihovog slabog odgovora na kliničke tretmane angiogenim sredstvima [19].

Angiogeneza u tumoru

Tumor dijametra 1–2 mm difuzijom dobija sve materije koje su mu neophodne za rast, tako da dalja sudbina tumora zavisi od razvoja adekvatne neovaskularizacije. Kada angiogeni faktori odnesu prevagu nad angiogenim inhibitorima, počinje formiranje novih krvnih sudova u tumoru, što označava prelazak premaligniteta u zloćudni tumor. Angiogeni faktori koje izlučuju tumorske ćelije 10 000 puta povećavaju sposobnost deobe endotelnih ćelija. One zatim migriraju, i tom prilikom razgrađuju bazalnu membranu kapilara i međućelijsku supstanciju zahvaljujući proteazama koje same luče, ili ih izlučuju tumorske ćelije i makrofagi. Na kraju, endotelne ćelije izgrađuju tumorske krvne sudove, koji su propustljiviji, prošireni i nasumično povezani [19]. Krvni sudovi tumora predstavljaju ulaz tumorskih ćelija u cirkulaciju, što je prvi korak ka razvoju metastaza. Naime, utvrđeno je da je angiogeneza u neposrednoj vezi sa zloćudnom transformacijom tumora, odnosno što je angiogeneza naglašenija, tumor je zloćudniji i brže metastazira. Osim toga, kvantitetom angiogeneze u situacijama kada je dijagnostikovao tu-

mor može se predvideti rizik metastaze i recidiva [12]. Ustanovljeno je, takođe, da novostvorene endotelne ćelije podstiču rast okolnih tumorskih ćelija oslobađanjem faktora rasta, kao što su faktori rasta slični insulinu (IGFs, engl. *insuline-like growth factors*), PDGF i faktor stimulacije granulocitno-monocitnih kolonija (GM-CSF, engl. *granulocyte colony stimulating factor*) [27].

U ranoj fazi rasta, većina humanih tumora ne izaziva angiogenezu. Oni godinama ostaju mali ili *in situ*, dok prekidač za angiogenezu (engl. *angiogenic switch*) ne okonča ovo stanje vaskularnog mirovanja [19]. Molekulsku osnovu angiogenog prekidača čine povećano stvaranje angiogenih faktora i/ili gubitak angiogenih inhibitora. Ove medijatore angiogeneze mogu da stvaraju same tumorske ćelije, inflamacijske ćelije (makrofagi i dr.) i druge ćelije strome povezane sa tumorom [27]. Poznato je da angiogenezu kod tumora podstiče hipoksija, što rezultuje povećanom ekspresijom angiogenih faktora (VEGF, IL-8, bFGF, i dr.) i redukovanim ispoljavanjem inhibitora angiogeneze (faktora trombocita-4, trombospondina, angiostatina i dr.). U takvim uslovima stimulirano je stvaranje VEGF putem prethodne aktivacije HIF-1 α , koji predstavlja transkripcijski faktor osetljiv na nivo kiseonika. HIF-1 α se neprekidno stvara, pri čemu se za njega u uslovima normalnog nivoa kiseonika vezuje protein *Fon Hipel-Lindau* (VHL) izazivajući njegovu razgradnju ubikvitinskim putem. U stanjima hipoksije, koja se uočavaju u tumorima koji su dostigli kritične dimenzije, nedostatak kiseonika sprečava VHL da prepozna HIF-1 α , tako da HIF-1 α prelazi u jedro i aktivira transkripciju ciljnih gena sa oslobađanjem VEGF kao posledicom. Na taj način VHL

se ponaša kao tumor-supresorski gen. Pritom su mutacije gena VHL u germinativnim ćelijama udružene sa naslednim oblicima karcinoma bubrežnog parenhima, feohromocitomom, hemangiomom centralnog nervnog sistema, angiomom mrežnjače i cistama bubrega (sindrom VHL) [16]. Pored toga, stimulatori i inhibitori angiogeneze su regulisani i drugim genima, koji su često mutirani u malignim tumorima. Na primer, u normalnim ćelijama p⁵³ može da podstakne stvaranje trombospondina-1 koji inhibira angiogenezu, uz istovremeno suzbijanje ispoljavanja VEGF, koji podstiče neovaskularizaciju. Na taj način gubitak p⁵³ u tumorskim ćelijama obezbeđuje tolerantnije okruženje za angiogenezu. Na transkripciju VEGF utiču i signali puta RAS-MAP kinaze, dok mutacije *RAS* ili *MYC* stimulišu stvaranje VEGF [19].

Proteaze koje potiču direktno iz tumorskih ćelija ili ćelija strome kao reakcija na tumor, takođe su uključene u regulaciju odnosa angiogenih i antiangiogenih faktora. Mnoge proteaze mogu izazvati oslobađanje bFGF deponovanog u ekstracelularnom matriksu. Nasuprot tome, tri snažna inhibitora angiogeneze, angiostatin, endostatin i vaskulostatin, nastaju proteolitičkim cepanjem plazminogena, kolagena i transtiretina [2].

Zaključak

Naučnici su još uvek daleko od potpunog razumevanja patofizioloških mehanizama angiogeneze u aterosklerozi. Ostaje nada da će buduća istraživanja angiogenezne bolesti moći da rasvetle za sada skrivena mesta potencijalne terapijske intervencije.

Literatura

- Palmer JF. The works of John Hunter. London: Green and Longman; 1835.
- Bisht MDC, Bist DSS. Angiogenesis: future of pharmacological modulation. *Indian J Pharmacol* 2010;42(1):2-8.
- Vučević D, Radak Đ, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I. Ateroskleroza u svetlu postojećih naučnih teorija. *Med Istraž* 2008;42(2):29-36.
- Vučević D, Radak Đ, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I. Fibrozni plak kao metabolički stadijum aterogeneze. *Med Istraž* 2009;43(1):35-47.
- Rapp JH, Owens CD, Johnson MD. Blood vessel and lymphatic disorders. In: Mc Phee SJ, Papadakis MA, eds. *Current medical diagnosis and treatment*. New York: Mc Graw Hill Companies; 2011. p. 446-69.
- Vučević D, Čolić J, Šljivančanin T, Radosavljević T, Mladenović D. Lipidni profil i sadržaj gvožđa u serumu kunića sa eksperimentalnom aterosklerozom. *Med Istraž* 2010;44(2):43-52.
- Vučević D, Radosavljević T, Mladenović D, Šteković J, Gajin P, Milovanović I, et al. Lipidni profil u serumu kunića sa eksperimentalnom aterosklerozom. *Med Čas* 2010;4:9-15.
- Vučević D, Radak Đ, Gajin P, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I, i dr. Aktivnost alfa naftil butirata esterase u humanom karotidnom plaku različite morfologije. *Med Istraž* 2011;45(4):56-65.
- Vučević D, Radosavljević T, Mladenović D, Čolić J, Milovanović I, Pešić BČ, i dr. Iron as an agent of oxidative injury in experimental atherosclerosis. *Acta Veterin* 2011;61(5-6):631-41.
- Vučević D, Radak Đ, Kovačević D, Milovanović I, Radosavljević T, Mladenović D, et al. Citohemijska analiza alfa naftil acetat esterase u ateroskleroznim lezijama humane karotidne arterije. *Med Istraž* 2012;46(2):33-43.
- Vučević D, Radak Đ, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I. Zapaljenski proces u aterogenezi: nove činjenice o starom plamenu. *Med Pregl* 2012;65(9-10):388-95.
- Radak Đ, Maravić-Stojković V, Kolar J. Angiogeneza. U: Radak Đ, Maravić-Stojković V, urednici. *Imunologija u genezi i terapiji ateroskleroze*. Beograd: DC Grafički centar; 2004. str. 75-80.
- Noe HT, Michel MJB. Initiation of angiogenesis in atherosclerosis: smooth muscle cells as mediators of the angiogenic response to atheroma formation. *Trends Cardiovasc Med* 2011;21:183-7.
- Van der Vorst EPC, Keijbeck AA, de Winther MPI, Donners MMPC. A disintegrin and metalloproteases: molecular scissors in angiogenesis, inflammation and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2012;224:302-8.

15. Sharma R, Rana A, Kumar C, Thakur S. Endothelium dysfunction, inflammation and cardiovascular disorder. *WebmedCentral Pharmaceutical Sciences* 2011;2(9):WMCOO2176.

16. Sluimer JC, Daemen MJ. Novel concepts in atherogenesis: angiogenesis and hypoxia in atherosclerosis. *J Pathol* 2009;218:7-29.

17. Michel JB, Virmani R, Arbustini E, Pasterkamp G. Intraplaque haemorrhages as the trigger of plaque vulnerability. *Eur Heart J* 2011;32:1977-85.

18. Doyle B, Caplice N. Plaque neovascularization and antiangiogenic therapy for atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:2073-80.

19. Ribatti D, Conconi MT, Nussdorfer GG. Nonclassic endogenous novel regulators of angiogenesis. *Pharmacol Rev* 2007;59:185-205.

20. Trollope AF, Golledge J. Angiopoietins, abdominal aortic aneurysm and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2011;214:237-43.

21. Singh H, Milner CS, Aguilar Hernandez MM, Patel N, Brindle NP. Vascular endothelial growth factor activates the Tie family of receptor tyrosine kinases. *Cell Signal* 2009;21:1346-50.

22. Casagrande V, Menghini R, Menini S, Marino A, Marchetti V, Cavallera M, et al. Overexpression of tissue inhibitor of metalloproteinase 3 in macrophages reduces atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor knock out mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32:74-81.

23. Suffee N, Richard B, Hlawaty H, Oudar O, Charnaux N, Sutton A. Angiogenic properties of the chemokine RANTES/CCL5. *Biochem Soc Trans* 2011;39(6):1649-53.

24. Stoger JL, Goossens P, de Winther MP. Macrophage heterogeneity: relevance and functional implications in atherosclerosis. *Curr Vasc Pharmacol* 2010;8:233-48.

25. Lahoute C, Herbin O, Mallat Z, Tedgui A. Adaptive immunity in atherosclerosis: mechanisms and future therapeutic targets. *Nat Rev Cardiol* 2011;8:348-58.

26. Di Taranto MD, Morgante A, Bracale UM, D'Armiento FP, Porcellini M, Bracale G, et al. Altered expression of inflammation-related genes in human carotid atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis* 2012;220(1):93-101.

27. Coffelt SB, Hughes R, Lewis CE. Tumor-associated macrophages: effectors of angiogenesis and tumor progression. *Biochim Biophys Acta* 2009;1796:11-8.

28. Song Z, Jin R, Yu S, Nanda A, Granger DN, Li GH. Crucial role of CD40 signaling in vascular wall cells in neointimal formation and vascular remodeling after vascular interventions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32:50-64.

29. Gautier EL, Jakubzick C, Randolph GJ. Regulation of the migration and survival of monocyte subsets by chemokine receptors and its relevance to atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29(10):1412-8.

30. Schwarz N, Pruessmeyer J, Hess FM, Dreytmueller D, Pantaler E, Koelsch A, et al. Requirements for leukocyte transmigration via the transmembrane chemokine CX3CL1. *Cell Mol Life Sci* 2010;67:4233-48.

31. Vučević D, Radak Đ, Ilijevski N. Endotelini i homocistein u ishemiji mozga. U: Vučević D, Ilijevski N, Radak Đ, Đorđević-Denić G, urednici. *Patološka dinamika cerebralne ishemijske*. Beograd: Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu; 2006. str. 67-73.

32. Mheid IA, Quyyumi AA. Cell therapy in peripheral arterial disease. *Angiology* 2009;59(6):705-16.

Rad je primljen 1. XI 2012.

Recenziran 27. V 2013.

Prihvaćen za štampu 27. VI 2013.

BIBLID.0025-8105:(2013):LXVI:7-8:297-306.

Klinički centar Srbije, Beograd, Klinika za ginekologiju i akušerstvo¹
 Kliničko-bolnički centar Zemun, Beograd, Klinika za internu medicinu²
 Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Institut za fiziologiju³
 Kliničko-bolnički centar Zemun, Beograd, Klinika za hirurgiju, Služba za urologiju⁴

Pregledni članci
 Review article
 UDK 618-089.888
 DOI: 10.2298/MPNS1308307S

PERITONIZACIJA U GINEKOLOGIJI I AKUŠERSTVU – PREGLED LITERATURE

PERITONEALIZATION IN GYNECOLOGY AND OBSTETRICS – REVIEW OF LITERATURE

Radmila SPARIĆ¹, Biljana LAZOVIĆ², Sanja MAZIĆ³, Marina ĐELIĆ³ i Aleksandar ARGIROVIĆ⁴

Sažetak

Uvod. Naš cilj je bio da pregledamo literaturu na temu peritonealnog zatvaranja i da procenimo prednosti i nedostatke ovog postupka. **Eksperimentalni modeli.** Eksperimentalne studije su dokazale da peritonealni defekti pokazuju mezotelijalni integritet (reperitonizaciju) 48 do 72 časa posle povrede i do potpunog zarastanja dolazi u roku od pet dana. Strano telo u peritoneumu izaziva tkivnu ishemiju, nekrozu, inflamaciju i dovodi do brojnih adhezija. **Operacije (hirurške i ginekološke).** Osnovna prednost nezatvaranja peritoneuma je smanjeno formiranje adhezija, brže uspostavljanje crevne aktivnosti i smanjen rizik od crevne opstrukcije posle operacije. Peritonealno zatvaranje ne samo da nema neposrednu postoperativnu korist, nego i nepotrebno produžava trajanje operacije, izloženost anesteziji i boravak u bolnici i tako povećava troškove operacije. Postojeći podaci ne govore u prilog prednostima ove tehnike. Pošto se mnoga načela hirurgije zasnivaju na ograničenim podacima ili mišljenju pojedinačnih hirurga, njih bi trebalo promeniti u skladu sa medicinskim načelima zasnovanim na dokazima. **Zaključak.** Stoga, predlažemo da se napusti tradicionalna praksa zatvaranja peritoneuma u ginekologiji i akušerstvu. Naša želja je da ohrabrimo kliničare da ne zatvaraju parietalni i visceralni peritoneum.

Cljučne reči: Drenaža; Peritoneum; Adhezije; Ileus; Carski rez; Histerektomija; Postoperativne komplikacije; Zarastanje rana; Ginekološke hirurške procedure; Akušerske hirurške procedure

Uvod

Zatvaranje peritonealnih defekata nakon laparotomije predstavlja standardnu hiruršku proceduru već dugi niz godina, što se kao jedna od osnovnih hirurških dogmi prenosi s generacije na generaciju. Mnogi hirurzi koriste određenu hiruršku tehniku samo zato što su tako obučeni tokom obrazovanja i na taj način operišu dugi niz godina, a ne zato što postoje provereni naučni dokazi da je ova tehnika najbolja [1].

Argumenti za ovu tvrdnju potiču iz sledećih empirijskih pretpostavki: 1. na ovaj način se uspostavlja anatomski odnosi u trbušnom zidu i trbušnoj duplji; 2. smanjuje se rizik od infekcije ponovnim us-

Summary

Introduction. Our purpose was to review the literature on the subject of peritoneal closure and to evaluate the advantages and disadvantages of this procedure. **Experimental Studies.** Experimental studies have proved that peritoneal defects demonstrate mesothelial integrity (reperitonealization) 48-72 hours after injury and gross healing occurs within five days. A foreign body in the peritoneum causes tissue ischemia, necrosis, inflammation, and it stimulates numerous and dense adhesions. **Surgery (General and Gynecological).** The major advantage of peritoneal non-closure is a decreased adhesion formation, quicker return of bowel activity and reduced risk of bowel obstruction after surgery. Not only does peritoneal closure provide no immediate postoperative benefits, but it also prolongs surgical time, exposure to anesthesia and post-operative hospital stay unnecessarily, thus increasing surgery expenses. In summary, the existing data do not show advantages of this technique. Since many surgical tenets are based on limited data or opinion of the individual surgeons, they should be changed according to evidence-based medicine. **Conclusion.** Therefore, we suggest that the traditional practice of peritoneal closure be abolished in gynecology and obstetrics. It is our strong wish to encourage clinicians not to close both parietal and visceral peritoneum.

Key words: Drainage; Peritoneum; Tissue Adhesions; Ileus; Cesarean Section; Hysterectomy; Postoperative Complications; Wound Healing; Gynecologic Surgical Procedures; Obstetric Surgical Procedures

postavljanjem peritonealne barijere; 3. ubrzava se zarastanje rana primicanjem ivica presečenih tkiva; 4. smanjuje se formiranje adhezija i 5. smanjuje se rizik nastanka dehiscencije i postoperativnih hernija u predelu rane. Nasuprot ovim su argumenti dokazani brojnim studijama: 1. ne postoje dokazani štetni efekti zarastanja peritoneuma *per secundam intentionem*; 2. peritoneum brzo zarasta i bez primicanja ivica hirurškim putem; 3. prisustvo šavova i tkivne manipulacije pri šivenju dodatno doprinose stvaranju adhezija; 4. trajanje operacije i oporavak nakon nje su kraći ukoliko se peritonealni defekti ostave otvorenim i 5. rane postoperativne komplikacije su ređe kod pacijenata kod kojih nije vršena peritonizacija [1].

Eksperimentalni modeli

Elkins i saradnici su 1987. godine objavili eksperimentalnu studiju na zečevima u kojoj su ispitivali zarastanje peritoneuma kod zečeva simulirajući različite vrste hirurških tehnika (ekscizija, elektrokauterizacija, incizija i abrazija). Njihova studija je pokazala da peritoneum spontano zarasta *per secundam* za oko 5 dana, dok je za zarastanje nakon peritonizacije neophodno dve do tri nedelje, a nakon elektrokauterizacije i duže vreme [2]. Njihovi eksperimenti su, takođe, pokazali najveću učestalost formiranja priraslica na onim mestima gde su plasirani hirurški šavovi. Identične rezultate pokazala je i studija McDonalda i saradnika koji su ispitivali količinu priraslica koje se stvaraju kod zečeva dve nedelje nakon hirurške povrede peritoneuma [3].

Postoji veliki broj drugih studija na životinjama koje su istraživale značaj peritonizacije u zarastanju parijetalnog peritoneuma. Prema istraživanju Kapura i saradnika na pacovima iz 1979. godine peritoneum zarasta *per secundam intentionem* za 7 dana. Isti autori ističu i visoku učestalost formiranja priraslica na onim mestima gde je peritoneum ušiven *ketgut* šavom [4]. Slične rezultate pokazala je i eksperimentalna studija Kyzera i saradnika na pacovima iz 1986. godine [5]. Prisustvo hirurških šavova indukuje intenzivnu inflamatornu reakciju tipa stranog tela i tkivnu nekrozu, što pogoduje nastanku priraslica. Iz svega navedenog, može se zaključiti da je u eksperimentima na životinjama dokazano da zarastanje peritoneuma *per secundam intentionem* ne predisponira nastajanje dehiscencije rane i hernije na mestu incizije, a povezano je sa manjim formiranjem priraslica nego u slučaju ušivanja.

Hirurške operacije

Hirurzi su davno shvatili nepotrebnost peritonizacije i zbog toga napustili ovu praksu. Najčešći uzrok ileusa kod ženske populacije su postoperativne priraslice, koje su uglavnom posledica prethodne histerektomije ili carskog reza, kao najčešćih ginekoloških operacija [6, 7]. Period između inicijalne laparotomije i nastanka ileusa u retrospektivnoj studiji Al-Tooqa i saradnika na 262 pacijentkinje iznosio je od mesec dana do 20 godina (prosečno 5,3 godine) [8]. S obzirom da se ileus uzrokovan postoperativnim priraslicama može razviti više godina nakon inicijalne laparotomije, ove slučajeve uglavnom rešavaju hirurzi. Ovo objašnjava i zašto hirurzi u većoj meri prihvataju ovakvu hiruršku doktrinu [9].

Ginekološke operacije i carski rez

Nakon opsežnog pregleda literature o različitim operativnim tehnikama, Kraljevska akademija ginekologa i akušera u Engleskoj je u svojim vodičima kliničke prakse na ovu temu zauzela stav da je

nepotrebno ušivati kako parijetalni, tako i visceralni peritoneum kod carskog reza, abdominalne i vaginalne histerektomije, kao i radikalnih operacija indikovanih malignim oboljenjima ženskih reproduktivnih organa [8]. Skraćenje trajanja operacija je do 10 minuta, u proseku oko 6 minuta [9,10].

Postoperativne adhezije kao uzrok ileusa su u 85% slučajeva prisutne na mestu šivenja visceralnog peritoneuma, a u oko 15% slučajeva u predelu parijetalnog peritoneuma prednjeg trbušnog zida. Incidencija ileusa nakon histerektomije je 16,3/100 [11].

U randomiziranoj studiji koju su realizovali Gupta i saradnici, na uzorku od 144 pacijentkinje pokazan je veći prosečni intraoperativni gubitak krvi kod pacijentkinja kod kojih je vršena parijetalna i visceralna peritonizacija, uz duže trajanje operacije [12]. Ista studija nije dokumentovala razliku učestalosti kasnih postoperativnih komplikacija između pacijentkinja kod kojih je učinjena peritonizacija i onih kod kojih nije.

Studija Janscheka i saradnika je na uzorku od 233 pacijentkinje nakon vaginalne histerektomije pokazala brže uspostavljanje peristaltike u grupi pacijentkinja kod kojih nije vršena peritonizacija, te je i on još jedan od autora koji savetuju napuštanje peritonizacije kod vaginalne histerektomije [10]. Ova studija nije pokazala statistički značajnu razliku u pogledu potrebe za analgeticima, trajanja operacije i intraoperativnog gubitka krvi između upoređivanih grupa. Identični rezultat kod pacijentkinja nakon vaginalne histerektomije publikovali su i Lipscomb i saradnici [13].

Franchi i saradnici su na uzorku od 120 pacijentkinja pokazali da peritonizacija nakon radikalne histerektomije i pelvične limfonodektomije povećava incidenciju nastanka limfocisti i volumen retroperitonealne drenaže, što se objašnjava apsorpcijom limfe preko peritoneuma kod pacijentkinja kod kojih nije vršena visceralna peritonizacija [14].

Kada su u pitanju pacijentkinje operisane zbog karcinoma grlića materice i ovarijuma, značajni su i nalazi Thana i saradnika koji su pronašli veću učestalost formiranja priraslica nakon peritonizacije u uzorku od ukupno 240 pacijentkinja. Isti autori navode i manju učestalost patoloških pijelograma kod pacijentkinja kod kojih nije vršena peritonizacija [15].

U dvostruko slepoj randomiziranoj studiji na 66 pacijentkinja koja je sprovedena u Odeljenju za ginekološku onkologiju u Iranu, Behtash i saradnici dokumentovali su razliku u vremenu trajanja operacije, intraoperativnom gubitku krvi, potrebama za analgeticima i antibioticima, kao i dužini intrahospitalnog lečenja između upoređivanih pacijentkinja. I ova grupa autora sugerise da se napusti tradicionalna praksa visceralne i parijetalne peritonizacije u toku abdominalne histerektomije [16].

Incidencija ileusa nakon carskog reza je značajno niža u poređenju sa drugim ginekološkim operacijama i iznosi 5/10 000 [6]. Najverovatniji razlog za ovo leži u činjenici da je mesto incizije kod carskog reza u predelu donjeg uterineg se-

gmenta [17]. U skladu s ovim je i činjenica da je dokazano rede nastajanje priraslica nakon miomektomije u predelu prednjeg u poređenju sa zadnjim zidom uterusa [18,19].

Nagele i saradnici su sprovedli najveću randomiziranu studiju visceralne peritonizacije nakon carskog reza kod 549 pacijentkinja, navodeći duže trajanje operacije, višu incidenciju febrilnog morbiditeta i cistitisa, infekcije rane i endometritisa, duži intrahospitalni oporavak i veću potrebu za narkoticima u grupi pacijentkinja kod kojih je vršena peritonizacija [20].

Kao prednosti operativne tehnike koja savetuje napuštanje parijetalne i visceralne peritonizacije u toku carskog reza navode se i značajno manji utrošak šavnog materijala, manja učestalost postoperativnog febrilnog morbiditeta i neophodnosti upotrebe analgetika i antibiotika, brže uspostavljanje peristaltike, manja učestalost adhezija u predelu mokraćne bešike i kao posledica svega toga značajna materijalna ušteda [7,14].

U manjim serijama, kao što je randomizirana studija Galaala i saradnika, nije dokumentovana prednost peritonizacije čak ni u pogledu intraoperativnog gubitka krvi i potrebe za transfuzijom, kao i infekcija rane [21].

Franchi i saradnici su još 1998. u seriji od 249 pacijentkinja dokumentovali prednosti laparotomije po Cohen-Joelu u odnosu na laparotomiju po Pfannenstiela, kao što su kraće otvaranje trbuha i trajanje operacije uz manju učestalost postoperativnih infekcija rane [22]. Isti autor je 2002. publikovao rad u kome navodi statistički značajnu razliku u vremenu potrebnom za ekstrakciju neonatusa između ove dve operativne tehnike, bez postojanja razlike u neurološkom razvoju dece tokom šestomesečnog perioda praćenja [22]. Operativnu tehniku laparotomije po Cohen-Joelu, koristi mali broj akušera kod nas [23]. Na sličnim principima se zasniva i tehnika carskog reza po Misgav Ladaču, koja je veoma popularna u Nemačkoj i Austriji i čije su prednosti slične onima kao kod tehnike po Cohen-Joelu [24,25].

Kada su u pitanju carski rezovi, neophodno je pomenuti i nalaze Nathera i saradnika, koji su objavili retrospektivnu analizu 30 pacijentkinja kod kojih je vršen ponovni carski rez, nakon prethodnog pri kome nije šiven peritoneum. Kontrolnu grupu je činilo 30 pacijentkinja operisanih u istoj ustanovi i kod kojih je pri prethodnom carskom rezu vršena parijetalna i visceralna peritonizacija. Prosečno vreme trajanja operacije bilo je duže u kontrolnoj grupi, kao i period od incizije kože do ekstrakcije novorođenčeta. Njihovi rezultati takođe ne ukazuju da zarastanje peritoneuma *per secundam* indukuje pojavu intrabdominalnih adhezija [26].

Revizija devet različitih velikih studija na ovu temu, publikovana kao saopštenje u Cochranovoj biblioteci u zaključku navodi da, za sada, nema dokaza koji bi opravdavali materijalne troškove i operativno vreme koje zahtevaju parijetalna i visceralna peritonizacija [27].

Zaključak

Klinički i eksperimentalni dokazi o bezbednosti zarastanja peritoneuma *per secundam* su brojni. Većina studija pokazuje isti ili čak bolji postoperativni oporavak i manju učestalost komplikacija u ovim slučajevima, i to kako kod klasičnih ginekoloških i radikalnih onkoloških operacija, tako i kod carskog reza. Kraće trajanje anestezije i manji broj bolničkih dana takođe predstavlja veliku uštedu, što nije zanemarljivo u našim uslovima. Jedino obrazloženje za činjenicu da ovakav hirurški pristup nema veći broj pristalica leži u činjenici da je veoma teško promeniti ovu tradicionalnu hiruršku dogmu. O ovome takođe treba razmišljati i u kontekstu sve većeg broja sudsko-medicinskih sporova u našoj struci, od kojih neki u budućnosti mogu biti u vezi s komplikacijama nastalim usled postoperativnih priraslica.

Ovim pregledom literature želimo da ohrabrimo ginekologe i akušere da napuste tradiciju šivenja peritoneuma, s obzirom da brojni rezultati iz literature definitivno pokazuju da ova hirurška tehnika ima više nedostataka nego prednosti.

Literatura

- Jenkins TR. It's time to challenge surgical dogma with evidence-based data. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:423-7.
- Elkins TE, Stovall TG, Warren J, Ling FW, Meyer NI. A histologic evaluation of peritoneal injury and repair: Implications for adhesion formation. *Obstet Gynecol* 1987;70:225-8.
- McDonald MN, Elkins TE, Wortham GF, Stroval TG, Ling FW, McNeeley SG Jr. Adhesion formation and prevention after peritoneal injury and repair in the rabbit. *J Reprod Med* 1988;33:436-9.
- Kapur ML, Danesswar A, Chopra P. Evaluation of peritoneal closure at laparotomy. *Am J Surg* 1979;137:650-2.
- Kyzer S, Bayer I, Turani H, Chaimoff C. The influence of peritoneal closure on formation of intraperitoneal adhesions: an experimental study. *Int J Tissue React* 1986;8:355-9.
- Sparić R, Hudelist G, Berisavac M, Gudović A, Buzadžić S. Hysterectomy throughout history. *Acta Chir Iugosl* 2011;58(4):9-14.
- Sparić R, Kadija S, Hudelist G, Glisić A, Buzadžić S. History of caesarean hysterectomy. *Acta Chir Iugosl* 2012; 59(1):9-12.
- Royal College of Obstetricians and Gynecologists (United Kingdom). Peritoneal closure: guidelines. London: RCOG; 2002.
- Sparić R, Hudelist G, Keckstein J. Diagnosis and treatment of deep infiltrating endometriosis with bowel involvement: a case report. *Srp Arh Celok Lek.* 2011;139(7-8):531-5.
- Al-Took S, Platt R, Tulandi T. Adhesion-related small-bowel obstruction after gynecologic operations. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:313-5.

11. Cheong YC, Bajekal N, Li TC. Peritoneal closure-to close or not to close. *Hum Reprod* 2001;16:1548-52.
12. Gupta JK, Dinas K, Khan KS. To peritonealize or not to peritonealize? A randomized trial at abdominal hysterectomy. *Am J Obstet Gynecol* 1998;178:796-800.
13. Kadija S, Sparić R, Zizić V, Stefanović A. Drainage as a rare cause of intestinal incarceration. *Srp Arh Celok Lek* 2005;133(7-8):370-1.
14. Hanschek E, Hohlagschwandtner M, Nather A, Schindl M, Joura E. A study of non-closure of the peritoneum at vaginal hysterectomy. *Arch Gynecol Obstet* 2003;267:213-6.
15. Than GN, Aranz AA, Schunk E, Viyer M, Krommer KF. Closure or non closure of visceral peritoneums after abdominal hysterectomies and Wertheim-Meigs radical abdominal hysterectomies. *Acta Chir Hung* 1994;34:79-86.
16. Behtash N, Ghaemaghani F, Gilani MM, Rajabi MT, Moghimi R, Hanjani P. To peritonealise or not to peritonealise? A randomised trial at abdominal hysterectomy in Iran. *J Obstet Gynaecol* 2001;21(5):520-4.
17. Franchi M, Ghezzi F, Zanaboni F, Scarabelli C, Beretta P, Donadel N. Nonclosure of peritoneum at radical abdominal hysterectomy and pelvic node dissection: a randomized study. *Obstet Gynecol* 1997;90:622-7.
18. Kesic V, Stojanovic N, Sparic R. Surgery of ovarian metastases: special considerations. *CME J Gynecol Oncol* 2006;11:93-100.
19. Sparić R, Kadija S, Tadić J, Dokić M, Milenković V. Intrapartum resection of the bicornuate uterus for placenta membranacea percreta. *Srp Arh Celok Lek* 2007;135(1-2):85-7.
20. Nagele F, Karas H, Spitzer D, Staudach A, Karasegh S, Beck A, et al. Closure or nonclosure of the visceral peritoneum at cesarean delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1366-70.
21. Galaal KA, Krolikowski A. A randomized controlled study of peritoneal closure at cesarean section. *Saudi Med J* 2000;21(8):759-61.
22. Franchi M, Ghezzi F, Raio L, Di Naro E, Miglierina M, Agosti M, et al. Joel-Cohen or Pfannenstiel at cesarean delivery: does it make a difference? *Acta Obstet Gynecol Scand* 2002;81(11):1040-6.
23. Mariam F, Anowara B, Shamim A. Non-closure of peritoneum in abdominal hysterectomy. *Singapore J Obstet Gynaecol* 2004;35(2):112-5.
24. Wallin G, Fall O. Modified Joel-Cohen technique for caesarean delivery. *Br J Obstet Gynaecol* 1999;106:221.
25. Heidenreich W, Borgmann U. Results of the Misgav Ladach caesarean section. *Zentralbl Gynakol* 2001;123:634-7.
26. Nather A, Yeisler H, Sam CE, Husslein P, Joura EA. Non-closure of peritoneum at cesarean section. Results from repeat cesarean sections. *Wien Klin Wochenschr* 2001;113:451-3.
27. Hofmeyr GJ, Mathai M, Shah AN, Novikova N. Techniques for caesarean section. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;(1):CD004662.

Rad je primljen 19. XI 2012.

Recenziran 29. I 2013.

Prihvaćen za štampu 31. III 2013.

BIBLID.0025-8105:(2013):LXVI:7-8:307-310.

STRUČNI ČLANCI

PROFESSIONAL ARTICLES

Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Novi Sad, Serbia¹
 Institute for Cardiovascular Diseases of Vojvodina, Novi Sad, Serbia²
 Vojvodinian Academy of Sciences and Art, Novi Sad, Serbia³

Stručni članak
 Professional article
 UDK 616.126.32-089
 DOI: 10.2298/MPNS1308311R

NECESSITY FOR INTRODUCING THE PROCEDURE OF PERCUTANEOUS AORTIC VALVE IMPLANTATION IN THE PROVINCE OF VOJVODINA

POTREBE AUTONOMNE POKRAJINE VOJVODINE ZA UVOĐENJEM PROCEDURE PERKUTANE IMPLANTACIJE AORTNE VALVULE

Aleksandar REDŽEK^{1,2}, Svetozar NIĆIN^{1,2,3}, Milovan PETROVIĆ^{1,2}, Lazar VELICKI^{1,2},
 Miodrag GOLUBOVIĆ² and Nada ČEMERLIĆ AĐIĆ^{1,2}

Summary

Introduction: Percutaneous aortic valve implantation is an alternative that offers hope to patients who are too old or sick to undergo the conventional surgical aortic valve replacement. The aim of this study was to determine the number of high-risk patients with severe aortic stenosis, hospitalized at the Institute for Cardiovascular Diseases, who are the candidates for percutaneous aortic valve implantation. **Material and Methods.** The paper prospectively analyzed all patients diagnosed to have severe aortic stenosis who had been hospitalized at the Institute for Cardiovascular Diseases from April 1st, 2011 to October 31st, 2012. Each of these patients was analyzed in relation to the inclusive criteria for percutaneous aortic valve implantation. We analyzed the distribution of these risk factors in relation to age and gender, and the presence of aortic valve replacement surgery by age groups. **Results.** In the period from April 1st, 2011 to October 31st, 2012, 374 patients diagnosed to have severe aortic stenosis were hospitalized at the Institute for Cardiovascular Diseases. The group of patients older than 80 years had a higher percentage of those patients with low ejection fraction of the heart, chronic pulmonary hypertension and mitral regurgitation. On the other hand, when the total number of surgical aortic valve replacement was taken into consideration with respect to age, there was a significant decrease in their number in the group of patients older than 75 years (41.6%), especially in the age group over 80 years (90.2%). **Conclusion.** The data obtained in this study indicate a high percentage of conservatively treated patients with severe aortic stenosis and high operative risk in patients over 75 years. These data confirm the necessity for the implementation of percutaneous aortic valve replacement in the Province of Vojvodina.

Key words: Aortic Valve; Heart Valve Prosthesis Implantation; Aortic Valve Stenosis; Surgical Procedures, Minimally Invasive; Risk Factors; Aged, 80 and over; Cardiac Catheterization; Age Factors

Sažetak

Uvod. Perkutana implantacija aortne valvule je alternativa koja daje nadu bolesnicima koji su suviše stari ili bolesni za konvencionalnu hiruršku zamenu aortnog zaliska. Cilj rada bio je da se utvrdi broj visokorizičnih bolesnika sa teškom aortnom stenozom, hospitalizovanih u Institutu za kardiovaskularne bolesti Vojvodine, koji su kandidati za perkutanu implantaciju aortne valvule. **Materijal i metode.** Radom su prospektivno analizirani svi bolesnici koji su hospitalizovani u Institutu za kardiovaskularne bolesti Vojvodine, u periodu od 1. aprila 2011. godine do 31. oktobra 2012. godine sa dijagnozom teške aortne stenozе. Za svakog od ovih bolesnika razmatrani su inkluzivni kriterijumi za perkutanu ugradnju aortnog zaliska. Analizirana je distribucija ovako definisanih faktora rizika u odnosu na starost i pol i zastupljenost hirurške zamene aortnog zaliska po starosnim grupama. **Rezultati.** U periodu od 1. aprila 2011. godine do 31. oktobra 2012. godine u Institutu za kardiovaskularne bolesti Vojvodine hospitalizovano je ukupno 374 bolesnika sa dijagnozom teške aortne stenozе. U grupi bolesnika starijih od 80 godina veći je procenat onih sa niskom istisnom frakcijom srca, hroničnom plućnom hipertenzijom i značajnom mitralnom regurgitacijom. S druge strane, ako posmatramo ukupan broj hirurških zamena aortnog zaliska po starosnim grupama, uočljiv je značajan pad njihovog broja u grupi bolesnika starijih od 75 godina (41,6%), a naročito u grupi starijih od 80 godina (90,2%). **Zaključak.** Podaci dobijeni u ovom istraživanju ukazuju na visok procenat neoperisanih bolesnika sa teškom aortnom stenozom i visokim operativnim rizikom, starijih od 75 godina, što ukazuje na opravdanost uvođenja nove tehnologije perkutane ugradnje aortnog zaliska. **Glavne reči:** Aortni zalistak; Implantacija veštačkih srčanih zalistaka; Stenoza aortnog zaliska; Minimalno invazivne hirurške procedure; Faktori rizika; Stari ljudi, 80 i više godina; Kateterizacija; Uzrast

Abbreviations

TAVI	– percutaneous aortic valve implantation
BMI	– body mass index

Acknowledgment

This study was supported by the Provincial Secretariat for Science and Technological Development of the Autonomous Province of Vojvodina, the project 114-451-2377/2011.

Introduction

Minimally invasive techniques in the treatment of severe heart diseases are getting more and more used in developed countries. These techniques reduce the risk, complications and length of hospitalization. Percutaneous aortic valve implantation (TAVI) is an alternative that offers hope to patients who are too old or sick for the conventional surgical aortic valve replacement. Since the implementation of this procedure started, over 40 000 percutaneous valves have been implemented throughout the world [1]. The European Society of Cardiology has announced that the number of TAVI procedures in Europe has tripled compared to 2009, reaching the number of 18 372 in the year 2011 [2]. Germany is the first in this field in Europe, with the participation of 43% [1]. Serbia has not implemented the procedure of percutaneous aortic valve implantation so far despite the continuous increase in the number of patients with a high operative risk. According to the Serbian National Census 2011 data, the average age of the whole population is higher by two years, the persons older than 65 accounting for 17.4% of the population. The participation of people aged over 80 years, who are the target group for percutaneous intervention, was 2% or approximately 15 000 inhabitants. Considering the fact that the prevalence of degenerative aortic stenosis in this age group is 4 -8% [3], it is estimated that 500 to 1000 patients older than 80 years in Serbia suffer from significant aortic stenosis. The aim of this study was to determine the number of patients with severe aortic stenosis who, being at a high operational risk, are potential candidates for percutaneous aortic valve implantation. In this way, it is possible to assess the needs of Vojvodina for implementation of percutaneous hybrid procedures in the treatment of severe aortic stenosis.

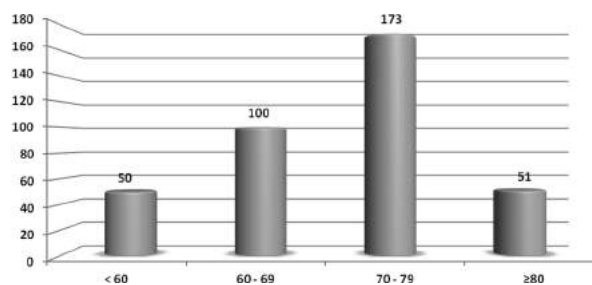
Material and Methods

The paper prospectively analyzed all patients diagnosed to have severe aortic stenosis who had been hospitalized at the Institute for Cardiovascular Diseases from April 1st, 2011 to October 31st, 2012. Each of these patients was analyzed in relation to the inclusive criteria for TAVI, as recommended by the European Association of Cardio Surgery (EACTS) and the European Society of Cardiology (ESC) in 2012 [4]. These criteria include: age and gender of patients; body weight and height, body mass index (BMI); presence of coronary artery disease; ejection

fraction of the heart; presence of diabetes mellitus, hyperlipoproteinemia, pulmonary arterial hypertension; respiratory and renal failure; carotid disease; stroke; atrial fibrillation; previously installed pacemaker or defibrillator, chronic obstructive pulmonary disease, significant mitral insufficiency and peripheral arterial disease. The diagnosis of aortic stenosis was established according to the clinical status and echocardiographic examination. All of the selected patients were divided into age groups with the interval of 10 years. We analyzed the distribution of risk factors in relation to patients' age and gender. On the other hand, we analyzed the number of surgically treated patients with severe aortic stenosis by the age groups. Patients with life expectancy less than one year were excluded from this study. The obtained data were statistically analyzed by the standard statistical tools, t-test, χ^2 test and regression analysis.

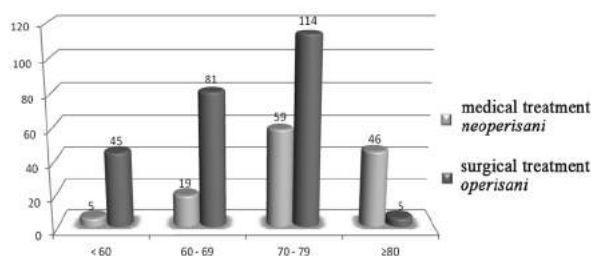
Results

In the period from April 1st, 2011 to October 31st, 2012, 374 patients with severe aortic stenosis were hospitalized at the Institute for Cardiovascular Diseases of Vojvodina. The number of female patients was slightly higher (198/176). The majority of patients with severe aortic stenosis were in the age group of 70-79 years, followed by the patients aged from 60 to 69 years (**Graph 1**). The distribution of patients in relation to BMI was balanced in all age groups with a slightly higher number of extremely obese patients in the age group from 60 to 69 years (9.4%). The percentage of patients with low ejection fraction of the heart, chronic pulmonary hypertension and mitral regurgitation was higher in the group over 80 years of age. This age group had a higher percentage of patients with implanted pace maker. The percentage of patients with hypertension was significantly higher in the age group from 60 to 69 years compared to younger patients (76% vs. 48%) and it remained at this level in the older groups. In addition, the percentage of diabetics was on the rise from the age group of 60-69 years onwards, and the percentage of diabetic patients older than 80



Graph 1. Distribution of patients with severe aortic stenosis by age

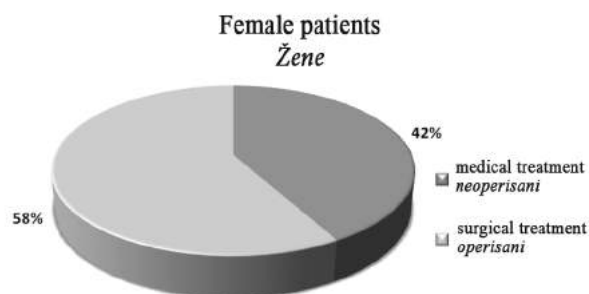
Grafikon 1. Distribucija pacijenata sa teškom aortnom stenozom po starosnim grupama



Graph 2. Distribution of surgically and conservatively treated patients by age

Grafikon 2. Distribucija operisanih i neoperisanih pacijenata po starosnim grupama

years was lower, as expected. The distribution of patients with hyperlipoproteinemia was balanced in all age groups. As expected, the percentage of patients with significant carotid disease and stroke was getting higher with the age of patients. Carotid disease was found in 2% of patients aged 50-59 years and in 13.7% of patients older than 80 years. The percentage of patients with atrial fibrillation also increased with the age, reaching 21.6% in the patients older than 80 years (**Table 1**). On the other hand, if we look at the total number of surgically treated patients by age, there was a significant decrease in their absolute and relative number in the group of patients older than 80 years (**Graph 2**). A decrease in the number of surgical interventions was already evident in patients older than 75 years. According to the gender distribution of patients with severe aortic stenosis, the percentage of female patients increased with the age. As for the correlation of gender and risk factors, a significantly higher percentage of extreme obesity (BMI greater than 34) was recorded in female patients in all age groups. On the other hand, a significantly higher percentage of male patients had low ejection fraction (below 30%) and coronary heart disease in all age groups. Gender did not significantly affect the distribution of patients with hyperlipoproteinemia and hypertension. Diabetes was present among female patients in higher percentage. Chronic obstructive pulmonary disease was more common among male patients in all age groups. A slightly higher percentage of female patients underwent isolated valve surgery in all age groups. The percentage of combined surgery (aortic valve replacement and coronary surgery) was higher in the male group of patients due to higher percentage of male patients with coronary artery disease. Overall, male patients were treated surgically in a higher percentage than female patients (74% versus 58%) (**Graph 3 and 4**). The analysis of risk factors in the group of surgically and conservatively treated patients showed that the aged and female patients, low ejection fraction of the heart, pulmonary hypertension, hyperlipoproteinemia, myocardial infarction, renal failure, stroke and significant mitral insufficiency were present in group of conservatively treated patients in a higher percentage (**Table 2**).

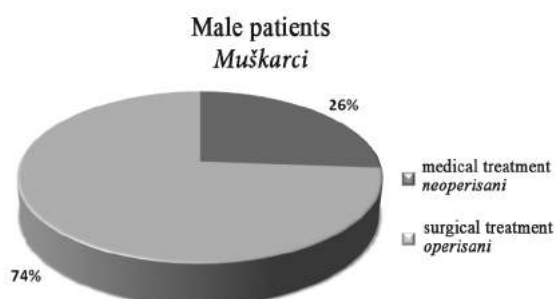


Graph 3. Distribution of surgically and conservatively treated female patients

Grafikon 3. Distribucija operisanih i neoperisanih pacijenata ženskog pola

Discussion

The development of medicine implies the implementation of new technologies that contribute to the improvement of quality and results of medical treatment. In surgery, new technologies reduce surgical trauma, risk of postoperative complications and length of hospital stay after intervention. Surgical aortic valve replacement is the method of choice in patients with severe aortic stenosis. Patients with estimated operative risk from 7 to 10% have been identified as high-risk patients [5,6]. Operative risk increases under the influence of numerous factors, including aging and co-morbidities that include heart failure, respiratory and renal failure, previous cardiac surgery, etc. Due to a high operative risk, as many as 30 - 40% of elderly patients with severe aortic stenosis were not treated surgically. The reasons for this may be that these patients were not referred to the surgeon by a cardiologist; the patients were not accepted for surgery by the surgeon because of high operative risk or the patients themselves simply refused surgery [7]. Percutaneous aortic valve implantation represents an established method for the treatment of patients at high risk [8]. Despite the fact that the neighboring countries have already taken the first steps in the implementation of this technology, TAVI procedure has not been performed in Serbia so far.



Graph 4. Distribution of surgically and conservatively treated male patients

Grafikon 4. Distribucija operisanih i neoperisanih pacijenata muškog pola

Table 1. Distribution of risk factors by age
Tabela 1. Distribucija faktora rizika po starosnim grupama

Characteristics/ <i>Karakteristike</i>	< 60 g	60-69 g	70-79 g	≥ 80 g	P value/ <i>vrednost</i>
Gender (male/female)/ <i>Pol (m/ž%)</i>	68/32	55/45	39,3/60,7	37,3/62,7	0.001
BMI(≤ 34/>34)%	97,9/2,1	90,6/9,4	94,9/5,1	93,3/6,7	0.127
EF (<30/≥30)%	2/98	3/97	2,3/97,7	5,9/94,1	0.424
Coronary disease (yes/no) <i>Koronarna bolest (da/ne%)</i>	24/76	30/70	34,3/65,7	13,7/86,3	0.032
Diabetes (yes/no%)/ <i>Šećerna bolest (da/ne%)</i>	14/86	31/69	28,3/71,7	15,7/84,3	0.038
Arterial hypertension (yes/no%) <i>Arterijska hipertenzija (da/ne%)</i>	48/52	76/24	76,7/23,3	72,5/27,5	0.001
IM < 3 months (yes/no%) <i>IM < 3 meseca (da/ne%)</i>	2/98	0/100	1,7/98,3	2/98	0.597
HOPD (yes/no%)/ <i>(da/ne%)</i>	10/90	13/87	11,6/88,4	7,8/92,2	0.248
Pulmonary hypertension (yes/no%) <i>Plućna hipertenzija (da/ne%)</i>	10/90	10,1/89,9	14/86	29,4/70,6	0.009
Renal failure (yes/no%) <i>Bubrežna insuficijencija (da/ne%)</i>	0/100	4/96	5,8/94,2	7,8/92,2	0.256
Stroke (yes/no%)/ <i>Moždani udar (da/ne%)</i>	4/96	8/92	6,9/93,1	0/100	0.198
Carotid stenosis (yes/no%) <i>Karotidna bolest (da/ne%)</i>	2/98	9/91	11/89	13,7/86,3	0.192
Pace-maker (yes/no%)/ <i>(da/ne%)</i>	4/96	2/98	2,3/97,7	5,9/94,1	0.518
Mitral insuff. > 3 (yes/no) <i>Mitralna insuficijencija > 3 (da/ne%)</i>	4/96	7/93	4/96	25,5/74,5	<0.001
Atrial fibrillation (yes/no%) <i>Atrijalna fibrilacija (da/ne%)</i>	6/94	11/89	15,7/84,3	21,6/78,4	0.002

According to the Serbian National Census 2011 data, the average age of the whole population has been on the continuous rise for the last 60 years. Since the 1991 and 2002 national census, the average age increased by five and two years, respectively. According to these data for the region of Vojvodina, even 16.4% of the population is older than 65 years, and 1 to 2% of the population is over 85 years of age [9]. When these percentages are expressed as numbers, nearly 300,000 people are older than 65 and several thousands are over 80 years of age; or, instead of expressing the prevalence of aortic stenosis in patients over 65 years as 2%, it can be said that there are several thousand patients with aortic stenosis in Vojvodina. In the period from April 1st, 2011 to October 31st, 2012, 387 patients with severe aortic stenosis were hospitalized at the Institute for Cardiovascular Diseases of Vojvodina. This number is significantly lower than the projected data. The distribution of risk factors that significantly affect the operative risk was evaluated in this group of patients. As many as 38.2% of patients were older than 75 years, while the percentage of those over 80 years was 14.5%. This group of patients had multiple risk factors increasing the operative risk, such as low ejection fraction of the heart, pulmonary hypertension, mitral insufficiency, atrial fibrillation, etc. That is the reason for a lower percentage of surgically treated patients in this group of patients compared to younger age

groups (59.8% in patients over 75 years and only 8.9% in patients older than 80 years). Johnson et al included 522 patients in the ninth decade of life in their study and they identified the age as an independent risk factor in coronary and valve surgery [10]. Nicolini analyzed 165 patients older than 80 years who had undergone surgical aortic valve replacement with or without coronary artery surgery. The initial hospital mortality was 3%, with cardiac mortality being 7% after five years. Acute renal failure developed in 15% of patients and the same percentage was under extended respiratory support [11]. Early cardiac mortality (30 days) after surgical aortic valve replacement in patients in the ninth decade of life in other studies ranges from 4.8% to 10.1% versus 4% mortality in younger patients [13,14]. All published studies show that conventional aortic valve surgery has good results in older patients, but the early mortality and postoperative complications are higher than in younger patients. On the other hand, these studies do not show the percentage of elderly and high-risk patients who have not been treated by conventional surgery. Recent data show that, despite the extremely high mortality and complications in patients treated conservatively, as many as 30% of the patients in this group have not been treated surgically for some reason [15,16]. These data are consistent with the data obtained in our study on a significantly lower percentage of surgically treated patients in the

Table 2. Distribution of risk factors in surgically and conservatively treated patients
Tabela 2. Distribucija faktora rizika u grupi operisanih i neoperisanih bolesnika

Characteristics/ <i>Karakteristike</i>	Operated <i>Operisani</i>	Non operated <i>Neoperisani</i>	P value/ <i>vrednost</i>
Age/ <i>Starost</i>	67,38 ± 8,69	76,04 ± 7,42	< 0.001
Gender/ <i>Pol (%)</i>	73,9/58,1	26,1/41,9	0.002
Weight/ <i>Težina</i>	77,17 ± 13,98	74,5 ± 14,7	0.106
Height/ <i>Weight</i>	167,16 ± 9,18	165,75 ± 9,4	0.188
BMI	27,61 ± 4,47	27,19 ± 5,23	0.455
EF	59 (52-62)	55(49-61)	0.014
RVSP	40 (34-48)	46 (40-55)	< 0.001
APNS (yes/no%)/(<i>da/ne%</i>)	64,3/65,7	35,7/34,3	1.000
Coronary disease (yes/no%)/ <i>Koronarna bolest (da/ne%)</i>	73,1/62,6	26,9/37,4	0.069
HLP (yes/no%)/(<i>da/ne%</i>)	76/54,7	24/45,3	< 0.001
Diabetes (yes/no%)/ <i>Šećerna bolest (da/ne%)</i>	66,3/65,2	33,7/34,8	0.348
Arterial hypertension (yes/no%)/ <i>Arterijska hipertenzija (da/ne%)</i>	65,8/65,4	34,2/34,6	1.000
IM < 3 months (yes/no%)/ <i>meseca/(da/ne%)</i>	20/66,3	80/33,7	0.049
HOPD (yes/no%)/ <i>HOPB (da/ne%)</i>	53,7/67,1	46,3/32,9	0.180
Pulmonary hypertension (yes/no%)/ <i>Plućna hipertenzija (da/ne%)</i>	38,9/70,1	61,1/29,9	0.005
Renal failure (yes/no%)/ <i>Bubrežna insuficijencija (da/ne%)</i>	38,9/66,9	61,1/33,1	0.029
Stroke (yes/no%)/ <i>Moždani udar (da/ne%)</i>	36,4/67,3	63,6/32,7	0,006
Carotid stenosis (yes/no%)/ <i>Karotidna bolest (da/ne%)</i>	58,3/66,3	41,7/33,7	0.442
Pace-maker (yes/no%)/(<i>da/ne%</i>)	54,5/65,7	45,5/34,3	0.654
Mitral insuff. > 3 (yes/no)/ <i>Mitralna insuficijencija > 3 (da/ne%)</i>	24,1/69	75,9/31	< 0.001
Atrial fibrillation (yes/no%)/ <i>Atrijalna fibrilacija (da/ne%)</i>	59,6/66,7	40,4/33,3	0.406

group older than 75 years, particularly in patients older than 80 years. Placement of AoRtic TraNscat-hetER valve (PARTNER B) study point out TAVI as an acceptable alternative for the high-risk group of patients with an overall mortality of 30.7% compared to 50.7% mortality rate in patients with conservative therapy, including balloon dilatation of aortic valve. The study clearly confirms that TAVI significantly reduces total mortality despite a higher incidence of stroke and other vascular complications [17]. For this reason, population scanning has great importance in proper evaluation of our needs for the implementation of TAVI procedure in our institution. Limitations of the study are due to a small sample of patients, which included only the

patients hospitalized at the Institute for Cardiovascular Diseases of Vojvodina.

Conclusion

The data obtained in this study point to a high percentage of conservatively treated patients with severe aortic stenosis and high operative risk in patients over 75 years of age (especially in those over the age of 80 years), that indirectly confirms the importance of TAVI procedure implementation. That would be an acceptable therapeutic alternative for this high-risk group of patients with improvement of long-term outcomes compared with conservatively treated patients.

References

1. Nainggolan L. Germany tops TAVI table, but room for growth remains, 1 November, 2011. Available from: <http://www.theheart.org/coverages.do>.
2. TAVI numbers rise in Europe as reimbursement, expertise expands. Heartwire 2012 May 17. Available from: <http://www.theheart.org/article/1401795.do>.
3. Lindroos M, Kupari M, Heikkilä J, Tilvis R. Prevalence of aortic valve abnormalities in the elderly: an echocardiographic study of a random population sample. *J Am Coll Cardiol* 1993;21:1220.
4. Vahanian A, Alfieri O, Andreotti F, Antunes MJ, Esquivias GB, Baumgartner H, et al. Guidelines on the management

of valvular heart disease of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J* 2012;33:2451-96.

5. Asimakopoulos G, Edwards MB, Taylor KM. Aortic valve replacement in patients 80 years of age and older: survival and cause of death based on 1100 cases: collective results from the UK Heart Valve Registry. *Circulation* 1997;96:3403-8.

6. Edwards MB, Taylor KM. Outcomes in nonagenarians after heart valve replacement operation. *Ann Thorac Surg* 2003;75:830-4.

7. Varadarajan P, Kapoor N, Bansal RC, Pai RG. Clinical profile and natural history of 453 nonsurgically managed patients with severe aortic stenosis. *Ann Thorac Surg*. 2006;82:2111-5.

8. Vahanian A, Alfieri O, Al Attar N, Antunes M, Bax J, Cormier B, et al. Transcatheter valve implantation for patients with aortic stenosis: a position statement from the European Association of Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) and the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2008;4:242-9.

9. Republički zavod za statistiku, Beograd: Podaci dostupni na www.stat.gov.rs

10. Johnson WM, Smith JM, Scott E, Hendy MP, Hiratzka LF. Cardiac surgery in octogenarians: does age alone influence outcomes? *Arch Surg* 2005;140(11):1089-93.

11. Nicolini F, Beqhi C, Barbieri F, Secchi P, Agostinelli A, Fragnito C, et al. Aortic valve replacement in octogenarians: analysis of risk factors for early and late mortality. *J Heart Valve Dis* 2010;19(5):615-22.

Rad je primljen 8. IV 2013.

Recenziran 11. IV 2013.

Prihvaćen za štampu 27. VI 2013.

BIBLID.0025-8105:(2013):LXVI:7-8:311-316.

12. Chhor V, Merceron S, Ricome S, Baron G, Daoud O, Dilly MP, et al. Poor performances of EuroSCORE and CARE score for prediction of perioperative mortality in octogenarians undergoing aortic valve replacement for aortic stenosis. *Eur J Anaesthesiol* 2010;27(8):702-7.

13. Langanay T, De Latour B, Ligier K, Derieux T, Angino A, Verhoye JP, et al. Surgery for aortic stenosis in octogenarians: influence of coronary disease and other comorbidities on hospital mortality. *J Heart Valve Dis* 2004;13:545-52.

14. Chukwuemeka A, Weisel A, Maganti M, Nette AF, Wijeyesundera DN, Beattie WS, et al. Renal dysfunction in high risk patients after on-pump and off-pump coronary artery bypass surgery: a propensity score analysis. *Ann Thorac Surg* 2005;80:2148-53.

15. Thomas M, Schymik G, Walther T, Himbert D, Lefevre T, Treede H, et al. Thirty day results of the SAPIEN aortic Bioprosthesis European Outcome (SOURCE) Registry. *Circulation* 2010;122:62-9.

16. Iung B, Baron G, Butchart EG, Delahaye F, Barwolf CG, Levang OW, et al. A prospective survey of patients with valvular heart disease in Europe: the euro heart survey on valvular heart disease. *Eur Heart J*. 2003;24:1231-43.

17. Leon LB, Smith CR, Mack M, Miller DC, Moses JW, Svensson LG, et al. Transcatheter aortic-valve implantation for aortic stenosis in patients who cannot undergo surgery. *N Engl J Med*. 2010;363:1597-607.

Zavod za transfuziju krvi Vojvodine, Novi Sad

Stručni članak

Professional article

UDK 616.15-053.31-08:615.38

DOI: 10.2298/MPNS1308317B

ZNAČAJ IMUNOHEMATOLOŠKOG TESTIRANJA U NEONATALNOM PERIODU

THE IMPORTANCE OF IMMUNOHEMATOLOGY TESTING IN THE NEONATAL PERIOD

Nevenka BUJANDRIĆ i Mirjana KRGA MILANOVIĆ

Sažetak

Uvod. Za postavljanje dijagnoze hemolizne bolesti novorođenčeta potrebno je detetu utvrditi ABO i RhD krvnogrupnu pripadnost, direktni antiglobulinski test i indirektni antiglobulinski test, a majci ABO i RhD krvnogrupnu pripadnost i indirektni antiglobulinski test. Cilj rada bio je prikaz i analiza rezultata testiranja neonatusa i trudnica tokom 2011. godine na teritoriji Južnobačkog okruga, kao i potreba za transfuziološkim zbrinjavanjem neonatusa u istom periodu. **Materijal i metode.** Retrospektivna analiza podataka iz informacionog sistema i protokola Zavoda za transfuziju krvi Vojvodine. **Rezultati.** Testiranjem 3 313 uzoraka krvi novorođenčadi utvrđena je: krvna grupa O kod 45,6%, A 35%, B 15,9%, AB 3,5%; D-pozitivnost 78,9%, D-negativnost 21,1%. Pozitivan direktni antiglobulinski test utvrđen je kod 165 (4,9%) uzoraka: 85 (51,5%) sa stepenom reakcije slabo pozitivan +/-; 45 (27,3%) pozitivan 1+; 17(10,3%) pozitivan 2+; 12 (7,3%) pozitivan 3+; 6 (3,6%) pozitivan 4+. U svim slučajevima monospecifični direktni antiglobulinski test bio je pozitivan sa antitelima klase IgG. Kod 4 novorođenčeta sa pozitivnim direktnim antiglobulinskim testom urađena je eksangvinotransfuzija: 2 sa RhD-inkompatibilijom, 2 sa AB-inkompatibilijom. Testiranjem 3 429 (100%) uzoraka krvi trudnica na prisustvo iregularnih antitela utvrđen je pozitivan rezultat skrininga kod 36 (1,05%) uzoraka usled aktivne imunizacije antigenima krvnogrupnih sistema: Rh 23 (0,67%), ostalih sistema 8 (0,23%), neutvrđene specifičnosti 5 (0,15%). Anti-D antitelo identifikovano je kod 19 (0,55%) trudnica kod kojih su u dva (0,06%) slučaja novorođenčad bila eksangvinotransfundovana. **Zaključak.** Imunohematološko testiranje neonatusa i trudnica doprinosi otkrivanju krvnogrupne inkompatibilije majke i deteta, pruža mogućnost kliničarima za sprovođenje adekvatne prevencije anti-D aloimunizacije kao i pravovremene dijagnoze i terapije hemolizne bolesti novorođenčeta.

Ključne reči: Novorođenče; Majke; Rh-sistem krvnih grupa; ABO sistem krvnih grupa; Fetalna eritroblastoz; Rh izoimunizacija; Kumbsov test; Krvnogrupna kompatibilija; Krvnogrupna inkompatibilija; Eksangvinotransfuzija

Summary

Introduction. In order to diagnose hemolytic disease of the newborn it is necessary to determine ABO/Rh blood group, direct antiglobulin test and indirect antiglobulin test in newborns as well as ABO/Rh and indirect antiglobulin test in their mothers due to a possible incompatibility between the blood types of the mother and her baby. The study was aimed at reviewing and analyzing the results of screening of the newborns and pregnant women on the territory of South Bačka District during 2011, as well as at estimating the necessity to give blood transfusion to the newborns in the same period. **Material and Methods.** Data obtained from the information system and protocol of the Institute for Blood Transfusion of Vojvodina were used in a retrospective analysis of screening of newborns and pregnant women. **Results.** Blood samples taken from 3313 newborns were tested and the following distribution of the ABO blood types was recorded: O in 45.6%, A in 35%, B in 15.9%, AB in 3.5%; 78.9% newborns were found to be D-positive, 21.1% were D-negative. The direct antiglobulin test was positive in 165 (4.9%) cases, it was weakly positive +/- in 85 (51.5%), positive 1+ in 45 (27.3%), positive 2+ in 17 (10.3%), positive 3+ in 12 (7.3%), positive 4+ in 6 (3.6%). In all cases, the monospecific direct antiglobulin test was positive with IgG antibodies. Of four newborns with positive direct antiglobulin test who required exchange blood transfusion, two had RhD incompatibility and two had ABO incompatibility. Blood samples of 3429 (100%) women were tested and 36 (1.05%) were actively immunized: 23 (0.67%) to RhD antigen, 8 (0.23%) to blood group antigens other than ABH and Rh, specificity could not be determined in 5 (0.15%). Anti-D antibodies were found in 19 (0.55%) pregnant women, in two (0.06%) cases newborns required exchange blood transfusion. **Conclusion.** Testing neonates and pregnant women contributes to the detection of blood type incompatibility between the mother and her child; it provides an opportunity for clinicians to implement the adequate prevention of RhD alloimmunization as well as to make timely diagnosis and to introduce treatment of hemolytic disease in newborns.

Keywords: Infant, Newborn; Mothers; Rh-Hr Blood-Group System; ABO Blood-Group System; Erythroblastosis, Fetal; Rh Isoimmunization; Coombs Test; Blood Grouping and Crossmatching; Blood Group Incompatibility; Exchange Transfusion, Whole Blood

Skraćenice

DAT	– direktni antiglobulinski test
IAT	– indirektni antiglobulinski test
IgG	– imunoglobulin G
IgM	– imunoglobulin M
HBN	– hemolizna bolest novorođenčeta
CPD krv	– krv uzeta sa citrat-fosfat-dekstrozom

Uvod

Neonatalni period je vreme od dana rođenja deteta do kraja 28. dana života. Posebno značajan i vulnerabilan je rani neonatalni period (prvih sedam dana života) u kome se dešava 80% svih smrtnih ishoda novorođenčadi. Iz ovog razloga pedijatri-neonatolozi u ovom periodu nadgledaju fiziološke funkcije novorođenčeta (pad telesne težine, telesna temperatura, glikemija, pojava žutice) [1]. Kod 25-50% novorođenčadi rođenih u terminu i 80-87% dece rođene pre termina razvija se klinički vidljiva žutica sa vrednošću serumskog bilirubina iznad 120 $\mu\text{mol/l}$. Neonatalna hiperbilirubinemija može biti izazvana porastom nekonjugovanog i konjugovanog bilirubina. Žutica izazvana porastom nekonjugovanog bilirubina može biti fiziološka i patološka, dok je konjugovana hiperbilirubinemija uvek patološka [2].

Nekonjugovana hiperbilirubinemija novorođenčeta može nastati usled povećanog stvaranja bilirubina zbog hemolize eritrocita izazvane imunološkom reakcijom majčinog organizma stimulisanog antigenima koje je dete nasledilo od oca. Do sada najčešći uzrok hemolizne bolesti novorođenčeta (HBN) bila je RhD inkompatibilija kod koje RhD-negativna trudnica nosi RhD-pozitivan fetus. Prevencija RhD aloimunizacije sprovodi se hiperimunim anti-D gamaglobulinom i jedan je od uspešno rešenih problema u perinatalnoj medicini [3,4]. Zbog ovoga danas je sve češći uzrok HBN ABO inkompatibilija deteta i majke, posebno kada je majka O krvne grupe. Antigeni ABO krvnogrupnog sistema potpuno su razvijeni tek između 2. i 4. godine života ali se mogu dokazati već od 5-6. nedelje fetalnog života. HBN može biti izazvana i antitelima koja imaju specifičnost za druge krvnogrupne sisteme (*Kell, Duffy, Kidd, ...*) [5,6].

Do aloimunizacije majke dolazi kada se eritrociti fetusa, koji na svojoj površini imaju antigene nasleđene od oca a strane majčinom organizmu, pojave u njenoj cirkulaciji tokom fetomaternalnih krvarenja, posebno u poslednjem trimestru trudnoće. Krvarenja mogu biti izazvana intervencijama (amniocenteza i dr.), vanmateričnom trudnoćom, spontanom ili artefičijelnim pobačajem, abdominalnom traumom, porođajem ili su nepoznatog uzroka. Ukoliko je bilo koji od navedenih perinatalnih događaja doveo do senzibilizacije imunostistema majke (primarne imunizacije) dolazi do inicijalne produkcije antitela IgM klase. Ovo je kratkoročan odgovor tokom koga stvarana antitela zbog svoje veličine ne prelaze fetoplacentarnu barijeru te nisu značajna u patofiziologiji

aloimunizacije. Iz navedenih razloga tokom prve trudnoće obično ne dolazi do hemolize fetalnih eritrocita. U sledećoj trudnoći, ako je majka ponovo izložena fetalnim inkopatibilnim eritrocitima, memorijski B-limfociti će, usled ekspozicije antigenu, stvarati antitela klase IgG. Ova antitela prolaze fetoplacentarnu barijeru, vezuju se za eritrocite fetusa koji na ovaj način postaju prijemčivi za uništenje od fetalnog imunog sistema u jetri i slezini. Kod fetusa se razvija anemija sa istovremenim povećanjem nekonjugovanog bilirubina. Posledica prelaska lipofilnog nekonjugovanog bilirubina kroz hematoencefalnu barijeru i njegovog taloženja u bazalnim ganglijama je oštećenje mozga koje je teško i ireverzibilno u slučajevima kada je koncentracija bilirubina iznad 340 $\mu\text{mol/l}$. Do aktivacije imunostistema majke i stvaranja antitela koja dovode do razgradnje fetalnih eritrocita, mogu dovesti eritrocitni antigeni iz različitih krvnogrupnih sistema. Nakon utvrđivanja tipa antigena koji je doveo do HBN, lečenje i dijagnostika bolesti praktično se ne razlikuju [7-9].

U okviru neonatalne zaštite novorođenčadi, tokom ranog neonatalnog perioda, radi otkrivanja HBN, uzima se uzorak krvi iz pupčanika ili vene zbog: utvrđivanja pripadnosti ABO i RhD krvnogrupnim sistemima, dokazivanja prisustva antitela na površini eritrocita direktnim antiglobulinskim testom (DAT), dokazivanja prisustva antitela u serumu indirektnim antiglobulinskim testom (IAT).

Za utvrđivanje krvnogrupne inkopatibilije majke i deteta potrebno je testiranje uzoraka krvi majke na ABO/RhD krvnogrupnu pripadnost i prisustvo iregularnih antieritrocitnih antitela. Ženama koje tokom trudnoće nisu bile testirane navedeno testiranje se obavlja neposredno nakon porođaja.

Imunohematološko testiranje neonatusa i njihovih majki omogućava otkrivanje krvnogrupne inkopatibilije majke i deteta, pruža mogućnost kliničarima za sprovođenje adekvatne prevencije anti-D aloimunizacije D-negativnih trudnica sa hiperimunim anti-D imunoglobulinom, kao i dijagnoze i terapije hemolizne bolesti novorođenčeta.

Cilj rada bio je prikaz i analiza rezultata testiranja neonatusa tokom 2011. godine na teritoriji Južnobačkog okruga i utvrđivanje potrebe za transfuziološkim zbrinjavanjem u slučajevima pozitivnih rezultata DAT, kao i analiza rezultata testiranja trudnica u istom periodu.

Materijal i metode

Retrospektivno su analizirani podaci o rezultatima testiranja neonatusa na ABO krvnu grupu, RhD antigen i DAT (polispecifični i monospecifični), dobijeni iz informacionog sistema i protokola Zavoda za transfuziju krvi Vojvodine. Uzorci krvi iz pupčanika ili vene novorođenčeta testirani su gel metodom u kartici *DiaClon ABO/Rh for Newborns DVI+* (*monoclonal antibodies, BioRad*) konfiguracije A, B, AB, DVI+, ctl, DAT. Na ovaj način utvrđena je ABO krvnogrupna pripadnost (O, A, B,

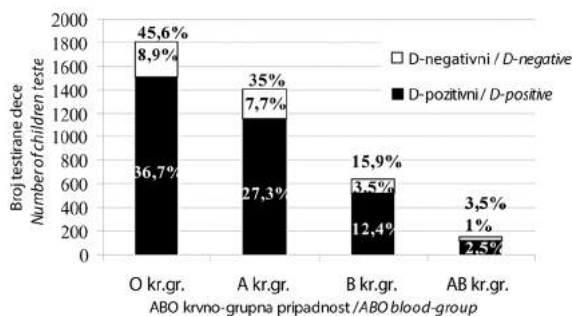
AB) i status RhD antigena (D-pozitivan, D-negativan). Kod prisustva nekompletnih antitela na eritrocitima (DAT pozitivan) reakcija je stepenovana: slabo pozitivan +/-, pozitivan 1+, pozitivan 2+, pozitivan 3+, pozitivan 4+. Klasa antitela utvrđena je gel metodom u *ID-Card DC-Screening II*, *BioRad konfiguracije IgG (rabbit)*, *C3d (monoclonal antibodies)*, ctl. Skrining iregularnih eritrocitnih antitela rađen je metodom IAT-a u gelu (*ID-Card Liss/Coombs*, *ID-DiaCell I-II*, *BioRad*).

Analizirani podaci o rezultatima testiranja uzoraka krvi trudnica uključili su: ABO/RhD krvnu grupu utvrđenu metodom u epruveti, skrining iregularnih eritrocitnih antitela rađen metodom IAT u gelu (*ID-Card Liss/Coombs*, *ID-DiaCell I-II*, *BioRad*) automatskom tehnikom rada (*Swing Twin Sampler*, *DiaMed*), specifičnost antitela u serumu utvrđenu metodom u gelu (*ID-Card Liss/Coombs*, *ID Panel*, *BioRad*).

Rezultati

U periodu od 01.01.2011. do 31.12.2011. na teritoriji Južnobačkog okruga rođeno je 6 800 (100%) dece. Testiranje ABO krvne grupe i DAT (anti-IgG, C3d) urađeno je kod 3 313 (48,7%) uzoraka krvi dece. Testiranje je obuhvatilo uzorke krvi 2 720 (40%) neonatusa čije su majke bile O krvne grupe (D-negativne i D-pozitivne) i 593 (8,7%) neonatusa čije su majke bile krvnih grupa A, B, AB (D-negativne).

Testiranjem 3 313 (100%) uzoraka krvi neonatusa na ABO/RhD krvnogrupnu pripadnost dobijeni su sledeći rezultati: O krvna grupa kod 1 512 (45,6%) uzoraka (D-pozitivnih 1 215 (36,7%), D-negativnih 297(8,9%)); A krvna grupa kod 1 157 (35%) uzoraka (D-pozitivnih 903 (27,3%), D-negativnih 254 (7,7%)); B krvna grupa kod 526 (15,9%) uzoraka (D-pozitivnih 411 (12,4%), D-negativnih 115 (3,5%)); AB krvna grupa kod 118 (3,5%) uzoraka (D-pozitivnih 84 (2,5%), D-negativnih 34 (1%)). Ukupan broj uzoraka D-pozitivnih neonatusa bio je 2 613 (78,9%), a D-negativnih 700 (21,1%). Distribucija ABO/RhD krvne grupe kod neonatusa prikazana je **Grafikonom 1**.



Grafikon 1. Distribucija ABO/RhD krvno-grupne pripadnosti kod neonatusa

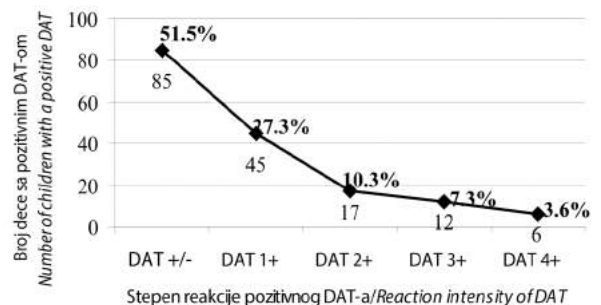
Graph 1. Distribution of ABO/Rh blood-group in the neonate

Testiranjem uzoraka krvi 3 313 (100%) dece na polispecifični DAT dobijeni su sledeći rezultati: negativan DAT kod 3 148 (95%) neonatusa; pozitivan DAT kod 165 (5%). Utvrđeni stepen reakcije kod pozitivnog rezultata DAT bio je: kod 85 (51,5%) uzoraka slabo pozitivan +/-; 45 (27,3%) pozitivan 1+; 17 (10,3%) pozitivan 2+; 12 (7,3%) pozitivan 3+; 6 (3,6%) pozitivan 4+. Testiranje izvršeno na 165 uzoraka sa pozitivnim rezultatom polispecifičnog DAT pokazalo je 100% pozitivnost sa antitelima klase IgG pri testiranju monospecifičnim DAT-om. Rezultati testiranja uzoraka krvi neonatusa na DAT prikazani su **Grafikonom 2**.

Kod 4 (2,42%) novorođenčeta sa pozitivnim rezultatom DAT urađena je eksangvinotransfuzija. Među novorođenčadima podvrgnutim ovoj proceduri: dva su imala pozitivan DAT (DAT pozitivan 4+, DAT pozitivan 3+), pozitivan IAT i identifikacijom dokazana anti-D antitela; dva su imala pozitivan DAT (DAT pozitivan 4+, DAT pozitivan 2+), negativan IAT i dokazanu ABO inkompatibiliju.

Tokom posmatranog perioda, ispitivanje ABO krvne grupe, RhD antigena i skrining iregularnih antieritrocitnih antitela sprovedeni su iz uzoraka krvi 3 429 (100%) trudnica. Među testiranim trudnicama bilo je 419 (12,22%) D-negativnih. Prisustvo antieritrocitnih antitela utvrđeno kod 64 (1,87%) trudnice. Među njima bilo je 28 (0,82%) trudnica koje su imale pasivno anti-D antitelo poreklom iz hiperimunog anti-D gama globulina. Aktivno imunizovanih trudnica bilo je 36 (1,05%): 23 (0,67%) trudnice koje su imunizovane antigenima Rh krvnogrupnog sistema, 8 (0,23%) antigenima drugih krvnogrupnih sistema, a kod 5 (0,15%) trudnica se nije mogla utvrditi specifičnost postojećih antitela.

Anti-D antitelo identifikovano je u uzorcima krvi 19 (0,55%) trudnica: kod 13 (0,38%) trudnica kao pojedinačno antitelo i kod 6 (0,17%) u kombinaciji sa anti-C antitelom. Anti-C antitelo je utvrđeno kod 1 (0,03%) trudnice, anti-E kod 2 (0,06%), anti-c kod 1 (0,03%). Specifičnost ostalih utvrđenih antitela bila je: anti-M kod 4 (0,12%) trudnice, anti-K kod 2 (0,06%), anti-Le^a kod 2 (0,06%). Novorođenčad dve (0,06%) aktivno imunizovane majke sa prisutnim anti-D antitelom morala su biti podvrgnuta proceduri eksangvinotransfuzije.



Grafikon 2. Rezultat direktnog antiglobulinskog testa kod neonatusa

Graph 2. Direct antiglobulin tests (DATs) in newborns

Diskusija

U Službi za kliničku transfuziologiju, terapijske usluge i distribuciju krvi i produkata od krvi Zavoda za transfuziju krvi Vojvodine testiraju se uzorci krvi neonatusa do 24 časa po rođenju i utvrđuje ABO krvnogrupna pripadnost, status RhD antigena i prisustvo antieritrocitnih antitela na površini eritrocita i u serumu. U ispitivanom periodu testiranjem su bili obuhvaćeni svi neonatusi D-negativnih majki kao i majki O krvne grupe bez obzira na status RhD antigena. Metodom direktnog antiglobulinskog testa dokazano je prisustvo antitela na površini eritrocita kod 5% neonatusa. Kod 78,8% DAT je bio slabije reaktivan (slabo pozitivan ili pozitivan 1+) i negativizirao se u roku od 1-2 dana. Kod 21,2% neonatusa DAT je pokazao jaču reaktivnost (pozitivan 2+ do 4+). Monospecifičnim DAT u svim slučajevima su dokazana antitela klase IgG. Pored dijagnostičkog učesća u rešavanju problema hiperbilirubinemije kod neonatusa, Služba je učestvovala i u terapijskim procedurama. Eksangvinotransfuzija urađena je kod 0,12% neonatusa (dva deteta sa ABO inkompatibilijom i dva sa Rh inkompatibilijom). Kod 99,88% neonatusa nije bilo indikovano transfuziološko zbrinjavanje.

Podaci dobijeni u studiji pokazali su zadovoljavajući broj dece testirane tokom neonatalnog perioda (obuhvaćenost sve dece u povećanom riziku nastanka HBN) i potvrdili činjenicu da imunohematološke analize, čiji je cilj utvrđivanje krvnih grupa i identifikacija antitela, imaju primenu u profilaksi, dijagnostici i terapiji HBN [10].

Istraživanje je potvrdilo i da je, za postavljanje dijagnoze HBN, neophodno poznavati i ABO krvnogrupnu pripadnost i RhD antigeni status majke, a u određenim situacijama i njen fenotip i rezultat skrininga antieritrocitnih antitela [11]. Tako je, tokom posmatranog perioda, u Službi za laboratorijsku i drugu dijagnostiku Zavoda za transfuziju krvi Vojvodine, pri testiranju preko tri hiljade uzoraka krvi trudnica utvrđena aktivna imunizacija kod 1,05%, sa identifikovanim anti-D antitelom kod 0,55% trudnica. Studijom je tako utvrđena mogućnost smanjenja broja eksangvinotransfuzija neonatusa indikovanih usled HBN izazvane anti-D aloimunizacijom majke. Sličan nalaz dobijen je u studiji koja je istraživala period 2003–2010. godine na području Južnobačkog regiona [12]. Tada su kod D-negativnih majki sa pozitivnim indirektnim antiglobulinskim testom u 76% slučajeva dokazana pasivna anti-D antitela uneta u svrhu profilakse RhD imunizacije, a u 13% anti-D antitela nastala kao posledica aktivne imunizacije. Ove činjenice navode na zaključak da se doslednim sprovođenjem preventivnih mera tokom trudnoće (utvrđivanjem ABO krvne grupe i RhD statusa trudnice, skriningom iregularnih antieritrocitnih antitela, imunoprofilaksom D-negativnih

trudnica hiperimunim anti-D imunoglobulinom) može postići značajno smanjenje aloimunizacije i njenih posledica na fetus/novorodence. Slični rezultati dobijeni su i u drugim studijama u zemlji. Šuput-Tomaš i saradnici su ispitivali učestalost stvaranja iregularnih antieritrocitnih antitela kod preko pet hiljada trudnica u periodu 1995–2005. godine utvrđivši prisustvo antitela klinički značajnih za trudnoću kod 0,64% trudnica. Anti-D antitelo je otkriveno u 68% slučajeva prisutne aktivne imunizacije, pa je zaključak istraživanja bio da u Srbiji još uvek postoji visok procenat imunizovanih D-negativnih trudnica (0,94%) [13].

Pored aloimunizacije majke antigenima koje je fetus nasledio od oca, istraživanja neonatalne hiperbilirubinemije u svetu uključuju i ispitivanja ostalih faktora rizika njenog nastanka (dojenje, prevremeni porodaj, infekcija, kefalhematom, asfiksija, nedostatak glukoza-6-fosfat dehidrogenaze (G6PD), varijante gena UDP-glukuronozil transferaze 1A1 (UGT1A1) i gena organskog transportera anjona 2 (OATP 2)) [1].

Za praćenje razvoja HBN koriste se različiti pokazatelji. Istraživanja koja su procenjivala odnos vrednosti bilirubina i pojave neuroloških oštećenja došla su do zaključka da se praćenjem samo ukupnog serumskog bilirubina ne može adekvatno predvideti razvoj HBN [14]. S druge strane direktni antiglobulinski test je jednostavan način procene pojave HBN [15]. Po Herschel i saradnicima uključivanjem DAT u dijagnostiku tokom prvih 12 sati po rođenju može se otkriti više od polovine slučajeva značajne hemolize (pozitivna predviđajuća vrednost DAT: 59% vetovatnoće da neonatus sa pozitivnim DAT ima značajnu hemolizu) [16]. Po Dineshu korisnost pozitivnog rezultata DAT u odnosu na otkrivanje i lečenje HBN je sporna u praksi (pozitivna predviđajuća vrednost je 23%). Prema istoj studiji u većini ispitivanih slučajeva žutica je bila prvo upozorenje na HBN pa je procena hiperbilirubinemije u ranom neonatalnom periodu dobila fundamentalni značaj [17].

Radi postizanja što boljih efekata terapije i smanjenja nuspojava, u četiri slučaja eksangvinotransfuzije navedena u studiji, rađene su dvovolumenske izmene krvi i korišćeni deplazmatisani eritrociti stari do 5 dana koji su resuspendovani svežom smrznutom plazmom. Test kompatibilnosti (*cross match*) seruma neonatusa rađen je sa eritrocitima davaoca krvi. Na eksangvinotransfuzije izvršene tokom studije nije bilo prijavljenih neželjenih reakcija ali njihov mali broj nije bio dovoljan za istraživanje štetnih posledica.

Prema podacima iz literature, u 15 studija koje su se bavile rizicima terapije hiperbilirubinemije navodi se, u periodu od 6 sati od eksangvinotransfuzije, postojanje smrtnosti u rasponu od 3-4 na 1 000 tretirane novorođenčadi koja su rođena u terminu i bez ozbiljnih hemolitičkih bolesti [14]. Kao pogodna alternativa sveže pune krvi za eksangvinotransfuziju novorođenčeta navode se re-

konstituisani dekantirani eritrociti dopunjeni, u slučaju potrebe, transfuzijom trombocita [18,19]. Istraživanja jednovolumenske eksangvinotransfuzije, nasuprot sadašnjoj praksi dvovolumenske eksangvinotransfuzije kod novorođenčadi sa težim oblicima hiperbilirubinemije, nisu pružila dovoljno dokaza da bi se preporučila izmena dosadašnje prakse [20].

Zaključak

Studija je pokazala da imunohematološko testiranje neonatusa i njihovih majki doprinosi otkrivanju krvnogrupne inkompatibilije majke i deteta, pruža mogućnost kliničarima za sprovođenje adekvatne prevencije anti-D aloimunizacije kao i pravovremene dijagnoze i terapije hemolizne bolesti novorođenčeta.

Literatura

- Huang MJ, Kua KE, Teng HC, Tang KS, Weng HW, Huang CS. Risk factors for severe hyperbilirubinemia in neonates. *Pediatr Res* 2004;56:682-9.
- Wennberg R. Measuring free bilirubin: the clinical perspective. *Clin Chem* 2012;58:811-3.
- Starčević M, Mataja M, Sović D, Dodig J, Matijević R, Kukuruzović M. Važnost antenatalne imunoprofilakse u prevenciji hemolitičke bolesti fetusa i novorođenčeta. *Acta Med Croat* 2011;65:49-54.
- Tadić S. Uloga transfuzioloških laboratorija u antenatalnoj i perinatalnoj zaštiti trudnica. *Bilt Transfuz* 2010;56(1-2):72.
- Tasić M, Milošević J, Stefanović M, Radović-Janošević D, Krstić M, Antić V. Kell imunizacija: prikaz slučaja. *Med Pregl* 2009;62(7-8):369-72.
- Mijović-Nikolić L, Libek V, Strugar A, Ranković N, Kulić A. Pozitivni direktni antiglobulinski test kod 0 RHD+ porodilje koja je rodila 0 RHD+ dete: prikaz slučaja. *Materia Med* 2007;23(1):38-40.
- Ahlfors C, Wennberg R, Ostrow D, Tiribelli C. Unbound (free) bilirubin: improving the paradigm for evaluating neonatal jaundice. *Clin Chem* 2009;55(7):1288-99.
- Keren R, Bhutani VK, Luan X, Nihtianova S, Cnaan A, Schwartz JS. Identifying newborns at risk of significant hyperbilirubinaemia: a comparison of two recommended approaches. *Arch Dis Child* 2005;90:415-21.
- Judd WJ. Practice guidelines for prenatal and perinatal immunohematology: revisited. *Transfusion* 2001;41(11):1445-52.
- Jovanović-Srzentić S. Imunohematologija u službi transfuzijske medicine Srbije. *Bilt Transfuziol* 2010;56(1-2):66-71.
- Burgos AE, Flaherman VJ, Newman TB. Screening and follow-up for neonatal hyperbilirubinemia: a review. *Clin Pediatr* 2012;51:16-7.
- Gavrančić T, Milanović M, Gavrančić B. Učestalost različitih vrsta antitela kod trudnica sa pozitivnim indirektnim antiglobulinskim testom. *Timoč Med Glas* 2012;37(1):10-3.
- Šput-Tomaš Lj, Paunović M, Janković-Orešćanin B, Burić G. Učestalost stvaranja iregularnih antieritrocitnih antitela kod trudnica. *Bilt Transfuziol* 2007;53(1-2):55-7.
- Ip S, Chung M, Kulig J, O'Brien R, Sege R, Glick S, et al. An evidence-based review of important issues concerning neonatal hyperbilirubinemia. *Pediatrics* 2004;114:130-53.
- Roback J. Technical manual: clinical considerations in transfusion practice - neonatal and pediatric transfusion practice: investigation of a positive DAT, Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn. 16th ed. Bethesda: AABB Press; 2008.
- Herschel M, Karrison T, Wen M, Caldarelli L, Baron B. Evaluation of the direct antiglobulin (Coombs') test for identifying newborns at risk for hemolysis as determined by end-tidal carbon monoxide concentration (ETCOc) and comparison of the Coombs' test with ETCOc for detecting significant jaundice. *J Perinatol* 2002;22(5):341-7.
- Dinesh D. Review of positive direct antiglobulin tests found on cord blood sampling. *Paediatr Child Health* 2005;41(9-10):504-7.
- Barnard D, Chapman R, Simmons M, Hathaway W. Blood for use in exchange transfusion in the newborn. *Transfusion* 1980;20(4):401-8.
- Roback JD, Rae CM, Grossman BJ, Hillyer. Technical manual 2008. Bethesda: American Association of Blood Banks; 2008.
- Thayyil S, Milligan DW. Single versus double volume exchange transfusion in jaundiced newborn infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;18(4):4592.

Rad je primljen 28. XII 2012.

Recenziran 4. IV 2013.

Prihvaćen za štampu 27. VI 2013.

BIBLID.0025-8105:(2013):LXVI:7-8:317-321.

Klinički centar Vojvodine, Novi Sad
Klinika za maksilofacijalnu i oralnu hirurgiju

Stručni članak
Professional article
UDK 616.716.4-001.5-036.22
DOI: 10.2298/MPNS1308322N

EPIDEMIOLOGIJA PRELOMA DONJE VILICE PACIJENATA LEČENIH NA KLINICI ZA MAKSILOFACIJALNU I ORALNU HIRURGIJU KLINIČKOG CENTRA VOJVODINE

EPIDEMIOLOGY OF LOWER JAW FRACTURE IN PATIENTS TREATED AT THE DEPARTMENT OF MAXILLOFACIAL AND ORAL SURGERY OF THE CLINICAL CENTRE OF VOJVODINA

Benjamin NALIĆ, Ivana MIJATOV i Saša MIJATOV

Sažetak

Uvod. Položaj i izloženost donje vilice razlozi su zbog kojih je ona jedna od najčešće povređivanih kostiju lica. **Materijal i metode.** Retrospektivnom studijom smo izvršili obradu medicinske dokumentacije pacijenata koji su lečeni na Klinici za maksilofacijalnu i oralnu hirurgiju u periodu 1.1.1998–31.12.2012. godine. Prikupljeni i obrađeni podaci obuhvatali su: pol i godine pacijenta, mehanizam povređivanja, anatomska lokalizaciju preloma, pridružene povrede, kao i način lečenja preloma. **Rezultati.** Ukupno je zbrinuto 630 pacijenta, 531 muškarac (84,3%) i 99 žena (15,7%). Prelomi donje vilice su najčešće bili zastupljeni u starosnom dobu 21–30. godine (36,2%), a najmanje u starosnom dobu preko 70 godina (1,1%). Najčešći mehanizam povređivanja pacijenta je fizički napad (47,3%), slede saobraćajni traumatizam (24,3%) i padovi (20,8%). Većina pacijenata – 436 (69,2%) lečena je konzervativno (intermaksilarnom fiksacijom), dok je 165 pacijenata (26,2%) lečeno operativnim putem; kod 29 pacijenta (4,6%) nije preduzeta nijedna od prethodno navedenih mera lečenja. **Diskusija i zaključak.** Ova studija je ukazala da su prelomi donje vilice najčešći kod osoba muškog pola u mladem životnom dobu (21–30. godine). Dobijeni statistički podaci bi svakako mogli da budu iskorišteni u formiranju zdravstvenog sistema koji bi omogućio prevencije nastanka ovakvih povreda, kao i mogućnosti adekvatnog i efikasnijeg načina lečenja.

Ključne reči: Mandibula; Prelomi kosti; Epidemiologija; Muško; Žensko; Faktori godina; Rane i povrede; Operativne hirurške procedure

Uvod

Donja vilica je najveća, najjača i jedna od najisturenijih kostiju lica. Osim značajne estetske uloge, zbog svoje pokretljivosti ima važnu ulogu prilikom govora i žvakanja. Zbog svog položaja i isturenosti je druga kost lica po učestalosti povređivanja, posle nosnih kostiju [1]. Glavni uzroci povređivanja kostiju maksilofacijalne regije su: saobraćajne nesreće, fizički napadi, padovi i povrede u sportu. Prelomi donje vilice su sve teži i komplikovaniji, a mogu biti udruženi sa povredama i drugih delova tela [2,3]. Prvi pisani dokumenat o prelomu donje vilice dati-

Summary

Introduction. The position and prominence are the reasons why the lower jaw is one of the most commonly injured facial bones. **Material and Methods.** A retrospective study was conducted to analyze medical records of patients who had been treated at the Department of Maxillofacial and Oral Surgery in the period from January 1st, 1998 to December 31st, 2012. These data included patients' age and gender, mechanism of injury, anatomic localization of the fracture, associated injuries and treatment of fractures. **Results.** Out of 630 treated patients, 531 were men (84.3%) and 99 were women (15.7%). The highest incidence of the lower jaw fractures was found in the age group 21-30 years (36.2%) and the lowest in the age group over 70 years (1.1%). The most common causes of injuries were physical assault (47.3%), followed by traffic accidents (24.3%) and falls (20.8%). Most patients referred to our Department were treated non-surgically 436 (69.2%), 165 of them (26.2%) were treated surgically, whereas in 29 patients (4.6%) none of the above treatments was performed. **Discussion and Conclusion.** This study has shown that fractures of the lower jaw are mainly found in men aged 21-30 years. The obtained statistical data could certainly be used to establish the health system that would allow better prevention of these injuries, and the possibility of an adequate and effective treatment modality.

Key words: Mandible; Fractures, Bone; Epidemiology; Male; Female; Age Factors; Wounds and Injuries; Surgical Procedures, Operative

ra iz 1650. godine p.n.e. iz Egipta u kom se opisuje pregled, dijagnoza i lečenje preloma donje vilice [4]. U skladu s razvojem medicine i napretku savremene tehnologije menja se naš odnos, pre svega u načinu lečenja preloma donje vilice.

Materijal i metode

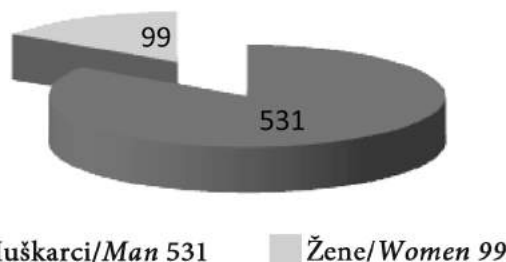
Radena je retrospektivna studija, izvršena je obrada medicinske dokumentacije pacijenata koji su lečeni na Klinici za maksilofacijalnu i oralnu hirurgiju Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu u periodu od 15 godina (1998–2012. godine). Prikupljeni i obra-

Tabela 1. Distribucija pacijenata prema polu i starosti**Table 1.** Distribution of patients by sex and age

	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	>70	Ukupno/Total
Muškarci/Men	/	127 (23,9%)	198 (37,3%)	97 (18,3%)	74 (13,9%)	21 (3,9%)	8 (1,6%)	6 (1,1%)	531
Žene/Women	/	25 (25,2%)	30 (30,3%)	17 (17,2%)	12 (12,1%)	6 (6,1%)	8 (8,1%)	1 (1%)	99
Ukupno/Total	/	152 (24,1%)	228 (36,2%)	114 (18,1%)	86 (13,7%)	27 (4,3%)	16 (2,5%)	7 (1,1%)	630

Tabela 2. Distribucija pacijenata prema etiologiji povređivanja**Table 2.** Distribution of patients according to the etiology of injury

	Napad <i>Physical assault</i>	Saobraćajni traumatizam <i>Traffic accidents</i>	Sportske povrede <i>Sports injuries</i>	Pad <i>Falls</i>	Vatreno oružje <i>Fire arms</i>	Razno <i>Others</i>	Ukupno <i>Total</i>
Muškarci/Men	276 51,9%	117 22%	19 3,6%	96 18,1%	3 0,6%	20 3,8%	531
Žene/Women	22 22,2%	36 36,4%	/	35 35,3%	/	6 6,1%	99
Ukupno/Total	298 47,3%	153 24,3%	19 3,1%	131 20,8%	3 0,4%	26 4,1%	630

**Grafikon 1.** Distribucija pacijenata prema polu
Graph 1. Distribution of patients by sex

deni podaci obuhvatali su: pol i godine pacijenta, mehanizam povređivanja, anatomsku lokalizaciju preloma, pridružene povrede, kao i način lečenja preloma.

Rezultati

U periodu 1.01.1998–31.12.2012. godine na Klinici za maksilofacijalnu hirurgiju Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu lečeno je 630 pacijenata s prelomom donje vilice. Većina pacijenata bili su muškarci 531 (84,3%), a 99 (15,7%) žena (**Grafikon 1**). Najveći broj preloma donje vilice i kod muškaraca (37,3%) i kod žena (30,3%) u starosnom je dobu 21–30. godine, a najmanji u starosnom dobu preko 70 godina, i kod muškaraca (1,1%) i žena (1%)

(**Tabela 1**). Kod muškaraca najčešći uzrok povređivanja je fizički napad (51,9%), a potom slede saobraćajni traumatizam (22,2%) i padovi (18,1%). Kod žena glavni uzrok povređivanja je saobraćajni traumatizam (36,4%), a potom slede padovi (35,3%) i napad (22,2%) (**Tabela 2**). Od 630 pacijenata, 301 (47,8%) je imao jednostruki prelom, 256 (40,6%) dvostruki, 42 (6,7%) trostruki, a 31 (4,9%) je imao multifragmentarni prelom donje vilice (**Tabela 3**). Kod muškaraca najčešće lokalizacije preloma donje vilice bile su: ugao (35,5%), a potom slede telo (25,1%) i kondilarni nastavak (19,9%). Kod žena su najčešće lokalizacije preloma bile: telo (28%) i kondilarni nastavak (28%), a potom simfiza (18%) i ugao donje vilice (10%). Od ukupno 630 pacijenata, 48 (7,6%) je imalo i pridružene povrede. Takve povrede najčešće se nastajale kao posledica saobraćajnog traumatizma (50%), fizičkog nasilja (29,2%) i padova (18%). Najčešće povređivane kosti lica bile su: gornja vilica (31,3%) i jagodična kost (31,3%), zatim povreda jagodične kosti i gornje vilice zajedno (14,6%), a potom slede nosne kosti (8,3%), kosti ekstremiteta (8,3%) i lobanje (6,2%) (**Tabela 4**). Većina pacijenata – 436 (69,2%) lečena je različitim tehnikama intermaksilarne fiksacije, 165 (26,2%) je lečeno operativnim putem, dok kod 29 pacijenata (4,6%) nije preduzeta nijedna od prethodno navedenih mera lečenja (**Tabela 5**).

Table 3. Distribucija pacijenata prema polu i broju frakturnih linija**Table 3.** Distribution of patients by sex and number of fractured lines

	Jednostruki prelomi <i>Single fracture</i>	Dvostruki prelomi <i>2 fracture lines</i>	Trostruki prelomi <i>3 fracture lines</i>	Multifragmentarni prelomi <i>Comminuted fracture</i>
Muškarci/Men	251 (47,3%)	228 (42,9%)	30 (5,6%)	22 (4,2%)
Žene/Women	50 (50,5%)	28 (28,3%)	12 (12,1%)	9 (9,1%)
Ukupno/Total	301 (47,8%)	256 (40,6%)	42 (6,7%)	31 (4,9%)

Tabela 4. Korelacija etiologije i pridruženih povreda
Table 4. Correlation between etiology and associated injuries

	Jagodična kost <i>Cheekbone</i>	Gornja vilica <i>Upper jaw</i>	Jagodična kost i gornja vilica <i>Cheekbone and upper jaw</i>	Nosne kosti <i>Nasal bone</i>	Kranijum <i>Cranium</i>	Kosti ekstremiteta <i>Limb bones</i>	Ukupno <i>Total</i>
Napad <i>Physical assault</i>	5	2	3	3	1	/	14 (29,2%)
Saobr.traum. <i>Traffic accidents</i>	7	8	3	1	2	3	24 (50%)
Pad <i>Fall</i>	3	4	1	/	/	1	9 (18,7%)
Vatreno oružje <i>Firearm</i>	/	1	/	/	/	/	1 (2,1%)
Ukupno/ <i>Total</i>	15 (31,3%)	15 (31,3%)	7 (14,6%)	4 (8,3%)	3 (6,2%)	4 (8,3%)	48

Tabela 5. Distribucija pacijenata prema tipu lečenja
Table 5. Distribution of patients according to the type of treatment

	Jednostruki prelomi <i>Single fracture</i>	Dvostruki prelomi <i>2 fracture lines</i>	Trostruki prelomi <i>3 fracture lines</i>	Multifragmentarni prelomi <i>Comminuted fracture</i>	Ukupno <i>Total</i>
Intermaksilarna imobilizacija <i>Maxillomandibular fixation</i>	169	160	28	10	367 58,3%
Operacija/ <i>Surgery</i>	55	80	13	17	165 26,2%
Ernst, Rizdon, Ivy	62	7	/	/	69 10,9%
Bez intervencije <i>Without intervention</i>	15	9	1	4	29 4,6%
Ukupno/ <i>Total</i>	301	256	42	31	630

Diskusija

Zbog svog isturenog položaja, donja vilica je često zastupljena u traumi lica, a podaci pokazuju da je zastupljena u 30–62% slučajeva od ukupnog broja preloma kostiju lica [5,6]. Rezultati naše studije ukazuju da je prelom donje vilice najčešći kod osoba muškog pola – od ukupno 630 pacijenta koji su zbrinuti na našoj klinici, muškaraca je bilo 531 (84,3%), a 99 žena (15,7%). Najveći broj preloma donje vilice i kod žena je u starosnom dobu 21–30 godina (36,2%), a najmanji u starosnom dobu preko 70 godina (1,1%). Ovi statistički podaci se poklapaju sa ranije objavljenim radovima na ovu temu [7]. Kada je u pitanju mehanizam povređivanja u našoj studiji fizički napad dominira (47,3%), slede saobraćajni traumatizam (24,3%) i padovi (20,8%) [8].

Ovi podaci, kao i činjenica da je najveći procenat povredjenih muškog pola, mogu biti uslovljeni socioekonomskim karakteristikama našeg područja (činjenicom da su muškarci u većoj meri učesnici u saobraćaju kao i da su u većem procentu konzumenti alkohola). Dobijeni rezultati odgovaraju rezultatima autora sa područja Evrope i Australije, gde je takođe kao glavni uzrok traumatizma donje vilice naveden fizički napad [9–13]. Autori iz Azije i Afrike kao glavni uzrok mandibularnog traumatizma navode saobra-

ćajni traumatizam [14–18]. Najčešće anatomska lokalizacija kod preloma donje vilice u našoj studiji je ugao (31,3%), potom sledi telo (25,7%) i kondilarni nastavak (21,4%). U literaturi kao najčešća anatomska lokalizacija preloma donje vilice navodi se simfiza, kondilarni nastavak i angulus [19–21]. Prelomi donje vilice mogu biti udruženi sa povredama drugih delova tela. Rezultati nekih studija ukazuju da je oko 43% pacijenata sa prelomom donje vilice imalo pridružene povrede [22]. U našoj studiji pridružene povrede najčešće su nastajale kao posledica saobraćajnog traumatizma (50%) i fizičkog napada (29,1%). Kao najčešće povređivane kosti lica bile su: gornja vilica (31,3%) i jagodična kost (31,3%). Većina pacijenata na našoj klinici, 436 pacijenata (69,2%), lečena je konzervativnom metodom koja podrazumeva manuelnu repoziciju fragmenata ili repoziciju pomoću trakcije (gumicama) uz različite tehnike intermaksilarne fiksacije metalnim šinama i žicama [1,22,24]. Jedan deo pacijenta, kod kojih nije zadovoljavajući položaj ulomaka na rendgenskim snimcima, nakon manuelne repozicije, njih 165 (26,2%) lečeno je operativnim putem što podrazumeva krvavu hiruršku repoziciju fragmenata i osteosintezu različitim osteosintetičkim materijalima (žicama, šrafovim, pločicama) [25]. Kod 29 pacijenta (4,6%) nije preduzeta nijedna od prethodno navedenih mera lečenja zbog ko-

morbiditeta ili starosti pacijenata (bezube vilice). Niz nedostataka koji za sobom nosi intermaksilarna fiksacija (nemogućnost govora, neadekvatna ishrana, gubitak telesne težine, odsustvo sa posla), s jedne strane, i razvoj medicinske tehnologije i komfor koji sa sobom donosi operativno lečenje i osteosinteza pločicama, s druge strane, razlog su zašto se sve više maksilofacijalnih hirurga opredeljuje za operativno lečenje [26–28].

Zaključak

Naša analiza je pokazala da su prelomi donje vilice najčešći kod osoba muškog pola u mlađem životnom dobu (21–30 godina). Svi statistički podaci bi svakako mogli da budu iskorišteni u formiranju zdravstvenog sistema koji bi omogućio bolju prevenciju nastanka ovakvih povreda, kao i mogućnosti adekvatnog i efikasnijeg načina lečenja.

Literatura

- Kiralj A, Ristić J. Imobilizacija i šavovi u maksilofacijalnoj hirurgiji. Novi Sad: Academic press; 1993.
- Fonseca RJ, Walker RV, Betts NJ, Barber HD. Oral and maxillofacial trauma. Vol. 1. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 1997.
- Džolev A, Ilić MP. Dijagnostika preloma donje vilice. U: Somer T, Avramov S. Dijagnostika povreda. Novi Sad: Medicinski fakultet; 1993. str. 35-7.
- Breasted JH. The Edwin Smith surgical papirus. Chicago: University of Chicago Press; 1930.
- Kun H, Sun HY. Analysis of facial bone fractures: an 11-year study of 2094 patients. *Indian J Plast Surg* 2010;43(1):42-8.
- Lee KH. Epidemiology of mandibular fractures in a tertiary trauma centre. *Emerg Med J* 2008;25:565-8.
- Czerwinski M, Parker WL, Chehade A, Williams HB. Identification of mandibular fracture epidemiology in Canada: enhancing injury prevention and patient evaluation. *Can J Plast Surg* 2008;16:36-40.
- Đurić P, Miladinov-Mikov M. Epidemiološke karakteristike saobraćajnog traumatizma u AP Vojvodini. *Med Pregl* 2009;62(1-2):17-22.
- Brasileiro BF, Passeri LA. Epidemiological analysis of maxillofacial fractures in Brazil: a 5-year prospective study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodont* 2006;102:28-34.
- Adams CD, Januszkiewicz JS, Judson J. Changing patterns of severe craniomaxillofacial trauma in Auckland over eight years. *Aust N Z J Surg* 2000;70(6):401-4.
- Strom C, Nordenram A, Fischer K. Jaw fractures in County of Kopparberg and Stockholm 1979-1988: a retrospective comparative study of frequency and cause with special reference to assault. *Swed Dent J* 1991;15:285-9.
- Matos FP, Arnez MF, Sverzut CE, Trivellato AE. A retrospective study of mandibular fracture in a 40-month period. *Int J Maxillofac Surg* 2010;39(1):10-5.
- Ugboko VI, Odusanya SA, Fagade OO. Maxillofacial fractures in a semi urban Nigerian teaching hospital: a review of 442 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1998;27:286-9.
- Bataineh AB. Etiology and incidence of maxillofacial fractures in the north of Jordan. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodont* 1998;86:31-5.
- Tanaka N, Tomitsuka K, Shonoya K, Andou H, Kimijima Y, Tashiro T, et al. Aetiology of maxillofacial fracture. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1994;32(1):19-23.
- Sakr K, Farag IA, Zeitoun IM. Review of 509 mandibular fractures treated at the University Hospital, Alexandria, Egypt. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2006;44:107-11.
- Bouguila J, Zairi I, Kohansari RH, Lankriet C, Mokhart M, Adouani A. Mandibular fracture: a 10-year review of 685 cases treated in Charles-Nicolle hospital (Tunisia). *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 2009;110(2):81-5.
- Wimon S, Kasemsak P. The epidemiology of mandibular fractures treated at Chiang Mai University Hospital. *J Med Assoc Thai* 2008;91(6):868-74.
- Alexander J, Tina M, George KB, Cameron ML. The epidemiology of mandibular fractures treated at the Toronto General hospital: a review of 246 cases. *J Can Dent Assoc* 2001;67(11):640-4.
- Markov B, Hajdu L, Ilić M, Kiralj A. Transparotidni pristup za repoziciju i osteosintezu preloma kondilarnog nastavka mandibule. *Med Danas* 2010;9(7-12):212-6.
- Fridrich KL, Pena-Velasco G, Olson RAJ. Changing trends with mandibular fractures: a review of 1067 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 1985;59:120.
- Džolev A, Ilić MP. Evaluacija vrednosti osteosintetskog materijala i metoda u maksilofacijalnoj hirurgiji u Somer T, Avramov S. *Implanti u hirurgiji*. Novi Sad: Medicinski fakultet; 1993. str. 71-7.
- Džolev A, Hrabovski A, Ristić J, Kiralj A, Dedić S, Ilić MP. Terapija povreda maksilofacijalne regije. U: Somer T, Avramov S. *Terapija povreda*. Novi Sad: Medicinski fakultet; 1994. str. 43-62.
- Ilić MP, Džolev A, Stojanović S, Ristić J, Hrabovski A, Dedić S, et al. Importance of appropriate X-ray diagnostic in preoperative and postoperative treatment mandible fractures. *Eur J Emerg Surg* 1997;20(3):51.
- Sorel B. Open versus closed reduction of mandibular fractures. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 1998;10:553.
- Schneider M, Erasmus F, Gerlach KL, Kuhlisch E, Loukota RA, Rasse M. Open reduction and internal fixation versus closed treatment and mandibulomaxillary fixation of fractures of mandibular condylar process: a randomized, prospective, multicenter study with special evaluation of fracture level. *J Oral Maxillofac Surg* 2008;66(12):2537-44.
- Konstantinovic V, Dimitrijevic B. Surgical versus conservative treatment of unilateral condylar process fractures: clinical and radiographic evaluation of 80 patients. *J Oral Maxillofac Surg* 1992;50(4):349-52.
- Džolev A, Ristić J, Ilić MP, Dedić S, Hrabovski A, Kiralj A. *Komplikacije povreda maksilofacijalne regije*. U: Somer T, Avramov S. *Komplikacije povreda*. Novi Sad: Medicinski fakultet; 1995.

Rad je primljen 18. V 2013.

Recenziran 2. VI 2013.

Prihvaćen za štampu 27. VI 2013.

BIBLID.0025-8105:(2013):LXVI:7-8:322-325.

Univerzitetska bolnica u Foči, Druga hirurška klinika, Foča, BiH¹
 Klinički centar Vojvodine, Novi Sad
 Klinika za abdominalnu, endokrinu i transplantacionu hirurgiju²
 Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Institut za anatomiju, Beograd³
 Klinički centar Srbije, Klinika za ortopedsku hirurgiju i traumatologiju⁴
 Univerzitetska bolnica u Foči, Služba za patologiju i citodijagnostiku, Foča, BiH⁵
 Institut za sudsku medicinu, Medicinski fakultet, Kosovska Mitrovica⁶

Stručni članak
 Professional article
 UDK 611.957:611.13]-091.1
 UDK 611.98:611.3]-091.1
 DOI: 10.2298/MPNS1308326L

HIRURŠKA ANATOMIJA POČETNOG SEGMENTA SPOLJAŠNJE KRUŽNE BUTNE ARTERIJE

SURGICAL ANATOMY OF THE INITIAL SEGMENT OF THE LATERAL CIRCUMFLEX FEMORAL ARTERY

Nenad LALOVIĆ¹, Radovan CVIJANOVIĆ², Miloš MALIŠ³, Marko ILIĆ⁴,
 Mirjana ČUK⁵ i Iva NIKOLIĆ⁶

Sažetak

Uvod. Spoljašnja kružna butna arterija polazi obično sa spoljašnje strane početnog dela duboke butne arterije ili se rede odvaja od same butne arterije. U slučaju kada je grana butne arterije, njen početak je neposredno iznad mesta nastanka duboke butne arterije. Cilj istraživanja bio je određivanje porekla spoljašnje kružne butne arterije, udaljenosti mesta njenog nastanka od središnje tačke ingvinalnog ligamenta i njenih topografsko-anatomskih odnosa na ishodištu, koji imaju veliki značaj u kliničkom radu. **Materijali i metode.** Na kadaveričnom materijalu rađena je disekcija 42 natkolenice i analizirane su topografsko-anatomske karakteristike spoljašnje kružne butne arterije. Svi podaci su uneseni u protokol koji je napravljen specijalno za studiju istraživanja na kadaverima, a koji je sadržao: redni broj kadavera, godine starosti i pol, stranu, topografsko-anatomske odnose spoljašnje kružne butne arterije, njene dimenzije i varijacije. **Rezultati.** U našoj studiji, najčešće, kod 78,6% slučajeva spoljašnja kružna butna arterija nastajala je kao grana duboke butne arterije, kod 19% slučajeva samo od butne arterije, dok je kod jednog slučaja (2,4%) nastajala zajedničkim stablom sa dubokom butnom arterijom od stabla butne arterije. **Zaključak.** Poznavanje varijacija mesta nastanka spoljašnje kružne butne arterije ima veliki značaj u svakodnevnom kliničkom radu, prilikom planiranja i izvođenja različitih operativnih zahvata i invazivnih dijagnostičkih procedura u području ingvino-femoralne regije.

Cljučne riječi: Butna arterija; Anatomske varijacije; Kada-ver; Operativne hirurške procedure; Butna

Uvod

Spoljašnja kružna butna arterija (*a. circumflexa femoris lateralis*, ACFL) najčešće je spoljašnja grana duboke butne arterije (*a. profunda femoris*, APF). Međutim, u nekim slučajevima ona se može odva-

Summary

Introduction. The lateral circumflex femoral artery usually originates from the lateral side of the initial part of the deep femoral artery, or less frequently from the femoral artery. If it is a branch of the femoral artery, it arises directly above the point of origin of the deep femoral artery. The aim of this study was to determine the origin of the lateral circumflex femoral artery, its origin distance from the midpoint of the inguinal ligament and the topographical relations of the origin, which have a great significance in clinical work. **Material and Methods.** A dissection was performed on the autopsy group of 42 thighs, followed by the analysis of anatomical relationships of the lateral circumflex femoral artery. All data were entered into the custom-made protocol, which contained the case number, age and sex, side, topographical-anatomical relations of the lateral circumflex femoral artery, artery dimensions and variations, and the distance between the place of origin of the lateral circumflex femoral artery and the midpoint of the inguinal ligament. **Results.** In our study, the lateral circumflex femoral artery most frequently originated from the deep femoral artery, i.e. in 78.6% of cases. In 19.0% of limbs, it originated from the femoral artery, and in one case (2.4%) from a common stem of the deep femoral artery and the lateral circumflex femoral artery, coming from the femoral artery. **Conclusion.** In clinical practice, it is of great importance to know the origin variations of the lateral circumflex femoral artery while planning and performing various surgical and invasive diagnostic procedures in the inguino-femoral region.

Key words: Femoral Artery; Anatomic Variation; Cadaver; Surgical Procedures, Operative; Thigh

jati direktno od stabla butne arterije (*a. femoralis*, AF). Provlači se između grana butnog nerva (*n. femoralis*), zatim ide upolje i prolazi između pravog mišića buta (*m. rectus femoris*) i donjeg kraja bedreno-slabinskog mišića (*m. iliopsoas*) pružajući se ka spoljašnjem delu butne kosti, da bi se ubr-

Skraćenice

AF	– arteria femoralis
APF	– arteria profunda femoris
ACFL	– arteria circumflexa femoris lateralis
ACFM	– arteria circumflexa femoris medialis

zo podelila dajući svoje grane. ACFL najčešće se grana na dve terminalne grane: ushodnu (*ramus ascendens*) i nishodnu (*ramus descendens*), dok znatno ređe od ACFL nastaje i poprečna grana (*ramus transversus*), kao njena treća završna grana [1,2].

Ramus ascendens obilazi oko velikog trohantera, probija pripojna vlakna spoljašnjeg stegenog mišića (*m. vastus lateralis*) i dolazi na zadnju stranu buta gde se završava. Završni deo ushodne grane spaja se sa dubokom kružnom bedrenom i gornjom sedalnom arterijom. Ushodna grana daje: mišićne grane (*rami musculares*) za vaskularizaciju pravog mišića buta (*m. rectus femoris*), terzijskog mišića (*m. sartorius*), spoljašnjeg stegenog mišića (*m. vastus lateralis*), mišića zatezača butne fascije (*m. tensor fasciae latae*) i koštano-zglobne grane koje ishranjuju veliki trohanter, vrat butne kosti i prednji dio čaure zgloba kuka.

Nishodna grana (*ramus descendens*) jeste arterija četvoroglavog mišića buta (*m. quadriceps femoris*), koja vaskularizuje navedeni mišić i pruža se između unutrašnjeg stegenog mišića (*m. vastus medialis*) i pravog mišića buta (*m. rectus femoris*). Jedna od njenih grana silazi vertikalno između prednje strane spoljašnjeg stegenog mišića (*m. vastus lateralis*) i spoljašnje ivice pravog mišića buta (*m. rectus femoris*) do blizu kolena, gde učestvuje u izgradnji arterijske mreže kolena (*rete articulare genus*), anastomozirajući se sa *a. genus superior lateralis* [3–5].

Poprečna grana (*r. transversus*) prolazi spoljašnjom ivicom prednje strane unutrašnjeg stegenog mišića, probija spoljašnji stegnjeni mišić, distalno od velikog trohantera i učestvuje u izgradnji krstaste anastomoze [6].

Spoljašnja kružna butna arterija i njene grane imaju važan značaj u kliničkom radu. Grane ACFL učestvuju u vaskularizaciji prednjeg spoljašnjeg i gornjeg spoljašnjeg bedrenog režnja značajnih u rekonstrukciji defekata u predelu kolena ili na trbušnom zidu [7–11]. Koriste se i za kreiranje aortokoronarnog i ekstrakranijalno-intrakranijalnog arterijskog bajpasa [12,13]. Takođe, ACFL se koristi za kreiranje aortofemoralnog i femoropoplitealnog bajpasa, jer u slučaju okluzije duboke butne arterije i butne arterije distalno od mesta nastanka APF, ACFL može poslužiti za kreiranje kraka anastomoze bajpasa [14].

Cilj rada bio je da se odredi poreklo ACFL, udaljenost ishodišta ACFL od središnje tačke ingvinalnog ligamenta i njeni topografsko-anatomske odnosi na ishodištu koji imaju veliki značaj u kliničkom radu. Rezultate dobijene našim istraživanjem uporedili smo s rezultatima pronađenim u literaturi.

Materijal i metode

Istraživanje je obavljeno u Institutu za anatomiju i Institutu za sudsku medicinu Medicinskog fakulteta u Beogradu. Na kadaveričnom materijalu rađena je disekcija 42 natkolenice i analizirani su topografsko-anatomske odnosi ACFL, njeno poreklo, dijametar stabla na mestu nastanka i udaljenost mesta nastanka ACFL od središnje tačke ingvinalnog ligamenta. Disekcija je rađena na kadaverima, na formalinskim (3 kadavera) i na obdukcijama (18 kadavera). Dva poprečna, a potom i jedan uzdužni rez prethodili su odizanju kože i potkožnog tkiva i neurovaskularnih elemenata potkožnog sloja. Po presecanju butne fascije pažljivo smo preparisali *a.* i *v. femoralis* zajedno sa dubokom arterijom i venom buta, kao i *a.* i *v. circumflexa femoris medialis et lateralis*. Sve faze disekcije snimljene su digitalnim fotografskim aparatom. Merjenja na kadaveričnom materijalu vršena su nonijusom.

Svi podaci su uneseni u protokol koji je napravljen specijalno za studiju istraživanja na kadaverima, a koji je sadržavao: redni broj kadavera, godine starosti, pol, stranu, topografsko-anatomske odnose ACFL, dimenzije i varijacije.

U ovom istraživanju podaci su obrađeni pomoću SPSS 12,0 softverskog paketa. Korišćene su deskriptivne i analitičke statističke metode. Od deskriptivnih statističkih metoda korišćeni su: apsolutni i relativni brojevi, mere centralne tendencije (aritmetička sredina, medijana) i mere disperzije (standardna devijacija, interval).

Od analitičkih metoda korišćeni su neparametarski statistički testovi, Man-Vhitnijev U test i Fišerov test tačne verovatnoće. Sve *p* vrednosti manje od 0,05 smatrane su statistički značajnim.

Rezultati

Prosečna starost kadavera uključenih u istraživanje bila je $58,6 \pm 16,6$ godina (interval se kretao od minimum 23 do maksimum 91 godina života).

Disekcijom 42 kadaverične natkolenice utvrđeno je da spoljašnja kružna butna arterija u 33 (78,6%) slučajeva nastaje od duboke butne arterije (**Slika 1**), u 8 (19%) od stabla butne arterije (**Slika 2**), dok u jednom (2,4%) slučaju nastaje od AF zajedničkim stablom sa APF (**slike 3 i 4**). Topografski odnosi ACFL na mestu nastanka bili su: *napred* – 1. koža zajedno sa potkožnim tkivom; 2. butna fascija (*fascia lata*); 3. grane butnog živca (*n. femoralis*), koje naležu direktno na arteriju sa prednje strane; *pozadi* – 1. slabinsko-bedreni mišić (*m. iliopsoas*); 2. *v. circumflexa femoris lateralis*; *medijalno* – 1. *a. femoralis*; 2. *a. profunda femoris*; *lateralno* – 1. *n. femoralis* sa svojim granama; 2. *m. tensor fasciae latae*.

Srednja vrednost spoljašnjeg prečnika stabla ACFL na mestu nastanka bila je $4,1 \pm 1,2$ mm i kretala se u intervalu od 2 mm do maksimalno 6,6 mm.

Srednja vrednost udaljenosti mesta nastanka ACFL do središnje tačke ingvinalnog ligamenta je

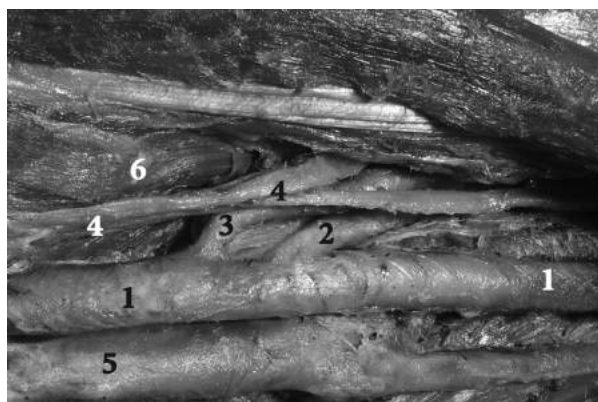


Slika 1. Ishodište spoljašnje kružne butne arterije od stabla duboke butne arterije; 1) *a. femoralis*; 2) *a. profunda femoris*; 3) *a. circumflexa femoris lateralis*; 4) *a. circumflexa femoris medialis*; 5) *v. femoralis*

Fig. 1. Origin of lateral circumflex femoral artery from deep femoral artery; 1 - femoral artery; 2 - deep femoral artery; 3 - lateral circumflex femoral artery; 4 - medial circumflex femoral artery; 5 - femoral vein

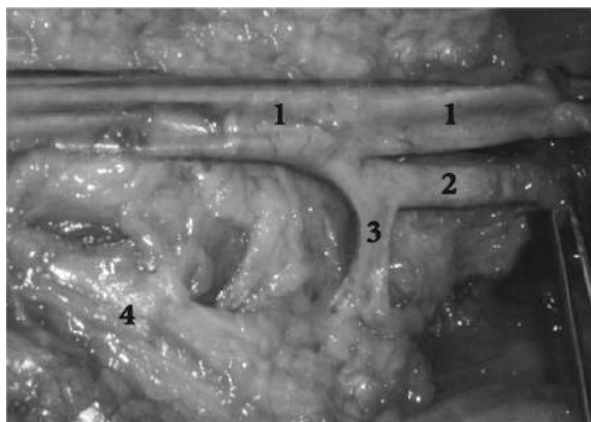
57,7 mm kada nastaje od AF i 63,4 mm kada nastaje od APF.

Udaljenost mesta nastanka ACFL od središnje tačke ingvinalnog ligamenta veća je u slučaju kada arterija nastaje od APF. Analizom ova dva parametra Man-Vitnijevim U testom utvrđeno je da razlika nije statistički značajna ($p = 0,232$) iako jedna grupa ima veće prosečne vrednosti od druge. Prema rezultatima našeg istraživanja, ACFL je nastajala od AF u devet slučajeva, zbog čega je prosečna vrednost udaljenosti mesta nastanka od sredine ingvinalnog ligamenta bila manja, a veća SD, te je očekivano da razlika nije statistički značajna.



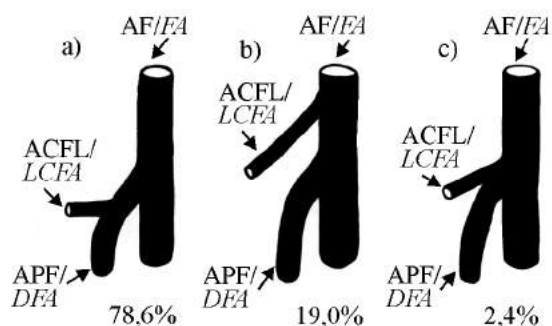
Slika 2. Poreklo spoljašnje kružne butne arterije od stabla butne arterije; 1) *a. femoralis*; 2) *a. profunda femoris*; 3) *a. circumflexa femoris lateralis*; 4) *n. femoralis*; 5) *v. femoralis*; 6) *m. iliopsoas*

Fig. 2. Origin of lateral circumflex femoral artery from femoral artery; 1 - femoral artery; 2 - deep femoral artery; 3 - lateral circumflex femoral artery; 4 - femoral nerve; 5 - femoral vein; 6 - iliopsoas muscle



Slika 3. Zajedničko ishodište spoljašnje kružne butne arterije i duboke butne arterije od butne arterije; 1) *a. femoralis*; 2) *a. profunda femoris*; 3) *a. circumflexa femoris lateralis*; 4) *n. femoralis*.

Fig. 3. Common origin of lateral circumflex femoral artery and deep femoral artery from femoral artery; 1 - femoral artery; 2 - deep femoral artery; 3 - lateral circumflex femoral artery; 4 - femoral nerve



Slika 4. Tipovi (a, b, c) i učestalost (%) porekla spoljašnje kružne butne arterije (ACFL) od duboke butne arterije (APF) ili butne arterije (AF)

Fig. 4. Patterns (a, b, c) and frequency (%) of origins of lateral circumflex femoral artery (LCFA) from deep femoral artery (DFA) or femoral artery (FA)

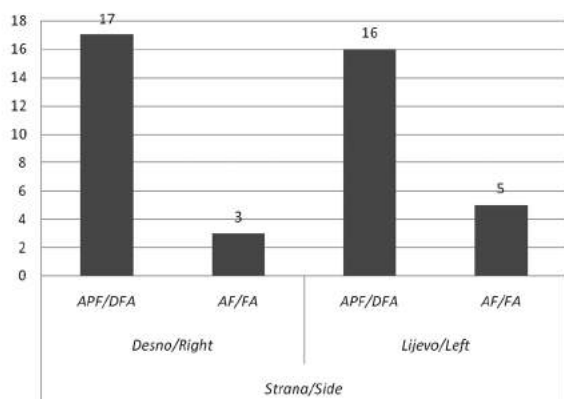
Analizom razlike mesta nastanka ACFL u odnosu na pol, Fišerovim testom tačne verovatnoće utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika ($p = 0,699$) (Tabela 1).

Analizom ishodišta ACFL u odnosu na stranu tela, Fišerovim testom tačne verovatnoće dokazano je da ne postoji statistički značajna razlika ($p = 1$) (Grafikon 1).

Diskusija

U klasičnim udžbenicima anatomije navodi se da je ACFL bočna grana APF [3,4]. Međutim, u literaturi se opisuju da ACFL može vrlo često nastati od stabla AF [2,15–18].

Fukuda i saradnici u angiografskoj studiji sprovedenoj na 132 pacijenta, pronašli su da ACFL na-



Grafikon 1. Prikaz razlike mesta nastanka ACFL u odnosu na stranu tela

Graph 1. Display of side differences of origin of lateral circumflex femoral artery (DFA - deep femoral artery, FA - femoral artery)

Tabela 1. Prikaz razlike porekla ACFL u odnosu na pol
Table 1. Display of sex differences of CFLA origin

Pol Sex		Poreklo ACFL/CFLA origin		Ukupno Total
		od AF/from FA	od APF/from DFA	
Muško/Male	N	6	24	30
	%	20%	80%	100%
Žensko/Female	N	3	9	12
	%	25%	75%	100%
Ukupno Total	N	9	33	42
	%	21,4%	78,6%	100%

CFLA - lateral circumflex femoral artery, DFA - deep femoral artery, FA - femoral artery

staje iz APF u 78,6% slučajeva, a iz AF u 21,4% slučajeva [17].

Prema *Adachi* klasifikaciji ACFL nastaje iz APF u 78,2% slučajeva, a iz AF u 18,3% slučajeva. Descendentna grana ACFL nastaje iz AF u 2,7% slučajeva [18].

Siddharth i saradnici su našli da ACFL nastaje od APF ili AF u 71% i 16% [19], Massoud i Fletcher u 81% i 19% [20], Basar i saradnici u 67,1% i 32,9% [21], Üzel i saradnici u 77,3% i 19,1% [2], *Prakash* i saradnici u 81,25% i 18,75% [22], Dixit i saradnici u 83,34% i 16,66% [23].

Samarawickrama i saradnici (2009) disekcijom 26 kadaveričnih natkolenica dokazali su da u 92% slučajeva ACFL nastaje iz stabla APF, a u 8% slučajeva zajedničkim stablom sa APF [24].

Rezultati dobijeni disekcijom 100 fetusa oba pola (Vuksanović-Božarić A.) ukazuju na činjenicu da ACFL u 74% slučajeva nastaje od APF, kao njena druga bočna grana. U manjem broju slučajeva 22% ACFL nastajala je direktno od AF. Kod 3% slučajeva primijećen je zajednički početak ACFL i APF od AF. U 1% slučajeva ACFL nije postojala, a njene grane ascendentna i descendentna su se direktno odvajale od APF [6].

Na našem materijalu ACFL je nastajala od APF u 78,6% slučajeva, od AF u 19% slučajeva, što je u korelaciji s rezultatima drugih autora objavljenim u literaturi [2,17-23].

Kod jednog slučaja u našoj studiji ACFL nastajala je zajedničkim stablom sa APF od butne arterije, što je ređe opisano u literaturi [2,25,26].

Analizom topografsko-anatomskih odnosa ACFL na mestu nastanka utvrdili smo da su oni stalno prisutni kod svih preparata, a dobijeni rezultati se u potpunosti slažu sa podacima iz literature [1,3-5].

U literaturi se navodi da je srednja vrednost prečnika stabla ACFL na mestu nastanka 4,7 mm [2]. Rezultati dobijeni našim istraživanjem, prosečno 4,1 ± 1,2 mm, u korelaciji su sa podacima objavljenim u literaturi.

Üzel i saradnici utvrdili su da je srednja vrednost udaljenosti mesta nastanka ACFL od sredine ingvinalnog ligamenta, kada nastaje od AF, 34±9 mm i 48±12 mm, kada nastaje od APF [2], dok su Tanyeli

i saradnici dobili odgovarajuće rezultate od 25±14 mm kada ACFL nastaje od AF i 59±15 mm, kada nastaje od APF [25].

Rezultati našeg istraživanja ovog rastojanja, od 57,7 mm kada nastaje od AF i 63,4 mm kada nastaje od APF, ukazuju na nešto veće prosečne vrednosti udaljenosti mesta nastanka ACFL od sredine ingvinalnog ligamenta na našoj populaciji od onih objavljenih u literaturi [2,25]. Poznavanje ovog rastojanja je značajno za hirurške ili angiografske intervencije u predelu butnog trougla [27].

U našem istraživanju analizirane su razlike mesta nastanka ACFL u odnosu na stranu tela i pol i utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika između navedenih parametara, što odgovara podacima objavljenim u literaturi [20,28,29].

Zaključak

Disekcijom 42 kadaverične natkolenice u našoj studiji analizirani su obrasci grananja, topografsko-anatomski odnosi na ishodištu i merena je udaljenost mesta nastanka *a. circumflexa femoris lateralis* od sredine ingvinalnog ligamenta. U našoj studiji, ona je najčešće nastajala od *a. profunda fe-*

moris u 78,6% slučajeva, u 19% slučajeva od *a. femoralis*, dok u jednom slučaju (2,4%) *a. circumflexa femoris lateralis* nastajala je od *a. femoralis* zajedničkim stablom sa *a. profunda femoris*. Grane *a. circumflexa femoris lateralis* učestvuju u vaskularizaciji anterolateralnog i superolateralnog bedrenog reznja, koriste se za kreiranje aortofe-

mornog i femoropoplitealnog bajpasa, aortokoronarnog i ekstrakranijalno-intrakranijalnog arterijskog bajpasa. Poznavanje varijacija stabla *a. circumflexa femoris lateralis* ima veliki značaj prilikom izvođenja operativnih zahvata i interventnih radiografskih procedura u ingvino-femoralnoj regiji.

Literatura

- Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. Gray's anatomy. 37th ed. London: Churchill Livingstone; 1989.
- Uzel M, Tanyeli E, Yildirim M. An anatomical study of the origins of the lateral circumflex femoral artery in the Turkish population. *Folia Morphol* 2008;67(4):226-30.
- Milislavjević M. Klinička anatomija čoveka. Beograd: Nauka; 2004.
- Mrvaljević D. Anatomija donjeg ekstremiteta. Beograd: Savremena administracija; 2000.
- Moore KL, Dalley AF, Agur AMR. Clinically oriented anatomy. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
- Vuksanović Božarić A. Anatomske karakteristike vaskularizacije zatezača butne fascije i mogućnosti primjene u rekonstruktivnoj hirurgiji (doktorska disertacija). Niš: Univerzitet u Nišu; 2009.
- Lakhiani C, Lee MR, Saint-Cyr M. Vascular anatomy of the anterolateral thigh flap: a systematic review. *Plast Reconstr Surg* 2012;130:1254-68.
- Vegas MR, Martin-Hervas C. The superolateral thigh flap: cadaver and computed tomographic angiography studies with a clinical series. *Plast Reconstr Surg* 2013;131:310-22.
- Kind GM, Foster RD. Breast reconstruction using the lateral femoral circumflex artery perforator flap. *J Reconstr Microsurg* 2011;27:427-32.
- Wong CH, Goh T, Tan BK, Ong YS. The anterolateral thigh perforator flap for reconstruction of knee defects. *Ann Plast Surg* 2013;70:337-42.
- Kayano S, Sakuraba M, Miyamoto S, Nagamatsu S, Taji M, Umezawa H, et al. Comparison of pedicled and free anterolateral thigh flaps for reconstruction of complex defects of the abdominal wall: review of 20 consecutive cases. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2012;65:1525-9.
- Fabbrocini M, Fattouch K, Camporini G, Demicheli G, Bertucci C, Cioffi P, et al. The descending branch of lateral femoral circumflex artery in arterial CABG: early and mid-term results. *Ann Thorac Surg* 2003;75:1836-41.
- Baskaya MK, Kiehn MW, Ahmed AS. Alternative vascular graft for extracranial-intracranial bypass surgery: descending branch of the lateral circumflex femoral artery. *Neurosurg Focus* 2008;24:E8.
- Gradman WS. Bypass to the lateral femoral circumflex artery. *Ann Vasc Surg* 1992;6:344-6.
- Williams GD, Sindelar RJ, Perat JC, Martin NA, McIntire LR, Martin CH. Origin of the deep and circumflex femoral group of arteries. *Anat Rec* 1930;46:2273-9.
- Baptist M, Sultana F, Hussain T. Anatomical variations; the origin of profunda femoris artery, its branches and diameter of the femoral artery. *Professional Med J* 2007;14(3):523-7.
- Fukuda H, Mitsutaka A, Rei I, Shoko A, Kenji I. Anatomical variants of the lateral femoral circumflex artery: an angiographic study. *Surg Radiol Anat* 2005;27(3):260-4.
- Adachi B. Das arteriensystem der Japaner. Kyoto: Maruzen; 1928.
- Siddharth P, Smith NL, Mason RA, Giron F. Variational anatomy of the deep femoral artery. *Anat Rec* 1985;212:206-9.
- Massoud TF, Fletcher EW. Anatomical variants of the profunda femoris artery: an angiographic study. *Surg Radiol Anat* 1997;19:99-103.
- Basar R, Sargon MF, Cumhur M, Bayramoglu A, Demiryurek D. Distinct intergender difference in the femoral artery ramification patterns found in the Turkish population: angiographic study. *Anat Sci Int* 2002;77:250-3.
- Prakash R, Kumari J, Kumar Bhardwaj A, Jose BA, Kumar Yadav S, Singh G. Variations in the origins of the profunda femoris, medial and lateral femoral circumflex arteries: a cadaver study in the Indian population. *Rom J Morphol Embryol* 2010;51(1):167-70.
- Dixit DP, Mehta LA, Kothari ML. Variations in the origin and course of profunda femoris. *J Anat Soc India* 2001;50(1):6.
- Samarawickrama MB, Nanayakkara BG, Wimalagunaratna KWR, Nishantha DG, Walawage UB. Branching pattern of the femoral artery at the femoral triangle: a cadaver study. *Galle Med J* 2009;14(1):31-4.
- Tanyeli E, Uzel M, Yildirim M, Celik HH. An anatomical study of the origins of the medial circumflex femoral artery in the Turkish population. *Folia Morphol* 2006;65(3):209-12.
- Chleborad WP, Dawson DL. The profunda femoris artery: variations and clinical applications. *Clin Anat* 1990;3(1):33-40.
- Vukobratov V, Kačanski M, Pasternak J, Nikolić D, Popović V, Obradović J. Usporedni rezultati femoro-poplitealnih rekonstrukcija autolognom venom korišćenjem in situ i reverzne tehnike. *Med Pregl* 2006;59(7-8):360-4.
- De Beer PM. The profunda femoris and circumflex femoral arteries in the South African Bantu-speaking Negro. *S Afr J Med Sci* 1965;30:1-10.
- Gremigni D. On the origin of various collateral arteries of the femoral artery. *Z Anat Entwicklungsgesch* 1968;127:42-54.

Rad je primljen 22. X 2013.

Recenziran 18. VI 2013.

Prihvaćen za štampu 27. VI 2013.

BIBLID.0025-8105:(2013):LXVI:7-8:326-330.

PRIKAZI SLUČAJEVA CASE REPORTS

Zavod za transfuziju krvi Vojvodine, Novi Sad

Prikaz slučaja

Case report

UDK 612.118:616-097]-615.38

DOI: 10.2298/MPNS1308331K

PROBLEM DAVALACA KRVI RETKIH KRVNIH GRUPA SA IREGULARNIM ANTITELIMA

RARE BLOOD DONORS WITH IRREGULAR ANTIBODIES

Mirjana KRGA MILANOVIĆ, Nevenka BUJANDRIĆ i Nataša MILOSAVLJEVIĆ KNEŽEVIĆ

Sažetak

Uvod. Krvne grupe su nasledne biološke karakteristike nepromenljive tokom života kod zdravih ljudi. Predstavljene su antigenima na površini eritrocita. Njihovo prisustvo zavisi od haplotipa gena koji se nasleđuju od oba roditelja. Sistem krvnih grupa *Kell* sastoji se od 31 antigena. *Kell* antigen zastupljen je 0,2% u populaciji (retka krvna grupa), dok je *Cellano* antigen zastupljen više od 99% (visokofrekventni antigen). Ovi antigeni imaju izrazitu sposobnost da, posle primljene transfuzije krvi ili trudnoće, izazovu imunodgovor u organizmu osoba koje ih nemaju. **Prikaz slučaja.** Prikazan je davalac krvi kod koga je skriningom antitela metodom indirektnog antiglobulinskog testa otkriveno iregularno antitelo. Test-panelima eritrocita utvrđena je specifičnost antitela: anti-*Cellano*. Detektovano antitelo pokazalo je visoki titar (1 024) sa eritrocitima fenotipa *Kell-Cellano+*. Utvrđena je retka krvna grupa *KellKell*. Nosiocima retkih krvnih grupa, koje su stvorile antitelo na visokofrekventni antigen, teško se nalazi kompatibilna krv pa je testirana porodica davaoca. *Cellano* antigen dokazan je i kod supruga i kod dece. Među članovima porodice nije nađen potencijalni davalac krvi. U registru davalaca krvi Zavoda nađen je samo jedan davalac krvi kompatibilan u ABO i *Kell* krvnogrupalnom sistemu. **Zaključak.** Davalac krvi je isključen iz davanja krvi. Za uspešno transfuziološko zbrinjavanje potrebno je formiranje nacionalnog registra davalaca retkih krvnih grupa i saradnja sa međunarodnom laboratorijom za krvne grupe u Bristolu u čijoj bazi podataka su evidentirani davaoci retkih krvnih grupa iz svih delova sveta.

Ključne reči: Davaoci krvi; Krvnogrupalna kompatibilija; Krvnogrupalna inkompatibilija; Banke krvi; Antigeni krvnih grupa; Antigen-antitelo reakcija; Transfuzija krvi; Izbor davaoca krvi; *Kell* krvnogrupalni sistem; Kumbsov test

Uvod

Krvne grupe su biološke karakteristike predstavljene antigenima na membrani eritrocita. U bio-

Summary

Introduction. Blood groups are inherited biological characteristics that do not change throughout life in healthy people. Blood groups represent antigens found on the surface of red blood cells. *Kell* blood group system consists of 31 antigens. *Kell* antigen (*K*) is present in 0.2% of the population (the rare blood group). *Cellano* antigen is present in more than 99% (the high-frequency antigen). These antigens have a distinct ability to cause an immune response in the people after blood transfusion or pregnancy who, otherwise, did not have them before. **Case Report.** This paper presents a blood donor with a rare blood group, who was found to have an irregular antibody against red blood cells by indirect antiglobulin test. Further testing determined the specificity of antibody to be anti-*Cellano*. The detected antibody was found in high titers (1024) with erythrocyte phenotype *Kell-Cellano+*. The blood donor was found to have a rare blood group *KellKell*. This donor was excluded from further blood donation. It is difficult to find compatible blood for a person who has developed an antibody to the high-frequency antigen. The donor's family members were tested and *Cellano* antigen was detected in her husband and child. A potential blood donor was not found among the family members. There was only one blood donor in the Register of blood donors who was compatible in the ABO and *Kell* blood group system. **Conclusion.** For the successful management of blood transfusion it is necessary to establish a unified national register of donors of rare blood groups and cooperate with the International Blood Group Reference Laboratory in Bristol with the database that registers donors of rare blood groups from around the world.

Key words: Blood Donors; Blood Grouping and Crossmatching; Blood Group Incompatibility; Blood Banks; Blood Group Antigens; Antigen-Antibody Reactions; Blood Transfusion; Donor Selection; *Kell* Blood-Group System; Coombs Test

hemijskom pogledu ovi antigeni su: proteini, ugljeni hidrati, glikoproteini ili glikolipidi, u zavisnosti od sistema krvne grupe. Prisustvo/odsustvo antigena određeno je nasleđivanjem haplotipa gena

Skraćenice

DAT	– direktni antiglobulinski test
ISBT	– <i>International Society of Blood Transfusion</i>
DK	– davalac krvi
ZTKV	– Zavod za transfuziju krvi Vojvodine
HBN	– hemolitička bolest novorođenčeta
IAT	– indirektni antiglobulinski test
K	– <i>Kell</i> krvnogrupni sistem
k	– <i>Cellano</i> krvnogrupni sistem

koji potiču od oba roditelja. Do sada je otkriveno preko 600 različitih antigena krvnih grupa, ali mnoge od njih su veoma retke i mogu se naći samo u određenim etničkim grupama [1]. Prema Komitetu za terminologiju antigena, eritrocitne membrane Međunarodnog udruženja za transfuziju krvi (*International Society of Blood Transfusion* – ISBT) eritrocitni antigeni su klasifikovani u 30 krvnogrupnih sistema [2,3]. Sistem krvnih grupa *Kell*, prema savremenoj terminologiji ISBT, sastoji se od 31 antigena (*Kell* antigen (K)) na površini eritrocita koji su označeni od KEL1 do KEL34. Otkriven je 1946. godine kada su Coombs, Mourant i Race u imunohematologiju uveli antiglobulinski test. Kodira ih gen smešten na hromozomu 7q34. Oznaka sistema je 006, a poznat je kao *Kell-Cellano* sistem. Ime je dobio po prvoj pacijentkinji sa opisanim antitelima na K1 – trudnici Kellacher (1945. godine), i po prvoj pacijentkinji sa opisanim antitelima na K2 – trudnici Cellano [4]. Sistem označavaju 3 para gena (K/k, Js^a/Js^b, K11/K17; K14/K24; VLAN/VONG) i jedan triplet (Kp^a/Kp^b/Kp^c) antitetičkih gena [5–7]. Antigeni KELL su smešteni na N-glikoliziranom delu glikoproteina membrane eritrocita CD238 koji ima četiri ili pet N-glikana ali bez O-glikolizacije. To je jedini primer krvnogrupnog antigena koji je po strukturi membranski glikoprotein tip II [1]. *Kell* protein je nedavno imenovan CD238 (klaster diferencijacije 238). Ispitivanja su pokazala da se na membrani nalazi od 4 000 do 18 000 epitopa za antigen *Kell* [1]. Antigeni *Kell* sistema su važni u transfuziji krvi, autoimunim hemolitičkim anemijama (AIHA) i hemolitičkoj bolesti novorođenčeta (HBN) [8,9]. Učestalost antigena K1 kod ljudi bele rase je oko 9%. Mnogo ređe je zastupljen kod ljudi crne rase (oko 1,5%) i veoma retko kod stanovnika Azije i Indijaca. Najveća učestalost je utvrđena kod Arabljana i stanovnika Sinajskog poluostrva (oko 25%). Antigen k (*Kell* 2) visokofrekventan je antigen u svim populacijama (učestalost veća od 99%) [10, 11]. Učestalost pojedinih fenotipova *Kell* krvnogrupnog sistema prikazan je u **Tabeli 1**. Antigeni *Kell* sistema su razvijeni na membrani eritrocita u ranom fetalnom dobu (deseta nedelja gestacije). Ukoliko majka nema K1 antigen na svojim eritrocitima, a fetus ih je nasledio od oca, ona stvara antitela (anti-K) protiv crvenih krvnih zrnaca fetusa što izaziva anemiju i hidrops fetusa u procesu poznatom kao hemolitička bolest novorođenčeta (HBN). Po stepenu imunogenosti, antigeni KELL su odmah

iza antigena ABO i RH sistema krvnih grupa [12, 13]. Imunogenost se ogleda u izrazitoj sposobnosti izazivanja imunodgovora nakon transfuzije krvi. Za osobu koja nema antigen K1 i primi transfuzijom K1 pozitivne eritrocite, verovatnoća imunizacije je 10%. Ostali antigeni *Kell* sistema su manje imunogeni [10]. Antitela *Kell* sistema su uglavnom IgG klase, najčešće IgG1. Smatraju se klinički značajnim jer reaguju na temperaturi od 37° C, mogu da aktiviraju komplement i dovedu do akutnih ili odloženih hemoliznih reakcija a u trudnoći do HBN [1,14]. Anti-*Cellano* (k) antitelo se retko pojavljuje (0,2%) zbog visoke incidencije *Cellano* antigena u populaciji i malog broja *Cellano* negativnih osoba (K⁺k⁻). Odgovorno je za inhibiciju eritroblastoze u fetalnom periodu i za teške posttransfuzione reakcije [14–17].

Retka krvna grupa u vezi je sa odsustvom ekspresije antigena velike učestalosti u opštoj populaciji [1]. Prema podacima iz literature antigeni niske frekvencije najverovatnije nastaju kao posledica tačkastih (point) mutacija [10]. Eritrocitni antigeni retkih krvnih grupa češće se nalaze u određenim zajednicama i etničkim grupama. Njihovo održanje ili nastajanje novih entiteta krvnih grupa zavisi od rase, tradicije i običaja, kao i migracije stanovništva. Jedan od primera je *Duffy* krvna grupa. U Severnoameričkoj populaciji, *Duffy* negativna krvna grupa predstavlja retkost. Mnogo češće ona se javlja kod ljudi afričkog porekla. Transfuziološko zbrinjavanje bolesnika koji su nosioci retkih krvnih grupa, a imaju stvoreno antitelo na visokofrekventne antigene, predstavlja veliki problem u transfuziologiji [18–20].

Prikaz slučaja

Prikazan je slučaj davaoca krvi (DK) životnog doba od 46 godina, ženskog pola, koji je prvi put dao krv u Zavodu za transfuziju krvi Vojvodine (ZTKV). Uzorak krvi ovog davaoca je imunoserološki testiran u laboratoriji za krvne grupe prema algoritmu testiranja davalaca krvi (Zakon o transfuziološkoj delatnosti „Sl. glasnik RS” br. 72/2009. od 3.09.2009.). Utvrđena je pripadnost ABO i RhD krvnogrupnim sistemima i urađen skrining iregularnih antitela. Testiranje krvnogrupnih sistema ABO i RhD izvršeno je u tačnoj fazi metodom u mikrotitarskoj ploči, poluautomatskom tehnikom (*Mitis 2 System, Ortho Clinical Diagnostics*), monoklonskim serumima (*BioRad*). Rezultat testiranja bio je A RhD pozitivan (ARhD+), Rh fenotip CcDee. Skrining iregularnih antitela urađen je metodom indirektnog antiglobulinskog testa u epruveti (IAT). Test-eritrociti korišćeni u IAT pripremljeni su u laboratoriji kao POOL eritrocita dva O RhD pozitivna davaoca krvi i bili su tipizirani u *Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNSs* krvnogrupnim sistemima. Skrininom iregularnih antitela dobijen je pozitivan rezultat testiranja. Specifičnost antitela u plazmi određena je panelom komercijalnih test-eritrocita, gel metodom

Tabela 1. Učestalost pojedinih fenotipova *Kell* krvnogrupnog sistema
Table 1. Frequency of phenotypes in *Kell* blood type

Fenotip <i>Phenotype</i>	Učestalost (%) kod ljudi bele rase <i>Incidence (%) in white people</i>	Učestalost (%) kod ljudi crne rase <i>Incidence (%) in black people</i>
K-k+	91	98
K+k+	8,8	2
K+k-	0,2	retka/rare
Kp(a-b+)	97,7	100
Kp(a+b+)	2,3	retka/rare
Kp(a+b-)	retka/rare	0
Js(a-b+)	100	80
Js(a+b+)	retka/rare	19
Js(a+b-)	0	1

(*Liss/Coombs ID-Card, ID-Panel, BioRad*). Dodatna testiranja za potvrdu rezultata izvršena su komercijalnim eritrocitima *Makropanel 16* firme *Sanguin*. Identifikacijom antieritrocitnih antitela dokazana je specifičnost: aloanti-*Cellano* antitelo (aloanti-k). Testiranje enzimski tretiranim eritrocitima (bromelin) potvrdilo je specifičnost otkrivenog antitela. Ispitivanjem titra antitela u serumu DK u prisustvu eritrocita fenotipa K-k+ (homozigot) dobijen je titar 1 024, dok je sa eritrocitima fenotipa K+k+ (heterozigot) dobijen titar 512. Za testiranje eritrocitnih antigena DK u *Kell* sistemu korišćeni su monoklonski anti-K i anti-*Cellano* serumi firme *Seraclone*[®]. Dobijen rezultat fenotipa bio je K+k- (homozigot), tj. na eritrocitima je utvrđeno prisustvo *Kell* antigena u duploj dozi. Detekcija antitela/komplementa vezanog za površinu eritrocita *in vivo* izvršena je na eritrocitima DK metodom direktnog antiglobulinskog testa (DAT) gel metodom (*Liss/Coombs ID-Card, BioRad*). Rezultat DAT bio je negativan. Pregledom upitnika davaoca krvi, popunjenog pri prijemu, nije utvrđen način imunizacije. Na postdonacij-skom intervjuu, obavljenom u ZTKV nakon završenog imunoserološkog testiranja, od DK su dobijeni anamnestički podaci o dve trudnoće (1992. i 1993.) završene vaginalnim porođajima i transfuziji dve jedinice eritrocita nakon prvog porođaja. Radi pronalaznja izvora imunizacije i mogućih kompatibilnih donora krvi izvršeno je testiranje supruga i najbližih srodnika u ABO/RhD i *Kell* krvnogrupnim sistemima. Dobijeni rezultati testiranja bili su: suprug O RhD+, K-k+; kćerka A RhD+, K+k+; sestra O RhD+, K+k+; brat A RhD+, K+k+.

Diskusija

Prikazan je slučaj DK sa fenotipom K+k- čija je rasprostranjenost u populaciji bele rase samo 0,2% (homozigoti). U skladu sa činjenicom da se radi o odsustvu ekspresije antigena velike učestalosti u opštoj populaciji, reč je o retkoj krvnoj grupi [1]. Utvrđeno je da su trudnoće mogle biti imunizacijski događaji koji su podstakli imunološki aparat DK na stvaranje aloanti-k antitela pošto je fenotip

supruga i kćerke K-k+. Kod primenjenih transfuzija eritrocita nisu tipizirani eritrocitni antigeni *Kell* sistema, ali s obzirom na veliku učestalost kk fenotipa kod davalaca krvi, postoji velika verovatnoća da su moguć uzrok imunizacije. Ispitivanjem davalaca krvi u ZTKV dobijen je podatak o 91,21% učestalosti kk fenotipa u populaciji Vojvodine [21].

Prikazani slučaj DK značajan je iz dva osnovna razloga. Prvi se odnosi na zakonsku obavezu da se od davalaca krvi obezbedi dovoljna količina bezbednih komponenti krvi i omogući njihova primena bez pojave komplikacija kod primaoca [22]. Nosioci eritrocitnih antigena retke krvne grupe predstavljaju potencijalnu opasnost jer krv uzeta od takvih osoba uvek može izazvati senzibilizaciju i stvaranje antitela u organizmu primaoca krvnog produkta. S druge strane, ove osobe se vrlo često senzibilisu (transfuzije, trudnoće) i nosioci su antitela na antigene velike učestalosti. Zadatak transfuziologa je da se osobi sa retkom krvnom grupom i razvijenim antitelom protiv antigena velike učestalosti pri transfuziološkom zbrinjavanju pronađe kompatibilni DK. Iz ovog razloga se nakon izdavanja nalaza transfuziološkog ispitivanja DK i unošenja svih podataka u odgovarajući registar ZTKV, pristupilo traženju kompatibilnog antigen-negativnog DK. Ovaj zadatak otežan je činjenicom da se davaoci krvi rutinski ne tipiziraju u *Kell* krvnogrupnom sistemu. Prema literaturi, incidencija retke krvne grupe izračunava se prema formuli: 85% (zastupljenost RhD+ osoba u populaciji) x 42% (zastupljenost A krvne grupe u populaciji) x 0,2% (zastupljenost K+k- osoba u populaciji). Verovatnoća nalaženja kompatibilne krvi u datom slučaju iznosila je 1 : 1 400. Prvi korak u pronalazanju kompatibilnih davalaca krvi predstavlja ispitivanje distribucije eritrocitnih antigena članova porodice [23]. U prikazanom slučaju najuži članovi porodice (sestra, brat, kćerka) pokazali su heterozigotnost (K+k+) u *Kell* krvnogrupnom sistemu i nepodobnost za potencijalne davaoce krvi. U registru ZTKV nađen je jedan davalac krvi (O RhD-, K+k-) kompatibilan u ABO i *Kell* krvnogrupnim sistemima.

Zaključak

Zbog dokazanog antitela, davalac krvi je isključen iz dobrovoljnog davanja krvi. Za osobe kod kojih su stvorena antitela protiv antigena velike učestalosti, veoma je teško obezbediti kompatibilnu krv. U slučaju anti-k antitela, kompatibilna krv je k antigen negativna krv (fenotip K+k-). Anti-k antitelo je klinički značajno antitelo koje na temperaturi 37⁰ C oblaže antigen pozitivne eritrocite koji bivaju fagocitovani u jetri i prevremeno razoreni. Pored neefikasne transfuzije, kod osoba sa već stvorenim antieritrocitnim antitelom postoji veći rizik stvaranja novih antitela drugih specifičnosti. Iz ovog razloga njima je potrebno primenjivati kompatibilne transfuzije eritrocita tipiziranih u ostalim krvnogrupnim sistemima: *Rh*, *Duffy*, *Kidd*, *MNS*, *Lutheran*. U skladu s predstavljenoj situacijom koja nije zahtevala hitnost u nalaženju antigen negativne krvi, naš prikaz slučaja je potvrdio da, pored ispitivanja distribucije eritrocitnih antigena među članovima porodice, treba tražiti i druga rešenja (prikupljanje autologe krvi, primenu eritropoetina). Kod hitnih stanja transfuziološko zbrinjavanje bolesnika s retkom krvnom grupom uslovljeno je postojanjem nacionalnog registra davalaca retkih krvnih grupa i povezivanjem s Internacionalnim panelom davalaca retkih krvnih grupa pod pokroviteljstvom Međunarodne laboratorije za krvne grupe u Bristolu (IBGRL).

Literatura

- Jovanović Srzentić S, Veljković DK. Imunobiološki i klinički značaj krvnih grupa. Beograd: IntraNet Communication; 2009.
- Daniels GL, Flegel WA, Fletcher A, et al. International Society of Blood Transfusion committee on terminology for red cell surface antigens: Cape Town report. *Vox Sang* 2007; 92:250-3.
- Daniels GL, Fletcher A, Garratty G, Levene C, Lomas-Francis C, Moulds JM, et al. Blood group terminology 2004: from the International Society of Blood Transfusion committee on terminology for red cell surface antigens. *Vox Sang* 2004;87:304-16.
- Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and incomplete Rh agglutinins. *Br J Exp Pathol* 1945;26:255.
- Lee S. The value of DNA analysis for antigens of the Kell and Kx blood group systems. *Transfusion* 2007;47(Suppl):32-9.
- Lee S, Zambas ED, Marsh WL, et al. Molecular cloning and primary structure of Kell blood group protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:6353-7.
- Poole J, Warke N, Hustinx H, et al. A KEL gene encoding serine a position 193 of the Kell glycoprotein results in expression of KEL 1 antigen. *Transfusion* 2006;46(11):1879-85.
- Filomena PI, Curtis RB, Stansell GB. A case of Anti-Cellano. *Blood* 1956;11:641-7.
- Tasić M, Milošević J, Stefanović M, Radović-Janošević D, Krstić M i Antić V. Kell imunizacija: prikaz slučaja. *Med Pregl* 2009;62(7-8):369-72.
- Daniels G. Other bloods groups. In: Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hakyker CD. Technical manual. 16th ed. Bethesda, Maryland: AABB; 2008. p. 411-36.
- Lizza C, Mayers J, Gindy L. Blood groups. In: Petz LD, ed. Clinical practice of transfusion medicine. New York: Churchill Livingstone; 1996. p. 71-153.
- Rad je primljen 5. VII 2012.
- Recenziran 18. II 2013.
- Prihvaćen za štampu 31. III 2013.
- BIBLID.0025-8105:(2013):LXVI:7-8:331-334.
- Weiner CP, Widness JA. Decreased fetal erythropoiesis and hemolysis in Kell hemolytic anemia. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174(2):547-51.
- Araújo F, Monteiro F, Pereira C, Duran J, Nascimento H, Lima L, et al. Prediction of the fetal Kell blood group reduces aggressive interventions. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2005;45(5):464.
- Grujić J, Gulan Z, Budakov Z. Značaj hemovigilansa i prijave transfuzione reakcije u komponentnoj terapiji. *Med Pregl* 2012;65(1-2):50-3.
- Poole J, Daniels G. Blood group antibodies and their significance in transfusion medicine. *Transfus Med Rev* 2007;21(1):58-71.
- Caine ME, Mueller-Heubach E. Kell sensitization in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1986;154:85-90.
- Redman M, Regan F, Contreras M. A prospective study of the incidence of red cell alloimmunization following transfusion. *Vox Sang* 1996;71:216-20.
- Nance TS, Arndt AP. Review: what to do when all RBCs incompatible-serologic aspects. *Immunohematology* 2004;20:147-60.
- Gorlin JB. Standards for blood banks and transfusion services. 21st ed. Bethesda, Maryland: AABB; 2008.
- Meny G. Transfusing incompatible RBCs: clinical aspects. *Immunohematology* 2004;20:161-6.
- Belić B. Krvne grupe Kell sistema u populaciji Vojvodine. *Glas Antropol Druš Jugosl* 2005;40:119-26.
- Krga-Milanović M, Budakov Z, Grujić J. Skrining antitela kod davalaca krvi. *Med Danas* 2011;(7-9):241-5.
- Levine P, Kuhmichel AB, Wigod MA. Second Example of Anti-Cellano. *Blood* 1952;7:251-4.

SEMINAR ZA LEKARE U PRAKSI *SEMINAR FOR PHISICIANS*

Clinical Centre of Vojvodina, Novi Sad
Centre of Radiology¹
Department of Hematology²
University of Novi Sad, Faculty of Medicine³

Seminar za lekare u praksi
Seminar for phisicians
UDK 616-073:004.946
DOI: 10.2298/MPNS1308335A

VIRTUAL SIMULATION AS A LEARNING METHOD IN INTERVENTIONAL RADIOLOGY

VIRTUELNA SIMULACIJA KAO MODEL UČENJA U INTERVENTNOJ RADIOLOGIJI

Predrag AVRAMOV¹, Milena AVRAMOV², Mirela JUKOVIĆ¹, Vuk KADIĆ¹ and Viktor TILL^{1,3}

Summary

Introduction. Radiology is the fastest growing discipline of medicine thanks to the implementation of new technologies and very rapid development of imaging diagnostic procedures in the last few decades. On the other hand, the development of imaging diagnostic procedures has put aside the traditional gaining of experience by working on real patients, and the need for other alternatives of learning interventional radiology procedures has emerged. A new method of virtual approach was added as an excellent alternative to the currently known methods of training on physical models and animals. Virtual reality represents a computer-generated reconstruction of anatomical environment with tactile interactions and it enables operators not only to learn on their own mistakes without compromising the patient's safety, but also to enhance their knowledge and experience. **Discussion.** It is true that studies published so far on the validity of endovascular simulators have shown certain improvement of operator's technical skills and reduction in time needed for the procedure, but on the other hand, it is still a question whether these skills are transferable to the real patients in the angio room. **Conclusion.** With further improvement of technology, shortcomings of virtual approach to interventional procedures learning will be less significant and this procedure is likely to become the only method of learning in the near future.

Key words: Computer Simulation; Radiology, Interventional; Endovascular Procedures; Diagnostic Imaging; Teaching Materials

Introduction

Thanks to the implementation of new technologies as well as rapid advancement of imaging diagnostic methods, radiology has made more progress than any other discipline of medicine in the last few decades.

Interventional radiology implies minimal invasive procedures aimed at making diagnosis and/or

Sažetak

Uvod. Radiologija je medicinska disciplina koje se razvijala velikom brzinom u poslednjih nekoliko decenija zahvaljujući razvoju novih tehnologija i imidžing dijagnostičkih metoda. Razvojem novih imidžing dijagnostičkih procedura tradicionalno sticanje iskustva u invazivnom vaskularnom pristupu bolesniku u okviru interventne radiologije znatno se smanjilo. Pored rada na fizičkim modelima i životinjama, virtuelni pristup učenju se nameće kao odlična alternativa učenju interventnih procedura. Virtuelna stvarnost predstavlja kompjuterski generisanu rekonstrukciju anatomskog okruženja sa taktilnom interakcijom koja, između ostalog, operatoru daje mogućnost vežbanja na sopstvenim greškama bez opasnosti po život pacijenta kao i mogućnost usavršavanja sopstvenog stručnog znanja. **Diskusija.** Do sada objavljene studije o validnosti simulatora endovaskularnih procedura ukazuju na znatno poboljšanje veština operatora kao i skraćanje trajanja procedure, uz još uvek upitnu realnost i prenosivost ovih veština na realne pacijente u angio sali. **Zaključak.** Još većim napredovanjem tehnologije nedostaci virtuelnog načina učenja interventnih procedura biće sve manji i moguće je da će u bliskoj budućnosti postati jedini način učenja interventnih procedura.

Ključnereči: Kompjuterska simulacija; Interventna radiologija; Endovaskularne procedure; Dijagnostički imidžing; Nastavna pomagala

treating certain vascular or non-vascular diseases. The principle is based on percutaneous (direct through the skin) guiding of instruments through the blood vessels (vascular procedures) or other paths (non-vascular procedures), under guidance of imaging methods [1–3]. Compared to open surgical procedures, the big advantages of this procedure are smaller skin incisions, lower risk for the patient, lower complication rate, less pain, local

anesthesia, shorter hospital stay as well as lower treatment costs [4–9].

Not only must an interventional radiologist possess vast clinical and diagnostic knowledge but he must also master practical medical skills which include the application of interventional material (instruments) on the patients in the angio room in the real time [4]. Traditionally, these interventional skills are developed by working on patients under supervision of an experienced doctor [4,6]. However, the problem is that this "one to one" learning method is not a daily routine in many hospitals any more [4,10].

Rapid development of non-invasive medical imaging methods has considerably reduced invasive diagnostics work, mostly in the field of digital subtraction angiography. Therefore, an interventional radiologist has less opportunity to work with real patients. What makes the whole situation even worse is the fact that teaching residents and young radiologists is time-consuming for the "mentor" doctors and that leads to the increase in patient care costs. Regulations on daily maximal allowed work for doctors (at least in European Union) also narrow the possibility of training. The fact that gaining experience through making own mistakes is a very important and inseparable part of training makes it easy to see that it is necessary to introduce a different approach in training young interventional radiologists [4,9,11–13].

The need for other alternative methods for interventional radiology training, which emerged in the mid '90s, resulted in the application of physical models, animals and virtual approach as teaching methods [10]. So far, each of these approaches has shown its limitations in certain aspects.

Simple physical models, which are likely to get deformed, could be punctured with needles under ultrasound guidance or could be used for wires and catheter insertion. These models have the authentic human anatomy, and they do the following under fluoroscopic guidance: they use special blood circulation pumps, mimic blood flow and allow contrast agent application. It is true that these models are anatomically correct, but on the other hand, they are expensive and can be damaged after repeated needle punctures. In addition, it is difficult to reproduce a pathological condition, that being a limiting factor for a great number of situations young radiologists can find themselves in and so miss the opportunity to learn some skills from them [11].

Training on animals provides real physiology and "touch"; however, their anatomy is different from human anatomy for one thing, and for another, pathological conditions are difficult to be reproduced. In addition, animals are expensive to take care of and they raise many other ethical issues, especially in the western countries [11,14].

The third option of endvascular procedures training is virtual reality. Virtual reality refers to computer generated presentation of real anatomi-

cal environment with or without feedback information and tactile interaction [7,14]. A medical simulator is defined as a device that tries to present multiple problems in medicine authentically [15]. A simulator giving feedback information achieves a higher degree of reality. The trainees are expected to react to simulated problems as if they were in the real angio room. Most simulators have similar characteristics of technology – signals and consequences are very close to reality, capability of simulating complex situations, changing the format for individual or interactive work, limitations in technology (e.g. inability of simulators to learn), and high expenses [15]. Simulation provides dynamic and efficient supplement to medical education in a safe environment with no risks for the patient [9]. It gives an operator a possibility to promote individual work, makes training easier, memorizes case details for objective evaluation, and allows mistakes with no consequences [16]. At the same time, this way of learning raises no ethical questions and reduces the cost of education. Virtual simulators have recently experienced a great transformation, developing from an idea to a practical approach, mostly thanks to the progress of technology that has made all these things possible.

In medicine there are laparoscopic simulators, endotracheal intubation simulators, colonoscopy simulators and simulators for endovascular interventions [4,8].

The aim of endovascular simulators is to improve psychomotor skills of the trainees by constant repetition of the procedure, i.e. maneuvering [6]. They also bridge the gap between knowledge and experience. It is now believed that if this learning tool is used more frequently, the patients will trust their doctors more. Virtual simulation can be used to test new instruments about to be launched in market. In addition, there is a possibility of connecting the simulator devices with internet for remote observation, teleconference or training [17].

A virtual reality simulator for interventional radiology represents an integrated software and hardware of endovascular simulation [15]. It consists of a haptic device, computer processor with simulation software, two screens with two-dimensional (2D) and three-dimensional (3D) display [9,13,14,17] (**Figure 1 and 2**). A haptic device is designed to be a virtual patient with simulated approach through the common femoral artery. There is a primary (one femoral artery approach) and secondary (left and right common femoral artery approach) haptic device. Besides the common artery approach, there are separated controls for stent positioning, balloon dilation, contrast agent injection [9,13–16]. Some simulators are equipped with a device for practicing puncture. A haptic device allows the user to make the catheter and wire move forward during manipulation, rotate within a virtual blood vessel, while displaying these functions



Fig. 1. Endovascular virtual simulator
Slika 1. Endovaskularni virtuelni simulator

on the screen at the same, 'real' time [17]. The user is thus enabled to gain manual skills. The device also provides the user with tactile information during catheterization. Information such as angulation, friction, progress of catheter is included in the algorithm that gives feedback information [5]. A screen with 2D display resembles the one used in clinical fluoroscopy. The trainee has the possibility to adjust the fluoroscopic picture, which means that there is a possibility for zooming, collimation, rotation. This can be done by pressing the pedal on the floor as in the angio room [17]. A 3D screen with display allows the users to see blood vessels in different positions and with different angulations in all three projections, and thus enables them to understand better geometric relations during catheter and wire movement within blood vessels [17] (**Figure 3**). The software library is connected to the haptic device with a program, and it stores different clinical cases of vascular pathology [8,17]. Simulation software uses the reconstruction of real contrast-enhanced CT scans of real patients [4,7,9]. There are modules for diag-



Fig. 2. Endovascular virtual simulator
Slika 2. Endovaskularni virtuelni simulator



Fig. 3. Screens of an endovascular virtual simulator
Slika 3. Ekran endovaskularnog virtuelnog simulatora

nosing and treating almost all arteries in the body, including the carotid, coronary, renal, iliac and femoral ones [7,9,17]. The module library is constantly updated with new cases, procedures and devices [13,14]. It allows the user to practice interventional radiology on a great variety of practically unlimited clinical cases. The use of these data through CT scans enables the user to deal with the "real" case before dealing with the real case on the patient [9]. All complicated parts of procedure could be repeated many times, which minimizes the possibility of making real mistakes [11].

Simulators of endovascular procedures are based on the principle of Seldinger technique. It implies the percutaneous approach, i.e. the application of hollow needle through the skin into the blood vessel and through which it is possible to place the instruments such as wires, catheters, stents, etc. This technique presents the beginning of all vascular and most of non-vascular procedures in interventional radiology [4,8]. A simulator with possibilities of practicing femoral artery puncture is made of two workstations. At the first station resembling a true femoral region, the trainees can feel the pulse, locate the femoral artery, and make the puncture with a haptic device pen that actually represents the puncture needle. Virtual surrounding is shown on the semitransparent mirror. The operator can manipulate the needle in terms of orientation, rotation, depth. This allows the safe catheterization after the proper puncture. After the puncture, light red blood appears in the middle of the virtual needle. If light red blood appears for only a short time it means that the needle is not completely in the vessel, and the appearance of dark blood means that the needle is in the vein. If an operator cannot puncture the artery in the third attempt, there is an option of ultrasound-guided needle puncture [4]. The purpose of this practice is to prevent the complications such as the perforation of punctured blood vessels. The other work-

station consists of the haptic device that already has a needle inserted through the skin of a virtual patient, and the operator must place the wire and catheter [4,7,8]. This workstation is used to practice the next steps of Seldinger technique. It implies a careful introduction of a guide wire by tactile sensation. When the guide wire is adequately placed, the needle is removed leaving the guide wire to serve as a canal for the catheter. Once the wire-catheter is safely implanted, the manipulation by an operator can be continued. All manipulations are transferred to the simulator cord that represents the position of all virtual instruments within blood vessels in the real-time. Fluoroscopy ensures virtual visual sensation. The majority of endovascular simulators have only one station. With these simulators, the screen is guided through the system of menus that allow the user to choose module, diagnostic catheter, wire, stent or balloon catheter. Simulation starts with choosing the module that can be basic or advanced one depending on the difficulty of clinical case. After the program started, the patient's anamnestic data appear first, including the risk factors. Depending on the type of diagnostics, the operator chooses from the tools on the left side of the screen. The tool menu represents the type and size of the catheters, stents, balloons, etc. A fluoroscopic signal is shown then on the right side of the screen together with the virtual tool that has been chosen [9]. The operator inserts the guide wire first and then the catheter. Real time wire monitoring is possible on both screens (2D and 3D) at the same time. As in the real angio room, the fluoroscopic monitoring is obtained by pressing the pedal on the floor while the operator is operating the instruments. The fluoroscopic monitoring represents any movement in blood vessels in the real time [4,7,17]. If the simulated case implies the presence of arterial calcifications or stenosis, the device produces tactile sensation of friction [4]. During catheterization, the screen displays the chosen instruments, the amount of contrast agent used, duration of procedure, time and radiation dose. These data are later used for the assessment of operators' performance.

Since this program has been created to simulate possible real situations, complications often appear during the procedure. These complications include changes in electrocardiogram (ECG), pulse, respiration rate, oxygen saturation. All of these changes are shown on the left side of the screen. The complications are treated with drugs that can be chosen on the screen. The drugs offered are antihypertensives, anticoagulants or thrombolytics. ECG signals are connected with oxygen supply, which means that every action leading to lack of oxygen will create irregular ECG signal that demands a prompt therapy [13, 14]. In case of the appearance of complications, multiple cognitive decisions must be made, thus enabling the operators to apply and test their knowledge during the procedure. In addition, when the users are exposed to these long and com-

plicated procedures, they can develop their mental capability and skills to deal with risk cases in reality [13].

Simulation program gives an operator the possibility to repeat certain manipulations in order to develop and maintain manual skills [4]. The number of repetitions needed to achieve the skill depends on individual capabilities of the trainees as well as the simulator training program [7]. Since there is no risk of cumulative radiation dose, the operators can practice patiently on a simulator with no risk either for themselves or for the environment [9,14]. Most of the programs have the possibility of the objective post-procedural check up, thus enabling the operators to practice on their own mistakes without compromising the patient, and to improve their knowledge [9,17]. Most of the simulators offer individual training, mentor training with "one to one" discussion, small groups (allows detailed examination and learning from each other), team work, specific training skills, pre- and postoperative training (preparation of an operator for the consultation with patients or preparation for potential stressful situations) [16].

Besides multiple advantages of training, some shortcomings have also been noticed such as mechanical failures and problems of the software that needs to be restarted [10]. As one of the greatest problems, and certainly the main reason that none of the Medical Faculties in Serbia own this device, is the high retail price and high maintenance cost. The most critical questions when designing a simulator are precision and efficacy. The simulator has to generate visual and tactile sensations close to real ones, versus the deformation that is to be shown in the real time on a graphic display. For the training itself, the feedback information is more important than a deformation. However, a virtual deformation could lead to incorrect learning [14]. The whole system of simulation uses blood vessels hierarchy, and accordingly, generates a geometric model of blood vessels. Physical modeling represents the base for the model interaction between catheter, wires and other interventional materials. These physical models can foresee the reaction of the catheter, wire, etc. [17]. Even though a virtual artery is constructed on an anatomical model described in medical literature and based on principles of physics of physiological and pathological conditions of blood vessels, it cannot be presumed whether the skills acquired on the simulator will be transferable to the procedures in real life [4].

Discussion

In order to assess the validity of virtual simulation as a method of training, simulators of endovascular procedures have been the subject of many studies. The study conducted by Aggarwal et al. was aimed at determining the reliability of simulator as a tool in the assessment of endovas-

cular skills and at assessing the possibility of improving the skills of an inexperienced operator by the training provided on a simulator. The study included 20 vascular surgeons; eight of them had performed more than 50 procedures and 12 had performed less than 10 endovascular procedures. Since the aim of the study was not to test knowledge but endovascular procedures, all operators performed balloon angioplasty and implanted stents into renal arteries. The operators with experience had to repeat this procedure twice and those with no experience had to do it six times. The following was monitored: the time of procedure, amount of contrast agent and radiation dose and the 6-week training followed. In the beginning, the surgeons with more experience were much faster and used less contrast agent during the procedures. During the six-week period the group of inexperienced surgeons significantly reduced the time of procedure and amount of contrast, while neither of the groups improved the time of fluoroscopy [9]. The aim of Neequaye et al was to find out how the skills were acquired. Their study included 20 trainees with no experience. The first group was made of 10 trainees who had performed iliac angioplasty at some time in the past and renal angioplasty twice. The other group consisted of 10 trainees and each trainee had performed renal angioplasty eight times and iliac angioplasty twice. The following was monitored: fluoroscopy time, amount of contrast agent, and the effect of stenting. An instructor offered his passive help to the operators during catheterization, who were tested

for their skills not the cognitive capabilities. The operators were also given a guidebook with step-by-step explanation of the intervention. After eight weeks, the first group showed significantly improvement in stenting effect as well as the amount of contrast used, while the other group showed a significant improvement in time of fluoroscopy. The other group also showed a significant better skills in accomplishing the task assigned to the first group (iliac angioplasty) than the first group did with the task assigned to the second group (renal angioplasty). This result is explained by the fact that operators go through iliac vessels during the procedure [7].

The examples of these studies show that operators can acquire psychomotor skills through repetition by virtual simulation, and that by practicing skills in one anatomic region they can improve the skills common for the endovascular procedures in other vascular region [7]. However, some issues still remain to be discussed: How much is the reality accomplished? Can the skills acquired in this way be applied to real patients?

Conclusion

Virtual approach in learning endovascular interventional radiology procedures is a good alternative to the current ones. Further development of technology should diminish its shortcomings, such as a high retail price and it might become the only training tool for learning interventional radiology in the near future.

References

1. Watkinson A, Adam A, editors. *Interventional radiology: a practical guide*. New York: Radcliffe Medical Press, Inc; 1996.
2. Casserky PI, Sachar R, Yadav SJ, editors. *Manual of peripheral vascular intervention*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
3. Lučić Z, Hadnađev D, Govorčin M, Stojanović S, Till V, Lučić M, i dr. Najnoviji dijagnostički trendovi u radiologiji. *Med Pregl* 2007;60(11-12):599-604.
4. Johnson SJ, Guediri SM, Kilkenny C, Clough PJ. Development and validation of a virtual reality simulator human factors input to interventional radiology training. *Hum Factors* 2011;53(6):612-25.
5. Tang W, Lagadec P, Gould D, Wan TR, Zhai J, How T. A realistic elastic rod model for real-time simulation of minimally invasive vascular interventions. *Visual Computer* 2010; 26(9):1157-65.
6. Cai Y, Chui C, Ye X, Wang Y, Anderson JH. VR simulated training for less invasive vascular intervention. *Computers and Graphics*. 2003;27(2):215-21.
7. Neequaye SK, Aggarwal R, Brightwell R, Van Herzele I, Darzi A, Cheshire NJW. Identification of skills common to renal and iliac endovascular procedures performed on a virtual reality simulator. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2007;33(5):525-32.
8. Luboz V, Hughes C, Gould D, John N, Bello F. Real-time Seldinger technique simulation in complex vascular models. *Int J Comp Assis Radiol Surg* 2009;4(6):589-96.
9. Aggarwal R, Black SA, Hance JR, Darzi A, Cheshire NJW. Virtual reality simulation training can improve inexperienced surgeons' endovascular skills. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2006;31(6):588-93.
10. Willems MCM, Van der Vliet J, Williams V, Schultze Kool LJ, Bergqvist D, Blankensteijn JD. Assessing endovascular skills using the simulator for testing and rating endovascular skills (STRESS) machine. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2009;37(4):431-6.
11. Till V, Koprivsek K, Stojanovic S, Avramov P, Vulekovic P. Prolonged transient cortical blindness after cerebral angiography in the patient with cerebellar hemangioblastoma. *Pediatr Radiol* 2009;39:1223-6.
12. Gould DA, Chalmers N, Johnson SJ, Kilkenny C, White MD, Bech B, et al. Simulation: moving from technology challenge to human factors success. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2012;35(3):445-53.
13. Gould DA. Interventional radiology simulation: prepare for a virtual revolution in training. *J Endovasc Surg*. 2007;18(4):483-90.
14. Dankelman J, Wentink M, Grimbergen CA, Stassen HG, Reekers J. Does virtual reality training make sense in interventional radiology? Training skill-, rule and knowledge-based behavior. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2004;27(5):417-21.
15. Anderson J, Chui CK, Cai Y, Wang Y, Li Z, Ma X, et al. Virtual reality training in interventional radiology: The

Johns Hopkins and Kent Ridge digital laboratory experience. *Semin Intervent Radiol* 2002;19(2):179-85.

16. Berry M, Lystig T, Reznick R, Lonn L. Assessment of a virtual interventional simulator trainer. *J Endovasc Surg* 2006; 13(2):237-43.

Rad je primljen 30. XII 2012.

Recenziran 3. IV 2013.

Prihvaćen za štampu 27. VI 2013.

BIBLID.0025-8105:(2013):LXVI:7-8:335-340.

17. Lee JT, Qiu M, Teshome M, Raghavan SS, Tedesco MM, Dalman RL. The utility of endovascular simulation to improve technical performance and stimulate continued interest of preclinical medical students in vascular surgery. *J Surg Res* 2009;66(6):367-73.



Štampu ovog časopisa "Medicinski pregled"
pomogla je **Vlada AP Vojvodine**



Printing of this journal "Medical Review"
has been supported by
the Government of the AP of Vojvodina

UPUTSTVO AUTORIMA

Časopis objavljuje sledeće kategorije radova:

1. Uvodnici (editorijali) – do 5 stranica. Sadržje mišljenje ili diskusiju o nekoj temi važnoj za Časopis. Uobičajeno ih piše jedan autor *po pozivu*.

2. Originalni naučni radovi – do 12 stranica. Sadržje rezultate sopstvenih originalnih naučnih istraživanja i njihova tumačenja. Originalni naučni radovi treba da sadrže podatke koji omogućavaju proveru dobijenih rezultata i reprodukciju 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 navode najmanje 5 *autocitata* potvrde da su eksperti u oblasti o kojoj pišu.

4. Prethodna saopštenja – do 4 stranice. Sadržje 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. Sadržje 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. Obrađuju *retku* kazuistiku iz prakse, važnu lekarima koji vode neposrednu brigu o bolesnicima i imaju karakter stručnih radova. Prikazi slučajeva ističu neuobičajene 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. Pišu se na poziv uredništva Medicinskog pregleda i obrađuju podatke iz prošlosti sa ciljem održavanja 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

Propratno 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 zaglavlju 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 250 reči, bez skraćenica, sa preciznim prikazom problematike, ciljeva, metodologije, glavnih rezultata i zaključaka. Sažetak treba da ima sledeću strukturu:

– originalni naučni radovi: uvod (sa ciljem rada), materijal i metode, rezultati i zaključak;

– prikaz slučaja: uvod, prikaz slučaja i zaključak;

– pregled rada: uvod, odgovarajući podnaslovi koji odgovaraju onima u tekstu rada i zaključak.

U nastavku navesti do deset ključnih reči iz spiska medicinskih predmetnih naziva (*Medical Subjects Headings, MeSH*) Američke nacionalne medicinske biblioteke.

3. Sažetak na engleskom jeziku. Sažetak na engleskom jeziku treba da bude prevod sažetka na srpskom jeziku, da ima istu strukturu i da sadrži do 250 reči, bez upotrebe skraćenica.

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 zagrada, 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 dati 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, 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.

* *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 CDROM]. 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 na kraju teksta rukopisa, 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 sa Glasnosti za objavljivanje.

– Svi prilozi biće štampani u crno-belom tehnici. Ukoliko autori žele štampanje u boji potrebno je da snose troškove štampe.

7. Slanje rukopisa

Prijem rukopisa vrši se u elektronskoj formi na stranici: aseestant.ceon.rs/index.php/medpreg/. Da biste prijavili rad morate se prethodno registrovati. Ako ste već registrovani korisnik, možete odmah da se prijavite i započnete proces prijave priloga u pet koraka.

8. 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 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 250 words, without abbreviations, with the precise review of problems, objectives, methods, important results and conclusions. It should be structured into the paragraphs as follows:

– original and professional papers should have the introduction (with the objective of the paper), material and methods, results and conclusion

– case reports should have the introduction, case report and conclusion

– review papers should have the introduction, subtitles corresponding to those in the paper and conclusion. 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 summary in Serbian language. The summary in Serbian should be the translation of the summary in English, it should be structured in the same way as the English summary, containing up to 250 words, without any abbreviations.

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 gondii* [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*

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>

** 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 at the end of the manuscript, 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. Manuscript submission

The manuscripts can be submitted on the web-page: asestant.ceon.rs/index.php/medpreg/. The authors have to register with the journal prior to submitting their manuscript, or, if already registered, they can simply log in and begin the 5 step process.

8. 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