

## 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

LJILJA MIJATOV UKROPINA

Assistant to the Editor-in-Chief for Clinical Branches: PETAR SLANKAMENAC

Assistant to the Editor-in-Chief for Imaging Methods: VIKTOR TILL

Assistants to the Editor-in-Chief

BOJANA KRSTONOŠIĆ

BOJAN ZARIĆ

### EDITORIAL BOARD

OKAN AKHAN, Ankara  
ANDREJ ALEKSANDROV, Birmingham  
STOJANKA ALEKSIĆ, Hamburg  
VLADO ANTONIĆ, Baltimor  
ITZHAK AVITAL, Bethesda  
KAREN BELKIĆ, Stockholm  
JEAN-PAUL BEREGI, Lille Cedex  
HELENA BERGER, Ljubljana  
JELA BOROTA, Novi Sad  
MILAN BREBERINA, Novi Sad  
RADOVAN CVIJANOVIĆ, Novi Sad  
GROZDANA ČANAK, Novi Sad  
IVAN DAMJANOV, Kansas City  
DRAGAN DANKUC, Novi Sad  
OMER DEVAJA, Meidstone  
GORDANA DEVEČERSKI, Novi Sad  
PETAR DRVIŠ, Split  
MIRJANA ĐERIĆ, Novi Sad  
SRĐAN ĐURĐEVIĆ, Novi Sad  
VERA GRUJIĆ, Novi Sad  
IRENA HOČEVAR BOLTEŽAR, Ljubljana  
TATJANA IVKOVIĆ LAZAR, Novi Sad  
MARINA JOVANOVIĆ, Novi Sad  
DRAGAN KATANIĆ, Novi Sad  
ALEKSANDAR KIRALJ, Novi Sad  
ALEKSANDAR KNEŽEVIĆ, Novi Sad  
DRAGAN KOVAČEVIĆ, Novi Sad

JORGE MANUEL COSTA LAINS, Coimbra  
VELJKO MARIĆ, Foča  
SMILJANA MARINKOVIĆ, Novi Sad  
VLADIMIR MARTINEK, Bad Aibling  
SINIŠA MASLOVARA, Osijek  
LJILJA MIJATOV UKROPINA, Novi Sad  
MIROSLAV MILANKOV, Novi Sad  
IGOR MITIĆ, Novi Sad  
NADA NAUMOVIĆ, Novi Sad  
AVIRAM NISSAN, Ein Karem  
ANA OROS, Novi Sad  
VERA JERANT PATIĆ, Novi Sad  
LJUBOMIR PETROVIĆ, Novi Sad  
MIHAEL PODVINEC, Basel  
JOVAN RAJS, Danderyd  
PETAR E. SCHWARTZ, New Haven  
MILAN SIMATOVIĆ, Banja Luka  
TOMAŠ SKRIČKA, Brno  
PETAR SLANKAMENAC, Novi Sad  
ALEXANDER STOJADINOVIĆ, Glen Alen  
VIKTOR TILL, Novi Sad  
TIBOR TOT, Falun  
TAKASHI TOYONAGA, Kobe  
KONSTANTIN VIKTOROVIĆ SUDAKOV, Moscow  
NADA VUČKOVIĆ, Novi Sad  
ZORAN VUJKOVIĆ, Banja Luka  
PETAR VULEKOVIĆ, Novi Sad

Proof-reading for Serbian Language: Dragica Pantić

Proof-reading for English Language: Jasminka Anojčić

Technical Secretary: Vesna Šaranović

Technical Support: "Grafit" Novi Sad

UDC and descriptors 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. Payment for individuals from the territory of Serbia for the year 2014 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 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 can be submitted on the web-page: [aseestant.ceon.rs/index.php/medpreg/](http://aseestant.ceon.rs/index.php/medpreg/).**  
**Address Editorial: Društvo lekara Vojvodine Srpskog lekarskog društva, 21000 Novi Sad, Vase Stajica 9,**  
**Tel. 021/521-096; 063/81 33 875, E-mail: [dlv@neobee.net](mailto:dlv@neobee.net); Web: [www.dlv.org.rs](http://www.dlv.org.rs)**

---

## MEDICINSKI PREGLED

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

Glavni i odgovorni urednik  
LJILJA MIJATOV UKROPINA

Pomoćnik urednika za kliničke grane: PETAR SLANKAMENAC

Pomoćnik urednika za imidžing metode: VIKTOR TILL

Pomoćnici urednika:  
BOJANA KRSTONOŠIĆ  
BOJAN ZARIĆ

### REDAKCIJSKI ODBOR

OKAN AKHAN, Ankara  
ANDREJ ALEKSANDROV, Birmingham  
STOJANKA ALEKSIĆ, Hamburg  
VLADO ANTONIĆ, Baltimor  
ITZHAK AVITAL, Bethesda  
KAREN BELKIĆ, Stockholm  
JEAN-PAUL BEREGI, Lille Cedex  
HELENA BERGER, Ljubljana  
JELA BOROTA, Novi Sad  
MILAN BREBERINA, Novi Sad  
RADOVAN CVIJANOVIĆ, Novi Sad  
GROZANA ČANAK, Novi Sad  
IVAN DAMJANOV, Kansas City  
DRAGAN DANKUC, Novi Sad  
OMER DEVAJA, Meidstone  
GORDANA DEVEČERSKI, Novi Sad  
PETAR DRVIŠ, Split  
MIRJANA ĐERIĆ, Novi Sad  
SRĐAN ĐURĐEVIĆ, Novi Sad  
VERA GRUJIĆ, Novi Sad  
IRENA HOČEVAR BOLTEŽAR, Ljubljana  
TATJANA IVKOVIĆ LAZAR, Novi Sad  
MARINA JOVANOVIĆ, Novi Sad  
DRAGAN KATANIĆ, Novi Sad  
ALEKSANDAR KIRALJ, Novi Sad  
ALEKSANDAR KNEŽEVIĆ, Novi Sad  
DRAGAN KOVAČEVIĆ, Novi Sad

JORGE MANUEL COSTA LAINS, Coimbra  
VELJKO MARIĆ, Foča  
SMILJANA MARINKOVIĆ, Novi Sad  
VLADIMIR MARTINEK, Bad Aibling  
SINIŠA MASLOVARA, Osijek  
LJILJA MIJATOV UKROPINA, Novi Sad  
MIROSLAV MILANKOV, Novi Sad  
IGOR MITIĆ, Novi Sad  
NADA NAUMOVIĆ, Novi Sad  
AVIRAM NISSAN, Ein Karem  
ANA OROS, Novi Sad  
VERA JERANT PATIĆ, Novi Sad  
LJUBOMIR PETROVIĆ, Novi Sad  
MIHAEL PODVINEC, Basel  
JOVAN RAJS, Danderyd  
PETAR E. SCHWARTZ, New Haven  
MILAN SIMATOVIĆ, Banja Luka  
TOMAŠ SKRIČKA, Brno  
PETAR SLANKAMENAC, Novi Sad  
ALEXANDER STOJADINOVIĆ, Glen Alen  
VIKTOR TILL, Novi Sad  
TIBOR TOT, Falun  
TAKASHI TOYONAGA, Kobe  
KONSTANTIN VIKTOROVIĆ SUDAKOV, Moskva  
NADA VUČKOVIĆ, Novi Sad  
ZORAN VUJKOVIĆ, Banja Luka  
PETAR VULEKOVIĆ, Novi Sad

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. Pretplata za pojedince sa teritorije Srbije za 2014. 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.

Prijem rukopisa vrši se u elektronskoj formi na stranici: [asestant.ceon.rs/index.php/medpreg/](http://asestant.ceon.rs/index.php/medpreg/).

Adresa Redakcije: Društvo lekara Vojvodine Srpskog lekarskog društva,

21000 Novi Sad, Vase Stajića 9, Tel. 021/521-096; 063/81 33 875

E-mail: [dlv@neobee.net](mailto:dlv@neobee.net); Web: [www.dlv.org.rs](http://www.dlv.org.rs)

---

**Glavni i odgovorni urednici/*Editors-in-Chief***  
**Prof. dr Siniša Sević i prof. dr Sandra Stefan Mikić**

**Uređivački odbor/*Editorial Board***

**Prof. dr Vesna Turkulov**

**Prof. dr Grozdana Čanak**

**Prof. dr Radoslava Doder**

**Prof. dr Đorđe Petrović**

**Doc. dr Maja Ružić**

**Asist. dr Oliver Stojanov**

Lektor za srpski jezik/*Proof-reading for Serbian Language*: Dragica Pantić  
Lektor za engleski jezik/*Proof-reading for English Language*: Jasminka Anojčić  
Tehnički sekretar/*Technical Secretary*: Vesna Šaranović  
Tehnička podrška/*Technical Support*: „Grafit”, Novi Sad  
Izrada UDK i deskriptora: Biblioteka Medicinskog fakulteta, Novi Sad  
*UDK and descriptor prepared by the Library of the Faculty of Medicine, Novi Sad*

Štampa/*Printed by*:  
"ATELJE 31" Novi Sad  
Tiraž: 200 primeraka/*Circulation: 200 copies*

**INFEKCIJE KAO GLOBALNI  
PROBLEM STARENJA**

***INFECTIONS AS GLOBAL  
PROBLEM OF AGING***

**SADRŽAJ**

Siniša Sević STRUKTURA OBOLEVANJA I SMRTNOSTI KROZ PRIZMU DEMOGRAFSKIH POKAZATELJA.....	7-7
Radoslava Doder, Jelena Polovina, Nadica Kovačević, Siniša Sević, Tomislav Preveden i Dragan Doder FAKTORI RIZIKA I LEČENJE URINARNIH INFEKCIJA KOD STARIJIH OSOBA .....	9-13
Dragana Šipovac MALIGNI FIBROZNI HISTIOCITOM SLEZINE.....	14-17
Nadica Kovačević, Grozdana Čanak, Tomislav Preveden, Slavica Tomić, Vedrana Petrić i Miloš Vujanović PREDIKTORI LOŠEG TERAPIJSKOG ODGOVORA NA METRONIDAZOL U LEČENJU <i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i> INFEKCIJE KOD BOLESNIKA STARIJEG ŽIVOTNOG DOBA.....	18-23
Vedrana Petrić, Sandra Stefan Mikić, Siniša Sević, Danijela Stanković Baričak, Nevena Drljević i Aleksandra Milijić ISPITIVANJE PRIMENLJIVOSTI MEĐUNARODNIH SMERNICA U LEČENJU SEPSE .....	24-30
Maja Ružić, Milotka Fabri, Tomislav Preveden, Sanja Stojanović, Zoran Milošević i Gorana Matovina Brko HEPATOCELULARNI KARCINOM U OKVIRU HRONIČNOG HEPATITISA C – ISKUSTVO KLINIČKOG CEN- TRA VOJVODINE .....	31-38
Tomislav Preveden, Miloš Vujanović, Maja Ružić, Nadica Kovačević, Radoslava Doder i Slavica Tomić KLINIČKO-EPIDEMIOLOŠKE KARAKTERISTIKE HRONIČNOG HEPATITISA C KOD OSOBA STARIJEG ŽIVOT- NOG DOBA .....	39-43
Sandra Stefan Mikić, Siniša Sević, Vedrana Petrić, Tomislav Preveden, Jelena Kalember i Danijela Stanković Baričak TROŠKOVI KONZERVATIVNOG LEČENJA PACIJENATA SA HOLANGITISOM I -HOLECISTITISOM.....	44-51
Dragana Šipovac, Siniša Sević, Sandra Stefan Mikić, Nadica Kovačević, Igor Ivanov i Nikola Eić MONITORING OSTEOPOROZE KOD GERONTOLOŠKE POPULACIJE U PRIMARNOJ ZDRAVSTVENOJ ZAŠTITI..	52-56
Nevena Drljević OPTIMIZACIJA I EVALUACIJA METODE ZA GENOTIPIZACIJU APOLIPOPROTEINA E .....	57-60
Branka Vukić Čulafić i Đorđe Petrović MOGUĆNOST ODREĐIVANJA ODNOSA IZMEĐU TRANSLATORNOG KRETANJA I NAGIBA ZUBA AGONI- STA NAKON EKSTRAKCIJE PRVIH STALNIH MOLARA .....	61-65

## CONTENTS

<i>Siniša Sević</i> STRUCTURE OF INCIDENCE AND MORTALITY THROUGH THE PRISM OF DEMOGRAPHIC INDICATORS.....	7-7
<i>Radoslava Doder, Jelena Polovina, Nadica Kovačević, Siniša Sević, Tomislav Preveden and Dragan Doder</i> RISK FACTORS AND TREATMENT OF URINARY TRACT INFECTIONS IN ELDERLY PEOPLE .....	9-13
<i>Dragana Šipovac</i> MALIGNANT FIBROUS HISTIOCYTOMA OF THE SPLEEN .....	14-17
<i>Nadica Kovačević, Grozdana Čanak, Tomislav Preveden, Slavica Tomić, Vedrana Petrić and Miloš Vujanović</i> PREDICTORS ASSOCIATED WITH FAILURE OF METRONIDAZOLE IN TREATMENT OF CLOSTRIDIUM DIFFICILE INFECTION IN THE ELDERLY.....	18-23
<i>Vedrana Petrić, Sandra Stefan Mikić, Siniša Sević, Danijela Stanković Baričak, Nevena Drljević and Aleksandra Milijić</i> TESTING APPLICABILITY OF INTERNATIONAL GUIDELINES IN TREATMENT OF SEPSIS .....	24-30
<i>Maja Ružić, Milotka Fabri, Tomislav Preveden, Sanja Stojanović, Zoran Milošević and Gorana Matovina Brko</i> HEPATOCELLULAR CARCINOMA IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C - EXPERIENCE GAINED AT CLINICAL CENTER OF VOJVODINA .....	31-38
<i>Tomislav Preveden, Miloš Vujanović, Maja Ružić, Nadica Kovačević, Radoslava Doder and Slavica Tomić</i> CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CHRONIC HEPATITIS C VIRUS INFECTION IN ELDERLY PATIENTS .....	39-43
<i>Sandra Stefan Mikić, Siniša Sević, Vedrana Petrić, Tomislav Preveden, Jelena Kalember and Danijela Stanković Baričak</i> COSTS OF CONSERVATIVE TREATMENT OF PATIENTS WITH CHOLANGITIS AND CHOLESYSTITIS.....	44-51
<i>Dragana Šipovac, Siniša Sević, Sandra Stefan Mikić, Nadica Kovačević, Igor Ivanov and Nikola Eić</i> MONITORING OF OSTEOPOROSIS AMONG GERIATRIC POPULATION IN THE PRIMARY CARE SERVICE.....	52-56
<i>Nevena Drljević</i> OPTIMISATION AND EVALUATION OF RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLIMORFISM METHOD FOR APOLIPO-PROTEIN E.....	57-60
<i>Branka Vukić Čulafić and Đorđe Petrović</i> POSSIBILITY OF DETERMINING RELATIONS BETWEEN TRANSLATORY MOVEMENT AND INCLINATION OF AGONIST TEETH AFTER EXTRACTION OF FIRST PERMANENT MOLARS.....	61-65



Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet  
Klinički centar Vojvodine Novi Sad, Klinika za infektivne bolesti

UDK 616:314.42  
DOI: 10.2298/MPNS14S2007S

## STRUKTURA OBOLEVANJA I SMRTNOSTI KROZ PRIZMU DEMOGRAFSKIH POKAZATELJA

### *STRUCTURE OF INCIDENCE AND MORTALITY THROUGH THE PRISM OF DEMOGRAPHIC INDICATORS*

Siniša SEVIĆ

Sve do sredine XX veka infektivne bolesti su bile vodeći uzrok smrtnosti širom sveta, ali i vodeći uzrok onesposobljenosti i socijalnog odbacivanja. Otkrićem mikroorganizama kao uzročnika bolesti i napretkom u području komunalne higijene, sanitacije, uvođenjem principa antiseptice i asepsise, te merama unapređenja javnog zdravlja, otkrića vakcina i antimikrobnih lekova u drugoj polovini XX veka, u razvijenim zemljama dolazi do značajnog sniženja morbiditeta ali i mortaliteta od zaraznih bolesti i infekcija. Nažalost, i danas su infektivne bolesti odgovorne za jednu četvrtinu mortaliteta u svetu te se procenjuje da blizu 40 000 ljudi dnevno umire od infektivnih bolesti. Ovaj broj bi bio i veći kada bi mu se pridodao mortalitet koji je posledica intrahospitalnih i hirurških i drugih infekcija koje se ne računaju u mortalitet od zaraznih bolesti.

Očekivano trajanje života značajno je povećano u proteklom veku. Početkom XX veka, kada su infektivne bolesti bile vodeći uzrok mortaliteta, očekivano trajanje života na rođenju u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) iznosilo je 47 godina, a samo 4% ukupne populacije bilo je starije od 65 godina. Na početku XXI veka u SAD očekivano trajanje života je 73 godine za muškarce i 80 godina za žene, a populacija starija od 65 godina sačinjava 13% ukupne populacije SAD. Pretpostavlja se da će se broj starijih od 65 godina udvostručiti tokom prvog kvartala XXI veka te da će do 2030. godina u SAD biti 70 miliona ljudi starijih od 65 godina – što će tada sačinjavati 21% ukupne populacije. Slična situacija na početku XX veka bila je i u evropskim zemljama. Tako na primer u Švajcarskoj je 1900. godine bilo 2% starih (65–79 godina) i svega 0,5% veoma starih ( $\geq 80$  godina). Nakon popisa 2002. godine u Švajcarskoj ima 11,4% starih i 4% veoma starih, a procenjuje

se da će do 2060. godina biti 15% starih i 9% veoma starih. Prema podacima poslednjeg popisa u Republici Srbiji ima 16,8%, a do 2030. godine starijih od 65 godina biće najmanje 22% od ukupne populacije, što je skoro svaki peti stanovnik.

Ovi podaci su veoma značajni jer ukazuju da će briga zdravstva i pružanje zdravstvenih usluga gerijatrijskoj populaciji zauzimati značajno mesto u sistemima zdravstvene zaštite u XXI veku. Sa kliničkog stanovišta ova populacija spada u populaciju koja je pod rizikom obolevanja od teških infektivnih bolesti, kao i povećanog rizika od mortaliteta povezanog sa komplikacijama infektivnih bolesti i infekcija. Vodeći uzroci smrti u gerijatrijskoj populaciji identični su sa vodećim uzrocima smrtnosti u opštoj populaciji i prva tri po učestalosti su kardiovaskularne bolesti, maligni tumori i moždani udar. Na četvrtom mestu po učestalosti u gerijatrijskoj populaciji nalazi se mortalitet od influence i pneumonije, a na šestom je šećerna bolest i njene komplikacije uključujući i infekcije. Komplikacije bakterijemija nalaze se na devetom mestu vodećih uzroka smrtnosti u ovoj populaciji. Značajno produženje očekivanog trajanja života tokom XX veka posledica je pre svega smanjenog mortaliteta od zaraznih bolesti. Ujedno je došlo do povećanja broja starih i veoma starih u populaciji razvijenih zemalja, te sada veliki broj infektivnih bolesti i infekcija teškog kliničkog toka zapažamo upravo u ovoj starosnoj grupi. Ovo zahteva dobru informisanost lekara koji brinu o zdravlju ove populacije o biologiji starenja, infektivnim bolestima, infekcijama i njihovim komplikacijama kao malom delu globalnog problema starenja stanovništva. Stoga ovaj suplement ima za cilj da aktuelnim informacijama dâ svoj doprinos informisanosti lekara praktičara.





Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet<sup>1</sup>  
Klinički centar Vojvodine, Klinika za infektivne bolesti Novi Sad<sup>2</sup>  
Pokrajinski zavod za sport i medicinu sporta, Novi Sad<sup>3</sup>

UDK 616.63-022.1-08-053.9  
DOI: 10.2298/MPNS14S2009D

## FAKTORI RIZIKA I LEČENJE URINARNIH INFEKCIJA KOD STARIJIH OSOBA

### RISK FACTORS AND TREATMENT OF URINARY TRACT INFECTIONS IN ELDERLY PEOPLE

Radoslava DODER<sup>1,2</sup>, Jelena POLOVINA<sup>2</sup>, Nadica KOVAČEVIĆ<sup>1,2</sup>, Siniša SEVIĆ<sup>1,2</sup>,  
Tomislav PREVEDEN<sup>1,2</sup> i Dragan DODER<sup>3</sup>

#### Sažetak

Cilj retrospektivnog dela istraživanja bio je da se prikažu faktori rizika, etiologija, klinička slika, primenjena terapija i ishod urinarnih infekcija kod starijih osoba koje su lečene na Klinici za infektivne bolesti u Novom Sadu. Cilj prospektivnog dela studije bio je da se primenom upitnika utvrde najčešći faktori rizika za urinarnu infekciju među korisnicima Gerontološkog centra „Novi Sad”. **Materijal i metode.** Retrospektivni deo istraživanja obuhvatio je 81 bolesnika sa dijagnozom urinarne infekcije koji su bili stariji od 65 godina i koji su lečeni na Klinici za infektivne bolesti u periodu od 2010. do septembra 2012. Prospektivni deo istraživanja obavljen je anketiranjem korisnika Gerontološkog centra „Novi Sad” pomoću upitnika „Test poremećaja mokrenja”. **Rezultati.** Prosečna starost iznosila je 75,47 godina (min. 65, max. 96, SD 6,86), dominirao je ženski pol (Ž : M = 58%:42%). Pridružene bolesti registrovane su kod 53 (65,4%) bolesnika, od kojih je 24 (29,6%) imalo hipertenziju. *E. coli* izolovana je kod 12 (46,2%). Pri prijemu, febrilnost je zabeležena kod 60 (75,95%), znaci intoksikacije kod 33 (41,8%), na disuriju se žalilo 23 (29,1%), na polakisuriju 9 (11,4%), na suprapubični bol 8 (10,1%) i na bol u lumbalnoj loži 7 (8,9%) bolesnika. Najčešće upotrebljavani antibiotici bili su cefriakson kod 43 (56,6%) i ciprofloksacin kod 33 (43,3%). Ishod bolesti bio je povoljan kod 79 (97,5%) dok je smrtni ishod nastupio kod 2 (2,5%) bolesnika. Među korisnicima gerontološkog centra česte urinarne infekcije imalo je 9 (22,5%), nokturiju 25 (62,5%) a inkontinenciju 16 (40%). Najčešće pridružene bolesti bile su dijabetes melitus i terapijski zahvati na prostati i mokraćnoj bešici kod 7 (17,5%) i moždani udar kod 5 (12,5%) ispitanika. **Zaključak.** Dijagnoza uroinfekcija kod starih predstavlja izazov, kako u dijagnostici tako i u lečenju. Potrebno je ažurirati smernice antimikrobnog lečenja kako bi se smanjila nekritična upotreba antibiotika u asimptomatskoj bakteriuriji i sprečilo širenje multirezistentnih mikroorganizama.

**ključne reči:** Faktori rizika; Infekcije urinarnog trakta; Stari ljudi; Stari ljudi, 80 i više godina; Upitnici; Znaci i simptomi; Dijagnoza; Antibiotici; Ishod lečenja

#### Summary

**Introduction.** The aim of the retrospective part of this research was to present the risk factors, etiology, clinical picture, therapy and outcome of urinary infections in elderly patients treated at the Department of Infectious Diseases in Novi Sad. The prospective part was aimed at establishing the most common risk factors for urinary infections among users in the Gerontology Center "Novi Sad" and determining the appropriate preventive measures by using an assessment questionnaire. **Material and Methods.** The retrospective research included 81 patients diagnosed with urinary infection. The patients were over 65 years of age and were treated at the Department of Infectious Diseases in the period from 2010 to September 2012. Within the prospective part of research, a poll was conducted among users of Gerontology Center „Novi Sad” by applying an "Urination Disorder Test" questionnaire. **Results.** The average age of participants was 75.47 years (min 65, max 96, SD 6.86), and the female patients predominated in the patient population (F:M = 58%:42%). Associated diseases were recorded in 53 (65.4%) patients, and 24 (29.6%) of them had hypertension history. *Escherichia coli* were isolated in 12 (46.2%) patients. The majority of patients had preserved consciousness at admission whereas febrility and signs of intoxication were recorded in 60 (75.95%) and 33 (41.8%) patients, respectively. The patients reported the following problems: dysuria - 23 (29.1%) patients, pollakiuria - 9 (11.4%), suprapubic pain - 8 (10.1%) and pain in the lumbar region - 7 (8.9%) patients. Antibiotic therapy included ceftioxone and ciprofloxacin, which were administered to 43 (56.6%) and 33 (43.3%) patients, respectively. Favorable disease outcome was recorded in 79 (97.5%) patients, whereas lethal outcome occurred in 2 (2.5%) patients and was associated with severe comorbidity. Frequent urinary infections, nocturia and incontinence, being the most frequent diseases among the users of Gerontology Center, were reported by 9 (22.5%), 25 (62.5%) and 16 (40%) users, respectively. The most frequent associated diseases were diabetes mellitus and therapeutic procedures on the prostate and bladder in 7 (17.5%) and stroke in 5 (12.5%) participants. **Conclusion.** Urinary infections in the elderly remain a highly challenging issue from both diagnostics and treatment standpoint. An update of guidelines to the relevant antimicrobial therapy is a prerequisite in order to decrease the uncritical administration of antibiotics in asymptomatic bacteriuria and to prevent the spreading of multi-resistant organisms.

**Key words:** Risk Factors; Urinary Tract Infections; Aged; Aged, 80 and over; Questionnaires; Signs and Symptoms; Diagnosis; Anti-Bacterial Agents; Treatment Outcome

**Skraćenice**

IDSa – Infectious Diseases Society of America  
Američko udruženje za zarazne bolesti  
IMS – infekcije mokraćnog sistema

**Uvod**

Urinarne infekcije su veoma česte kod osoba srednjeg a naročito starijeg životnog doba. Njihova učestalost zavisi od pola, životnog doba i prisutnih faktora rizika/predispozicije [1]. Poseban problem su bolnički stečene infekcije i infekcije trajnih katetera koje su često razlog za nekritičnu primenu antibiotika [2]. Dijagnoza uroinfekcija je klinička, postavlja se na temelju simptoma i znakova te nalaza urina. Prema najnovijim preporukama leče se sve simptomatske infekcije i asimptomatske u određenim slučajevima. Opšte preporuke u lečenju urinarnih infekcija su adekvatna hidratacija, mirovanje, primena analgetika i antipiretika prema potrebi. Antimikrobno lečenje ima za cilj eliminaciju kliničkih simptoma i znakova i eradikaciju uzročnika [1].

Cilj našeg istraživanja bio je da se prikažu najčešći faktori rizika, etiologija, klinička slika, primenjena terapija i ishod urinarnih infekcija kod osoba starijeg životnog doba koji su lečeni na Klinici za infektivne bolesti u Novom Sadu. Cilj prospektivnog dela studije bio je da se primenom upitnika utvrde faktori rizika/predispozicije za urinarne infekcije među korisnicima Gerontološkog centra „Novi Sad“. Istraživanje je odobrio Etički komitet Medicinskog fakulteta u Novom Sadu i direktor Gerontološkog centra u Novom Sadu.

**Materijal i metode**

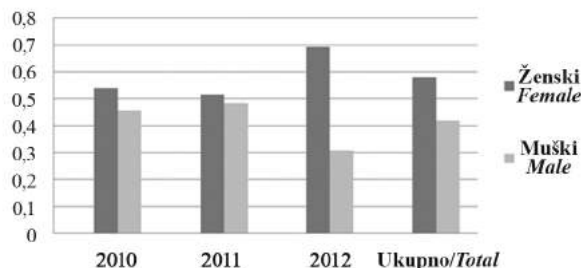
Istraživanje je planirano i sprovedeno kao retrospektivno-prospektivna studija. Dijagnoza urinarnih infekcija postavljena je na osnovu kliničkih simptoma i znakova te nalaza urina. Urinokultura je uzeta pri prijemu, pre započinjanja antibiotske terapije kao i tokom lečenja, prema potrebi. Retrospektivnim istraživanjem obuhvaćen je 81 bolesnik, lečen na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine pod dijagnozom urinarne infekcije u periodu od januara 2010. do septembra 2012. godine. Ispitivanje je obuhvatilo sledeće pokazatelje: opšte karakteristike bolesnika (pol, uzrast, bračno stanje), faktore rizika/predispozicije (funkcionalni status pri prijemu, pridružene bolesti/stanja), primenjenju antibiotsku terapiju, etiologiju, kliničko-laboratorijske parametre pri prijemu i otpustu i ishod bolesti. Kliničkim praćenjem ispitani su: stanje svesti (očuvana svest, sopor, koma), povišena telesna temperatura ( $> 37,5^{\circ}\text{C}$ ) jeza, groznica, subjektivne tegobe (otežano mokrenje, disurija, polakisurija, nokturija, suprapubični bol ili nelagodnost, bol u lumbalnoj loži). U laboratorijskoj dijagnostici praćeni su: broj eritrocita ( $\times 10^{12}/\text{l}$ ), broj leukocita ( $\times 10^9/\text{l}$ ), diferencijalna bela krvna slika (%), sedimentacija eritrocita, vrednost C-reaktivnog protei-

na (mg/l), urea, sediment urina i urinokultura. Hematološke i biohemijske pretrage krvi i biohemijski i citološki pregled urina vršeni su u Centru za laboratorijsku medicinu KC Vojvodine, a mikrobiološki nalazi krvi i urina u Odeljenju za kliničku bakteriologiju Centra za mikrobiologiju Instituta za zaštitu javnog zdravlja Vojvodine. Prospektivna studija sprovedena je među korisnicima Gerontološkog centra „Novi Sad“. U studiju je uključeno 40 osoba, koje su bile starije od 65 godina, oba pola, samostalno pokretne i delimično zavisne od tuđe pomoći. Istraživanje je sprovedeno anketiranjem, pomoću upitnika „Test poremećaja mokrenja, Centra za gerontologiju, Zavoda za javno zdravlje „Dr. A. Štampar“, u Zagrebu. Upitnik je modifikovan i jezički prilagođen, sastojao se od 10 pitanja i popunjen je u direktnom kontaktu sa ispitanicima, zaokruživanjem jednog od ponuđenih odgovora (Tabela 1).

Dobijeni rezultati prikazani su pomoću Microsoft Office Excel 2003 programa za statistička i tabelarna izračunavanja i obrađeni su metodama deskriptivne i analitičke statistike pri nivou značajnosti  $p < 0,05$ .

**Rezultati retrospektivnog dela studije**

U ispitivanom periodu, na Klinici za infektivne bolesti u Novom Sadu lečeno je ukupno 194 bolesnika sa dijagnozom uroinfekcije od čega je istraživanjem obuhvaćen 81 (41,75%). Prosečna starost iznosila je 75,47 godina (min. 65, maks. 94, SD = 6,86); dominirao je ženski pol (Ž : M = 58% : 42%) (Grafikon 1). U grupi „mladih starih“ (65–74 godine) bilo je 39 (48,1%), u grupi „srednje starih“ (75–84 godine) 34 (42%), dok je u grupi „starih starih“ ( $> 85$  godina) bilo osam (9,9%) bolesnika. U odnosu na bračno stanje, polovina 41 (50,6%) je živela u bračnoj zajednici, 21 (26%) kao udovac/udovica, 14 (17,3%) je bilo u nedefinisanim statusu, tri (3,7%) razveden/a dok su dva (2,4%) bolesnika živela u vanbračnoj zajednici. U odnosu na funkcionalni status pri prijemu, 39/81 (48,1%) bilo je samostalno pokretno, 13 (16%) delimično zavisno a 17 (21%) je bilo potpuno zavisno od tuđe pomoći. Za 12 (14,9%) bolesnika nismo imali podatke o funkcionalnom statusu. Pridružene ranije bolesti/stanja,



**Grafikon 1.** Učestalost urinarne infekcije kod starih osoba u odnosu na pol

**Graph 1.** The incidence of urinary tract infections in the elderly by gender

**Tabela 1.** Test poremećaja mokrenja  
**Table 1.** Urination disorder test

Na postavljena pitanja odgovorite sa DA ili NE!/ <i>Answer the following questions with YES or NO!</i>	
Imate li česte upale mokraćne bešike (osećaj pečenja, učestalo mokrenje)? <i>Do you have frequent bladder infections (burning sensation, frequent urination)?</i>	DA/YES NE/NO
Da li ste primetili nekontrolisano oticanje mokraćne?/ <i>Have you noticed involuntary urination?</i>	
– pri smejanju, kljanju ili kašljanju/ <i>while laughing, sneezing or coughing</i>	DA/YES NE/NO
– prilikom naprezanja/ <i>while heavy lifting</i>	DA/YES NE/NO
– prilikom ležanja/ <i>while lying</i>	DA/YES NE/NO
– uvek/ <i>always</i>	DA/YES NE/NO
– ponekad, npr. za vreme prehlade/ <i>sometimes, e.g. while having cold</i>	DA/YES NE/NO
Ustajete li noću zbog potrebe za mokrenjem?/ <i>Do you get up at night because of the need to urinate?</i>	DA/YES NE/NO
Upotrebljavate li zaštitu za donji veš zbog nekontrolisanog mokrenja? <i>Do you use underwear protection for bedwetting?</i>	DA/YES NE/NO
Idete li češće od pet puta na dan u toalet?/ <i>Do you go to the bathroom more than five times a day?</i>	DA/YES NE/NO
Osećate li često intenzivan nagon za mokrenjem iako ste neposredno pre mokrili? <i>Do you often feel an intense urge to urinate even though you have just urinated?</i>	DA/YES NE/NO
Da li Vam je teško zaustaviti mlaz mokraćne kad čujete da voda teče iz slavine? <i>Do you find it difficult to stop the stream of urine when you hear water run from the tap?</i>	DA/YES NE/NO
Otiče li vam mokraćna i dalje nakon što je voda prestala teći iz slavine? <i>Does urinating continue after water stops running from the tap?</i>	DA/YES NE/NO
Da li ste imali terapijske zahvate na mokraćnoj bešici ili prostati? <i>Did you have therapeutic procedures on the bladder or prostate?</i>	DA/YES NE/NO
Bolujete li od nekih bolesti?/ <i>Do you have some of the following diseases?</i>	
– šećerna bolest/ <i>diabetes</i>	DA/YES NE/NO
– multipla skleroza/ <i>multiple sclerosis</i>	DA/YES NE/NO
– moždani udar/ <i>stroke</i>	DA/YES NE/NO
– bolesti kičmene moždine/ <i>diseases of the spinal cord</i>	DA/YES NE/NO
– Alchajmerova bolest/ <i>Alzheimer's disease</i>	DA/YES NE/NO
– Parkinsonova bolest/ <i>Parkinson's disease</i>	DA/YES NE/NO

verifikovani su kod 53 (65,4%). Najčešća je bila hipertenzija kod 24 (29,6%), zatim cerebrovaskularni inzult 16 (19,8%), dijabetes melitus 15 (18,5%), ranije urinarne infekcije i poremećaj srčanog ritma 11 (13,6%), ishemijska bolest srca – 9 (11,1%), ranija onkološka bolest urinarnog sistema – 8 (9,9%), benigna hiperplazija prostate, prisustvo trajnog urinarnog katetera i nestabilnost usled padova u kućnim uslovima kod 6 (7,4%) bolesnika. Svest je bila očuvana kod 75 (92,1%), soporozno je bilo 6 (7,4%); nijedan bolesnik nije bio u komi. Febrilnost je zabeležena kod 60 (75,95%) jezu i drhtavicu imalo je 13 (16,5%), intoksikaciju 33 (41,8%). Osećaj pečenja prilikom mokrenja prijavilo je 23 (29,1%), na učestalu potrebu za mokrenjem (polakisurija) žalilo se 9 (11,4%), na suprapubični bol 8 (10,1%) i bol u lumbalnoj loži 7 (8,9%) bolesnika. Etiologija bolesti izolacijom uzročnika iz urinokulture potvrđena je kod 26/81 (31,1%) bolesnika. Najčešće je izolovana *Escherichia coli* kod 12 (46,2%), zatim *Klebsiella pneumoniae* i *Proteus mirabilis* kod sedam (26,9%), *Enterococcus spp.* kod tri (11,5%), a u pojedinačnim slučajevima *Pseudomonas auriginosa* i *Acinetobacter spp.* U ambulantnim uslovima, lečenje uroinfekcije započeto je kod 23 (28,4%). Na prijemu u bolnicu, na osnovu kliničko-laboratorijskih parametara i mikrobiološkog nalaza urina antimikrobna terapija indikovana je kod 76 (93,8%) bole-

snika. Monoterapija je primenjena kod 37 (48,7%), kobinovana terapija sa dva antibiotika kod 29 (38,2%), tri i više kod 11 (13,1%). Najčešće primenjivani antibiotici, pojedinačno ili u kombinacijama bili su cefalosporini II i III generacije i hinoloni (**Tabela 2**). Statističkom analizom potvrđeno je statistički značajno sniženje broja leukocita i vrednosti C-reaktivnog proteina (CRP), pri otpustu u odnosu na prijem ( $t = 2,8$ ;  $p < 0,01$ ;  $t = 7,68$ ;  $p < 0,001$ ). Primenom  $\chi^2$  testa utvrđen je značajno manji broj bolesnika sa patološkim nalazom u sedimetu urina pri otpustu ( $\chi^2 = 18,52$ ;  $p < 0,001$ ) (**Tabela 3**). Ishod bolesti bio je povoljan kod 79 (97,5%), dok je smrtni ishod nastupio kod 2 (2,5%) bolesnika zbog težeg komorbiditeta.

### Rezultati prospektivnog dela studije

Prospektivnim delom istraživanja obuhvaćeno je 40 (80%) korisnika Gerontološkog centra; 13 (32,5%) osoba muškog i 27 (67,5%) ženskog pola. Ceste urinarne infekcije sa osećajem pečenja pri mokrenju i učestalim mokrenjem imalo je 9 (22,5%). Nekontrolisano mokrenje (inkontinenciju) prijavilo je ukupno 16 (40%) ispitanika i to: pri smejanju, kljanju i kašljanju: 11 (68,75%), pri naprezanju: pet (12,5%), u mirovanju: 5 (12,5%), uvek: 4 (10%), samo ponekad (npr. za vreme prehlade): 11

**Tabela 2.** Najčešće primenjivani antibiotici kod osoba starije životne dobi  
**Table 2.** Most frequently used antibiotics in the elderly

Antibiotik/Antibiotic	Broj bolesnika/Number of patients	%
Amoksicilin/Amoxicillin	2	2,6
Amoksicilin-klavuronska kiselina/Amoxicillin-clavulanic acid	4	5,2
Ceftriakson/Ceftriaxone	43	56,6
Cefuroksim/Cefuroxime	2	2,6
Levofloksacin/Levofloxacin	2	2,6
Ciprofloksacin/Ciprofloxacin	33	43,4
Piperacilin/tazobaktam/Piperacillin/tazobactam	11	14,5
Gentamicin/Gentamicin	6	7,6
Amikacin/Amikacin	9	11,8

(68,75%). Nokturija je bila prisutna kod 25/40 (62,5%). Iako je nekontrolisano mokrenje zabeleženo kod skoro polovine, zaštitu za intimni veš (pelene, ulošci) upotrebljava samo 11/40 (27,5%). Više od pet puta dnevno u toalet ide 12 (30%) ispitanika, ne ide 9 (22,5%), a ne zna 19 (47,5%). Nesnosan nagon za mokrenjem neposredno posle izmokravanja bio je prisutan kod osam (20%), nije ga bilo kod 30 (75%) a dvoje ispitanika (5%) nije odgovorilo. Na pitanje da li vam je teško zaustaviti mokrenje kad čujete da voda teče iz slavine pozitivno je odgovorilo 6 (15%), negativno 20 (50%) a ne znam 14 (35%). Nekontrolisano oticanje mokraće, nakon što voda prestane teći iz slavine, prijavila su 4 (10%) ispitanika. Prethodne terapijske zahvate na prostati i mokraćnoj bešici i šećernu bolest imalo je 7 (17,5%), moždani udar 5 (12,5%), bolesti kičmene moždine 4 (10%), Alchajmerovu i Parkinsonovu bolest 2 (5%) ispitanika.

### Diskusija

Prosečna starost naših bolesnika sa uroinfekcijom iznosila je 75,47 godina. Iako su žene procentualno više zastupljene, nije bilo značajne razlike u odnosu na pol. Neurološka stanja (cerebrovaskularni inzult, Alchajmerova i Parkinsonova bolest), dijabetes melitus i bolesti prostate kod muškaraca često se povezuju sa smanjenom funkcijom mokraćne bešike i posledičnom infekcijom [2]. Najčešće pridružene bolesti kod starih osoba koje su lečene u bolnici bile su hipertenzija 24 (29,6%), cerebrovaskularni inzult 16 (19,8%) i dijabetes meli-

tus 15 (18,5%). Istraživanja su pokazala prevalenciju asimptomatske bakteriurije 25–50% kod žena i 15–40% kod muškaraca bez katetera, među korisnicima domova za stare osobe [3]. Faktori rizika koji se povezuju sa asimptomatskom bakteriurijom su institucionalizacija, prisustvo urinarnog katetera, ženski pol, stariji uzrast i dijabetes melitus [4, 5]. U našem istraživanju na nokturiju se žalilo 25 (62,5%) korisnika Gerontološkog centra, na inkontinenciju 16 (40%) a najčešće pridružene bolesti bile su dijabetes melitus i terapijski zahvati na prostati i mokraćnoj bešici kod 7 (17,5%) i moždani udar kod 5 (12,5%). Uroinfekcija se klinički manifestovala kao febrilno stanje kod 60 (75,95%); intoksikaciju je imalo 33 (41,8%), disuriju 23 (29,1%), polakisuriju 9 (11,4%), suprapubični bol 8 (10,1%) i bol u lumbalnoj loži 7 (8,9%) bolesnika. Juthani-Mehta i saradnici sproveli su prospektivno istraživanje među korisnicima staračkog doma u Konektikatu sa ciljem da utvrde klinička obeležja koja su povezana s bakteriurijom i piurijom kod osoba bez katetera. Studija je pokazala da su disurija, promene urina i promene u mentalnom statusu značajno povezani s bakteriurijom i piurijom kod ispitanika sa sumnjom na IMS [6, 7]. Loeb i saradnici pokušali su razviti kriterijume za otpočinjanje antibiotske terapije kod pacijenata s bakteriurijom u domovima za stare. Prema ovom istraživanju, antibioticima se leče osobe bez urinarnog katetera koji imaju akutnu disuriju sa povišenom temperaturom ili bez nje (> 37,9 °C) i jedan od sledećih simptoma: novonastali ili pogoršanje ranijeg nesnosnog nagona za

**Tabela 3.** Laboratorijski parametri u dijagnostici urinarnih infekcija kod osoba starije životne dobi  
**Table 3.** Laboratory parameters in the diagnosis of urinary tract infections in the elderly

Laboratorijski parametri Laboratory parameters ( $\bar{X}$ )	E ( $10^{12}/l$ )	L ( $10^9/l$ )	Neutrofilni granulociti Neutrophil granules (%)	SE	CRP (mg/l)	Urea Urea (mmol/l)	Sediment urina-patološki/Pat- hological urine sedi- ment (%)	$\geq 10^5$ bakterija/ ml urina/Bacte- ria per 1 ml of urine (%)
Prijem/Admission	3,95	10,34	35,35	54/69	116,86	8,38	72,5	31,1
Otpust/Discharge	3,95	8,1	27,1	45/67	31,61	4,91	27,8	0

E – eritrociti/erythrocytes, L – leukociti/leukocytes, SE – sedimentacija eritrocita/erythrocyte sedimentation, CRP – C reaktivni protein/C-reactive protein

mokrenjem, učestalo mokrenje, suprapubični bol, hematurija ili inkontinencija [8]. Najčešće se iz urinkulture izoluje *E. coli* [6–9] kao i druge Gram-negativne bakterije: *Klebsiella pneumoniae* i *Proteus mirabilis*, što je bio slučaj i u našem istraživanju. Monoterapija je započeta kod 37 (48,7%) bolesnika, a kombinovana terapija sa dva antibiotika kod 29 (38,2%). Najčešće korišćeni antibiotici bili su cefalosporini II i III generacije i ciprofloksacin. Prema aktuelnim smernicama [9–11] upotreba ciprofloksacina u našem istraživanju bila je opravdana. Upotreba cefalosporina II i III generacije opravdana je samo u lečenju akutnog nekomplikovanog pijelonefritisa i u lečenju komplikovanih infekcija mokraćnog sistema [12, 13]. Istraživanje, koje je obuhvatilo 261 ambulantno ili institucionalizovano lečenu ženu, prosečnog životnog doba od 80 godina, pokazalo je 96% bakteriološko izlečenje za ciprofloksacin u poređenju sa 80% za trimetoprim-sulfametoksazol, za tri najčešća izolata [5]. Prema IDSA smernicama, trodnevna terapija ima veću stopu uspeha u poređenju sa sedmodnevnom terapijom kod

starijih žena [10]. S obzirom da je većina naših bolesnika otpuštena izlečena, sa stanovišta efikasnosti primenjena antimikrobna terapija je bila opravdana.

### Zaključak

Faktori rizika za infekcije mokraćnog sistema u starijem životnom dobu, kod bolesnika lečenih na Klinici za infektivne bolesti bili su uzrast (65–74 godine), hipertenzija, cerebrovaskularni inzult i dijabetes melitus. Najviše anketiranih korisnika u Gerontološkom centru „Novi Sad” imalo je nokturiju i inkontinenciju, ranije terapijske zahvate na prostati i mokraćnoj bešici i dijabetes melitus. Bolest se manifestovala kao febrilno stanje sa znacima intoksikacije, disurijom i polakisurijom. Etiologija je potvrđena kod trećine bolesnika, najčeći uzročnik je bila *E. coli*. Primenjena antimikrobna terapija, sa stanovišta efikasnosti bila je opravdana. Aktuelne farmakoterapijske smernice treba ažurirati i prilagoditi specifičnostima starije populacije.

### Literatura

1. Sobel JD, Kaye D. Urinary tract infections. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier; 2010. p. 957-85.
2. Woodford HJ, George J. Diagnosis and management of urinary tract infection in hospitalized older people. *J Am Geriatr Soc.* 2009;57(1):107-14.
3. Zhanel GG, Nicolle LE, Harding GKM, et al. Prevalence of asymptomatic bacteriuria and associated host factors in women with diabetes mellitus. *Clin Infect Dis.* 1995;21:316-22.
4. Caljouw M, Elzen W, Cools H, Gussekloo J. Predictive factors of urinary tract infections among the oldest old in the general population. a population-based prospective follow-up study. *BMC Med.* 2011;9(57):1-8.
5. Erikson I, Gustafson Y, Fagerstrom L, Olofsson B. Prevalence and factor associated with urinary tract infections (UTIs) in very old women. *Arch Gerontol Geriatr.* 2010;50:132-5.
6. Juthani-Mehta M, Quagliarello V, Perrelli E, et al. Clinical features to identify urinary tract infections in nursing home residents: a Cohort study. *J Am Geriatr Soc.* 2009;57:963-70.
7. Nicolle LE. Urinary tract infection in geriatric and institutionalised patients. *Curr Opin Urol.* 2002;12:51-5.
8. Loeb M, Bentley DW, Bradley S, et al. Development of minimum criteria for the initiation of antibiotics in residents

of long-term-care facilities: results of a consensus conference. *Infect Control HospEpidemiol.* 2001;22:120-4.

9. Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN) [Internet]. Management of suspected bacterial urinary tract infection in adults: a national clinical guideline. Edinburgh: SIGN; 2006. [cited 2011 May 3]. Available from: [www.sign.ac.uk](http://www.sign.ac.uk).

10. Dellit HT, Owens RC, McGowan GE, et al. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antibiotic stewardship. *Clin Infect Dis.* 2007;44:159-77.

11. Lutters M, Vogt-Ferrier NB. Antibiotic duration for treating uncomplicated, symptomatic lower urinary tract infections in elderly women. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;3:CD001535. PubMed PMID: 12137628.

12. Stefan-Mikić S, Sević S, Doder R, Cvjetković D, Jovanović N, Ružić M. Troškovi lečenja infekcija urinarnog trakta kod primene pojedinih farmakoterapijskih smernica u Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine. *Vojnosanit Pregl.* 2012;69(8):647-55.

13. Bergman J, Schjøtt J, Bliks HS. Prevention of urinary tract infections in nursing homes: lack of evidence-based prescription? *BMC Geriatr.* 2011;11(69):1-6.

Rad je primljen 14. X 2014.

Recenziran 24. XI 2014

Prihvaćen za štampu 25. XI 2014.

BIBLID.0025-8105:(2014):LXVII:(Suppl 2):9-13.

Dom zdravlja Novi Sad, Novi Sad, Srbija  
Služba za zaštitu zdravlja radnika

UDK 616.411-006.3  
DOI: 10.2298/MPNS14S2014S

## MALIGNI FIBROZNI HISTIOCITOM SLEZINE

### *MALIGNANT FIBROUS HISTIOCYTOMA OF THE SPLEEN*

Dragana ŠIPOVAC

#### Sažetak

**Uvod.** Nakon što je Đovoni (*Govoni*) sa saradnicima 1982. godine opisao prvi slučaj primarnog malignog fibroznog histiocitoma slezine, do kraja 2013. godine literatura je predstavila 18 slučajeva obolevanja. Prikazan je slučaj retkog primarnog malignog fibroznog histiocitoma slezine sa metastazama na jetri i nespecifičnom opštom simptomatologijom. **Prikaz slučaja.** Pacijentkinja starosti 62 godine, kahektične konstitucije, primljena je 29.3.2014. godine u ambulantu primarne zdravstvene zaštite zbog jakih oštrih bolova u trbuhu (na skali bola 8/10) i gadenja na hranu. Fizikalni nalaz pokazuje palpabilan bolan mek tumefakt u levom hipohondrijumu promera do 2 cm. U laboratorijskim nalazima prisutna je leukocitoza  $17,9 \times 10^9/l$ , sedimentacija eritrocita 55 mm/h, C-reaktivni protein 25,8. Magnetno-rezonantni imidžing abdomena dokazuje sekundarne depozite u desnom režnju jetre i donjem polu slezine. Pozitronska emisiona tomografija registruje hladnu nekrozu u desnom režnju jetre i lobuliranu cističnu formaciju donjeg pola slezine. Nakon sprovedene radiološke dijagnostike, izvršena splenektomija i resekcija repa pankreasa. Patohistološki nalaz je dokazao primarni maligni fibrozni histiocitom slezine, odnosno nediferentovani pleomorfni sarkom slezine sa metastazama u jetri. Pola godine nakon pojave prvih simptoma i 10 nedelja nakon postavljanja specifične dijagnoze, pacijentkinja je primila tri serije hemoterapije do 2.10.2014.; dobrog je opšteg stanja. **Zaključak.** Kod dokazanih intraabdominalnih tumorskih masa uvek treba razmotriti i mogućnost pojave retkog primarnog malignog fibroznog histiocitoma slezine. Klinički i laboratorijski pokazatelji su nespecifični. Hirurška resekcija sa patohistološkom evaluacijom predstavlja najefikasniji dijagnostički i terapijski postupak.

**Cljučne reči:** Maligni fibrozni histiocitom; Slezina; Metastaze; Žensko; Srednje godine; Znaci i simptomi; Dijagnoza; MRI; PET-CT

#### Uvod

Maligni fibrozni histiocitom (MFH) je mekoti-kivni sarkom sa najčešćim ishodištem na mekim tkivima ekstremiteta (70%) i trupa i znatno ređom lokalizacijom u retroperitoneumu (16%), glavi i vratu [1]. Primarni MFH slezine veoma je retko stanje i u literaturi je opisano nekoliko slučajeva. Nakon što je Đovoni sa saradnicima 1982. godine opisao prvi slučaj primarnog MFH slezine, u periodu do 2011. godine registrovano je u literaturi 13 obolelih [1, 2]. Najveća studija o MFH uključila je 18 pacijenata

#### Summary

**Introduction.** Since the first description of primary splenic malignant fibrous histiocytoma given by Govoni et al. in 1982, there have been only 18 reported cases by the end of 2013. We herein reported a case of rare primary malignant fibrous histiocytoma of the spleen with liver metastases and unspecific general symptoms. **Case Report.** A 62-year-old cachectic female complained of sharp strong abdominal pain (on the pain scale 8/10) and distaste for food on admission at Primary Care Service on March 29, 2014. On physical examination, palpable painful 2 cm long tumefact in the left hypochondriac segment was found. Laboratory findings showed leukocytosis  $17.9 \times 10^9/l$ , erythrocyte sedimentation rate of 55 mm/h, C reactive protein 25.8. Magnetic resonance of abdomen proved secondary deposits in the right liver segment and lower pole of spleen. Positron emission tomography-computed tomography recorded a cold necrosis field in the right liver part and lobulated cystic formation of spleen. After radiological examination, splenectomy and resection of the pancreas cauda were performed. Primary malignant splenic fibrous histiocytoma with liver metastases was proved histopathologically. The patient was given three chemotherapeutic series until October 2, 2014 and she is now in good general condition. **Conclusion.** The possibility of primary malignant splenic fibrous histiocytoma should be considered in every case with proved intra-abdominal masses of unknown origin. Clinical and laboratory findings are unspecific. Surgical resection with histopathological evaluation is the most effective diagnostic and therapeutic procedure.

**Key words:** Histiocytoma, Malignant Fibrous; Spleen; Neoplasm Metastasis; Female; Middle Aged; Signs and Symptoms; Diagnosis; Magnetic Resonance Imaging; Positron Emission Tomography; Splenectomy

među kojima je primarni malignitet na slezini pokazao izuzetnu retkost [3]. Klinička slika ovog retkog i potencijalno letalnog stanja može proći bez simptoma ili dati veoma blage kliničke simptome tokom veoma dugog vremenskog perioda [4].

Maligni fibrozni histiocitom slezine predstavlja agresivno maligno oboljenje sa visokim rekurentnim potencijalom i čestim udaljenim metastazama [1, 2]. Zbog brze diseminacije procesa i slabog odgovora na primenjene hemoterapijske protokole, bolest u najvećem broju slučajeva pokazuje lošu prognozu [3]. Splenektomija može indukovati

**Skraćenice**

MFH	– maligni fibrozni histiocitom
CRP	– C reaktivni protein
MRI	– magnetno-rezonantni imidžing
CT	– kompjuterizovana tomografija
UZ	– ultrazvuk
PET	– pozitronska emisiona tomografija
HCV	– hepatitis C virus
HBsAg	– antigen hepatitisa B virusa
HIV	– virus humane insuficijencije

privremenu remisiju. Smrtni ishod je neizbežan jer je u pitanju maligna progresivna bolest sa infiltracijom jetre. Rano postavljanje dijagnoze pre diseminacije procesa pospešuje prognozu, produžava godine preživljavanja i utiče na kvalitet života bolesnika [4].

Prikazan je slučaj retkog primarnog MFH slezine sa metastazama na jetri i nespecifičnom opštom simptomatologijom uz evaluaciju toka bolesti, sprovedene dijagnostike i terapije.

**Prikaz slučaja**

Pacijentkinja, 62 godine, kahektične konstitucije, primljena na pregled u ambulantu primarne zdravstvene zaštite 29.3.2014. godine. Žalila se na jake oštre bolove u trbuhu (na skali bola 8/10) i gađenje na hranu; negirala je mučninu i povraćanje; stolice su bile uredne. U ličnoj anamnezi prisutni su dobro regulisana arterijska hipertenzija i hronični vazomotorni rinosinuzitis. Dve nedelje pred prijem dokazan je akutni bakterijski gastritis i započeta je eradikaciona terapija *Helicobacter pylori* infekcije.

Objektivno na prijemu postoji meteorističan abdomen, palpatorno bolno osetljiv u predelu levog hipohondrijuma. Neposredno ispod levog rebarnog luka palpabilan tumefakt, meke konzistencije, veličine do 2 cm, pokretan, bolan na dodir koji je diferencijalno-dijagnostički označen kao tumor kolona. Pacijentkinja se upućuje na laboratorijsku dijagnostiku i hirurški pregled.

U laboratorijskim nalazima dominira zapaljenski sindrom. Krvna slika pokazuje izrazitu leukocitozu (Le  $17,9 \times 10^9/l$ ) sa apsolutnom neutrofilijom (Neu  $15 \times 10^9/l$ ) i referentnim nalazom limfocita (Ly  $1,7 \times 10^9/l$ ). Sedimentacija eritrocita (SE) pokazuje vrednost 55 mm/h, C-reaktivni protein (CRP) 25,8. U biohemijskim analizama od značaja je niska feremija (Fe  $6,7 \mu\text{mol/l}$ ) uz uredne nalaze glukoze, enzima (transaminaze, gama glutamil transferaza – GGT, alkalna fosfataza – ALP) i metabolita (ukupni i direktni bilirubin, urea). Negativni su bili tumorski markeri (CA 19-9, CEA) i kasnija virusološka obrada (antigen hepatitisa B virusa (HBsAg), anti HCV, anti HIV).

Hirurškim pregledom indikovani su kolonoskopija, ezofagogastroduodenoskopija i magnetno-rezonantni imidžing (MRI) abdomena. Ezofagogastroduodenoskopski dobijen je nalaz hroničnog gastroduodenitisa; kolonoskopska evaluacija pokazuje u proksimalnom delu ekstraluminalno potisnut

sigmoidni kolon. MRI abdomena dokazuje prisustvo hipervaskularnih sekundarnih depozita u desnom režnju jetre i hipovaskularnu, nekrotičnu i hemoragičnu leziju u donjem polu slezine koja sa radiološkog aspekta odgovara sekundarnom depozitu. Ginekološki nalaz bio je uredan i infektolog je isključio postojanje infektivne bolesti.

Indikovano je dalje onkološko praćenje sa ciljem utvrđivanja ishodišta primarnog tumora. Rendgenski snimak srca i pluća pokazao je diskretno poširen levi hilus i senku zvezdastog oblika neposredno iznad hilusa. Anamnestički podatak da je pacijentkinja pušač unazad 20 godina ukazuje na potrebu da se izvrši dalja evaluacija promena na plućima. Kompjuterizovanom tomografijom (CT) grudnog koša ne detektuju se tumorske promene u grudnom košu, na plućima su vidljive početne fibrozne promene.

Načinjeni ultrazvuk (UZ) dojki i otorinolaringološki pregled bili su uredni. Hematolog isključuje primarni poremećaj hematopoeze i ukazuje na reaktivne/inflamatorne promene. Uzet patohistološki materijal putem UZ vođene biopsije jetre. Pregledani bioptički materijal pokazao promene koje odgovaraju hroničnom nespecifičnom hepatitisu.

Pozitronskom emisionom tomografijom (PET/CT) snimanjem od baze lobanje do sredine natkolennice dobijena su dva fokusa nakupljanja fluorodezoksi glukoze (FDG-a) sa centralnom hladnom nekrozom u desnom režnju jetre i lobuliranoj cističnoj formaciji donjeg pola slezine. Opisane promene difrencijalno-dijagnostički odgovaraju metabolički aktivnim sekundarnim depozitima ali se ni druga (inflamatorna/infektivna) etiologija ne može isključiti.

Nakon što su sa internističke strane iscrpljene sve mogućnosti dalje dijagnostike, predložena je hirurška eksplorativna procedura sa ciljem utvrđivanja specifične prirode promene na slezini. Izvršena je splenektomija sa resekcijom repa pankreasa, uzeti uzorci promena na jetri i urađena biopsija *ex tempore*.

Definitivan patohistološki nalaz pokazuje nediferentovani pleomorfni sarkom slezine (ranije maligni fibrozni histiocitom), urađena je imunohistochemija i isključen je limfom. Isečak tkiva jetre patohistološki imenovan kao metastatski nediferentovani pleomorfni sarkom (maligni fibrozni histiocitom). Postoperativno raden CT abdomena potvrđuje multiple sekundarne depozite oba režnja jetre, limfadenomegaliju i prisustvo mekotkivnih peritonealnih implantata. Onkološki konzilijum Instituta za onkologiju Vojvodine indikovao je četiri serije hemoterapije. Pacijentkinja je nakon primljene treće serije hemioterapeutika 2.10.2014. dobrog opšteg stanja i na trajnom je onkološkom praćenju i terapiji.

**Diskusija**

Primarni intraabdominalni maligni mezenhimni tumori su retki. Do kraja 2013. godine raspoloživa literatura predstavila je 18 slučajeva primarnog MFH slezine [5]. Grupa indijskih autora iz Nju Delhija opisuje slučaj najmlađeg registrovanog bolesnika, tride-



setogodišnjaka i ukazuje na nespecifičnu simptomatologiju kod obolelih – bol u gornjem delu trbuha i nadimanje koje perzistira 6 nedelja unazad [2]. Predstavljani slučaj iz Indije odgovara našim iskustvima gde na prijemu dominira oštar bol u gornjem delu stomaka, bez mučnine i povraćanja. Dokazan je akutni gastritis bakterijske etiologije kojem prethode dispeptične tegobe, i sprovedena eradikaciona terapija dve nedelje ranije. Nasuprot našim iskustvima, kod predstavljenog pacijenta iz Japana, pored bola u epigastrijumu, javlja se i profuzna dijareja [4].

Fizikalni nalaz kod bolesnika iz Nju Delhija pokazuje distendiran trbuh sa hepatosplenomegalijom i ascitom [2]. Blagu palpatornu osetljivost u levom hipohondrijumu bez palpabilnih intraabdominalnih masa nalazimo opisanu kod četrdesetosmogodišnje pacijentkinje iz Kine [1]. Objektivni nalaz na prijemu naše pacijentkinje delimično odgovara predstavljenim slučajevima. Palpatorna bolnost u levom hipohondrijumu je prisutna i palpira se mek tumefakt u projekciji descendentnog kolona.

Japanski stručnjaci navode trombocitopeniju kao rani pokazatelj i inicijalni faktor za postavljanje sumnje na MFH slezine [4]. Kod naše pacijentkinje vrednosti trombocita bile su uredne tokom čitavog preoperativnog toka. Nakon izvršene splenektomije registrovana je očekivana trombocitoza.

Uočena je varijabilnost u laboratorijskim pokazateljima kod obolelih. Izrazitu leukocitozu opisuju japanski autori (Le  $22 \times 10^9/l$ ) što je blisko i laboratorijskom nalazu u našoj studiji gde vrednost Le varira od  $17,9 \times 10^9/l$  do  $20,5 \times 10^9/l$  u preoperativnom periodu [4]. U najvećem broju opisanih slučajeva, pokazatelji bubrežne i jetrene funkcije, vrednosti elektrolita i glukoze u krvi i tumorski markeri bili su u referentnim granicama [2, 4]. Prikazane vrednosti u skladu su sa laboratorijskim nalazima naše pacijentkinje. U pojedinačnim slučajevima, u literaturi se opisuju pozitivne vrednosti HBsAg i anti-HCV kod obolelih gde je primarni malignitet lociran na jetri. Načinjena UZ vodena biopsija jetre u ovim slučajevima dokazala je prisustvo nekrotičnog tkiva [6]. Testiranja na virusne hepatitise i HIV u našem prikazanom slučaju dala su negativne rezultate, dok je uzorak dobijen UZ vođenom biosijom pokazao nespecifični hepatitis.

Preoperativna dijagnoza MFH slezine je teška jer je oboljenje veoma retko; klinički simptomi i imidžing dijagnostika su nespecifični [1]. Kineski autori prikazuju slučaj muškarca starog 35 godina

kod koga je dijagnoza postavljena nakon izvršene splenektomije i patohistološke evaluacije [7]. Postavljanje konačne i rane specifične dijagnoze tumora slezine i jetre moguće je samo hirurškom resekcijom [1–3, 5, 7, 8]. Kod naše bolesnice postavljanje konačne dijagnoze i patohistološka specifikacija tumora omogućena je nakon operativnog lečenja i izvršene splenektomije što je u skladu sa zaključcima ostalih autora.

Kod 37,5% od ukupnog broja prikazanih slučajeva MFH slezine prilikom inicijalne hirurške procedure postoje metastatske promene na jetri, želucu, pankreasu i/ili omentumu [1]. Pored sekundarnih depozita na jetri, naša pacijentkinja je imala i maligne promene na repu pankresa.

Prognostički pokazatelji u svim opisanim slučajevima obolevanja su loši i letalni ishod je neminovan. Smrtni ishod je kod tridesetogodišnjeg pacijenta iz Indije usledio 3 nedelje nakon izvršene splenektomije i postavljene dijagnoze [2]. *Exitus* je kod 35-godišnjeg muškarca iz Kine utvrđen 7 meseci nakon operacije kao posledica generalizovanih metastaza [7]. Japanski stručnjaci prikazuju 2 slučaja – 29-godišnju ženu i 60-godišnjeg muškarca kod kojih je period preživljavanja bio dve godine [9]. Nasuprot ovim prikazima, 69-godišnji Kinez sa primarnim MFH slezine na onkološkom je praćenju 3,5 godina nakon primenjene hemoterapije [3]. U našem slučaju nakon primenjene treće hemoterapijske kure 2.10.2014. godine pacijentkinja je zadovoljavajuće odreagovala, dobrog je opšteg stanja, bez tegoba. Pola godine nakon pojave prvih simptoma i 10 nedelja nakon postavljanja specifične dijagnoze u toku je praćenje koje realizuje onkološki konzilijum sa ciljem daljeg terapijskog zbrinjavanja metastaza na jetri.

## Zaključak

Kod dokazanih intraabdominalnih tumorskih masa uvek treba razmotriti i mogućnost pojave retkog primarnog malignog fibroznog histiocitoma slezine. Klinički i laboratorijski pokazatelji su nespecifični. Hirurška resekcija sa patohistološkom evaluacijom predstavlja najefikasniji dijagnostički i terapijski postupak. Period preživljavanja i kvalitet života obolelog varijabilan je i zavisi od kvaliteta imunoodgovora i reagovanja na primenjene hemioterapeutike.

## Literatura

1. Feng JF, Liu H, Liu J. Malignant fibrous histiocytoma of the spleen accompanying with hepatic cyst: report of a case and review of the literature. *J Res Med Sci.* 2011;16(7):963-7.
2. Das A, Arya SV, Soni N, Gowda GG, Kalwaniya DS. A rare presentation of hepatic and splenic cystic malignant fibrous histiocytoma: a case report and literature review. *Int J Surg Case Rep.* 2013;4(1):139-41.
3. Yamamoto Y, Hiasa Y, Hirooka M, Koizumi Y, Takeji S, Tokumoto Y, et al. Complete Response of a patient with advanced primary splenic histiocytic sarcoma by treatment with che-

- motherapeutic drugs selected using the collagen gel droplet-embedded culture drug sensitivity test. *Intern Med.* 2012;51:2893-7.
4. Kobayashi S, Kimura F, Hama Y, Ogura K, Torikai H, Kobayashi A, et al. Histiocytic sarcoma of the spleen: case report of asymptomatic onset of thrombocytopenia and complex imaging features. *Int J Hematol.* 2008;87:83-7.
5. Rakić M, Pogorelić Z, Lambasa S, Patrlj L, Perko Z, Rakić M, et al. Primary malignant fibrous histiocytoma of the spleen: recurrence eight years after splenectomy: report of a case and literature review. *Coll Antropol.* 2013;37(3):1007-10.

6. Yao D, Dai C. Clinical characteristics of the primary hepatic malignant fibrous histiocytoma in China: case report and review of the literature. *World J Surg Oncol.* 2012;10:2.

7. He L, Zhang H, Li H, Zhou J, Dong M. Primary malignant fibrous histiocytoma of the spleen with spontaneous rupture: a case report and literature review. *Med Oncol.* 2011; 28(1):397-400.

8. Dawson L, Gupta O, Garg K. Malignant fibrous histiocytoma of the spleen: an extremely rare entity. *J Cancer Res Ther.* 2012;8(1):117-9.

9. Kimura H, Nasu K, Sakai C, Shiga Y, Miyamoto E, Shintaku M, et al. Histiocytic sarcoma of the spleen associated with hypoalbuminemia, hypo gamma-globulinemia and thrombocytopenia as a possibly unique clinical entity: report of three cases. *Leuk Lymphoma.* 1997;31:217-24.

Rad je primljen 14. X 2014.

Recenziran 24. XI 2014

Prihvaćen za štampu 25. XI 2014.

BIBLID.0025-8105:(2014):LXVII:(Suppl 2):14-17.

Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Novi Sad, Srbija<sup>1</sup>  
Klinički centar Vojvodine, Klinika za infektivne bolesti<sup>2</sup>

UDK 616.98:578.528]-085-053.9  
DOI: 10.2298/MPNS14S2018K

## PREDIKTORI LOŠEG TERAPIJSKOG ODGOVORA NA METRONIDAZOL U LEČENJU *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* INFEKCIJE KOD BOLESNIKA STARIJEG ŽIVOTNOG DOBA

*PREDICTORS ASSOCIATED WITH FAILURE OF METRONIDAZOLE IN TREATMENT OF CLOSTRIDIUM DIFFICILE INFECTION IN THE ELDERLY*

Nadica KOVAČEVIĆ, Grozdana ČANAK, Tomislav PREVEDEN,  
Slavica TOMIĆ, Vedrana PETRIĆ i Miloš VUJANOVIĆ

### Sažetak

**Uvod.** Infekcije koje uzrokuje *Clostridium difficile* najčešća su forma nozokomijalnih dijareja. Aktuelni terapijski modaliteti su metronidazol i vankomicin. Novija istraživanja ukazuju na porast lošeg terapijskog odgovora na metronidazol, posebno kod osoba starijeg životnog doba. Cilj rada bio je utvrđivanje efikasnosti metronidazola u terapiji infekcije klostridijom (*Clostridium difficile*) i prediktora za loš terapijski odgovor na metronidazol kod bolesnika starosnog doba  $\geq 65$  godina. **Materijal i metode.** Istraživanje predstavlja retrospektivnu studiju sprovedenu na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine u periodu od januara 2011. do januara 2014. godine. Studijom je obuhvaćeno 112 bolesnika, starosnog doba  $\geq 65$  godina koji su u terapiji infekcije primali metronidazol tablete 400 mg na svakih 8 sati u trajanju od 10 dana. Efikasnost terapijskog režima određivana je u odnosu na regresiju dijareje i pojavu relapsa. Period praćenja bio je 60 dana od završene terapije. **Rezultati.** Uspešan terapijski odgovor u regresiji dijareje imalo je 78/112 (69,65%) bolesnika. Nakon uspešno završene terapije relaps se javio kod 28/78 (36,60%) bolesnika. Prediktori lošeg terapijskog odgovora na metronidazol su: trajanje dijareje pre uvođenja terapije, leukocitoza  $> 15\ 000/\text{mm}^3$ , hipoalbuminemija  $\leq 25$  g/l, kreatinin  $\geq 200$   $\mu\text{mol/l}$ , porast C-reaktivnog proteina, konkomitantna primena antibiotika i imunosupresiva. **Zaključak.** Prisustvo prediktora za loš terapijski odgovor na metronidazol opravdava primenu oralnog vankomicina u inicijalnom lečenju infekcije klostridijom *difficile* (*Clostridium difficile*).

**Ključne reči:** Metronidazol; *Clostridium difficile*; Infekcije-klostridijom; Stari ljudi; Stari ljudi, 80 i više godina; Ishod lečenja; Dijareja; Relaps

### Uvod

Infekcije koje izaziva *Clostridium difficile* (CDI) uzrokuju širok spektar različitih stanja koja variraju od asimptomatske kolonizacije do fulminantnih kolitisa. Ta oboljenja danas predstavljaju najčešću formu nozokomijalnih dijareja [1–4]. Ozbiljnost i učestalost CDI je rapidno porasla u po-

### Summary

**Introduction.** *Clostridium difficile* is the most common infectious cause of nosocomial diarrhea. Recommended treatments for *Clostridium difficile* infection include metronidazole and vancomycin. Recent investigation has shown an increasing rate of metronidazole treatment failure, particularly among the elderly. The authors studied the outcome of metronidazole therapy for *Clostridium difficile* infection in patients over 65 years of age and risk factors associated with metronidazole treatment failure.

**Material and Methods.** This retrospective study was performed at the Department of Infectious Diseases, Clinical Center of Vojvodina from January 2011 to January 2014. The study sample included 112 patients, over 65 years of age, diagnosed with *Clostridium difficile* infection, who were treated with oral metronidazole 400 mg 3 times per day for 10 days. The efficacy of treatment regimen was assessed by resolution of diarrhea and rates of recurrence within 60 days after completion of therapy.

**Results.** Metronidazole was administered to 112 patients over 65 years of age. Treatment with metronidazole resulted in resolution of diarrhea in 78 patients (69.65%). After successful metronidazole treatment, clinical symptoms of *Clostridium difficile* infection recurred in 28 the patients (36.60%). Risk factors for metronidazole treatment failure are duration of diarrhea before treatment, leucocytosis  $>15\ 000/\text{mm}^3$ , albumin level  $\leq 25$  g/l, serum creatinine level  $\geq 200$   $\mu\text{mol/l}$ , increased C-reactive protein, and concomitant administration of antibiotic and immunosuppressives. **Conclusion.** Our data suggest that patients with predictors of metronidazole treatment failure may benefit from initial oral vancomycin therapy for *Clostridium difficile* infection.

**Key words:** Metronidazole; *Clostridium difficile*; *Clostridium* Infections; Aged; Aged, 80 and over; Treatment Outcome; Diarrhea; Recurrence

slednje dve decenije pre svega u populaciji bolesnika preko 65 godina. Tome doprinose činjenice da je većina osoba ove starosne kategorije imunokompromitovana sa većim brojem težih komorbiditetnih stanja, a crevna mikroflora bifidobakterija, koja se smatra protektivnom, prirodno opada u starijim godinama. Klinički i epidemiološki značaj CDI u starijoj populaciji danas se ogleda u sve češćoj poja-

**Skraćenice**

CDI	– <i>Clostridium difficile</i> infekcija
ELISA	– imunoenzimski esej
MIC	– minimalne inhibitorne koncentracije

vi rekurentnih oblika bolesti, lošijem odgovoru na terapiju, porastu broja komplikacija i stope mortaliteta [5, 6]. Aktuelne terapijske režime u lečenju CDI predstavljaju metronidazol i vankomicin. Doze oralno primenjenog metronidazola su prema vodećim preporukama Američkog gastroenterološkog društva 250–500 mg 3–4 puta dnevno, u toku 7–14 dana. Glavna prednost metronidazola nad vankomicinom je njegova niska cena. Ukoliko se uzme u obzir ekonomski aspekt terapije metronidazolom kao i činjenica da primena vankomicina nosi opasnosti od razvoja enterokoka rezistentnih na vankomicin, metronidazol se smatra prvom terapijskom linijom u lečenju CDI [3]. Starije kliničke studije su pokazale vrlo dobar inicijalni odgovor kod oko 95% bolesnika lečenih metronidazolom [7, 8]. Novije studije ipak registruju porast broja bolesnika kod kojih klinički odgovor na terapiju metronidazolom nije zadovoljavajući [9–12]. Manja efikasnost se ogleda u sporijoj regresiji dijareje kao i u češćoj pojavi relapsa. Smatra se da lošijem terapijskom odgovoru na metronidazol u najvećoj meri doprinose određeni faktori rizika kod domaćina, a manje je verovatno da je loš terapijski odgovor uslovljen razvojem rezistencije na metronidazol [11–15].

Ciljevi istraživanja su bili utvrđivanje terapijske efikasnosti metronidazola u lečenju bolesnika sa CDI starosnog doba  $\geq 65$  godina i određivanje prediktora za loš terapijski odgovor na metronidazol.

**Materijal i metode**

Istraživanje je sprovedeno kao retrospektivna studija kojom je obuhvaćeno 122 bolesnika sa CDI lečenih na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu, u periodu od januara 2011. do januara 2014. godine.

Infekcija klostridijom podrazumeva pojavu dijareje (podrazumeva  $\geq 3$  neformirane stolice tokom 24 časa) u trajanju od najmanje 2 uzastopna dana, sa laboratorijski dokazanim prisustvom *Clostridium difficile* toksina u stolici. Kriterijumi za uključivanje u studiju bili su: starost bolesnika  $\geq 65$  godina, pojava kliničkih znakova i simptoma enterokolitisa i laboratorijski dokazano prisustvo toksina *Clostridium difficile* u stolici. Kriterijumi za isključivanje iz studije bili su: mikrobiološki dokazano prisustvo drugog infektivnog agensa u crevima i endoskopski dokazano oboljenje creva koje nije u vezi sa CDI. Bolesnici su u terapiji CDI dobijali metronidazol tablete 400 mg na svakih 8 sati u trajanju od 10 dana. Na osnovu podataka iz istorije bolesti na prijemu dobijene su informacije o glavnim demografskim podacima, simptomima oboljenja (dužina trajanja proliva u danima do momenta uvođenja terapije, najveći broj stolica za 24 časa,

visina telesne temperature), laboratorijskim nalazima krvi (broj leukocita, vrednosti C-reaktivnog proteina, vrednosti albumina i kreatinina) i mikrobiološkim pregledima stolice. Identifikacija toksina *Clostridium difficile* u stolici je rađena imunoenzimskim testom – ELISA (RIDASCREEN *Clostridium difficile* Toxin A/B (C0801), R-Biopharm AG, Germany). Bakterijske kulture uzoraka stolice na *Salmonelle*, *Shigele* i *Campylobacter species* i pregledi stolice na jaja parazita i ciste protozoa rađeni su sa ciljem isključivanja drugih uzročnika dijareje.

Tokom primene terapije kod bolesnika je svakodnevno praćen broj stolica kako bi se utvrdio prvi dan kada dijareja prestaje, a sa ciljem praćenja pojave relapsa, bolesnici su kontrolisani 20, 30. i 60. dana od završene terapije. U slučaju sumnje na pojavu relapsa ponovo je rađen pregled stolice na prisustvo *Clostridium difficile* toksina. Terapijska efikasnost metronidazola je određivana u odnosu na regresiju dijareje i u odnosu na pojavu relapsa CDI. U odnosu na regresiju dijareje, terapija se smatrala uspešnom ukoliko je broj stolica normalizovan u prvih 5 dana od uvođenja terapije (definiše se kao pojava  $\leq 2$  stolice za 24 časa u trajanju od najmanje dva uzastopna dana). Terapijski ishod se označavao neuspešnim ukoliko je učestalost stolica  $\geq 3$  perzistirala i posle 5. dana od uvođenja terapije. U odnosu na pojavu relapsa CDI, efikasnost terapijskih protokola se označavala kao stabilan klinički odgovor – ukoliko se nakon uspešno završene terapije nisu javili znaci relapsa bolesti, a relaps je označavao novu pojavu dijareje nakon uspešno završene terapije prve epizode CDI u periodu od 60 dana sa ponovo pozitivnim nalazom toksina *Clostridium difficile* u stolici.

Prikupljeni podaci su grupisani i uneti u kompjutersku bazu podataka. Statistička obrada podataka izvršena je statističkim paketom i programom SPSS 17.0. Od osnovnih deskriptivnih statističkih parametara korišćene su standardne statističke metode za kvalitativnu i kvantitativnu procenu dobijenih rezultata: apsolutni (n) brojevi, relativni brojevi (%), aritmetička sredina ( $\bar{X}$ ), standardna devijacija (SD), intervalne vrednosti (max. i min.). Za procenu statističke značajnosti razlika dobijenih rezultata korišćeni su:  $\chi^2$ -test, t-test, Fisherov test. Za sve testove statističke značajnosti nivo poverenja iznosio je 0,05. Rezultati su prikazani tabelarno i grafički uz tekstualni komentar.

**Rezultati**

Studijom je obuhvaćeno ukupno 112 bolesnika koji su u terapiji CDI lečeni metronidazolom.

**Terapijski ishod** – Terapija metronidazolom bila je uspešna kod 78/112 (69,65%) bolesnika dok je neuspešan terapijski ishod imalo 34/112 (30,35%) bolesnika. Nakon uspešno završene terapije metronidazolom, relaps je dobilo 28/78 (36,60%) bolesnika, dok je stabilan klinički odgovor zabeležen kod 50/78 (63,39%) bolesnika.

### Faktori udruženi sa terapijskim neuspehom kod bolesnika lečenih metronidazolom

Analizom uticaja potencijalnih faktora rizika na uspešnost terapije metronidazolom nije nađena statistički značajna razlika u uticaju pola na ishod lečenja CDI ovim terapijskim režimom.

### Uticaj kliničkih parametara na uspešnost terapije metronidazolom

Klinički parametri u vidu najvećeg broja stolica za 24 časa i visine telesne temperature nisu statistički značajno uticali na uspešnost terapije metronidazolom ali je značajan uticaj na terapijski ishod imalo trajanje dijareje pre uvođenja terapije (Tabela 1). Kod bolesnika koji su uspešno izlečeni metronidazolom dijareja je pre početka terapije prosečno trajala ( $\bar{X}$ ) = 10,28 ( $\pm$  5,34 SD) dana, a kod bolesnika sa neuspešnim terapijskim ishodom ( $\bar{X}$ ) = 16,48 ( $\pm$  8,65 SD) dana. Razlika je statistički značajna ( $t = 3,86$ ,  $p < 0,01$ ).

### Uticaj laboratorijskih parametara na uspešnost terapije metronidazolom

Terapija metronidazolom se pokazala neuspešnom kod 27/34 (70,58%) bolesnika sa vrednostima leukocita  $> 15\ 000/\text{mm}^3$ , a kod 18/78 (23,07%) bolesnika bila je uspešna što je imalo statistički značajnu razliku (Fišerov test = 22,8,  $p < 0,01$ ). Hipalbuminemija  $\leq 25\ \text{g/l}$  je takođe statistički značajno uticala na terapijski ishod kod bolesnika lečenih metronidazolom. Kod 22/34 (64,70%) bolesnika sa ovim vrednostima albumina terapija je bila neuspešna, a 30/78 (38,46%) bolesnika je imalo uspešan terapijski ishod što rezultira statistički značajnom razlikom (Fišerov test = 22,59,  $p < 0,05$ ). I vrednosti C-reaktivnog proteina su statistički značajno uticale na uspešnost lečenja metro-

nidazolom. Srednja vrednost C-reaktivnog proteina kod bolesnika koji su uspešno izlečeni iznosila je ( $\bar{X}$ ) = 92,64  $\mu\text{g/l}$  ( $\pm$  58,771 SD), a neuspeh terapije je registrovan kod srednjih vrednosti C-reaktivnog proteina ( $\bar{X}$ ) = 191,94  $\mu\text{g/l}$  ( $\pm$  84,374 SD). Razlika je statistički značajna ( $t = 6,23$   $p < 0,01$ ).

### Uticaj konkomitantne primene pojedinih medikamentata na uspešnost terapije metronidazolom

Konkomitantna primena antibiotika sa ciljem lečenja prisutnih komorbiditetnih stanja, tokom terapije CDI metronidazolom rezultirala je neuspešnim terapijskim ishodom kod 15/34 (44,11%) bolesnika dok je uspešno izlečeno svega 7/78 (8,97%) bolesnika što je statistički značajno (Fišerov test = 23,67,  $p < 0,01$ ). Konkomitantna primena imunosupresiva kod bolesnika lečenih metronidazolom rezultirala je neuspešnim terapijskim ishodom kod 6/34 (17,64%) bolesnika, a uspešno je izlečeno 4/78 (5,12%) bolesnika što je statistički značajna razlika (Fišerov test = 4,56,  $p = 0,01$ ). Konkomitantna primena antacida nije imala statistički značajan uticaj na uspešnost terapije metronidazolom.

### Diskusija

Poslednju deceniju CDI predstavlja jednu od najznačajnijih nozokomijalnih infekcija širom sveta [1–4, 6, 10, 12]. Najnovija istraživanja ukazuju na zabrinjavajući porast morbiditeta sa ozbiljnim komplikacijama bolesti i porastom mortaliteta, posebno kod osoba starijeg životnog doba. Za ovakav trend su delom odgovorni smanjena funkcija imunosistema, smanjenje aciditeta želudačnog soka, pad protektivne funkcije bifidobakterija u crevnom traktu, učestalija ekspozicija ovom uzročniku zbog ponavljanih hospitalizacija i multipla komorbiditetna stanja [4, 6,

**Tabela 1.** Karakteristike bolesnika lečenih metronidazolom i terapijski ishod

**Table 1.** Characteristics of patients treated with metronidazole and treatment outcomes

Karakteristike Characteristics	Uspešna terapija Successful treatment n – 78	Neuspešna terapija Treatment failure n – 34	p
Pol (muški : ženski)/Gender (male : female)	70% : 42%	69% : 63%	0,5
Broj stolica $\geq 10 / 24\ \text{h}$ /No. of bowel movements $\geq 10 / 24\ \text{h}$	44,87%	38,23%	0,074
Temperatura $\geq 38^\circ\ \text{C}$ /Temperature $\geq 38^\circ\ \text{C}$	32,05%	29,41%	0,068
Albumini $< 25\ \text{g/l}$ /Albumin level $< 25\ \text{g/l}$	38,46%	64,70%	0,042
Leukocitoza $\geq 15\ 000/\text{mm}^3$ /Leukocytosis $\geq 15000/\text{mm}^3$	23,07%	70,58%	0,007
Kreatinin $\geq 200\ \mu\text{g/l}$ /Serum creatinine level $\geq 200\ \mu\text{g/l}$	19,41%	26,47%	0,071
C-reaktivni protein/C-reactive protein ( $\bar{X}$ ) $\mu\text{g/l} \pm \text{SD}$	92,64 $\pm$ 58,7 SD	191,94 $\pm$ 84,3 SD	0,005
Konkomitantna primena antibiotika Concomitant administration of antibiotics	8,97%	44,11%	0,006
Konkomitantna primena antacida Concomitant administration of antacide	23,07%	17,64%	0,23
Konkomitantna primena imunosupresiva Concomitant administration of immunosuppressives	5,12%	17,64%	0,01
Trajanje dijareje pre početka terapije ( $\bar{X}$ ) dani Duration of diarrhea before treatment ( $\bar{X}$ ) days $\pm$ SD	10,28 $\pm$ 5,34 SD	16,47 $\pm$ 8,65 SD	0,008

14–16]. U većini razvijenih zemalja širom sveta poslednjih godina i finansijski uticaj nozokomijalne CDI postaje sve značajniji. Prosečna dužina hospitalizacije kod bolesnika sa ovom intrahospitalnom infekcijom produžava se što značajno utiče na ukupne troškove lečenja [17]. U istraživanjima rađenim devedesetih godina prošlog veka, Tisli (Teasley) i saradnici su uspešan terapijski odgovor postigli kod 95% bolesnika lečenih metronidazolom, a prosečno vreme za regresiju dijareje je iznosilo  $3,1 \pm 2,4$  dana [8]. Vilkoš (Wilcox) i Hau (Howe) postigli su terapijski uspeh kod svih bolesnika lečenih metronidazolom ali je prosečno vreme regresije dijareje bilo duže  $4,9 \pm 4,3$  dana [18]. Tokom pojave novog epidemijskog soja *Clostridium difficile* (NAP 1/027), nedovoljna terapijska efikasnost metronidazola u studijama je porasla sa manje od 10% u 2003. godini na 20–40% u periodu 2005–2006. godine [7, 19, 20, 21]. Navedeni rezultati nametnuli su jedno važno ali teško pitanje – da li i kada izostaviti metronidazol kao prvu terapijsku liniju.

Našim istraživanjem obuhvaćeno je 122 bolesnika starosti  $\geq 65$  godina koji su terapiji inicijalne CDI lečeni peroralnim metronidazolom. Terapija se pokazala uspešnom kod 69,64% bolesnika dok je neuspešan terapijski ishod imalo 30,35% bolesnika. Slično našem istraživanju, Belmares je 2007. godine naveo da je terapija metronidazolom efikasna kod 70,6% bolesnika, a terapijski neuspeh je zabeležen kod 29,4% bolesnika sa CDI, prosečne starosti 69,9 godina [11]. Prema istraživanju Zara i saradnika lakšeg kliničkog oblika CDI uspešan terapijski odgovor u regresiji dijareje imalo je 90% bolesnika lečenih metronidazolom dok se kod bolesnika sa težim oblikom CDI terapijski uspeh u regresiji dijareje nakon lečenja ovim medikamentom postigao kod svega 76% bolesnika [9]. Jung i saradnici su 2010. godine analizom terapijske efikasnosti kod 111 bolesnika lečenih metronidazolom uspešan klinički odgovor dobili kod 87,4% bolesnika, a 12,6% bolesnika bilo je refrakterni na ovu terapiju [12]. Studijom Al-Nasira i saradnika dokazano je da primena vankomicina rezultuje bržom regresijom dijareje u odnosu na metronidazol ali su autori preporučili da zbog sporijeg kliničkog i mikrobiološkog odgovora na metronidazol procenu terapijske efikasnosti treba vršiti posle šestog dana terapije [22]. Suboptimalni odgovor na terapiju metronidazolom kod nekih bolesnika najverovatnije je uslovljen širokom varijabilnošću koncentracije metronidazola intrakolonarno ( $X = 9,3 \pm 7,5$  ug/g, min. – 0,8 ug/l, max. – 24,2 ug/l) [23]. Čak i blaži porast MIC metronidazola za *Clostridium difficile* rezultuje insuficijentnom fekalnom koncentracijom antibiotika potrebnom da inhibiše vegetativne uzročnike. Farmakokinetička i farmakodinamička svojstva metronidazola se stoga i dalje smatraju odgovornim za terapijski neuspeh metronidazola kod bolesnika sa CDI [23]. Međutim, publikovane studije pokazuju da na nepovoljan terapijski odgovor mogu

uticati i neki faktori rizika kod domaćina [9, 12, 24, 25]. Laboratorijsku sliku CDI često karakteriše hipoalbuminemija. Toksin A *Clostridium difficile* povećava vaskularni i mukozni permeabilitet intestinalnog trakta što rezultuje intraluminalnom akumulacijom tečnosti bogate serumskim albuminima. Niske vrednosti albumina su marker dugotrajnijih pridruženih hroničnih oboljenja, lošeg nutritivnog statusa i loše imunofunkcije domaćina te samim tim i nedovoljne produkcije antitoksičnih IgA antitela na toksine *Clostridium difficile* [26]. U populaciji naših bolesnika, hipoalbuminemija  $< 25$  g/l bila je statistički značajan prediktor lošeg odgovora na metronidazol. Neuspešan terapijski ishod zabeležen je kod 64,71% bolesnika sa hipoalbuminemijom i 35,29% bolesnika sa normalnim vrednostima serumskih albumina ( $p < 0,01$ ). I drugi autori nalaze značaj hipoalbuminemije za terapijski ishod CDI koristeći različite granične vrednosti albumina u serumu [9, 26, 27]. Neke publikovane studije ipak ne potvrđuju statistički značajan uticaj hipoalbuminemije na ishod terapije metronidazolom kod bolesnika sa CDI [11, 12, 22]. Laboratorijsku sliku bolesnika sa lošim terapijskim odgovorom na metronidazol, karakteriše i leukocitoza  $\geq 15\ 000/\text{mm}^3$ . Naše istraživanje je pokazalo da je neuspeh tokom lečenja metronidazolom registrovan kod 70,58% bolesnika sa leukocitozom  $\geq 15\ 000/\text{mm}^3$ , a uspešan terapijski ishod kod 23,07% pacijenata ( $p < 0,01$ ). Slično našim rezultatima i drugi autori su došli do sličnih zaključaka [3, 21]. C-reaktivni protein je u našem istraživanju takođe bio statistički značajan prediktor lošeg odgovora na terapiju CDI metronidazolom. Srednja vrednost ovog markera kod bolesnika sa uspešnim i neuspešnim terapijskim ishodom bila je  $X = 92,64 (\pm 58,77)$  ug/l vs  $X = 191,94 (\pm 84,37)$  ug/l ( $p < 0,01$ ). U dostupnim podacima iz literature do sada nije ispitivan direktan uticaj vrednosti C-reaktivnog proteina na ishod terapije metronidazolom ali su objavljeni rezultati istraživanja u kojima je ovaj marker inflamatornog odgovora bio statistički značajan prediktor za razvoj težih oblika CDI [28, 29].

Publikovani podaci pokazuju da konkomitantna primena nekih medikamenata takođe može biti značajan faktor rizika za uspešnost terapije metronidazolom. Konkomitantna primena antibiotika tokom lečenja CDI metronidazolom u našoj studiji je rezultirala terapijskim neuspehom kod 44,11% bolesnika dok je uspešno izlečeno svega 8,97% ( $p < 0,01$ ). Slično našim rezultatima i Modena je dokazao da konkomitantna primena antibiotika tokom terapije CDI statistički značajno utiče na uspešnost terapije metronidazolom. Terapijski uspeh je u istraživanju ovog autora postignut kod 59% bolesnika, a 41% je imalo nepovoljan terapijski ishod ( $p = 0,02$ ) [23]. Publikovane studije drugih autora takođe potvrđuju zaključak da je konkomitantna primena antibiotika nezavisno od terapije za CDI udružena sa nepovoljnim terapijskim odgovorom na metronidazol [24, 25, 30].

Loš terapijski ishod kod ovih bolesnika se objašnjava činjenicom da se u regresiji inflamatornih promena na sluznici kolona, metronidazol u tankom crevu skoro kompletno resorbira u sistemsku cirkulaciju bez naknadne sekrecije u kolon. Odsustvo metronidazola u kolonu sprečava eliminaciju *Clostridium difficile*, a istovremeno dodatna primena konkomitantnih antibiotika ne dozvoljava repopulaciju normalne zaštitne bakterijske flore kolona [23, 27, 28, 31]. Konkomitantna imunosupresivna terapija tokom primene metronidazola je u našem istraživanju u 17,64% slučajeva dovela do nepovoljnog terapijskog ishoda, a kod samo 5,12% bolesnika terapijski ishod bio je uspešan ( $p = 0,01$ ). Usled konkomitantne primene imunosupresiva za stanja koja nisu u vezi sa CDI dodatno se suprimira ionako smanjen imuno-

govor u starijem životnom dobu što omogućava perzistenciju *Clostridium difficile*.

### Zaključak

Loš terapijski odgovor na metronidazol u lečenju infekcije klostridijom (*Clostridium difficile*) kod bolesnika starijeg životnog doba uslovljen je prisustvom faktora rizika. Prediktore za loš terapijski odgovor na metronidazol predstavljaju: leukocitoza  $> 15\ 000/\text{mm}^3$ , hipalbuminemija  $\leq 25\ \text{g/l}$ , kreatinin  $\geq 200\ \mu\text{mol/l}$ , porast C-reaktivnog proteina, konkomitantna primena antibiotika i imunosupresiva. Prisustvo ovih prediktora kod bolesnika opravdava primenu oralnog vankomicina u inicijalnom lečenju infekcije klostridijom.

### Literatura

- Dupont HI. Diagnosis and management of *Clostridium difficile* infection. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013;11(10):1216-23.
- Tattevin P, Buffet-Bataillon S, Donnio PY, Revest M, Michelet C. *Clostridium difficile* infections: do we know the real dimensions of the problem? *Int J Antimicrob Agents*. 2013;42:36-40.
- Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infections in adults: 2010 update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and Infectious Disease Society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2010;31(5):431-55.
- Lo Vecchio A, Zacur GM. *Clostridium difficile* infection: an update on epidemiology, risk factors and therapeutic options. *Curr Opin Gastroenterol*. 2012;28:1-9.
- Yakob L, Riley VT, Paterson LD, Clements A. *Clostridium difficile* exposure as an insidious source of infection in healthcare settings: an epidemiological model. *BMC Infect Dis*. 2013;13:1-8.
- Rea MC, O'Sullivan O, Shanahan F, O'Toole PW, Stanton C, Ross RP, et al. *Clostridium difficile* carriage in elderly subjects and associated changes in the intestinal microbiota. *J Clin Microbiol*. 2012;50(3):867-75.
- Wenisch C, Parschak B, Hasenhundl M, Hirschl AM, Graninger W. Comparison of vancomycin, teicoplanin, metronidazole, and fusidic acid for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis*. 1996;22:813-8.
- Teasley DG, Gerding DN, Olson MM, Peterson LR, Gerhard RL, Schwartz MJ, et al. Prospective randomised trial of metronidazole versus vancomycin for *Clostridium difficile*-associated diarrhoea and colitis. *Lancet*. 1983;322:1043-6.
- Zar FA, Bakkanagari SR, Moorthi KM, Davis MB. A comparison of vancomycin and metronidazole for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea, stratified by disease severity. *Clin Infect Dis*. 2007;45:302-7.
- Kovačević N. Terapijski pristup enterokolitisu uzrokovanom bakterijom *Clostridium difficile*. [Doktorska disertacija]. Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu; 2012.
- Belmares J, Gerding DN, Parada JP, Miskevics S, Weaver F, Johnson S. Outcome of metronidazole therapy for *Clostridium difficile* disease and correlation with a scoring system. *J Infect*. 2007;55:495-501.
- Jung KS, Park JJ, Chon YE, Jung ES, Lee HJ, Jang HW, et al. Risk factors for treatment failure and recurrence after metronidazole treatment for *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Gut Liver*. 2010;4:332-7.
- Huang H, Weintraub A, Fang H, Nord CE. Antimicrobial resistance in *Clostridium difficile*. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;34:516-22.
- Moshkowitz M, Ben-Baruch E, Kline Z, Shimoni Z, Niven M, et al. Risk factors for severity and relapse of pseudomembranous colitis in an elderly population. *Colorectal Dis*. 2007;9:173-7.
- Khanna S, Pardi DS. IBD: Poor outcomes after *Clostridium difficile* infection in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012;9(6):307-8.
- Doder R, Kovačević N, Munčan D, Potkonjak A, Tomašev B, Ružić M. Ishod lečenja enterokolitisa koji izaziva *Clostridium difficile* primenom antibiotika uz probiotik. *Med Pregl*. 2013;64(5-6):209-13.
- Stefan-Mikić S, Petrić V, Sević S, Hrnjaković-Cvjetković I, Milošević V, Jelesić Z. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in the Clinical Center of Vojvodina, Serbia, in period from 2008 to 2012. *Arch Biol Sci*. 2014;66(1):57-64.
- Wilcox MH, Howe R. Diarrhoea caused by *Clostridium difficile*: response time for treatment with metronidazole and vancomycin. *J Antimicrob Chemother*. 1995;36:673-9.
- Deneve C, Janoir C, Poilane I, Fantinato C, Collignon A. New trends in *Clostridium difficile* virulence and pathogenesis. *Int J Antimicrob Agents*. 2009;33:24-8.
- Kuijper EJ, Coignard B, Brazier JS, Suetens C, Drudy D, Wiuff C et al. Update of *Clostridium difficile*-associated disease due to PCR ribotype 027 in Europe. *Euro Surveill*. 2007;12:1-2.
- McFarland DV. Update on the changing epidemiology of *Clostridium difficile*-associated disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*. 2008;5:40-8.
- Al-Nassir WN, Sethi AK, Riggs MM, Bobulsky GS, Jump RLP, Donskey CJ. A comparison of clinical and microbiologic response to treatment of *Clostridium difficile*-associated disease with metronidazole and vancomycin. *Clin Infect Dis*. 2008;47:56-62.
- Modena S, Gollamudi S, Friedenberg F. Continuation of antibiotics is associated with failure of metronidazole for *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J Clin Gastroenterol*. 2006;40:49-54.

24. Verma P, Makharia GK. Clostridium difficile associated diarrhea: new rules for an old game. Trop Gastroenterol. 2011;32(1):15-24.

25. Lungulescu OA, Cao W, Gatskevich E, Thabano L, Stratidis JG. CSI: a severity index for Clostridium difficile infection at the time of admission. J Hosp Infect. 2011;79:151-4.

26. Chopra T, Alangaden GJ, Chadrasekar P. Clostridium difficile infection in cancer patients and hematopoietic stem cell transplant recipients. Expert Rev Anti Infect Ther. 2010;8(10):1113-9.

27. Musher DM, Logan N, Mehendiratta V, Melgarejo NA, Garud S, Hamill RJ. Clostridium difficile colitis that fails conventional metronidazole therapy: response to nitazoxanide. J Antimicrob Chemother. 2007;59:705-10.

Rad je primljen 14. X 2014.

Recenziran 24. XI 2014

Prihvaćen za štampu 25. XI 2014.

BIBLID.0025-8105:(2014):LXVII:(Suppl 2):18-23.

28. Owens R, Curtis J, Donskey J, Gaynes R, Loo V, Muto C. Antimicrobial-associated risk factors for Clostridium difficile infection. Clin Infect Dis. 2008;46:19-31.

29. Williams OM, Spencer RC. The management of Clostridium difficile infection. Br Med Bull. 2009;91:87-110.

30. Arora V, Kachroo S, Ghantaji SS, DuPont HL, Garey KW. High Horn's index score predicts poor outcomes in patients with Clostridium difficile infection. J Hosp Infect. 2011;79:23-6.

31. Shaughnessy MK, Amudson WH, Kuskowski MA, DeCarolis DD, Johnson JR, Drekonja DM. Unnecessary antimicrobial use in patients with current or recent Clostridium difficile infection. Infect Control Hosp Epidemiol. 2013;34(2):109-16.



Klinički centar Vojvodine, Klinika za infektivne bolesti<sup>1</sup>  
 Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Novi Sad, Srbija<sup>2</sup>  
 Autonomna pokrajina Vojvodina, Pokrajinski sekretarijat za zdravstvo  
 socijalnu politiku i demografiju, Novi Sad, Srbija<sup>3</sup>  
 Klinički centar Vojvodine, Centralna apoteka,  
 Odsek za nabavku i izdavanje medicinskih sredstava, Novi Sad, Srbija<sup>4</sup>

UDK 616.94-08:615.281  
 DOI: 10.2298/MPNS14S2024P

## ISPITIVANJE PRIMENLJIVOSTI MEĐUNARODNIH SMERNICA U LEČENJU SEPSA

### TESTING APPLICABILITY OF INTERNATIONAL GUIDELINES IN TREATMENT OF SEPSIS

Vedrana PETRIĆ<sup>1</sup>, Sandra STEFAN MIKIĆ<sup>1,2</sup>, Siniša SEVIĆ<sup>1,2</sup>, Danijela STANKOVIĆ BARIČAK<sup>3</sup>,  
 Nevena DRLJEVIĆ<sup>4</sup> i Aleksandra MILIJIĆ<sup>2</sup>

#### Sažetak

**Uvod.** U januaru 2013. godine, na Klinici za infektivne bolesti usvojeni su novi interni klinički protokoli za početnu adekvatnu antimikrobnu terapiju bakterijskih infekcija. Protokoli su sačinjeni na osnovu evropskih (*British National Formulary*) i američkih (*Sanford*) smernica za lečenje bakterijskih infekcija. Cilj našeg istraživanja bio je da ispitamo efikasnost novih kliničkih protokola sačinjenih na osnovu međunarodnih smernica, u lečenju sepsi bakterijske etiologije i da ih uporedimo sa efikasnošću postojećih smernica koje se zasnivaju na primeni antibiotika prema kliničkom iskustvu lekara. **Materijal i metode.** U studiju je uključeno 109 pacijenata sa dijagnozom sepsa bakterijske etiologije koji su lečeni na Klinici za infektivne bolesti u periodu od 1. januara 2012. do 31. decembra 2013. godine. Podaci su prikupljeni iz istorija bolesti. Pacijenti su bili podeljeni u dve grupe. Prva grupa obuhvata 54 pacijenata sa dijagnozom sepsa koji su lečeni empirijski. Drugu grupu činilo je 55 pacijenata, lečenih prema novim internim kliničkim protokolima. Efikasnost terapije kod obe grupe pacijenata praćena je kroz laboratorijske nalaze (broj leukocita, C-reaktivni protein, fibrinogen, sedimentacija, prokalcitonin) i temperatura, merena prvog i sedmog dana hospitalizacije. Za statističku obradu podataka korišćen je  $\chi^2$  test. **Rezultati.** Nakon primenjene terapije došlo je do statistički značajnog sniženja srednjih vrednosti C-reaktivnog proteina i prokalcitonina sedmog dana lečenja u obe grupe pacijenata. Najčešće je primenjivana trojna antibiotska terapija – ceftriakson, ciprofloksacin i metronidazol, u obe grupe ispitanika. **Zaključak.** Lečenje sepsa bakterijske etiologije prema novim internim kliničkim protokolima za lečenje bakterijskih infekcija podjednako je efikasno kao i lečenje sepsa prema kliničkom iskustvu lekara.

**Cljučne reči:** Vodiči u praksi; Lekarska empirijska praksa; Sepsa; Antibiotici; Antimikrobni lekovi; Ishod lečenja; Kombinacija lekova; Rutinski dijagnostički testovi

#### Uvod

Sepsa se definiše kao sistemski inflamatorni odgovor na infekciju, lokalizovanu ili generalizo-

#### Summary

**Introduction.** The Department of Infectious Diseases adopted new internal clinical protocols for initial adequate antimicrobial therapy of bacterial infections in January, 2013. Protocols were made up on the basis of European (*British National Formulary*) and the American (*Sanford*) guidelines for treatment of bacterial infections. The aim of our study was to investigate the efficiency of new clinical protocols based on international guidelines in treatment of bacteria-induced sepsis and to compare it with the efficiency of the existing guidelines, which are based on the use of antibiotics according to clinical experience of the doctors. **Material and Methods.** The study included 109 patients diagnosed with bacteria-induced sepsis, who were treated at the Department of Infectious Diseases in the period from 1 January, 2012 to 31 December, 2013. Data were collected from the medical records. The patients were divided into two groups. The first group included 54 patients diagnosed with sepsis who were treated empirically. The second group consisted of 55 patients treated according to the new internal protocols. The efficiency of treatment in both groups of patients was monitored by laboratory findings (leukocyte count, C-reactive protein, fibrinogen, sedimentation, procalcitonin), and temperatures, measured on the first and seventh day of hospitalization. For statistical analysis, we used the  $\chi^2$  test. **Results.** After the applied treatment, there was a statistically significant decrease in the mean values of C-reactive protein P and procalcitonin on the seventh day of treatment in both groups of patients. The most frequently applied therapy was triple antibiotic therapy - ceftriaxone, ciprofloxacin and metronidazole, in both groups. **Conclusion.** Treatment of bacteria-induced sepsis according to internationally accepted protocols for treatment of bacterial infections is as effective as treatment of sepsis according to the clinical experience of doctors.

**Key words:** Practice Guidelines as Topic; Physician's Practice Patterns; Sepsis; Anti-Bacterial Agents; Anti-Infective Agents; Treatment Outcome; Drug Therapy Combination; Diagnostic Tests, Routine

vanu [1–3]. U okviru teške sepsa nastaje sepsom indukovana hipotenzija, koja je definisana sledećim kriterijumima: sistolni krvni pritisak < 90 mmHg, ili srednji arterijski pritisak < 70 mmHg,

**Skraćenice**

CRP	– C-reaktivni protein
PCT	– prokalcitonin

ili smanjenje sistolnog krvnog pritiska za više od 40 mmHg u odnosu na normalan krvni pritisak, u odsustvu drugih uzroka hipotenzije [1–3]. Septični šok karakteriše sepsom indukovana hipotenzija koja ne reaguje na supstitucionu terapiju [1–3].

Iako se izvor sepse u velikom broju slučajeva ne može sa sigurnošću utvrditi, pogotovo kod pacijenata sa negativnim hemokulturama i bez kliničkih znakova lokalizovane infekcije, upravo od ishodišta sepse zavisi i uzročnik sepse [1]. Ukoliko je izvor sepse infekcija poreklom iz genitourinarnog ili gastrointestinalnog trakta, najčešći uzročnici su Gram-negativne bakterije (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella species*). Ukoliko se radi o infekcijama koje dolaze sa kože i mekih tkiva, Gram-pozitivne bakterije su najčešći uzročnici (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus species*, *Streptococcus pyogenes*). Sve češće se sreće sepsa uzrokovana gljivicama (posebno *Candida species*), u čak 5–20% slučajeva [1].

Osobe starijeg životnog doba, novorođenčad, hronični bolesnici imunodeficientne osobe predisponirani su za dobijanje svih vrsta infekcija, pa i za sepsu [2]. Bolesnici nakon invazivnih dijagnostičkih i terapijskih procedura, bolesnici sa različitim implantatima, sa centralnim venskim kateeterom, intravenski korisnici droga takođe su kandidati za dobijanje sepse [1].

Klinička slika sepse nije specifična. Osim simptoma i znakova opšteg infektivnog sindroma, mogu biti prisutni simptomi i znaci lokalne infekcije – ishodišta sepse. Svi organi i organski sistemi mogu biti zahvaćeni u različitom opsegu, što obogaćuje kliničku sliku.

Dijagnostički postupak počinje detaljno uzetom anamnezom, pažljivim i detaljnim kliničkim pregledom, laboratorijskim nalazama, uzimanjem uzoraka krvi urina, stolice, likvora, brisa guše i nosa, brisa kože i mekih tkiva da bismo izolovali i identifikovali uzročnika i tako postavili etiološku dijagnozu sepse. Takođe, radiološke i druge imidžing metode mogu pomoći u otkrivanju izvora sepse, a primenjuju se prema kliničkoj slici.

Ne postoji univerzalan algoritam za lečenje sepse i septičnog šoka. On pre svega zavisi od pretpostavljenog uzroka sepse. Ukoliko se ustanovi jasno ishodište sepse, saniranje „žarišta“ je svakako najvažnija mera lečenja. U suprotnom, davanje i najpotentnijih antibiotika neće imati željeni efekat. Ključno mesto u lečenju sepse pripada antibioticima. Preporučuje se primena delotvornih antibiotika intravenski unutar prvog sata od potvrđivanja dijagnoze sepse, teške sepse i septičnog šoka [1]. U prisustvu septičnog šoka, svaki sat odlaganja primene antibiotika je povezan sa značajnim porastom smrtnosti, što potvrđuje veliki broj studija [2]. Opšti principi lečenja septičnih

bolesnika antimikrobnim lekovima zasnivaju se na tzv. empirijskoj terapiji – započinjanje antibiotske terapije pre dobijanja hemokultura, na iskustvenoj proceni o mogućem uzročniku. Pri empirijskom izboru antibiotika treba voditi računa o nekoliko faktora. Treba razmotriti uzrast pacijenta, prateće komorbiditete, vitalne funkcije (posebno funkcije bubrega i jetre, zbog doziranja lekova), preosetljivost na neke antibiotike, graviditet. U obzir treba uzeti i mesto razvika sepse (bolnička/vanbolnička). Kod većine pacijenata primenjuje se tzv. deeskalaciona terapija. Deeskalaciona antimikrobna terapija se uvek započinje kao kombinovana terapija i to najčešće kao kombinacija tri antimikrobna leka [1, 4]. S obzirom na to da kod pacijenata sa teškom sepsom ili septičnim šokom gotovo da nema prostora za pogrešan izbor terapije, inicijalni izbor antibiotika treba da pokrije sve najverovatnije uzročnike. Zbog uticaja primene širokopspektralnih antibiotika na razvoj i širenje multiplo rezistentnih sojeva, primena ovakve terapije je uvek ograničena na vreme potrebno za dobijanje rezultata hemokulture (48–72 h) [1]. Kada se uzročnik infekcije identifikuje, primenjena terapija se deeskalira i prelazi se na upotrebu antibiotika na koje je uzročnik osetljiv, a koji su užeg spektra i niže cene.

Veliki problem pravilnog izbora antimikrobnog leka koji se ordinira pre mikrobiološke dijagnostike jeste mogućnost uticaja na razvoj rezistencije i eventualno nastajanje multiplo rezistentnih sojeva, pogotovo kod pacijenata lečenih bolnički [5, 6]. Na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine, u januaru 2013. godine, usvojeni su interni klinički protokoli za racionalnu početnu adekvatnu antibiotsku terapiju. Protokoli su sačinjeni na osnovu usvojenih evropskih (*British National Formulary*) i američkih (*Senford*) smernica za lečenje bakterijskih infekcija. Protokoli koji su prihvaćeni primenjuju se na Klinici za infektivne bolesti od januara 2013. godine. Planirana je modifikacija usvojenih protokola od januara 2014. godine, prema stanju lokalne rezistencije, da bi pacijenti dobijali početnu adekvatnu antimikrobnu terapiju ne na osnovu međunarodnih smernica, već na osnovu naših smernica sačinjenih prema stanju lokalne rezistencije.

Ciljevi ovog istraživanja su ispitivanje efikasnosti pojedinih antibiotskih tretmana u lečenju sepse bakterijske etiologije primenjenih na osnovu kliničkog iskustva ordinirajućeg lekara; ispitivanje efikasnosti novih kliničkih protokola u lečenju sepse bakterijske etiologije, sačinjenih na osnovu međunarodno prihvaćenih smernica za lečenje bakterijskih infekcija; poređenje efikasnosti lečenja sepse bakterijske etiologije prema kliničkom iskustvu ordinirajućeg lekara, sa lečenjem prema novim internim kliničkim protokolima.

**Materijal i metode**

Istraživanje je bilo retrospektivno, u trajanju od dve godine. Sprovedeno je na uzorku od 109

pacijenata sa dijagnozom sepsa bakterijske etiologije, koji su lečeni na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine, u periodu od 1. januara 2012. do 31. decembra 2013. godine. Kao izvor podataka za ovu studiju korišćene su istorije bolesti pacijenata hospitalizovanih na Klinici za infektivne bolesti.

Glavni kriterijum za uključivanje u studiju bio je klinička dijagnoza sepsa, postavljena na osnovu uzete anamneze, objektivnog pregleda i laboratorijskih nalaza (leukocitoza, ubrzana sedimentacija, visok C-reaktivni protein (CRP), povišene vrednosti fibrinogena, visoke vrednosti prokalcitonina (PCT), koji su ukazivali na sepsu bakterijske etiologije, pa je primenjivana antibiotska terapija.

Pacijenti su bili podeljeni u dve grupe. Prvu grupu činili su pacijenti koji su lečeni na Klinici za infektivne bolesti od 1. januara 2012. do 31. decembra 2012. godine. Grupa oduhvata 54 pacijenta koji su lečeni odgovarajućim antibiotskim režimima, a izbor antibiotika zavisio je jedino od kliničkog iskustva ordinirajućeg lekara (lečeni su empirijski). Drugu grupu čini 55 pacijenata hospitalizovanih na Klinici za infektivne bolesti u periodu od 1. januara 2013. do 31. decembra 2013. godine. Ovi pacijenti lečeni su prema novim kliničkim protokolima za lečenje sepsi, sačinjenih na osnovu usvojenih evropskih (*British National Formulary*) i američkih (*Senford*) smernica za lečenje bakterijskih infekcija. Tok bolesti i efikasnost primenjene terapije u obe grupe pacijenata praćeni su kroz laboratorijske pokazatelje akutnog inflamatornog odgovora (broj leukocita, C-reaktivni protein, fibrinogen, sedimentacija eritrocita, prokalcitonin) i febrilnosti, određivanih prvog i sedmog dana hospitalizacije, i mikrobiološke dijagnostike (hemokulture, urinokulture, koprokulture, kulture likvora, brisevi guše i nosa, bris rana).

Osim navedenih parametara, kod svih bolesnika obuhvaćenih istraživanjem analizirane su i sledeće karakteristike: pol, starost, vrsta infekcije (vanbolnička/bolnička), prisustvo komorbiditeta.

Podaci su obrađeni standardnim statističkim metodama: proporcija, aritmetička sredina,  $\chi^2$  test. Izabran nivo statističke značajnosti bio je  $p < 0,05$ .

Dobijeni rezultati prikazani su tekstualno, tabelarno i grafički. Za obradu teksta i konstrukciju tabele korišćen je *Microsoft Word 2007*. Za grafičko prikazivanje rezultata korišćen je *Microsoft Excel 2007*.

## Rezultati

Na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine tokom 2012. godine hospitalizovano je ukupno 54 pacijenta sa dijagnozom sepsa bakterijske etiologije, dok je u 2013. godini bolnički lečeno ukupno 55 bolesnika sa istom dijagnozom.

Rezultati  $\chi^2$  testa pokazuju da postoji statistički značajna razlika između muškaraca i žena u grupi pacijenata lečenih tokom 2012. godine ( $p <$

0,05), dok je grupa pacijenata lečenih tokom 2013. godine homogena u odnosu na pol ( $p > 0,05$ ).

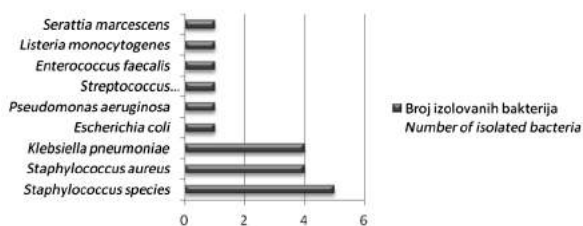
Najzastupljenija starosna kategorija tokom 2012. godine bila je 71–80 godina, u kojoj je registrovano 16 pacijenata (29,63%) ( $p = 0,001$ ,  $p < 0,05$ ). U 2013. godini najzastupljenija starosna kategorija bila je 51–60 godina, sa ukupno 15 pacijenata (27,27%) ( $p = 0,0001$ ,  $p < 0,05$ ).

Statistički značajno je bilo više vanbolničkih infekcija u odnosu na bolničke (46 vs 8,  $p < 0,05$ ) u 2012. godini, u 2013. godini dokazano je statistički više vanbolničkih infekcija u odnosu na bolničke (49 vs 6,  $p < 0,05$ ).

Komorbiditeti su bolesti ili stanja koja postoje pored glavnog oboljenja. Komorbidne bolesti mogu da utiču na izbor lečenja, kao i na stopu preživljavanja. Broj pacijenata sa komorbiditetom u 2012. godini iznosio je 43 (79,63%), dok je 11 pacijenata (20,37%) bilo bez komorbiditeta. U 2013. godini 53 pacijenta (96,36%) imala su druge pridružene bolesti, a samo 2 bolesnika (3,64%) nisu imali komorbiditete. Postoji značajna statistička razlika u broju pacijenata sa komorbiditetom u odnosu na broj pacijenata bez komorbiditeta u obe grupe pacijenata ( $p < 0,05$ ).

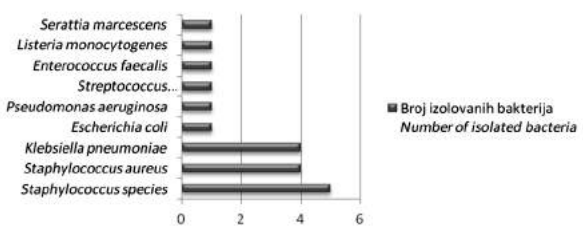
Ne postoji statistički značajna razlika zastupljenosti kardiovaskularnih ( $p=0,3$ ;  $p > 0,05$ ), respiratornih ( $p=0,38$ ;  $p > 0,05$ ) i gastrointestinalnih bolesti ( $p=0,74$ ;  $p > 0,05$ ) kod pacijenata u 2012. i 2013. godini.

Od ukupno 95 urađenih hemokultura u grupi pacijenata lečenih tokom 2012. godine, registrovano je 19 pozitivnih nalaza. Ne postoji statistički značajna razlika između uzročnika izolovanih iz hemokultura u 2012. godini ( $p = 0,99$ ;  $p > 0,05$ ). U



**Grafikon 1.** Izolati bakterija iz krvi pacijenata sa sepsom lečenih 2012. godine

**Graph 1.** Isolates of bacteria from blood of patients with sepsis treated in 2012



**Grafikon 2.** Izolati bakterija iz krvi pacijenata sa sepsom lečenih 2013. godine

**Graph 2.** Isolates of bacteria from blood of patients with sepsis treated in 2013

**Tabela 1.** Ukupan broj urađenih i pozitivnih nalaza mikrobioloških analiza  
**Table 1.** The total number of performed and positive results of microbiological analysis

Mikrobiološki pregled <i>Microbiological Analysis</i>	2012. Godina/Year			2013. Godina/Year		
	Ukupno <i>Total Number</i>	Pozitivan/Positive		Ukupno <i>Total number</i>	Pozitivan/Positive	
		N	%		N	%
Urinokultura/ <i>Urine Culture</i>	45	5	11,11	43	6	13,95
Koprokultura/ <i>Stool Culture</i>	29	3	10,34	16	4	25
Kultura likvora/ <i>Cerebrospinal Fluid Culture</i>	17	3	17,65	9	1	11,11
Bris guše i nosa/ <i>Throat and Nose Swab</i>	17	6	35,29	9	3	33,33
Bris rane/ <i>Wound Swab</i>	5	5	100	3	3	100

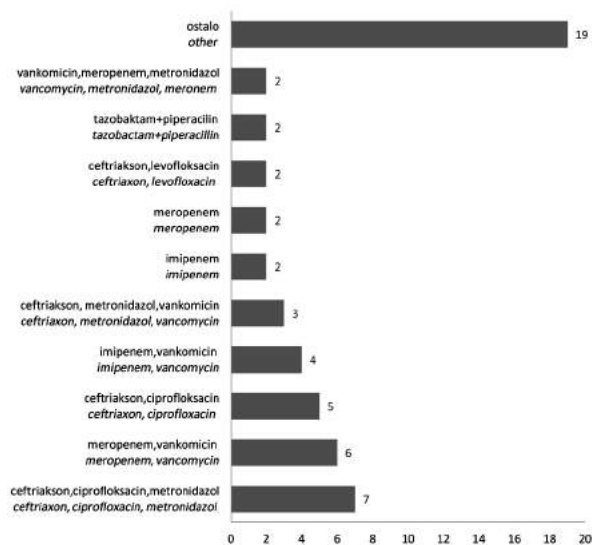
2013. godini, od 104 urađene hemokulture, 20 je bilo pozitivno. Ne postoji statistički značajna razlika između uzročnika izolovanih iz hemokultura u 2013. godini ( $p = 0,99$ ;  $p > 0,05$ ). Rezultati mikrobiološkog ispitivanja krvi u obe grupe pacijenata prikazani su grafički (**grafikoni 1 i 2**).

Najčešće izolovani soj u 2012. godini bili su koagulaza negativni *Staphylococcus species*, kod 5 pacijenata (26,32%). U 2013. godini *Escherichia coli* se izoluje u najvećem broju slučajeva, kod 6 bolesnika (30%). *Escherichia coli* je najčešće izolovana iz urinokultura kod obe grupe pacijenata. U 2012. godini, izolovana je iz urina 2 bolesnika (33,33%), a u 2013. godini kod 3 (33,33%). Iz koprokultura rađenih u 2012. godini kod pacijenata sa sepsom izolovani su po jednom *Clostridium difficile* (33,33%), *Acinetobacter species* (33,33%) i *Salmonella enteritidis* (33,33%). U 2012. godini iz kulture likvora pacijenata sa sepsom izolovani su po jednom koagulaza negativni *Staphylococcus species* (33,33%), *Streptococcus pneumoniae* (33,33%) i *Acinetobacter species*

(33,33%). U jedinom pozitivnom nalazu kulture likvora kod bolesnika sa sepsom lečenog 2013. godine izolovani su koagulaza negativni *Staphylococcus species*. Iz briseva guše i nosa u obe grupe pacijenata sa sepsom najčešće je izolovan *Staphylococcus aureus*, kod 4 pacijenta (54,14%) u 2012. godini, odnosno kod 3 pacijenta (30%) u 2013. godini. Iz brisa rane pacijenata sa sepsom lečenih tokom 2012. godine *Acinetobacter species* se najčešće izoluje, kod 2 bolesnika (28,57%), dok je u 2013. godini najčešće izolovana *Pseudomonas aeruginosa*, kod 3 pacijenta (50%).

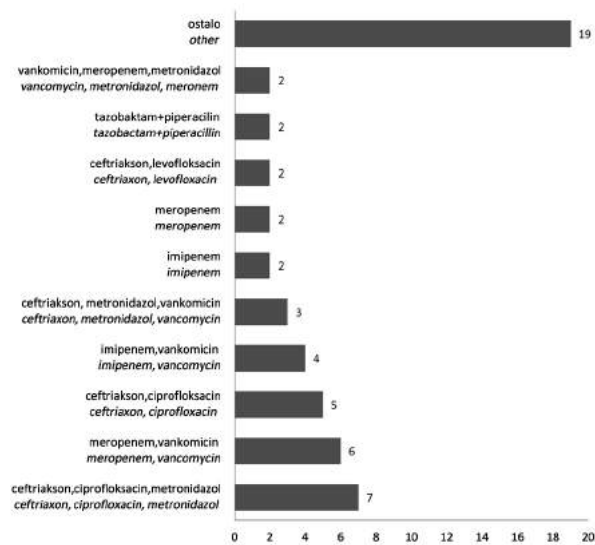
U **Tabeli 1** prikazan je broj ukupno urađenih i pozitivnih urinokultura, koprokultura, kultura likvora, briseva guše i nosa, briseva rana kod pacijenata sa dijagnozom sepse bakterijske etiologije, lečenih tokom 2012. i 2013. godine.

Učestalost primene pojedinih antibiotičkih režima u lečenju pacijenata sa sepsom bakterijske etiologije tokom 2012. i 2013. godine prikazana je grafički (**grafikoni 3 i 4**).



**Grafikon 3.** Najčešće primenjivana početna antibiotička terapija u grupi pacijenata sa sepsom lečenih 2012. godine

**Graph 3.** The most frequently used initial antibiotic therapy in the group of patients with sepsis treated 2012



**Grafikon 4.** Najčešće primenjivana početna antibiotička terapija u grupi pacijenata sa sepsom lečenih 2013. godine

**Graph 4.** The most frequently used initial antibiotic therapy in the group of patients with sepsis treated 2013

Najčešće primenjivana početna antimikrobna terapija u obe grupe pacijenata bila je kombinacija ceftriaksona, ciprofloksacina i metronidazola. U grupi pacijenata sa sepsom lečenih empirijski tokom 2012. godine, ova kombinacija propisana je kod 7 pacijenata (12,73%). U 2013. godini kod pacijenata lečenih prema novim protokolima, ova terapija je primenjena 16 puta (29,09%).  $\chi^2$  testom utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika između broja pacijenata koji su dobijali spomenutu kombinaciju antibiotika, u odnosu na one koji su dobijali drugu antimikrobnu terapiju, u toku 2012. godine ( $p < 0,05$ ). Postoji statistički značajna razlika između pacijenata koji su lečeni trojnom antibiotskom terapijom ceftriakson, ciprofloksacin i metronidazol, u odnosu na one kojima je propisivana druga antimikrobna terapija, u grupi lečenju tokom 2013. godine ( $p = 0,00$ ;  $p < 0,05$ ).

Srednje vrednosti laboratorijskih pokazatelja akutnog zapaljenskog procesa i temperature u obe grupe pacijenata, merenih prvog i sedmog dana lečenja, dati su u **Tabeli 2**.

Statistički značajno su srednje vrednosti CRP-a i PCT-a sedmog dana lečenja manje u odnosu na prvi dan u obe grupe pacijenata.

### Diskusija

Sepsa predstavlja zdravstveno-ekonomski problem u svim zemljama sveta. Uprkos razvoju moderne medicine, incidencija sepsa je u velikom porastu, a uzrok je starenje populacije [2]. Uprkos moćnim antibioticima i ostalim terapijskim merama, stopa smrtnosti kod sepsa je visoka, a kod septičnog šoka i veća, i kreće se 40–60% [1]. Sepsa može da dovede do višestruke disfunkcije organa i organskih sistema i predstavlja vodeći uzrok smrti u jedinicama za intenzivnu medicinsku negu [7, 8]. U našem istraživanju, od ukupno 54 pacijenta sa dijagnozom sepsa lečenih tokom 2012. godine, *exitus letalis* nastupio je kod 16 pacijenata (29,62%). U 2013. godini među pacijentima sa sepsom bilo je 11 smrtnih ishoda (20%). Dobijeni rezultati poklapaju se sa rezultatima istraživanja iz drugih zemalja, gde je smrtnost od sepsa preko 20% [9]. Sepsa je jedan od vodećih uzroka smrti u Engleskoj, gde čini ukupno 5,1% svih registrovanih smrtnih slučajeva [10].

Najzastupljenija starosna kategorija tokom 2012. godine kod pacijenata sa sepsom bila je 71–80 godina, u kojoj je registrovano 16 pacijenata (29,63%). Većina pacijenata lečenih tokom 2013. godine, ukupno 15 (27,27%), pripada uzrastu 51–60 godina. Na ishod lečenja sepsa, osim osobina uzročnika, pravovremene dijagnoze i adekvatne terapije, utiču i demografske osobine bolesnika. Nepovoljan prognostički faktor je, između ostalih, i starost pacijenta preko 60 godina [1,2].

U grupi pacijenata sa sepsom koji su lečeni tokom 2012. godine, zabeleženo je 46 (85,15%) vanbolničkih, a 8 (14,82%) bolničkih infekcija. U 2013. godini vanbolnička infekcija registrovana je kod 49 pacijenata (89,09%), dok je 6 pacijenata (10,9%) sepsu dobilo u bolničkim uslovima. Kriterijumi na osnovu kojih smo utvrdili da se radi o vanbolničkoj, odnosno bolničkoj sepsi bili su sledeći: ako su simptomi i znaci infekcije bili prisutni na prijemu, ili su se javili unutar 48 h od prijema (pacijent je bio u inkubaciji), to je ukazivalo na vanbolničku infekciju. Ukoliko su se simptomi i znaci infekcije javili 48 h nakon prijema, sumnjalo se na bolničku infekciju, jer za većinu infekcija stečenih boravkom u bolnici, najkraći inkubacioni period iznosi 48 h [11, 12].

U 2012. godini, od ukupno 54 pacijenta sa dijagnozom sepsa bakterijske etiologije, 43 (79,63%) je imalo komorbiditete. Kod pacijenata lečenih tokom 2013. godine, komorbiditet je bio prisutan kod 53 (96,39%), a samo 2 bolesnika (3,64%) nisu imali druge pridružene bolesti. Najzastupljeniji komorbiditeti među pacijentima sa sepsom u 2012. godini bili su kardiovaskularni 27%, gastrointestinalni 20%, neurološki 16%. Rezultati pokazuju da su u 2013. godini najčešće zastupljeni komorbiditeti kod pacijenata sa sepsom bili kardiovaskularni 20,53%, gastrointestinalni 17,88%, dok su na trećem mestu bile genitourinarne bolesti 15,23%. Pacijenti sa pridruženim hroničnim bolestima imaju veći rizik za dobijanje sepsa [1, 2]. Pacijenti sa cirozom jetre, dijabetesom melitus, splenektomirani bolesnici, alkoholičari, imunodeficitarni i neutropenični pacijenti su posebno prijemčivi za sve bakterijske i gljivične infekcije [1].

Od ukupno 96 urađenih hemokultura kod pacijenata sa sepsom u 2012. godini, 19 je bilo pozitivno. Kod nekih pacijenata izolovana je jedna, a kod

**Tabela 2.** Srednje vrednosti laboratorijskih nalaza i temperature prvog i sedmog dana hospitalizacije  
**Table 2.** Mean values of laboratory tests and temperature on the first and seventh day of hospitalization.

Grupe pacijenata Group of patients	Leukociti <i>Leukocytes</i>		CRP <i>CRP</i>		Fibrinogen <i>Fibrinogen</i>		Sedimentacija <i>Erythrocyte Sedimentation Rate</i>		PCT <i>PCT</i>		Temperatura <i>Temperature</i>	
	1. Dan <i>1<sup>st</sup> Day</i>	7. Dan <i>7<sup>th</sup> Day</i>	1. Dan <i>1<sup>st</sup> Day</i>	7. Dan <i>7<sup>th</sup> Day</i>	1. Dan <i>1<sup>st</sup> Day</i>	7. Dan <i>7<sup>th</sup> Day</i>	1. Dan <i>1<sup>st</sup> Day</i>	7. Dan <i>7<sup>th</sup> Day</i>	1. Dan <i>1<sup>st</sup> Day</i>	7. Dan <i>7<sup>th</sup> Day</i>	1. Dan <i>1<sup>st</sup> Day</i>	7. Dan <i>7<sup>th</sup> Day</i>
2012.	16,1	10,3	194,3*	52,4*	5	4,1	59,9	54,1	48,3*	4,3*	38	37,3
2013.	13,5	10,2	218*	66,9*	6,7	5	74,4	60,5	52,7*	2,1*	38	37,1

\* $p < 0,05$

nekih dve ili više bakterija. Najčešće izolovani sojevi bili su koagulaza negativni *Staphylococcus species*, izolovani kod 5 pacijenata (26,32%), dok drugo mesto dele *Staphylococcus aureus* i *Klebsiella pneumoniae*, izolovane po 4 puta (21,05%). U 2013. godini kod pacijenata sa sepsom urađeno je ukupno 104 hemokulture, a 20 nalaza je bilo pozitivno. *Escherichia coli* je izolovana u najvećem broju slučajeva, kod 6 pacijenata (30%). *Staphylococcus aureus* i koagulaza negativni *Staphylococcus species* nalaze se na drugom mestu. Oba uzročnika izolovana su po 3 puta (15%).

Od ukupno 45 urađenih urinokultura kod pacijenata sa sepsom, lečenih tokom 2012. godine, dobijeno je 5 pozitivnih nalaza. Najčešće je izolovana *Escherichia coli*, kod 2 pacijenta (33,33%). Po jednom su izolovane *Pseudomonas aeruginosa* (16,67%), *Klebsiella pneumoniae* (16,67%), *Citobacter species* (16,67%) i *Morganella morganii* (16,67%). Godine 2013. urađene su 43 urinokulture, a kod 6 pacijenata je nalaz bio pozitivan. I u ovoj grupi pacijenata najčešće je izolovana *Escherichia coli*, kod 3 bolesnika (33,33%). Na drugom mestu je *Enterococcus species*, izolovan kod dva bolesnika (22,22%). *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* i *Proteus vulgaris* izolovane su po jednom (11,11%). Rezultati našeg istraživanja slažu se sa istraživanjem iz Indonezije, gde je najčešće izolovani soj iz urinokulture pacijenata sa sepsom bila *Escherichia coli* [13].

Mikrobiološko ispitivanje likvora pacijenata sa sepsom u 2012. godini rađeno je u 17 uzoraka. Samo 3 nalaza su bila pozitivna. Po jednom su izolovani koagulaza negativni *Staphylococcus species*, *Streptococcus pneumoniae* i *Acinetobacter species*. Od ukupno 9 urađenih kultura likvora kod pacijenata sa sepsom u 2013. godini, samo jedan nalaz bio je pozitivan i pritom su izolovani koagulaza negativni *Staphylococcus species*.

U 2012. godini kod pacijenata sa sepsom urađeno je ukupno 17 briseva guše i nosa. Pozitivan nalaz bio je kod 6 pacijenata. Najčešće je izolovan *Staphylococcus aureus*, kod 4 pacijenta (57,14%). Kod dva bolesnika izolovani su *Acinetobacter species* (28,57%), a kod jednog je izolovana *Pseudomonas aeruginosa* (14,29%). Godine 2013. ra-

đeno je 9 briseva guše i nosa, a 3 nalaza su bila pozitivna. Najčešće je izolovan *Staphylococcus aureus*, kod 3 pacijenta (50%), dok su po jednom izolovane *Pseudomonas aeruginosa* (16,67%), *Klebsiella pneumoniae* (16,67%) i *Acinetobacter species* (16,67%).

Kod pacijenata sa sepsom u 2012. godini rađeno je 5 briseva rana i svih 5 nalaza bilo je pozitivno. *Acinetobacter species* je izolovan kod dva pacijenta (28,57%), dok su po jednom izolovane *Pseudomonas aeruginosa* (14,29%), *Proteus mirabilis* (14,29%), *Staphylococcus aureus* (14,29%), *Enterococcus species* (14,29%) i *Citobacter species* (14,29%). Od ukupno 5 briseva rana urađenih 2013. godine kod pacijenata sa sepsom, dobijena su 3 pozitivna nalaza. *Pseudomonas aeruginosa* izolovana je kod 3 pacijenta (50%), *Proteus mirabilis* kod 2 (33,33%), a *Acinetobacter species* kod jednog bolesnika (16,67%).

Najčešće primenivana inicijalna antimikrobna terapija kod pacijenata sa sepsom lečenih tokom 2012. i 2013. godine je trojna terapija – ceftriakson, ciprofloksacin, metronidazol. Navedena terapija je primenjena kod 7 pacijenata u 2012., odnosno kod 16 pacijenata u 2013. godini. Primena ceftriaksona, ciprofloksacina i metronidazola je opravdana i u skladu sa principima savremene farmakoterapijske prakse [14, 15].

Kod svih pacijenata analizirane su vrednosti broja leukocita, CRP-a, fibrinogena, sedimentacije, PCT-a i temperature prvog i sedmog dana hospitalizacije. Statistički značajno su srednje vrednosti CRP-a i PCT-a sedmog dana lečenja manje u odnosu na prvi dan u obe grupe pacijenata.

## Zaključak

Antibiotski režimi primenjeni na osnovu kliničkog iskustva ordinirajućeg lekara efikasni su u lečenju sepse bakterijske etiologije. Novi klinički protokoli sačinjeni na osnovu međunarodno prihvaćenih smernica za lečenje bakterijskih infekcija efikasni su u lečenju sepse bakterijske etiologije. Lečenje sepse bakterijske etiologije prema kliničkom iskustvu ordinirajućeg lekara podjednako je efikasno kao i lečenje sepse prema novim internim kliničkim protokolima koji se primenjuju na Klinici za infektivne bolesti.

## Literatura

1. Turkulov V, Brkić S. Infektivne bolesti: udžbenik za studente medicine. Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet; 2013. p. 168-80.
2. Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča dobre kliničke prakse. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za prevenciju, dijagnostiku i lečenje sepse, teške sepse i septičnog šoka [Internet]. Beograd: Ministarstvo zdravlja Republike Srbije; 2013. Available from: <http://www.zdravlje.gov.rs/downloads/2013/Novembar/VodicZaPrevencijuDijagnostikuiLečenjeSepseTeškeSepseSeptičnogŠoka.pdf>
3. Božić M, Dokić Lj, Nikolić S, Pavlović M, Šašić M. Infektivne bolesti: Udžbenik za student medicine. Beograd: Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu; 2012.
4. Eić N. Učestalost ordiniranja početne adekvatne antimikrobne terapije na Klinici za infektivne bolesti. [Diplomski rad]. Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet; 2013.
5. Sević S. Praćenje antimikrobne rezistencije i izrada protokola za početnu adekvatnu antimikrobnu terapiju. [Doktorska disertacija]. Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet; 2007.
6. Stefan-Mikić S, Sević S, Jovanović N. Pravilan izbor antibiotika u zavisnosti od rezistencije i farmakoekonomskih principa. 1<sup>st</sup> ed. Novi Sad: Litostudio; 2008.
7. Seoane L, Winterbottom F, Nash T, Behrhorst J, Chacko E, Shum L, et al. Using quality improvement principles to

improve the care of patients with severe sepsis and septic shock. *Ochsner J*. 2013;13(3):359-66.

8. Hartman ME, Linde-Zwirble WT, Angus DC, Watson RS. Trends in the epidemiology of pediatric severe sepsis. *Pediatr Crit Care Med*. 2013;14(7):686-93.

9. Vilella AL, Seifert CF. Timing and appropriateness of initial antibiotic therapy in newly presenting septic patients. *Am J Emerg Med*. 2014;32(1):7-13.

10. McPherson D, Griffiths C, Williams M, Baker A, Kłodawski E, Jacobson B, et al. Sepsis-associated mortality in England: an analysis of multiple cause of death data from 2001 to 2010. *BMJ Open*. 2013;3(8).

11. Berger-Jekić O, Dinić M, Dukić S, Jelesić Z, Kocić B, Kulauzov M, et al. *Medicinska bakteriologija*. Beograd: Savremena administracija ad; 2005.

Rad je primljen 14. X 2014.

Recenziran 24. XI 2014

Prihvaćen za štampu 25. XI 2014.

BIBLID.0025-8105:(2014):LXVII:(Suppl 2):24-30.

12. Radovanović Z. *Epidemiologija*. Novi Sad: Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet; 2008.

13. Pradipta IS, Sodik DC, Lestari K, Parwati I, Halimah E, Diantini A, et al. Antibiotic resistance in sepsis patients: evaluation and recommendation of antibiotic use. *N Am J Med Sci*. 2013;5(6):344-52.

14. Gilbert DN, Moellering RC Jr., Eliopoulos GM. *The Sanford guide to antimicrobial therapy*. 43rd ed. Sperryville: Antimicrobial Therapy Inc; 2013.

15. Ivanov I, Dejanović J, Ivanov O, Petrović M, Jung R, Panić G. Mioparikarditis-dijagmostičke dileme u odnosu na akutni infarkt miokarda. *Med Pregl*. 2013;66(9-10):396-400.

Klinički centar Vojvodine, Novi Sad  
 Klinika za infektivne bolesti<sup>1</sup>  
 Institut za radiološku dijagnostiku, Novi Sad<sup>2</sup>  
 Klinika za abdominalnu i transplantacionu hirurgiju, Novi Sad<sup>3</sup>  
 Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet<sup>4</sup>  
 Institut za onkologiju Vojvodine, Sremska Kamenica<sup>5</sup>

UDK 616.36-002-06:616.36-006.6  
 DOI: 10.2298/MPNS14S2031R

## HEPATOCELULARNI KARCINOM U OKVIRU HRONIČNOG HEPATITISA C – ISKUSTVO KLINIČKOG CENTRA VOJVODINE

*HEPATOCELLULAR CARCINOMA IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C  
 – EXPERIENCE GAINED AT CLINICAL CENTER OF VOJVODINA*

**Maja RUŽIĆ<sup>1,4</sup>, Milotka FABRI<sup>1,4</sup>, Tomislav PREVEDEN<sup>1,4</sup>, Sanja STOJANOVIĆ<sup>2,4</sup>,  
 Zoran MILOŠEVIĆ<sup>3</sup> i Gorana MATOVINA BRKO<sup>4</sup>**

### Sažetak

**Uvod.** U svetu je zabeležen enorman porast incidencije hroničnog hepatitisa C i njegovih posledica, ciroze jetre i hepatocelularnog karcinoma. Cilj rada bio je da se utvrde kliničke karakteristike i terapijske opcije obolelih od hepatocelularnog karcinoma u okviru ciroze jetre uzrokovane hepatitis C virusnom infekcijom, lečenih u Kliničkom centru Vojvodine. **Materijal i metode.** Retrospektivna studija je obuhvatila 51 obolelog (52,9% muškaraca i 47,1% žena) od ciroze jetre uzrokovane hepatitis C virusnom infekcijom i hepatocelularnog karcinoma, lečenih u periodu od 2000. do 2014. godine. Prosečna starosna doba iznosilo je 61,6 (SD = 10,8) godina, a prosečno trajanje hronične hepatitis C virusne infekcije iznosilo je 30,2 (SD = 11,7) godine. Svi bolesnici bili su u stadijumu ciroze jetre, a 43,1% bolesnika je prethodno lečeno pegilovanim interferonom i ribavirinom. Prema *Barcelona* kriterijumima 15,7% bolesnika ispunjavalo je kriterijume za stadijum A, 52,3% za stadijum B, 19,6% za stadijum C i 11,8% za stadijum D. Srednja vrednost alfa fetoproteina u momentu postavljanja dijagnoze hepatocelularnog karcinoma iznosila je 397,56 ng/ml; 26% bolesnika imalo je alfa fetoprotein manji do 20 mg/ml. Resekcija tumora urađena je kod 13,7% bolesnika, radiofrekventna ablacija kod 3,9% bolesnika, hemoembolizacija kod 1,9% bolesnika, sistemska hemoterapija primenjena je kod 1,9% bolesnika, a kadaverična transplantacija jetre urađena je kod 5,9% bolesnika. Prosečno preživljavanje obolelih iznosilo je 1,39 (SD = 1,61) godina. **Zaključak.** Aktivan nadzor bolesnika sa cirozom jetre uzrokovane hepatitis C virusnom infekcijom ultrazvučnim pregledom abdomena na svakih 3 meseca je obavezan, kao i neodložno razjašnjenje etiologije bilo koje uočene fokalne lezije u jetri. Time će se za početak povećati mogućnost primene dostupnih metoda lečenja.

**Ključne reči:** Hepatocelularni karcinom; Hronični hepatitis C; Ciroza jetre; Dijagnoza; Radiologija; alfa-Fetoprotein; Antivirusna terapija; Operativne hirurške procedure

### Uvod

Hepatocelularni karcinom (HCC) zauzima 6. mesto po učestalosti karcinoma čineći 7% od ukupnog broja karcinoma kod ljudi [1]. U 25% do 30% slučajeva HCC se javlja u okviru ciroze jetre uzrokovane hepatitis C virusnom (HCV) infekcijom [2]. Kod 80% bolesnika HCV infekcija je hronična, pro-

### Summary

**Introduction.** The incidence of chronic hepatitis C and its consequences, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma is growing rapidly. The aim of this study was to evaluate clinical characteristics of patients with hepatocellular carcinoma and chronic hepatitis C treated at the Clinical Centre of Vojvodina and therapy options. **Material and Methods.** This retrospective study included 51 patients (52.9% male and 47.1% female) with chronic hepatitis C and hepatocellular carcinoma treated between 2000 and 2014. The average age of patients was 61.6 years (SD=10.8) and the average duration of *hepatitis C* virus infection was 30.2 years (SD=11.7). All patients had liver cirrhosis and 43.1% had previously been treated with pegylated interferon and ribavirin. According to the *Barcelona* Clinic Liver Cancer criteria, stadium A, B, C and D were found in 15.7%, 52.3%, 19.6% and 11.8% of the patients, respectively. The average value of alpha fetoprotein at the moment of making diagnosis of hepatocellular carcinoma was 397.56 ng/ml and the level of alpha fetoprotein was below 20mg/ml in 26% of patients. Tumor resection, radiofrequency ablation, chemoembolization, systemic chemotherapy and liver transplantation were performed in 13.7%, 3.9%, 1.9%, 1.9% and 5.9% of patients, respectively. Average survival time after the diagnosis of hepatocellular carcinoma among patients included in the study was 1.39 (SD=1.61) years. **Conclusion.** Ultrasound examinations of the patients with liver cirrhosis caused by *hepatitis C* virus infection are obligatory every 3 months. Etiology of every focal lesion in the liver must be clarified, which could increase the possibility of administration of available therapeutic methods.

**Key words:** Carcinoma, Hepatocellular; Hepatitis C, Chronic; Liver Cirrhosis; Diagnosis; Radiology; alpha-Fetoproteins; Antiviral Agents; Surgical Procedures, Operative

pnog broja karcinoma kod ljudi [1]. U 25% do 30% slučajeva HCC se javlja u okviru ciroze jetre uzrokovane hepatitis C virusnom (HCV) infekcijom [2]. Kod 80% bolesnika HCV infekcija je hronična, pro-



**Skraćenice**

HCC	– hepatocelularni karcinom
HCV	– hepatitis C virus
EASL	– Evropska asocijacija za bolesti jetre
UZ	– ultrazvuk
CT	– kompjuterizovana tomografija
MRI	– magnetna rezonancija
AFP	– alfa fetoprotein
RFA	– lokalnu ablativnu terapiju
BCLC	– <i>Barcelona Clinic Liver Cancer Staging</i>
PEG-IFN $\alpha$	– pegilovani interferonom alfa
SVR	– <i>sustained virological response</i>
IFN	– interferon
PIAF	– kombinovane terapije cisplatin, interferon, doxorubicin, and fluorouracil
FU/FA	– <i>5-fluorouracil/folinic acid</i>

gresivno oboljenje, čija je evolucija u cirozu jetre i HCC, kod 20% odnosno 10% bolesnika, retrospektivno, višedecenijski, multifaktorski proces [3].

Hepatokarcinogeneza tokom HCV infekcije rezultat je interakcije virusnih proteina i proteina hepatocita koja narušava homeostazu tumorskih supresorskih gena i onkogeni i dovodi hepatocit u stanje genetske nestabilnosti [4]. Prema *in vitro* studijama onkogeni potencijal imaju HCV kor (*core*) protein, ne-strukturalni NS3, NS5A i NS5B proteini HCV [5]. Kao mogući mehanizmi onkogeneze HCC u okviru HCV infekcije navode se: aktivacija celularnih onkogenih gena Ras, c-Myc, E2F1, inaktivacija tumorskih supresorskih gena p21, p53, Rb i narušena regulacija intracelularnih signalnih puteva Wnt/ $\beta$ -catenin, MAPK, JAK/STAT, PI3K/Akt, EGF- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) [6–9]. Značajni činioci onkogeneze mogu biti i regenerativni procesi u jetri – povećanje broja replikacije hepatocita, sa nizom posledičnih reakcija na genetskom materijalu, koji mogu dovesti do akumulacije mutacije tokom dugotrajne hronične infekcije [5].

Danas je oko 160 miliona ljudi širom sveta hronično inficirano HCV [10]. Zahvaljujući pozitivnim protivepidemiološkim merama, prevalencija i incidencija HCV infekcije imaju tendenciju pada, ali u porastu je broj obolelih od posledica HCV infekcije – ciroze jetre i HCC [11]. Stoga je kod svih osoba sa HCV infekcijom neophodan aktivan skrining HCC. Prema preporukama Evropske asocijacije za bolesti jetre (EASL 2011) aktivan nadzor nad HCC u okviru hronične HCV infekcije obuhvata kontrolu ultrazvučnim pregledom na svaka 3 do 4 meseca. Ukoliko se ultrazvučnim (UZ) pregledom utvrdi postojanje fokalne promene u jetri, snimanje se vrši kompjuterizovana tomografija (CT) i magnetna rezonancija (MRI) sa dinamičkim kontrastom [12].

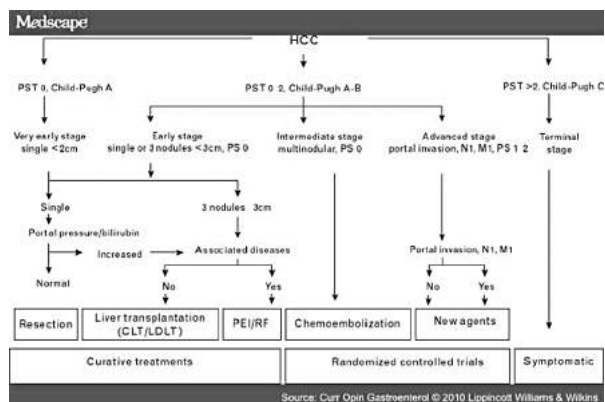
Dijagnoza HCC postavlja se na osnovu neinvazivnih i patoloških parametara [13]. Neinvazivna dijagnostika podrazumeva identifikaciju tipičnih znakova HCC (hipervaskularizacija u arterijskog fazi i *washout* fenomen u portnoj fazi) 4-faznim CT ili MRI sa dinamičkim kontrastom [14]. Ukoliko je fokalna lezija iznad 1 cm u dijimetru, dovoljna je primena jedne, dok se kod manjih promena preporu-

čuje primena 2 metode. Ciljana biopsija sa patološkom obradom uzorka (prema Međunarodnoj grupi za konsenzus za hepatocelularni karcinom/neoplazmu – *International Consensus Group for Hepatocellular Neoplasma*) preporučuje se za dijagnostiku svih fokalnih lezija jetre, koja nije cirotično izmenjena, te za imidžing metodama uočene atipične lezije u okviru ciroze jetre [15]. Senzitivnost metode je između 70% i 90%, a naročito je niska (60%) za tumorske lezije manje od 2 cm u promeru [16]. Stoga, negativna biopsija ne isključuje dijagnozu. S druge strane, rizik od diseminacije tumorskog procesa nakon biopsije jetre iznosi 2,7% [17]. Serološki testovi HCC (alfa fetoprotein (AFP), des gama karboksi protrombin, odnos aglukosilidnog AFP i ukupnog AFP, alfa<sub>2</sub> makroglobulin, te glicican 3) još uvek se ispituju, naročito sa aspekta njihovog značaja za rano otkrivanje HCC [18, 19]. Iako najčešće korišćen biomarker HCC, praćenje nivoa AFP, naročito u okviru hroničnih virusnih hepatitisa, ima nisku specifičnost i senzitivnost za rano postavljanje dijagnoze [20].

Danas je u upotrebi više terapijskih opcija za HCC, a njihov odabir zavisi od ekspanzivnosti promene, funkcionalnog statusa jetre (*Child-Pugh class*) i opšteg stanja bolesnika (starost, komorbiditeti, itd.) [12]. Primenjuju se hirurške metode – ekscizija tumora, metode interventne radiologije: transarterijska embolizacija (TACE), lokalna ablativna terapiju (RFA) i transarterijalna brahiterapija, sistemska cistostatska terapija (sorafenib) i transplantacija jetre [21]. Vodič za klasifikaciju i terapijski pristup HCC koji je prihvatila EASL je *Barcelona Clinic Liver Cancer* (BCLC) staging, prikazan na Slici 1 [22, 23].

Međutim, dostupnost terapijskih opcija za HCC je ograničena, naročito kod bolesnika sa uznapredovalom bolešću jetre koja je česta kod osoba starijeg uzrasnog doba [24–26].

Treći uzrok smrti zbog karcinoma jeste HCC. Prognoza HCC je loša pre svega zbog kasnog otkrivanja. U momentu otkrivanja tumor se može hirurški otkloniti samo kod 10–20% pacijenata. Ako tumor



**Slika 1.** Klinički stadijumi i terapijski pristup prema *Barcelona* kriterijumima

**Figure 1.** *Barcelona Clinic Liver Cancer* (BCLC) staging system

**Tabela 1.** Demografske i epidemiološke karakteristike obolelih od HCC**Table 1.** Demographic and epidemiological characteristics of patients with hepatocellular carcinoma

Karakteristika/Characteristics	Srednja vrednost $\pm$ SD/n (51 bolesnik)/Mean $\pm$ SD/n (51 patients)
Starost/Age	61,6 $\pm$ 10,8
Pol (muški/ženski)/Gender (male/female)	27/24
Trajanje infekcije/Duration of HCV infection	30,2 $\pm$ 11,7
Putevi transmisije utvrđen Mode of HCV transmission confirmed	32
Transfuzija krvi i krvnih derivata Blood transfusion	19
Tetovaža/Tattoo	6
Operacije/Surgery	4
Intravenska upotreba psihoaktivnih supstancija Intravenous drug use	2
Seksualni kontakt/Sexual intercourse	1
Terapija PegIFN+Rbv* Therapy with PegIFN+Rbv*	22
SVR**	1
NR***+Replaps	21

\* PegIFN+Rbv – pegilovani interferon alfa i ribavirin/pegylated interferon alpha and ribavirin; \*\*SVR – stabilni virusološki odgovor/sustained virological response; \*\*\*NR – bolesnici koji nisu odgovorili na terapiju/non-responders; HCV – hepatitis C virus

nije resektabilan, u većini slučajeva do fatalnog ishoda dolazi 3–6 meseci posle otkrivanja HCC [27, 28].

S obzirom na enorman porast incidencije, HCC postaje globalni zdravstveni problem. Cilj rada bio je da se utvrde kliničke karakteristike i terapijske opcije obolelih od hronične HCV infekcije i HCC u okviru HCV lečenih na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine u proteklih 14 godina.

### Materijal i metode

Rad je retrospektivna studija u kojoj su analizirani podaci prikupljeni iz medicinske dokumentacije obolelih od hronične HCV infekcije i HCC lečenih na Klinici za infektivne bolesti u Novom Sadu u periodu od 2000. do 2014. godine. Istraživanje je obuhvatilo 51 pacijenta sa dijagnozom HCC u okviru hronične hepatitis C virusne infekcije. Dijagnoza HCC je postavljena na osnovu laboratorijskih nalaza (vrednosti alfa fetoproteina) i radioloških pretraga (ultrasonografija, CT pregled abdomena sa kontrastom, MRI abdomena sa kontrastom).

Kod svih istraživanjem obuhvaćenih pacijenata analizirani su: pol, uzrast, trajanje HCV infekcije, vrednost AFP, dimenzije i lokalizacija tumo-

ra, prisustvo tromboze vene porte, prisustvo metastatskih fokusa, terapijski režim, kao i period preživljavanja nakon postavljanja dijagnoze HCC.

Dobijeni rezultati prikazani su tabelarno i grafički pomoću *Microsoft Office Excel 2003* programa za statistička i tabelarna izračunavanja i obrađeni su standardnim statističkim metodama.

### Rezultati

Istraživanje je obuhvatilo 51 pacijenta sa dijagnozom HCC u okviru hronične HCV infekcije; 27/51 (52,9%) muškaraca i 24/51 (47,1%) žena, starosnog doba 61,6 (SD = 10,8) godina, od 43 do 76 godina. Prosečno trajanje hronične HCV infekcije iznosilo je 30,2 (SD = 11,7) godine, najkraće 15, a najduže 50 godina. Najčešći put prenošenja HCV infekcije bila je transfuzija krvi i krvnih derivata kod 19/51 (37,2%) bolesnika, a potom tetovaže 6/51 (11,8%), operativni tretmani 4/51 (7,8%), intravenska upotreba narkotika kod 2/51 (3,9%) bolesnika i seksualni put prenosa kod 1/51 (1,9%) bolesnika. Kod 19/51 (37,2%) bolesnika put HCV infekcije nije prepoznat.

Svi bolesnici sa HCC bili su u stadijumu ciroze jetre. Antivirusna terapija je pre otkrivanja HCC (pe-

**Tabela 2.** Stadijum bolesti u momentu postavljanja dijagnoze HCC prema BCLC kriterijumima**Table 2.** Stadium of HCC at the moment of making diagnosis according to BCLC criteria

BCLC klasifikacija/BCLC Classification	n (51 bolesnik)/n (51 patients)
0	0
A	8
B	27
C	10
D	6

gilovani interferon alfa 2a ili 2b plus ribavirin) primenjena kod 22/51 (43,1%) bolesnika, samo kod jednog je postignut stabilni virusološki odgovor (SVR).

Prema BCLC kriterijumima 8/51 (15,7%) bolesnika je u momentu postavljanja dijagnoze ispunjavalo kriterijume za stadijum A (veličina HCC do 3 cm ili su bila prisutna 3 čvora manja od 3 cm), 27/51 (52,3%) stadijumu B (multilokularni tumori veličine preko 3 cm), 10/51 (19,6%) ispunjavalo je kriterijume za stadijum C (invazije v. *portae*), a 6/51 (11,8%) za stadijum D (terminalna bolest).

Srednja vrednost AFP u momentu postavljanja dijagnoze HCC iznosila je 397,56 ng/ml, 26% bolesnika imalo je AFP manji do 20 mg/ml.

Operativno lečenje primenjeno je kod 7/51 (13,7%) od kojih je kod 5/7 (71,4%) došlo do recidiva HCC u narednom periodu praćenja. Radiofrekventna ablacija urađena je kod 2/51 (3,9%) bolesnika, kod 1/2 (50%) došlo je do recidiva u periodu praćenja od 6 meseci. Hemoembolizacija je primenjena kod 1/51 (1,9%) bolesnika; u periodu praćenja od godinu dana nije primećen recidiv HCC. Sistemska hemoterapija (5-fluorouracil/folinic acid - FU/FA) 14 protokola primenjena je samo kod 1/51 (1,9%) bolesnika sa recidivom tumora nakon resekcije. Kadaverična transplantacija jetre urađena je kod 3/51 (5,9%) bolesnika, a u periodu praćenja od 2 do 6 godina nije došlo do recidiva HCC.

Prosečno preživljavanje obolelih nezavisno od primenjenog terapijskog režima iznosilo je 1,39 (SD = 1,61) godina; najkraće 3 meseca, a najduže 6 godina.

## Diskusija

Prve tri decenije XXI veka biće određene enormnim porastom incidencije HCC [10]. Na Klinici za infektivne bolesti HCC utvrđen je kod 51 od 1 900 (2,6%) evidentiranih obolelih sa hroničnim hepatitisom C. Međutim, zapaža se značajan porast dijagnostikovanih HCC u poslednjih 5 godina – od 2000. do 2010. godine dijagnostikivano je 25 slučajeva, a u periodu od 2010. do 2014. godine 26 slučajeva HCC u okviru HCV infekcije. Ovakva tendencija porasta je posledica višedecenijske evolucije postranfuzionih HCV infekcija iz 70-ih i 80-ih godina prošlog veka (37,2% obolelih) [29]. S obzirom da je HCV infekcija danas endemska bolest među mlađom populacijom intravenskih zavisnika od opijata, ekspanzija

njenih terminalnih posledica očekuje se za 20 do 30 godina [30].

Od hroničnog hepatitisa C i HCC češće obolevaju muškarci (2 : 1 do 4 : 1) [27], što se objašnjava nepovoljnim uticajem androgena [31]. U našem istraživanju gotovo da je ujednačen odnos muškaraca i žena (52,9% vs 47,1%), što je posledica uključivanja u studiju obolelih od postranfuzionog hepatitisa C, koji je značajno češći u istraživačkoj grupi kod osoba ženskog pola (transfuzije krvi nakon porođaja i pobačaja pre 1994. godine).

U populacijama sa niskom incidencijom HCV infekcije (Sjedinjene Američke Države, Kanada, Velika Britanija), HCC se najčešće dijagnostikuje kod osoba starijih od 75 godina, dok je u populacijama sa visokim rizikom (Azija, Afrika), vrh starosne krivulje oko 60. godine života [12]. Relativno niska prosečna starost u našem istraživanju od 61,6 (SD 10,8) godina i pored niske prevalencije hronične HCV infekcije (0,5 do 1% bolesnika) [32], proizilazi iz već pomenutih epidemioloških karakteristika. Podatak o prosečnom trajanju HCV infekcije pre nastajanja HCC 30,2 (SD = 11,7) godine u skladu je sa prirodnim tokom HCV infekcije. Od inokulacije HCV do nastanka ciroze jetre potrebno je 15–30 godina [3]. Ukoliko HCV infekcija nastane u kasnijem životnom dobu, posle 40. godine života, evolutivni tok HCC se značajno skraćuje [33]. Zato je kod pojedinih bolesnika zabeležen i značajno kraći period od momenta infekcije do nastanka HCC (15 godina).

Standardna terapija hroničnog hepatitisa C je kombinovana antivirusna terapija pegilovanim interferonom alfa (PEG-IFN $\alpha$ ) 2a ili 2b i ribavirinom, gde su doze i trajanje lečenja određene genotipom HCV i postignutim virusološkim odgovorom u toku terapije [34]. Eradikacija virusa (SVR) postiže se kod 50–80% obolelih [34]. Brojne studije su dokazale da je kod bolesnika kod kojih je postignut SVR niža stopa nastanka HCC [35–38]. Međutim, rizik za razvoj HCC postoji i pored postignutog SVR, naročito kod obolelih sa stadijumom uznapredovale fibroze i ciroze jetre [39]. S druge strane, Alazavi i saradnici su izračunali da se antivirusnom terapijom smanjuje incidencija HCC i kod bolesnika koji nisu dostigli SVR: godišnja stopa pojave HCC iznosila je  $2,52 \pm 0,34$  za one koji su primali terapiju interferonom (IFN), a  $4,79 \pm 0,76$  za nelečene bolesnike ( $P = 0,02$ ) [40]. I

**Tabela 3.** Primenjena terapija u Kliničkom centru Vojvodine  
**Table 3.** Therapy regimen applied at the Clinical Centre of Vojvodina

Terapija/Therapy Options	n (51 bolesnik)/n (51 patients)
Resekcija/Resection	7
RFA*	2
Hemoembolizacija/Chemoembolization	1
Sistemska hemioterapija/Systemic chemotherapy	1
Kadaverična transplantacija jetre/Cadaveric liver transplantation	3

\*Radiofrekventna ablacija/Radiofrequency ablation

druge studije ističu veći značaj regresije fibroze pod dejstvom IFN u odnosu na eradikaciju HCV za smanjenje incidencije HCC [41]. Antivirusnom terapijom pre postavljanja dijagnoze HCC lečeno je 43,1% bolesnika obuhvaćenih istraživanjem. Kod jednog bolesnika je postignuta eradikacija virusa, dok ostali nisu imali zadovoljavajući odgovor na terapiju (*non responders*).

Alfa fetoprotein (AFP) je koristan biomarker HCC [12]. Još uvek je otvoreno pitanje granične vrednosti AFP, novoi do 20 ng/ml pokazuju dobru senzitivnost, ali lošu specifičnost, dok ranije opšteprihvaćeni visoki nivoi od 200 i više ng/ml jesu specifični, ali senzitivnost pada na svega 22% [42]. Kumada i saradnici čak navode da vrednosti AFP iznad 10 ng/ml ukazuju na visok rizik od HCC kod obolelih od HCV pozitivne ciroze jetre [43]. U našem istraživanju 26% obolelih imalo je povišen AFP do 20 ng/ml. Stoga i naše istraživanje podržava rezultate drugih studija da je AFP značajan, ali ne može biti bezuslovni marker za postavljanje dijagnoze HCC, kao ni marker raširenosti tumorskog procesa [21].

Ranije preporuke za aktivan nadzor nad razvojem HCC podrazumevale su UZ kontrole u razmaku od najviše 6 meseci [44–46]. Međutim, samo 15,7% bolesnika je u momentu postavljanja dijagnoze ispunjavalo kriterijume za stadijum A prema BCLC klasifikaciji. Ovakav rezultat potvrđuje ispravnost izmene protokola za bolesnika sa visokim rizikom donesene na EASL 2011 – interval UZ kontrola je 3 meseca, a u slučaju i najmanje sumnje (detektibilna fokalna lezija jetre manja od 1 cm, porast AFP) neophodno je primeniti dodatne dijagnostičke procedure poput četvorofazne CT ili MRI sa dinamičkim kontrastom [12, 21]. Otkrivanje resektabilnih tumora (rani stadijumi BCLC 0 i A) omogućava preživljavanje 50–70% na petogodišnjem nivou [23]. Zakasnela detekcija (BCLC stadijumi B, C i D), što je bio slučaj kod 84,3% bolesnika u našem istraživanju (BCLC B 52,3%, BCLC C 19,6%, BCLC D 11,6%), smanjuje interval preživljavanja na manje od godinu dana [47, 48]. Visok procenat od 11,6% pacijenata obuhvaćenih istraživanjem dijagnostikovanih u stadijumu D, govori i o visokoj stopi obolelih od HCV infekcije koji nisu u sistemu aktivnog nadzora tj. o niskoj obuhvaćenosti populacije testiranjem (skriningom) na HCV infekciju.

Hirurgija je terapijska opcija sa najboljim ishodom – kod bolesnika sa malim, solitarnim tumorima (BCLC 0 i A) i dobro očuvanom jetrenom funkcijom 5-godišnje preživljavanje je 60–80% [49]. Operativno lečenje je primenjeno kod 13,7%. Recidiv HCC javio se kod 71,4% bolesnika, a prosečno vreme preživljavanja bilo je 2,3 godine nakon hiruskog lečenja. Na stopu recidiva i preživljavanje nakon resekcije HCC utiču veličina i broj fokalnih lezija, patohistološke (vaskularna invazija) i molekularne karakteristike tumora, ali i aktivnost HCV infekcija [12, 50]. Kratko preživljavanje i visok po-

stotak recidiva HCC nakon resekcije tumora među našim bolesnicima je pre svega rezultat proširenih kriterijuma za operativno lečenje (resekcija je rađena i kod bolesnika u stadijumu BCLC B) koji su primenjeni zbog ograničenog broja transplantacija jetre u Srbiji.

Transplantacija jetre je prva linija terapije za bolesnike sa jednom promenom do 5 cm u promeru ili 3 promene manje od 3 cm u promeru i uznapredovalom insuficijencijom jetre (primena *Milanskih kriterijuma*) [12, 51]. Smrtnost u okviru 5 godina od transplantacije jetre je 3% i ne razlikuje se od ishoda transplantacije jetre po drugim indikacijama [12, 52]. U Kliničkom centru Vojvodine urađena je 31 kadaverična transplantacija jetre. Kod 3/51 (5,9%) bolesnika indikacija za transplantaciju je bio HCC na osnovi ciroze jetre uzrokovane HCV infekcijom. Svi recipijenti su ispunjavali *Milanske kriterijume*. U periodu praćenja 2–6 godina nije zabeležen recidiv HCC ni kod jednog bolesnika. Najveći problem ove metode je nedovoljan broj donora, zbog čega 20% obolelih od HCC „otpadne“ sa liste čekanja za transplantaciju jetre [53, 54]. Četiri su koncepta prevazilaženja ovog problema: 1) primena principa prioriteta (*Model For End-Stage Liver Diseases* (MELD) Score 24 za tumor manji od 2 cm i 29 za tumor dimenzije od 2 do 5 cm ili 3 tumora manja od 3 cm); 2) primena neoadjuvatne terapije (RFA ili hemoembolizacija kod bolesnika sa očekivanim vremenom do transplantacije dužem od 6 meseci); 3) proširenje kriterijuma za transplantaciju (primena pravila 7 – ukupan zbog dijametra najveće promene i broja manjih lezija jednako 7); 4) transplantacija sa živog donora [12]. U KC Vojvodine se problem nedostatka donora prevazilazi poštovanjem „principa prioriteta“, te primenom lokalne neoadjuvatne ablative terapije. Radiofrekventne ablacije (RFA) je terapija izbora i za bolesnike u BCLC stadijumu 0 i A starije od 65 godina ili sa komorbiditetima koji su kontraindikacije za hiruske intervencije [12]. Ovom metodom je postignuto 5-godišnje preživljavanje 40–70% bolesnika [55]. Radiofrekventna ablacija je urađena kao metoda „premošćavanja“ do transplantacije jetre kod 2/51 (3,9%) bolesnika uključenih u rad. Kod jednog bolesnika je transplantacija jetre urađena posle godinu dana, do sada je praćen 2 godine, ima rekurentni hepatitis C i za sada nema recidiv HCC. Druga bolesnica se godinu dana posle RFA nalazi na listi čekanja za transplantaciju jetre i za sada nema znakova recidiva HCC.

Hemoembolizacija je za sada metoda čija se efikasnost i *cost/benefit* opravdanost ispituje i indikovana je kod bolesnika u BCLC stadijumu B [12, 56]. Urađena je kod 1/51 (1,9%) bolesnika i u periodu praćenja od godinu dana nije primećen recidiv HCC.

Za veliki broj obolelih od HCC u stadijumima tumora BCLC C i D suportativna i sistemska hemioterapija ostaju opcije palijativnog tretmana [57]. Iako je uspeh minimalan i produženje života iznosi do 6 meseci, primenjuju se antaciklini (i.e., doksorubicin),

dok je efekat kombinovane terapije cisplatin, interferon, doksorubicin, i fluorouracil (PIAF) još uvek u fazi ispitivanja [12]. Sistemska hemoterapija (FU/FA 14 protokola) primenjena je samo kod jednog bolesnika sa recidivom tumora nakon resekcije, a period preživljavanja od momenta postavljanja dijagnoze HCC bio je 4 godine.

Razjašnjenje karcinohepatogeneze doprinelo je razvoju molekularne terapije HCC [58]. Sorafenib je inhibitor multikinaze, koji cijano deluje na RAF/MAP/ERK signalni put i dokazano pokazuje anti-proliferativno dejstvo na karcinomske ćelije jetre, redukuje tumorsku angiogenezu i signalne puteve tumorskih ćelija, te povećava apoptozu tumorskih ćelija [59]. Studije su pokazale da je prvi sistemski agens koji će značajno povećati stopu preživljavanja obolelih od HCC [60–63], naročito u okviru HCV infekcije [60]. Prema EASL preporukama iz 2011. godine sorafenib je standardna sistemska terapija indikovana kod bolesnika sa zadovoljavajućom funkcijom jetre (*Child-Pugh Score A*) u BCLC

stadijumu B ili onih kod kojih je došlo do recidiva nakon lokalne terapije (RFA ili hemoembolizacija) [12]. Terapija sorafenibom nije primenjena kod bolesnika obuhvaćenih studijom.

### Zaključak

Prosečno preživljavanje pacijenata obuhvaćenih istraživanjem bilo je kraće od dve godine – 1,39 godina, što je izuzetno niska stopa preživljavanja u odnosu na svetske studije. Razloge pre svega treba tražiti u kasnom otkrivanju, ali i u ograničenoj dostupnosti terapijskih opcija. Aktivan nadzor bolesnika sa cirozom jetre uzrokovane hepatitis C virusom ultrazvučnim pregledom abdomena na svaka tri meseca je obavezan, kao i neodložno razjašnjenje etiologije bilo koje uočene fokalne lezije u jetri. Time će se za početak povećati mogućnost primene dostupnih metoda lečenja – hirurške resekcije, radiofrekventne ablacije, hemoembolizacije i, naravno, transplantacije jetre.

### Literatura

1. ARC. International Agency for Research on Cancer [Internet]. World Health Association. [cited 2011 Nov 1]. Available from: <http://www-dep.iarc.fr>.
2. Ioannou G, Splan M, Weiss N, McDonald G, Beretta L, Lee S. Incidence and predictors of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5:938-45.
3. Zarski JP, Mc Hutchison J, Bronowicki JP, et al. Rate of natural disease progression in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2003;38:307.
4. Gurtsevitch VE. Human oncogenic viruses: hepatitis B and hepatitis C viruses and their role in hepatocarcinogenesis. *Biochemistry (Mosc)* 2008;73:504-13.
5. Selimovic D, El-Khattouti A, Ghozlan H, Haikel Y, Abdelkader O, Hassan M. Hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma: an insight into molecular mechanisms and therapeutic strategies. *World J Hepatol*. 2012;4(12):342-55.
6. Hassan M, Ghozlan H, Abdel-Kader O. Activation of c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) signaling pathway is essential for the stimulation of hepatitis C virus (HCV) non-structural protein 3 (NS3)-mediated cell growth. *Virology*. 2005;333:324-36.
7. Kasprzak A, Adamek A, Przybyszewska W, Olejniczak K, Biczysko W, Mozer-Lisewska I, et al. p21/Waf1/Cipl cellular expression in chronic long-lasting hepatitis C: correlation with HCV proteins (C, NS3, NS5A), other cell-cycle related proteins and selected clinical data. *Folia Histochem Cytobiol*. 2009;47:385-94.
8. He QQ, Cheng RX, Sun Y, Feng DY, Chen ZC, Zheng H. Hepatocyte transformation and tumor development induced by hepatitis C virus NS3 c-terminal deleted protein. *World J Gastroenterol*. 2003;9:474-8.
9. Nguyen H, Mudryj M, Guadalupe M, Dandekar S. Hepatitis C virus core protein expression leads to biphasic regulation of the p21 cdk inhibitor and modulation of hepatocyte cell cycle. *Virology*. 2003;312:245-53.
10. Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla DC, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *J Hepatol*. 2013;58(3):593-608.
11. Esteban JI, Sauleda S, Quer J. The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe. *J Hepatol*. 2008;48(1):148-62.
12. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2012;56:908-43.
13. Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, et al. EASL panel of experts on HCC. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol*. 2001;35:421-30.
14. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2005;42:1208-36.
15. International consensus group for hepatocellular neoplasia. Pathologic diagnosis of early hepatocellular carcinoma: a report of the international consensus group for hepatocellular neoplasia. *Hepatology* 2009;49:658-64.
16. Forner A, Vilana R, Ayuso C, Bianchi L, Solé M, Ayuso JR, et al. Diagnosis of hepatic nodules 20 mm or smaller in cirrhosis: prospective validation of the noninvasive diagnostic criteria for hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008;47:97-104.
17. Silva MA, Hegab B, Hyde C, Guo B, Buckels JA, Mirza DF. Needle track seeding following biopsy of liver lesions in the diagnosis of hepatocellular cancer: a systematic review and meta-analysis. *Gut* 2008;57:1592-6.
18. Lok AS, Seeff LB, Morgan TR, Di Bisceglie AM, Sterling RK, Curto TM, et al. Incidence of hepatocellular carcinoma and associated risk factors in hepatitis C-related advanced liver disease. *Gastroenterology* 2009;136:138-48.
19. Marrero JA, Su GL, Wei W, Emick D, Conjeevaram HS, Fontana RJ, et al. Desgamma carboxyprothrombin can differentiate hepatocellular carcinoma from nonmalignant chronic liver disease in American patients. *Hepatology* 2003;37:1114-21.
20. Di Bisceglie AM, Sterling RK, Chung RT, Everhart JE, Dienstag JL, Bonkovsky HL, et al. HALT-C trial group. Serum alpha-fetoprotein levels in patients with advanced hepatitis C: results from the HALT-C trial. *J Hepatol* 2005;43:434-41.

21. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *American association for the study of liver diseases. Hepatology.* 2011;53(3):1020-2.
22. Pons F, Varela M, Llovet JM. Staging systems in hepatocellular carcinoma. *HPB (Oxford).* 2005;7(1):35-41.
23. Llovet JM, Fuster J, Bruix J. The Barcelona approach: diagnosis, staging, and treatment of hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl.* 2004;10(2 Suppl 1):S115-20.
24. Tazi el M, Essadi I, M'rabti H, Touyar A, Errihani PH. Systemic treatment and targeted therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *N Am J Med Sci.* 2011;3:167-75.
25. Wörns MA, Schuchmann M, Düber C, Otto G, Galle PR, Weinmann A. Sunitinib in patients with advanced hepatocellular carcinoma after progression under sorafenib treatment. *Oncology.* 2010;79:85-92.
26. Bekaii-Saab T, Markowitz J, Prescott N, Sadee W, Heerema N, Wei L, et al. A multi-institutional phase II study of the efficacy and tolerability of lapatinib in patients with advanced hepatocellular carcinomas. *Clin Cancer Res.* 2009;15: 5895-901.
27. Italian association for the study of the liver (AISF). Position paper of the Italian Association for the Study of the Liver (AISF): the multidisciplinary clinical approach to hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis.* 2013;45:712-23.
28. Wigg AJ, McCormick R, Wundke R, Woodman RJ. Efficacy of a chronic disease management model for patients with chronic liver failure. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013; 11(7):850-8.
29. Fabri M, Klačnja B, Ružić M, Pobor M, Preveden T. Epidemiološke karakteristike hepatitis C virusne infekcije anti-HCV pozitivnih osoba lečenih u klinici za infektivne bolesti u Novom Sadu. *Acta Infectologica Iugoslavica.* 2003;8:19-24.
30. Ružić M, Fabri M, Klačnja B, Pobor M, Švarc D, Jovelčić A, et al. Efikasnost kombinovane antivirusne terapije pegilovanim interferonom alfa 2a i ribavirinom u lečenju hroničnog hepatitisa C kod intravenskih zavisnika od opijata. *Srp Arh Celok Lek.* 2010;138(1-2):43-9.
31. Yeh SH, Chen PJ. Gender disparity of hepatocellular carcinoma: the roles of sex hormones. *Oncology.* 2010;78(1):172-9.
32. Bojovic K, Simonovic J, Katanic N, Milosevic I, Pesic I, Delic D, et al. The comparison of chronic hepatitis C treatment outcome between intravenous drug users and non-intravenous drug users. *Biomed Pharmacother.* 2013;67(6):517-20.
33. Zalesak M, Francis K, Gedeon A, Gillis J, Hvidsten K, Kidder P, et al. Current and future disease progression of the chronic HCV population in the United States. *PLoS One.* 2013;8(5):e63959. [PubMed PMID: 23704962.](#)
34. EASL clinical practice guidelines: management of hepatitis C infection. *J Hepatol.* 2014;60:392-420.
35. George SL, Bacon BR, Brunt EM, Mihindukulasuriya KL, Hoffmann J, Di Bisceglie Clinical, virologic, histologic, and biochemical outcomes after successful HCV therapy: a 5-year follow-up of 150 patients. *Hepatology.* 2009;49(3):729-38.
36. Akuta N, Suzuki F, Suzuki Y, Sezaki H, Hosaka T, Somiya T, et al. Long-term follow-up of interferon monotherapy in 454 consecutive naive patients infected with hepatitis C virus: multi-course interferon therapy may reduce the risk of hepatocellular carcinoma and increase survival. *Scand J Gastroenterol.* 2005;40:688-96.
37. Imazeki F, Yokosuka O, Fukai K, Saisho H. Favorable prognosis of chronic hepatitis C after interferon therapy by long-term cohort study. *Hepatology.* 2003;38:493-502.
38. Ikeda M, Fujiyama S, Tanaka M, Sata M, Ide T, Yatsushashi H, et al. Risk factors for development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C after sustained response to interferon. *J Gastroenterol.* 2005;40:148-56.
39. Aleman S, Rahbin N, Weiland O, Davidsdottir I, Hendenstierna M, Rose N, et al. A Risk of hepatocellular carcinoma persist long-term after sustained virological response in patients with hepatitis C: associated liver cirrhosis. *Clin Infect Dis.* 2013;57(2):230-6.
40. Alazawi W, Cunningham M, Dearden J, Foster GR. Systematic review: outcome of compensated cirrhosis due to chronic hepatitis C infection. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;32(3):344-55.
41. Pradat P, Tillmann HL, Sauleda S, Braconnier JH, Saracco G, Thursz M, et al. Long-term follow-up of the hepatitis C HENCORE cohort: response to therapy and occurrence of liver-related complications. *J Viral Hepat.* 2007;14:556-63.
42. Trevisani F, D'Intino PE, Morselli-Labate AM, Mazzella G, Accogli E, Caraceni P, et al. Serum alpha-fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease: influence of HbsAg and anti-HCV status. *J Hepatol.* 2001;34:570-5.
43. Kumada T, Toyoda H, Kiriya S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, et al. Predictive value of tumor markers for hepatocarcinogenesis in patients with hepatitis C virus. *J Gastroenterol.* 2011;46(4):536-44.
44. Barbara L, Benzi G, Gaiani S, Fusconi F, Zironi G, Siringo S, et al. Natural history of small untreated hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a multivariate analysis of prognostic factors of tumor growth rate and patient survival. *Hepatology.* 1992;16:132-7.
45. Ebara M, Ohto M, Shinagawa T, Sugiura N, Kimura K, Matsutani S, et al. Natural history of minute hepatocellular carcinoma smaller than three centimetres complicating cirrhosis. A study in 22 patients. *Gastroenterology.* 1986;90:289-98.
46. Sheu JC, Sung JL, Chen DS, Yang PM, Lai MY, Lee CS, et al. Growth rate of asymptomatic hepatocellular carcinoma and its clinical implications. *Gastroenterology.* 1985;89:259-66.
47. Llovet JM, Bustamante J, Castells A, Vilana R, Ayuso Mdel C, Sala M, et al. Natural history of untreated nonsurgical hepatocellular carcinoma: rationale for the design and evaluation of therapeutic trials. *Hepatology.* 1999;29:62-7.
48. Cabibbo G, Enea M, Attanasio M, Bruix J, Craxi A, Cammà C. A meta-analysis of survival rates of untreated patients in randomized clinical trials of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2010;51:1274-83.
49. Llovet JM, Schwartz M, Mazzaferro V. Resection and liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis.* 2005;25:181-200.
50. Roayaie S, Blume IN, Thung SN, Guido M, Fiel MI, Hiotis S, et al. A system of classifying microvascular invasion to predict outcome after resection in patients with hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2009;137:850-5.
51. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med.* 1996;334:693-9.
52. Mazzaferro V, Bhoori S, Sposito C, Bongini M, Langer M, Miceli R, et al. Milan criteria in liver transplantation for HCC: an evidence-based analysis on 15 years of experience. *Liver Transpl.* 2011;17:Suppl 2:S44-57.

53. Yao FY, Ferrell L, Bass NM, Watson JJ, Bacchetti P, Venook A, et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: expansion of the tumor size limits does not adversely impact survival. *Hepatology*. 2001;33:1394-403.

54. Clavien PA, Lesurtel M, Bossuyt PM, Gores GJ, Langer B, Perrier A, et al. Recommendations for liver transplantation for hepatocellular carcinoma: an international consensus conference report. *Lancet Oncol*. 2012;13:e11-22. Pub Med PMID: 22047762.

55. Lencioni R, Cioni D, Crocetti L, Franchini C, Pina CD, Lera J, et al. Early-stage hepatocellular carcinoma in cirrhosis: long-term results of percutaneous image-guided radiofrequency ablation. *Radiology*. 2005;234:961-96.

56. Stefan-Mikić S, Sević S, Doder R, Cvjetković D, Jovanović N, Ružić M. Implementation influence of antibiotic prescribing guidelines on their usage and costs of therapy. *HealthMED*. 2011;5(6):1710-8.

57. Bruera G, Cannita K, Giordano AV, et al. Multidisciplinary management of hepatocellular carcinoma in clinical practice. *Biomed Res Int*. 2014;2014:806391. Epub 2014 May 8.

58. Farazi PA, DePinho RA. Hepatocellular carcinoma pathogenesis: from genes to environment. *Nat Rev Cancer*. 2006;6:674-87.

Rad je primljen 14. X 2014.

Recenziran 24. XI 2014

Prihvaćen za štampu 25. XI 2014.

BIBLID.0025-8105:(2014):LXVII:(Supl 2):31-38.

59. Wilhelm SM, Adnane L, Newell P, Villanueva A, Llovet JM, Lynch M. Preclinical overview of sorafenib, a multikinase inhibitor that targets both Raf and VEGF and PDGF receptor tyrosine kinase signaling. *Mol Cancer Ther*. 2008;7:3129-40.

60. Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, et al. SHARP Investigators Study Group. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*. 2008;359:378-90.

61. Abou-Alfa GK, Schwartz L, Ricci S, Amadori D, Santoro A, Figuer A, et al. Phase II study of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol*. 2006;24:4293-300.

62. Cheng AL, Kang YK, Chen Z, Tsao CJ, Qin S, Kim JS, et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol*. 2009;10:25-34.

63. Kim JE, Ryoo BY, Ryu MH, Chang HM, Suh DJ, Lee HC, et al. Sorafenib for hepatocellular carcinoma according to Child–Pugh class of liver function. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2011;68:1285-90.

Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Novi Sad, Srbija<sup>1</sup>  
Klinički centar Vojvodine, Klinika za infektivne bolesti<sup>2</sup>

UDK 616.36-002-036.1-053.9  
DOI: 10.2298/MPNS14S2039P

## KLINIČKO-EPIDEMIOLOŠKE KARAKTERISTIKE HRONIČNOG HEPATITISA C KOD OSOBA STARIJEG ŽIVOTNOG DOBA

### CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CHRONIC HEPATITIS C VIRUS INFECTION IN ELDERLY PATIENTS

Tomislav PREVEDEN<sup>1,2</sup>, Miloš VUJANOVIĆ<sup>2</sup>, Maja RUŽIĆ<sup>1,2</sup>, Nadica KOVAČEVIĆ<sup>1,2</sup>,  
Radoslava DODER<sup>1,2</sup> i Slavica TOMIĆ<sup>1,2</sup>

#### Sažetak

**Uvod.** Hronična hepatitis C virusna infekcija u starijem životnom dobu nije mnogo proučavana iako se očekuje porast prevalencije ove bolesti u starijoj populaciji. **Materijal i metode.** U radu su prikazane kliničko-epidemiološke karakteristike hroničnog hepatitisa kod 153 bolesnika starosti 65 i više godina, lečenih na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu. **Rezultati.** Nešto zastupljenije su bile osobe ženskog pola – 55,55%; hepatitis C virusna infekcija je najčešće otkrivena slučajno, prilikom drugih pregleda, i najčešće je stečena postranzuzijom – u 42,48% slučajeva. Prosečna dužina trajanja infekcije bila je 28,48 godina; ubedljivo najčešće je bila izazvana genotipom 1 hepatitisa C virusa i patohistološkim pregledom biopsije jetre se najčešće radilo o teškoj fibrozi i cirozi – 72,22% slučajeva. Uspeh antivirusne terapije primenjene kod 16 bolesnika iznosio je 62,5%. **Zaključak.** Antivirusna terapija se kod osoba starijeg životnog doba retko primenjuje, ali uspeh od 62,5% u našem uzorku ukazuje na opravdanu primenu terapije uprkos starosti i komorbiditetima.

**Ključne reči:** Hronični hepatitis C; Znaci i simptomi; Stari ljudi; Stari ljudi, 80 i više godina; Epidemiologija; Biopsija; Ciroza jetre; Antivirusna terapija

#### Summary

**Introduction.** Chronic hepatitis C virus infection in elderly people has not been widely studied although an increase in the prevalence of this disease in the older population is expected. **Material and Methods.** This work presents the clinical and epidemiological characteristics of chronic hepatitis C in 153 patients aged 65 years and older who were treated at the Department of Infectious Diseases, Clinical Center of Vojvodina in Novi Sad. **Results.** Hepatitis C virus infection is slightly more prevalent in women – 55.55%; it is usually discovered accidentally during other examinations and is usually acquired after blood transfusion – 42.48% of cases. The average duration of infection was 28.48 years, the most common infection was caused by genotype 1 of the hepatitis C virus and histopathological examinations of liver biopsy usually revealed severe fibrosis and cirrhosis – 72.22% of cases. The success of the antiviral therapy applied in 16 patients was 62.50%. **Conclusion.** Antiviral therapy in elderly people is rarely used, but the success of 62.50% in our sample justifies the treatment of patients despite their age and comorbidities.

**Key words:** Hepatitis C, Chronic; Signs and Symptoms; Aged; Aged, 80 and over; Epidemiology; Biopsy; Diagnosis; Liver Cirrhosis; Antiviral Agents

#### Uvod

Kako životni vek nastavlja da se produžava, stariji pacijenti predstavljaju sve veći deo populacije, u kojoj hronični virusni hepatitisi i njihove komplikacije kao što su ciroza jetre i hepatocelularni karcinom (HCC) predstavljaju sve značajniji zdravstveni problem. Hronični hepatitis C ima neke jedinstvene kliničke karakteristike kod starijih osoba, gde je zbog određenih fizioloških zbivanja u starosti, veće prevalencije komorbiditetnih stanja i veće kumulativne ekspozicije hepatotoksinima iz okruženja tokom života, ishod hronične upale jetre često nepovoljan. Kada se tome doda prognoza da će takozvana „bejbi bum“ generacija rođena između 1946. i 1964. godine sa povišenom prevalencijom hronične hepatitis C virusne infekcije uskoro predstavljati značajan udeo starije populacije u svetu, upoznavanje sa epidemiološko-kliničkim odlikama hepatitisa C kod starih osoba ima veliki značaj u boljem razumevanju i tretmanu ove bolesti.

nje sa epidemiološko-kliničkim odlikama hepatitisa C kod starih osoba ima veliki značaj u boljem razumevanju i tretmanu ove bolesti.

Smatra se da između 130 i 170 miliona ljudi u svetu ima hronični virusni hepatitis C, da prevalencija anti-HCV pozitivnosti u opštoj populaciji u Evropi varira zavisno od regiona između 0,12% (Belgija) i 3,23% (Rumunija) [1, 2]. U nedostatku preciznih i sveobuhvatnih epidemioloških podataka za našu zemlju, navodi se da je u Srbiji prevalencija anti-HCV antitela u opštoj populaciji 1,5% [3]. Prevalencija hepatitisa C je najveća u populaciji intravenskih korisnika opijata, gde se kreće 50–83,2%, dok kod osoba starijih od 65 godina prevalencija iznosi oko 1% [2, 4]. Faktori rizika za hepatitis C infekciju u starosti su transfuzije krvi i krvnih produkata pre 1994. u našoj zemlji, a 1992. godine u zemljama Zapadne Evrope: boravak u vojsci, intra-



**Skraćenice**

HCV	– hepatitis C virus
HCC	– hepatocelularni karcinom
Anti-HCV	– antititela na hepatitis C virus
PCR	– <i>polymerase chain reaction</i>
RNA	– ribonukleinska kiselina
HBV	– hepatitis B virus
HIV	– virus humane imunodeficijencije

venska narkomanija, tetovaže, hemodijaliza i rad u zdravstvenoj službi. Hepatitis C se kod osoba starijeg životnog doba najčešće otkriva slučajno, tokom nekih drugih pregleda i ispitivanja, a infekcija najčešće traje duže od 20 godina. Udeo osoba inficiranih genotipom 1 hepatitisa C virusa (HCV), koji je patogeniji u odnosu na druge genotipove, raste sa starošću, što uz kumulativni uticaj alkohola i drugih hepatotoksina tokom života i koinfekcija drugim hepatotropnim virusima tokom života, dovodi do toga da osobe starijeg životnog doba imaju izraženiju fibrozu jetre ili već cirozu, što otežava i smanjuje uspeh lečenja [5]. Čak do 90% osoba sa hroničnom HCV infekcijom nisu svesne postojanja ove bolesti zbog njenog asimptomatskog toka, što je razlog kasnog otkrivanja bolesti i pojave uznapredovalih formi bolesti kao što su ciroza jetre i HCC kada je uspeh antivirusne terapije umanjen ili onemogućen. Uspeh standardne antivirusne terapije (kombinacija pegilovanog interferona i ribavirina) iznosi oko 50% za genotip 1 HCV i oko 80% za genotipe 2 i 3. Primenom novih antivirusnih lekova iz grupe proteaznih inhibitora kao što su boceprevir i telaprevir, uspeh lečenja kod infekcije genotipom 1 HCV povećava se na 75% [6]. O uspehu antivirusne terapije kod osoba starijeg životnog doba ima malo podataka u literaturi jer je kod njih primena antivirusne terapije često ograničena ili onemogućena zbog toga što se starost smatra lošim pokazateljem uspeha antivirusne terapije. U mnogim studijama je dokazano da je starost veća od 40 godina loš pokazatelj uspeha antivirusne terapije, a osobe starije od 65 godina su često bile i isključene iz ovih studija [7, 8]. U novije vreme, boljim razumevanjem bolesti, prevazilaženjem neželjenih efekata antivirusne terapije i multidisciplinarnim pristupom u lečenju komorbiditeta, osobe starijeg životnog doba sve više se uključuju u lečenje, te se pojavljuju radovi koji ukazuju da starost nije negativan pokazatelj efikasnosti antivirusne terapije, te da uspeh lečenja starije populacije nije značajno manji nego kod mlađih osoba [9–11].

**Materijal i metode**

Retrospektivnom studijom preseka obuhvaćeno je 1 962 pacijenta sa hroničnom HCV koji su evidentirani i lečeni u periodu 2000–2013. godine na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine u Novom Sadu. Posebno je izdvojena grupa od 153 bolesnika starih 65 ili više godina kod kojih su analizirani demografski, epidemiološki i klinički podaci o bolesti. Dijagnoza hronič-

ne hepatitisa C virusne infekcije je postavljena na osnovu pozitivnih anti-HCV antitela i povišenih vrednosti aktivnosti aminotransferaza u trajanju od najmanje šest meseci, dok je kod manjeg broja pacijenata urađen *polymerase chain reaction* (PCR) test i biopsija jetre. U studiju nisu uključeni pacijenti sa koinfekcijom sa hepatitis B virusom (HBV) i virusom humane imunodeficijencije (HIV).

Epidemiološkom anketom dobijeni su podaci o mogućem načinu i vremenu zaražavanja, na osnovu čega je određena dužina trajanja HCV infekcije, evidentiran je način otkrivanja infekcije na osnovu uputnice, priložene medicinske dokumentacije i iskaza ispitanika. PCR HCV RNA kvantitativna, kvalitativna analiza i genotipizacija HCV rađena je u virusološkoj laboratoriji Instituta za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije u Beogradu i u virusološkoj laboratoriji KCV u Novom Sadu, kvalitativni test: *Cobas AmpliCor HCV Test version 2.0* (Roche Diagnostics, Menheim), osetljivost: 50 IU/ml i kvantitativni test: *Cobas AmpliCor HCV Monitor test version 2.0* (Roche Diagnostics, Menheim), osetljivost: 600 IU/ml. Genotipizacija HCV je rađena u virusološkoj laboratoriji Instituta sa infektivne i tropske bolesti u Beogradu, *Linear Array HCV genotyping test* (Roche Diagnostics).

Patohistološki pregled biopтата jetre rađen je na Institutu za patologiju i histologiju KCV u Novom Sadu, za određivanje nekroinflamatorne aktivnosti i stepena fibroze korišćen je Knodelov modifikovan numerički skor.

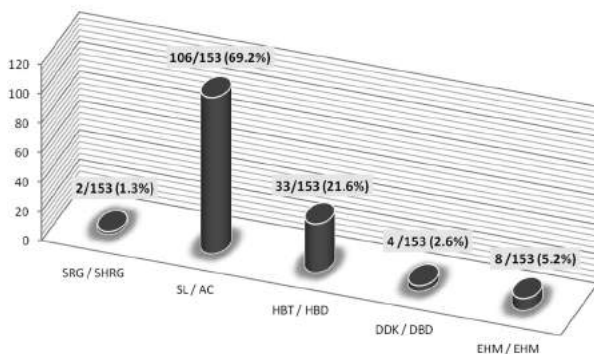
Statistička obrada podataka izvršena je statističkim paketom i programom *SPSS ver. 13.0*. Od parametrijskih testova za numerička obeležja korišćen je Studentov t-test i *ANOVA* test (analiza varijanse), a za neparametrijske  $\chi^2$  test, Fišerov ili Mann-Whitnijev test. Za sve testove statističke značajnosti nivo poverenja iznosio je  $p < 0,05$ .

**Rezultati**

Istraživanjem je obuhvaćeno ukupno 1 962 bolesnika sa hroničnom infekcijom HCV, od kojih je 153 bolesnika imalo 65 ili više godina (7,79%). Ova grupa je nazvana „65+“, te su demografski i kliničko-epidemiološki podaci za ovu grupu posebno analizirani i upoređivani sa ostatkom grupe, tj. bolesnicima mlađim od 65 godina nazvanim „Ostali“. Što se tiče polne strukture, u grupi bolesnika „65+“ bile su zastupljenije osobe ženskog pola – 55,55% (85/153), dok su u grupi „Ostali“ to bile osobe muškog pola – 68,15% (1 233/1 809).

Prikupljanjem podataka o načinu otkrivanja hronične infekcije HCV, utvrđeno je da je u grupi „65+“ bolest najčešće otkrivena slučajno, bolesnici se nisu žalili na bilo kakve tegobe koje bi mogle ukazivati na hronični hepatitis C, već je tokom drugih pregleda uočena povišena aktivnost aminotransferaza i nađena anti-HCV seropozitivnost, ili je anti-HCV seropozitivnost otkrivena u okviru priprema za operativni zahvat, smeštaj u domove i

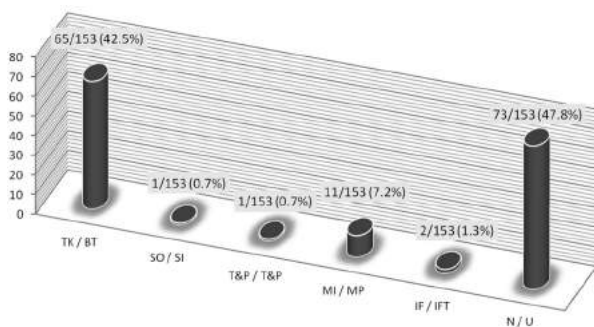
ustanove za stara lica i dr. Takvih bolesnika kod kojih je hepatitis C otkriven slučajno, bilo je oko 2/3, odnosno 69,28% (106/153). Kod oko 1/5 bolesnika, odnosno 33/153 (21,56%) hronični hepatitis C otkriven je jer su se bolesnici žalili na hepatobilijarne tegobe. Kod 8 bolesnika (5,22%) bolest je otkrivena preko postojanja ekstrahepatičnih manifestacija bolesti, kod 4 bolesnika (2,61%) testiranjem prilikom dobrovoljnog davanja krvi i kod 2 pacijenta testiranjem rizičnih grupa (1,3%). Način otkrivanja hronične hepatitis C virusne infekcije prikazan je na **Grafikonu 1**.



**Grafikon 1.** Način otkrivanja HCV infekcije (SRG – skrining rizičnih grupa, SL – slučajno, HBT – hepatobilijarne tegobe, DDK – dobrovoljno davanje krvi, EHM – ekstrahepatične manifestacije)

**Graph 1.** The method of detecting HCV infection (SHRG - Screening of high-risk groups, AC - accidentally, HBD - hepatobiliary disorders, DBD - during blood donation, EHM - extrahepatic manifestation)

U grupi bolesnika „65+“ najčešći način zaražavanja prema dobijenim podacima bio je preko transfuzije krvi – kod 65 bolesnika (42,48%), znatno



**Grafikon 2.** Način zaražavanja HCV infekcijom (TK – transfuzija krvi, SO – seksualni odnos, T&P – tetovaže i pirsing, MI – medicinske intervencije, IF – intrafamilijarno, N – nepoznato)

**Graph 2.** The mode of HCV infection (BT - blood transfusion, SI - sexual intercourse, T&P - tattoo & piercings, MP - medical procedures, IFT - intrafamilial transmission, U - unknown)

redi načini zaražavanja bio je prilikom medicinskih intervencija – 7,12% (11/153), zatim interfamilijarnim kontaktom sa osobom zaraženom hepatitisom C kod 2 osobe (1,31%), te prilikom tetovaže kod jedne osobe (0,65%) i jedne osobe putem nezaštićenog seksualnog odnosa (0,65%). Kod nešto manje od polovine bolesnika – 47,71% (73/153), način zaražavanja HCV bio je nepoznat. Način zaražavanja HCV prikazan je na **Grafikonu 2**.

U grupi bolesnika „Ostali“ najčešći način zaražavanja virusom hepatitis C bio je putem intravenske upotrebe opijata – 51,24% (927/1809).

Dužina trajanja infekcije HCV utvrđena je kod 84 bolesnika (54,90%), dok je kod 69 bolesnika ostala neutvrđena (45,09%). Kod 84 bolesnika sa utvrđenom dužinom hepatitis C virusne infekcije, prosečno trajanje infekcije bilo je 28,48 godina (SD 16,31). To je bilo statistički značajno duže u odnosu na grupu „Ostali“, gde je prosečna dužina trajanja infekcije bila 11,33 godine (SD 9,85), ( $p < 0,0001$ ).

Biopsija jetre urađena je kod 36 bolesnika u grupi „65+“, te je patohistološkim pregledom jetre utvrđeno postojanje izražene/teške fibroze (F3-4) kod 72,22% bolesnika (26/36), dok je bez fibroze ili sa blagom/umerenom fibrozom (F0-2) bilo 27,77% bolesnika (10/36). U odnosu na grupu „Ostali“, grupa bolesnika „65+“ imala je statistički značajno više bolesnika sa izraženom/teškom fibrozom, 72,22% vs 20,74% ( $p < 0,05$ ).

Genotip HCV utvrđen je kod 23 bolesnika grupe „65+“ i ubedljivo se najčešće radilo o genotipu 1 HCV, koji je utvrđen kod 82,6% bolesnika (19/23). To je bilo statistički značajno češće nego u grupi „Ostali“, gde je genotip 1 HCV utvrđen kod 60,69% bolesnika ( $p = 0,040537$   $p < 0,05$ ).

Standardna dvojna antivirusna terapija (pegilovani interferon + ribavirin) primenjena je kod svega 10,45% bolesnika u grupi „65+“ (16/153) i ona je bila uspešna kod 10 bolesnika (62,50%). To je bilo manje, ali ne statistički značajno u odnosu na grupu „Ostali“, gde je uspeh lečenja postignut kod 75,52% bolesnika ( $p = 0,250863$ ,  $p > 0,05$ ). Navedeni rezultati su prikazani u **Tabeli 1**.

## Diskusija

Tokom poslednje decenije znanje o patogenezi, kliničkom toku i terapiji hroničnog hepatitis C značajno je poraslo, ali je malo podataka o toku bolesti i terapiji ove bolesti kod starije populacije. Međutim, u naredne dve decenije očekuje se porast značaja infekcije HCV u starijoj populaciji kako u zapadnim zemljama tako i kod nas. Hronične infekcije su preovlađujuće u starijoj populaciji i mogu biti mnogo teže nego u mlađoj populaciji, a broj osoba sa hroničnim oboljenjem jetre i samim tim sa hroničnim hepatitisom C biće u porastu. Većina starijih osoba sa hroničnim hepatitisom C infekciju je stekla u mlađem životnom dobu, te se kod njih ova infekcije prezentuje sa komplikacijama hronične bolesti jetre, kao što su ciroza jetre i hepatocelularni karcinom.

**Tabela 1.** HCV infekcija – uporedne karakteristike grupe „65+“ i „Ostali“  
**Table 1.** HCV infection - comparative characteristics of the group “65 +” and “Others”

	“65+”	Ostali/Others	p
Pol/Gender	Ženski/Female 55,55% (85/153)	Muški/Male 68,15% (1233/1809)	
Najčešći način otkrivanja Most common way of detecting	Slučajno/Accidentally 69,28% (106/153)	Testiranje rizičnih grupa Testing of high-risk groups 57,07% (1032/1809)	
Najčešći način zaražavanja Most common mode of infection	Transfuzijom/Blood transfusion 42,48% (65/153)	Intravenska narkomanija Intravenous drug abuse 51,24% (927/1809)	
Dužina trajanja infekcije (godine) Duration of infection (years)	28,48 (SD 16,31)	11,33 (SD 9,85)	p < 0,001
Izražena i teška fibroza (F3-4) Prominent and severe fibrosis (F3-4)	72,22% (26/36)	20,74% (195/940)	p < 0,05
Genotip 1 HCV/Genotype 1 HCV	82,60% (19/23)	60,69% (752/1239)	p < 0,05
Uspeh antivirusne terapije Success of antiviral therapy	62,50% (10/16)	75,52% (648/858)	p > 0,05

Uprkos tome što je incidencija akutnog hepatitisa C u starijem životnom dobu u padu, prevalencije hroničnog hepatitisa C u tom dobu je u porastu.

U našem uzorku od 153 bolesnika sa hroničnim hepatitisom C, starih 65 ili više godina, zastupljenije su bile osobe ženskog pola – 55,55%. U ukupnom broju obolelih od hroničnog hepatitisa C zastupljeniji je muški pol, kako kod nas, tako i u radovima drugih autora [12–14]. Međutim, kod osoba starijeg životnog doba sa hroničnim hepatitisom C zastupljeniji je ženski pol, što se može objasniti nešto dužim prosečnim životnim vekom osoba ženskog pola; ovakav rezultat je dobijen u radu brazilskih autora koji su proučavali hepatitis C kod osoba starih 60 ili više godina gde je ženski pol bio zastupljen u 61,7% slučajeva [15].

Način otkrivanja hroničnog hepatitisa C nije proučavan kod drugih autora, ali smatramo da je važan podatak da se u našem uzorku kod osoba starih 65 ili više godina, ova bolest najčešće otkriva slučajno (69,28%), što ukazuje na činjenicu da se na hepatitis C znatno češće misli u mlađem i srednjem životnom dobu. Najčešći je posttransfuzioni način sticanja hepatitisa C virusne infekcije kod osoba starijeg životnog doba koji je u našem uzorku činio 42,48% slučajeva, što je u skladu sa podacima iz literature, dok se kod osoba mlađeg i srednjeg životnog doba ova infekcija najčešće stiče inokulacijom tj. intravenskim korišćenjem opijata [15–17]. Kod osoba starijeg životnog doba hepatitis C virusna infekcija značajno duže traje nego kod osoba srednjeg i mlađeg životnog doba; u našem uzorku prosečno 28,48 godina naspram 11,33 godine kod mlađih, te je samim tim veća mogućnost za prisustvo komplikacija kao što su terminalna ciroza jetre i hepatocelularni karcinom. Biopsijom jetre i patohistološkim pregledom tkiva jetre kod 36 bolesnika u našem uzorku starosti

65 i više godina, utvrđeno je prisustvo uznapredovale fibroze ili ciroze jetre u najvećem broju uzorka – 72,22%. To ukazuje na teži oblik bolesti kod starije populacije u odnosu na mlađu i u skladu je sa podacima iz literature [18, 19]. Kod osoba starih 65 ili više godina u našem uzorku dominira infekcija genotipom 1 hepatitis C virusa, nađena kod 82,6% bolesnika. Ovo je nepovoljnija forma hroničnog hepatitisa C koja je teža za lečenje i koja daje teže patohistološke promene u jetri, što je potvrđeno i u radovima drugih domaćih autora [20–22]. Na kraju, mali broj bolesnika starih 65 ili više godina lečenih antivirusnom terapijom imao je uspeh lečenja od 62,5% što je bilo manje nego u ukupnom uzorku, gde je terapija bila uspešna u 75,52% slučajeva. Kada se uzme u obzir da su starost veća od 40 godina, izražena ili teška fibroza jetre i genotip 1 HCV, koji su loši pokazatelji uspešnosti antivirusne terapije bili dominantno prisutni kod naših bolesnika starih 65 i više godina, onda je razumljivo zašto je uspeh lečenja manji nego kod mlađih osoba, a ovakav rezultat se potvrdili i drugi autori [23, 24].

### Zaključak

Hronični hepatitis C je sve prisutniji kod osoba starijeg životnog doba. Najčešće se stiče transfuzijom krvi i krvnih derivata u mlađem životnom dobu, samim tim infekcija dugo traje, daje teže promene u jetri predstavljene teškom fibrozom i cirozom. Izazvana je najčešće genotipom 1 hepatitis C virusa. Antivirusna terapija se kod osoba starijeg životnog doba retko primenjuje, ali uspeh od 62,50% u našem uzorku daje nadu da će uz dobru selekciju pacijenata i primenu trojne antivirusne terapije ovaj uspeh biti veći, a lečenje opravdano.

### Literatura

1. Hatzakis A, Wait S, Bruix J, Buti M, Carballo M, et al. The state of hepatitis B and C in Europe: report from the hepatitis B and C summit conference. *J Viral Hepat.* 2011;Suppl 1:S1-16.
2. Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology.* 2013;57(4):1333-42.
3. Hatzakis A, Van Damme P, Alcorn K, Gore C, Benazouz M, et al. The state of hepatitis B and C in the Mediterranean and Balkan countries: report from a summit conference. *J Viral Hepat.* 2013;20 Suppl 2:S1-20.
4. Mindikoglu AL, Miller RR. Hepatitis C in the elderly: epidemiology, natural history, and treatment. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2009;7(2):128-34.
5. Carrion AF, Martin P. Viral hepatitis in the elderly. *Am J Gastroenterol.* 2012;107(5):691-7.
6. European Association for Study of Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;60(2):392-420.
7. Marcus EL, Tur-Kaspa R. Chronic hepatitis C virus infection in older adults. *Clin Infect Dis.* 2005;41(11):1606-12.
8. Zhu Y, Chen S. Antiviral treatment of hepatitis C virus infection and factors affecting efficacy. *World J Gastroenterol.* 2013;19(47):8963-73.
9. Nishikawa H, Iguchi E, Koshikawa Y, Ako S, Inuzuka T, et al. The effect of pegylated interferon-alpha2b and ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C infection in elderly patients. *BMC Res Notes.* 2012 Mar 10;5:135. doi: 10.1186/1756-0500-5-135. PubMed PMID: 22405406.
10. Frei P, Leucht AK, Held U, Kofmehl R, Manser CN et al. Elderly age is not a negative predictive factor for virological response to therapy with pegylated interferon- $\alpha$  and ribavirin in chronic hepatitis C virus patients. *Liver Int.* 2014;34(4):551-7.
11. Kim HI, Kim IH, Jeon BJ, Lee S, Kim SH et al. Treatment response and tolerability of pegylated interferon- $\alpha$  plus ribavirin combination therapy in elderly patients ( $\geq 65$  years) with chronic hepatitis C in Korea. *Hepat Mon.* 2012;12(7):430-6.
12. Averbhoff FM, Glass N and Holtzman D. Global burden of hepatitis C: considerations for healthcare providers in the United States. *Clin Infect Dis.* 2012;55(Suppl1):S10-S15.
13. Jacobson IM, Davis GL, El-Serag H, Negro F, Treppe C. Prevalence and challenges of liver diseases in patients with  
Rad je primljen 14. X 2014.  
Recenziran 24. XI 2014  
Prihvaćen za štampu 25. XI 2014.  
BIBLID.0025-8105:(2014):LXVII:(Suppl 2):39-43.
- chronic hepatitis C virus infection. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2010;8:924-33.
14. Fabri M, Klačnja B, Ružić M, Pobor M, Preveden T. Epidemiološke karakteristike hepatitis C virusne infekcije anti-HCV pozitivnih osoba lečenih u Klinici za infektivne bolesti u Novom Sadu. *Acta Infectol Yugosl.* 2003;8:19-24.
15. Martins T, de Paula Machado DFG, Schuelter-Trevisol F, Trevisol DJ, e Silva RAV, Narciso-Schiavon JL, et al. Prevalence and factors associated with HCV infection among elderly individuals in a southern Brazilian city. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2013;46(3):281-7.
16. Raptopoulou M, Touloumi G, Tzourmakliotis D, Nikolopoulou N, Giannoulis G, et al. Significant epidemiological changes in chronic hepatitis C infection: results of the nationwide HEPNET-GREECE cohort study. *Hippokratia.* 2011; 15(1):26-31.
17. Hartleb M, Gutkowski K, Zejda JE, Chudek J, Wiecek A. Serological prevalence of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection in the elderly population: polish nationwide survey-PolSenior. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2012;24(11):1288-95.
18. Delić D, Nešić Z, Prostran M, Boričić I, Tomanović N, et al. Histopatološke manifestacije hroničnog hepatitis C u odnosu na genotipove virusa. *Vojnosanit Pregl.* 2006;63(9):819-25.
19. de Oliveira AC, Bortotti AC, Nunes NN, El Bacha IA, Parise ER. Association between age at diagnosis and degree of liver injury in hepatitis C. *Braz J Infect Dis.* 2014;18(5):507-11.
20. Švrtlih N, Delić D, Simonović J, Jevtović Dj, Dokic Lj, et al. Hepatitis C virus genotypes in Serbia and Montenegro: the prevalence and clinical significance. *World J Gastroenterol.* 2007;13(3):355-60.
21. Stamenković G, Zerjav S, Velicković ZM, Krtolica K, Samardžija VL, et al. Distribution of HCV genotypes among risk groups in Serbia. *Eur J Epidemiol.* 2000;16(10):949-54.
22. Delić D, Simonović J, Švrtlih N, Korać M, Urošević A, et al. Epidemiološke karakteristike hepatitis C infekcije u Srbiji. *Med Istraž.* 2008;42(2):37-43.
23. Marcus EL, Tur-Kaspa R. Chronic hepatitis C virus infection in older adults. *Clin Infect Dis.* 2005;41(11):1606-12.
24. Calvaruso V, Craxi A. 2011 European Association of the study of the liver hepatitis C virus clinical practice guidelines. *Liver Int.* 2012;32(Suppl 1):2-8.

Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Novi Sad, Srbija<sup>1</sup>  
 Klinički centar Vojvodine, Klinika za infektivne bolesti<sup>2</sup>  
 Autonomna pokrajina Vojvodina, Pokrajinski sekretarijat za zdravstvo,  
 socijalnu politiku i demografiju, Novi Sad, Srbija<sup>3</sup>

UDK 616.361/366-002-085.281:330.13  
 DOI: 10.2298/MPNS14S2044M

## TROŠKOVI KONZERVATIVNOG LEČENJA PACIJENATA SA HOLANGITISOM I HOLECISTITISOM

*COSTS OF CONSERVATIVE TREATMENT OF PATIENTS WITH CHOLANGITIS AND CHOLECYSTITIS*

Sandra STEFAN MIKIĆ<sup>1,2</sup>, Siniša SEVIĆ<sup>1,2</sup>, Vedrana PETRIĆ<sup>1,2</sup>, Tomislav PREVEDEN<sup>1,2</sup>,  
 Jelena KALEMBER<sup>1,2</sup> i Danijela STANKOVIĆ BARIČAK<sup>3</sup>

### Sažetak

**Uvod.** U Srbiji ne postoje smernice za lečenje bakterijskih infekcija. Antibakterijski lekovi se biraju prema ličnom izboru lekara, što nije uvek u skladu sa preporučenom terapijom u zemljama koje imaju svoje farmakoterapijske protokole. Ovim istraživanjem su sagledane razlike u uobičajenoj terapiji konzervativnog lečenja holangitisa/holecistitisa i terapiji sprovedenoj prema aktuelnim farmakoterapijskim smernicama iz drugih zemalja. Procenjena je terapijska efikasnost antibakterijskih lekova primenjenih u terapiji holangitisa/holecistitisa i ekonomska opravdanost ove primene. Poređena je efikasnost i cena lečenja prema ličnom izboru lekara i prema farmakoterapijskim smernicama. **Materijal i metode.** Istraživanje je sprovedeno na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine u periodu od 3 godine. Obuhvaćena su 72 bolesnika sa dijagnozom holangitisa/ holecistitisa, koji su bili podeljeni u dve grupe. Kontrolna grupa bolesnika je dobijala terapiju prema ličnom izboru lekara, dok je ispitivana grupa dobijala terapiju prema farmakoterapijskim smernicama. Ustanovljena je efikasnost i cena lečenja kod obe grupe. **Rezultati.** Na osnovu poređenja efikasnosti i cene lečenja holangitisa/holecistitisa pre i nakon uvođenja farmakoterapijskih smernica, ustanovljeno je da nema značajne razlike u efikasnosti primenjenih terapija, dok je cena lečenja u grupi pacijenata nakon primenjenih smernica pokazala uštedu materijalnih troškova od 17,24%. **Zaključak.** Efikasnost lečenja holangitisa/holecistitisa antibiotikom terapijom prema ličnom izboru lekara i lečenja prema farmakoterapijskim smernicama je jednaka. Lečenje je bilo materijalno povoljnije u grupi bolesnika lečenih prema aktuelnim farmakoterapijskim smernicama iz drugih zemalja.

**Ključne reči:** Holangitis; Holecistitis; Antibiotici; Troškovi lečenja; Lekarska empirijska praksa; Vodiči; Ishod lečenja

### Summary

**Introduction.** There are no guidelines for treating bacterial infections in our country. Antibacterial drugs are selected empirically, which is not always in accordance with the recommended therapy coming from the countries that have their own pharmacotherapy protocols. This study reviews the differences between the standard conservative treatment of cholangitis/cholecystitis and treatment implemented in accordance with current pharmacotherapy guidelines of other countries. The assessment of the therapeutic efficacy of antibacterial drugs implemented in the treatment of cholangitis/cholecystitis and economic viability of that implementation was one of the aims of this study, and another one was comparison of the efficiency and cost of medical treatment using physician's therapy of choice and treatment according to pharmacotherapy guidelines. **Material and Methods.** The study was carried out over a three-year period at the Department of Infectious Diseases of the Clinical Center of Vojvodina. It included 72 patients with the diagnosis of cholangitis/cholecystitis who were divided into two groups. The control group was treated according to the physician's therapy of choice, while the test group was treated in accordance with pharmacotherapy guidelines. The efficiency and cost of medical treatment were determined for both groups. **Results.** The comparison of the efficiency and costs of medical treatment of cholangitis/cholecystitis before and after introducing pharmacotherapy guidelines showed no significant differences in the efficiency of administered therapies. However, the cost of medical treatment carried out in accordance with pharmacotherapy guidelines showed a decrease of 17.24%. **Conclusion.** Medical treatment using physician's antibacterial therapy of choice and the one which is in accordance with pharmacotherapy guidelines for treating cholangitis/cholecystitis show no differences in terms of efficiency. However, medical treatment proved to be more affordable in the group of patients treated in accordance with pharmacotherapy guidelines of other countries.

**Key words:** Cholangitis; Cholecystitis; Anti-Bacterial Agents; Drug Costs; Physician's Practice Patterns; Guidelines as Topic; Treatment Outcome

### Uvod

Holangitis označava inflamatorno oboljenje žučnih kanala. Zapaljenjski proces može zahvatiti ek-

strahepatične i intrahepatične grane bilijarnog stabla. Prema patomorfološkim karakteristikama i kliničkoj slici, holangitisi se mogu podeliti na akutni bakterijski, piogeni, akutni opstruktivni holangitis, rekuren-

**Skraćenice**

BNF	– British National Formulary
CRP	– C-reaktivni protein
ALT	– alanin aminotransferaza
GT	– glutamil transpeptidaza
BOD	– bolesničko-opskrbeni dan

ne piogene holangitise i sklerozantne holangitise, koji mogu biti primarni i sekundarni [1].

Glavni uzroci opstrukcije žučnih kanala su žučni kamenci i benigne ili maligne neoplazme bilijarnog stabla ili njegove okoline. Stenoza ili suženje žučnih kanala (koje može biti urođeno ili stečeno), kolonizacijom bakterija u žuč može izazvati pojavu holangitisa. Kod preko 70% bolesnika sa akutnim bakterijskim holangitisom uzročnici izolovani iz mukoze kanala su: *Pseudomonas species*, *E. coli*, *Klebsiela*, *Enterobacter*, *paratifikusni bacili*, *pneumokoke*, *razni anaerobni mikrobi*, *streptokoke (holangitis lenta)* i drugi mikroorganizmi, kao i *virusi*, *protozoe* itd. Anaerobne bakterije (*Clostridium* i *Bacteroides*) često su izolovane u sklopu polimikrobne infekcije i češće su kod težih oblika holangitisa. Septične temperature intermitentnog tipa, kojima obično prethodi groznica, intenzivni bol u desnom hipohondrijumu i žutica čine Šarkovu (Charcot) trijadu u akutnom bakterijskom holangitisu. Pored karakteristične kliničke slike, laboratorijski nalazi pokazuju znake inflamacije iolestaze. U krvnoj slici se javlja leukocitoza sa skretanjem ulevo, ubrzana sedimentacija eritrocita, povišene vrednosti alfa2-globulina, fibrinogena i C-reaktivnog proteina (CRP). U krvi se pored znakova koji ukazuju naolestazu javlja povišena aktivnost serumskih transaminaza, visoke vrednosti alkalne fosfataze i gama-glutamyl transpeptidaze (gama GT).

Dokazivanje uzročnika infekcije moguće je blikulturom (kulturom žuči) ili hemokulturom (kulturom krvi).

Holangitis se može komplikovati ascedentnom infekcijom intrahepatičnih žučnih puteva, apscesom jetre i sepsom.

Terapija se u novije vreme zbog visokog mortaliteta kod supurativnog holangitisa, sprovodi visokim dozama antibiotika, uz istovremenu bilijarnu dekompresiju pomoću endoskopska retrogradna holangiopankreatografija (ERCP) i perkutana transhepatična holangiografija (PTC) (unutar 24–48 h), čime se smrtnost može smanjiti sa 100% na 5–10%. Primenjuju se penicilini širokog spektra, fluorohinoloni ili cefalosporini treće generacije, uz metronidazol. Nakon smirenja akutne infekcije, hirurškim putem se mora rešiti opstruktivna lezija u bilijarnim kanalima [1, 2].

Holecistitis podrazumeva akutno ili hronično zapaljenje zida žučne kesice, koje je u 90–95% slučajeva izazvano prisustvom konkrementa u žučnoj kesici ili cističnom kanalu. Svi holecistitisi, bilo da su akutni ili hronični, mogu se podeliti na kalkulozne i akalkulozne holecistitise. Kalkulozni holecistitisi nastaju u početku zbog mehaničkog nadražaja epitela žučne kesice prisutnim konkrementom, a

zatim nastaje hemijski nadražaj epitela sastojcima žuči, kao što su holesterol, žučne kiseline i lizolecitin. Konačno dolazi do bakterijske superinfekcije, kojoj potpomažu žuč i loša cirkulacija krvi i limfe. Kalkulozni holecistitisi mogu da nastanu i zbog opstrukcije Vaterove papile koja dovodi do prodora aktivisanih pankreasnih enzima kroz holedohus i cistikus u žučnu kesicu. Kalkulozni holecistitisi se mogu podeliti na akutni i hronični.

Akutni akalkulozni, koji se javlja u 5–10% slučajeva, može da nastane primarno ili kao posledica hemijskih i toksičnih agenasa, torzije žučne kesice oko svoje kanalikularno-vaskularne peteljke, usled operativne traume, politraume, opekotina, usled infekcije *Salmonellom typhi*, *parazitima*, zbog pankreatitisa ili u toku sepsa. Pretpostavlja se da je posledica smanjene kontraktilnosti holeciste i staze žuči kod parenteralno hranjenih pacijenata. Akutni »emfizematozni« holecistitis ima fulminantni tok, a izazvan je mešovitom bakterijskom florom, u kojoj se nalazi i *Clostridium perfringens*.

Hronični kalkulozni holecistitis je infektivnog porekla, a najčešći su uzročnici: *Gram-negativne bakterije*, *prvenstveno E. coli*, *enterokoke*, *zatim streptokoke*, *stafilokoke*, *tifikusni bacil* i *virus infektivnog hepatitisa*.

Kliničku sliku holecistitisa karakteriše kontinuirani bol u desnom hipohondrijumu, praćen mukom i povraćanjem, ponekad uz povišenu telesnu temperaturu. Izražena je osetljivost ispod desnog rebarnog luka (Marfijev znak) ili se palpira kruškolika, bolna formacija.

Laboratorijski pokazatelji inflamacije holeciste su ubrzana sedimentacija eritrocita i leukocitoza. Komplikacije holecistitisa mogu biti: hidrops, empijem, perforacija holeciste, peritonitis i bilijarni pankreatitis, periholecistični apsces i bilijarna fistula. Javljaju se u 20% slučajeva i zahtevaju hitnu hiruršku intervenciju.

Neoperativno lečenje se sastoji od dijetetskog režima i primene antibiotika. Preporučuju se lekovi koji se izlučuju putem žuči, a efikasni su protiv Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija [3, 4]. Po smirivanju simptoma i u slučaju komplikacija indikovana je hirurška intervencija tj. holecistektomija.

Farmakoekonomija je ekonomska evaluacija efikasnosti, terapije oboljenja i cene lečenja. Ona usvaja i primenjuje principe i metodologiju zdravstvene ekonomije na polje farmakoterapije. Farmakoekonomskim istraživanjima pored se efekti terapije i cene koštanja dve ili više različitih alternativa lečenja uz poštovanje principa *primum non nocere* (prevashodno ne naškoditi). Farmakoterapijski koncept se koristi da bi se postigao određeni optimalni cilj u lečenju za nižu cenu ili obrnuto, da se korišćenje datih, ograničenih resursa usmeri na način na koji se ostvaruje najbolji mogući odnos terapijske i ekonomske koristi [5].

Tokom devedesetih godina XX veka veliki broj zemalja počeo je da primenjuje metode ocenjiva-

nja isplativosti prilikom definisanja zdravstvene politike. Preporuke za određenu terapiju zavise od kliničke procene koristi terapije, njene isplativosti i finansijskog opterećenja nacionalnog budžeta za zdravstvo, zbog čega je značajno da zdravstveni stručnjaci primenjuju tehnike ekonomskih evaluacija, a posebno oni koji učestvuju u izradi nacionalnih vodiča za lečenje određenih bolesti [6].

### Matrijal i metode

Primena farmakoekonomije u farmakoterapiji holangitisa/holecistitisa ispitivana je na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine, u periodu 1.1.2010–31.12.2013. godine.

Analiziran je uzorak od 72 bolesnika sa klinički potvrđenom hepatobilijarnom infekcijom. Bolesnici su bili podeljeni u dve grupe. U prve dve godine praćeni su pacijenti koji su formirali kontrolnu grupu. Nju je činilo 36 pacijenata, koji su lećeni antibiotskom terapijom prema lićnom izboru lekara, a iz njihovih istorija bolesti utvrđena je efikasnost i cena lećenja. Ovaj deo ispitivanja bio je retrospektivan. Naredne dve godine praćeni su pacijenti koji su formirali ispitivanu grupu. Ovu grupu činilo je takođe 36 pacijenata, lećenih prema aktuelnim farmakoekonomskim smernicama iz razvijenih zemalja, utvrđena je efikasnost i cena lećenja. Ovaj deo istraživanja je bio prospektivan.

Istraživanje se sastojalo iz tri dela:

1. U prvom delu praćen je tok, efikasnost i izračunata je ukupna cena uobićajenog načina lećenja holangitisa/holecistitisa na Klinici za infektivne bolesti. Podaci su dobijeni iz istorija bolesti, a ovaj deo istraživanja je bio retrospektivan.

2. U drugom delu je praćen tok i efikasnost lećenja prema farmakoekonomskim smernicama utvrđenim na osnovu preporuka dobijenih iz amerićkog Senford vodića za antimikrobnu terapiju [7] i Britanskog nacionalnog formulara (*British National Formulary*) [8]. Izračunata je ukupna cena lećenja.

3. U trećem delu je poređena cena dosadašnjeg načina lećenja holangitisa/holecistitisa na Klinici za infektivne bolesti sa cenom lećenja prema farmakoekonomskim smernicama iz razvijenih zemalja. Upoređivanjem dobijenih rezultata, omogućeno je određivanje optimalnog načina lećenja kod nas.

Drugi i treći deo istraživanja bili su prospektivni.

Analizirane su i poređene klinićeke slike bolesnika obe grupe, prvog dana (po prijemu) i nakon sedam dana bolnićkog lećenja. Određivana je telesna temperatura, utvrđivano je prisustvo bola u trbuhu, pozitivnog Marfijevog znaka, povraćanja, svraba i ųitila koųe. Od laboratorijskih pokazatelja praćeni su parametri zapaljenja (ukupan broj leukocita, vrednost sedimentacije prvog sata, fibrinogen, CRP, ALT (alanin aminotransferaza), ukupan i direktni bilirubin, gama GT, alkalna fosfataza). Pored klinićekog nalaza koji je pokazatelj efikasnosti i

toka terapije, praćena je primena lekova u kontrolnoj i ispitivanoj grupi, kao i njihova neųeljena dejstva. Farmakoekonomski aspekt lećenja sagledan je na osnovu cene: bolesnićko-opskrbnih dana, utroųenih antibiotika, utroųenog medicinskog i sanitetskog materijala, stacionarnih usluga, kao i na osnovu izraćunavanja ukupne cene lećenja.

Cene bolesnićko-opkrbnog dana dobijena je iz „Cenovnika zdravstvenih usluga u Republici Srbiji” [9], a cena lekova, sanitetskog i medicinskog materijala iz podataka Centralne apoteke Klinićekog centra Vojvodine.

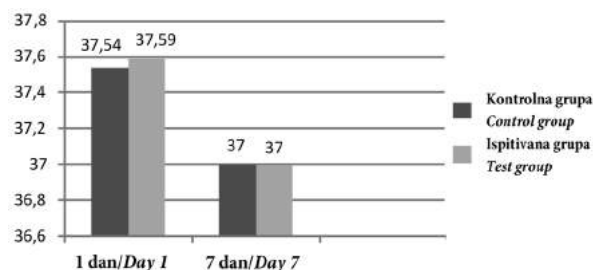
Pri dobijanju rezultata ovog istraživanja koristili su se deskriptivni parametri: srednja vrednost, standardna devijacija i procentualne vrednosti. Rezultati su obraćeni statistićekim  $\chi^2$  i  $i$ -testom, a prikazani tabelarno i grafićki.

### Rezultati

Analizom starosne strukture bolesnika lećenih pod dijagnozom holangitisa/holecistitisa, utvrđeno je da se starosno doba kreće 30–93 godina kod bolesnika kontrolne grupe (lećeni prema lićnom izboru lekara) i 23–87 godina kod bolesnika ispitivane grupe (lećeni prema farmakoekonomskim smernicama iz razvijenih zemalja). Viųe je obolelih osoba ųenskog pola, 75% u kontrolnoj grupi i 45% u ispitivanoj grupi bolesnika. Između ovih grupa bolesnika u odnosu na starosnu i polnu strukturu, ne postoji statistićeki znaćajna razlika ( $p < 0,05$ ).

Određivanjem telesne temperature, prisustva bola u trbuhu, pozitivnog Marfijevog znaka, povraćanja, svraba i ųitila koųe i sklera, kao i biohemijskih parametara (ukupan broj leukocita, vrednost sedimentacije prvog sata, fibrinogena, CRP-a, ALT-a, vrednost ukupnog i direktnog bilirubina, gama GT-a i alkalne fosfataze) prvog i sedmog dana bolnićkog lećenja, praćena je efikasnost terapije kod bolesnika kontrolne i ispitivane grupe.

U obe grupe, svi pacijenti sedmog dana hospitalizacije nisu imali poviųenu telesnu temperaturu ( $p < 0,001$ ) (**Grafikon 1**). Ne postoji statistićeki znaćajna razlika u visini poviųene temperature pri prijemu i sedmog dana lećenja između obe grupe pacijenata.



**Grafikon 1.** Visina telesne temperature kod bolesnika obe grupe pri prijemu i sedmog dana bolnićkog lećenja  
**Graph 1.** Body temperature of patients from both groups upon admission and on the seventh day of hospital treatment

**Tabela 1.** Prisutnost bola u trbuhu, pozitivnog Marfijevog znaka, povraćanja, svraba i žutila kože i sklera kod bolesnika obe grupe pri prijemu i sedmog dana bolničkog lečenja

**Table 1.** Presence of abdominal pain, positive Murphy's sign, vomiting, itching, and yellowing of the skin and sclera in patients from both groups upon admission and on the seventh day of hospital treatment

	1. dan/day 1				7. dan/day 7			
	Da/Yes		Ne/No		Da/Yes		Ne/No	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<b>Bol u trbuhu</b> <i>Abdominal pain</i>								
Kontrolna grupa/ <i>Control group</i>	32	88,9	4	11,1	9	25	27	75
Ispitivana grupa/ <i>Test group</i>	36	100	/	/	5	13,9	31	86,1
<b>Pozitivan Marfijev znak/positive Murphy's sign</b>								
Kontrolna grupa/ <i>Control group</i>	7	19,5	29	80,5	2	5,5	34	94,5
Ispitivana grupa/ <i>Test group</i>	9	25	27	75	2	5,5	34	94,5
<b>Povraćanje/Vomiting</b>								
Kontrolna grupa/ <i>Control group</i>	18	50	18	50	4	11,1	32	88,9
Ispitivana grupa/ <i>Test group</i>	21	58,4	15	41,6	2	5,5	34	94,5
<b>Svrab/Itching</b>								
Kontrolna grupa/ <i>Control group</i>	4	11,1	32	88,9	2	5,5	34	94,5
Ispitivana grupa/ <i>Test group</i>	7	19,5	29	80,5	/	/	36	100
<b>Žutilo kože i sklera/Yellowing of the skin and sclera</b>								
Kontrolna grupa/ <i>Control group</i>	20	55,6	16	44,4	4	11,1	32	88,9
Ispitivana grupa/ <i>Test group</i>	20	55,6	16	44,4	2	5,5	34	94,5

U kontrolnoj i ispitivanoj grupi bolesnika prisutnost bola u trbuhu, pozitivnog Marfijevog znaka, povraćanja, svraba i žutila kože i sklera značajno je smanjena nakon sedmog dana lečenja u odnosu na dan prijema ( $p < 0,001$ ) (**Tabela 1**).

Nema statistički značajne razlike u prisutnosti ovih tegoba prvog i sedmog dana bolničkog lečenja između pacijenata obe grupe.

Broj bolesnika sa povišenim ukupnim brojem leukocita, povišenom vrednošću sedimentacije (prvi sat), fibrinogena, CRP-a, ALT-a, ukupnog i direktnog bilirubina, gama GT-a i alkalne fosfataze posle sedam dana bolničkog lečenja unutar kontrolne i ispitivane grupe značajno je smanjen ( $p < 0,001$ ). Postoji statistički značajna razlika u broju bolesnika sa povišenim vrednostima fibrinogena pri prijemu i nakon sedam dana unutar ispitivane grupe bolesnika ( $p < 0,05$ ) (**Tabela 2**). U broju bolesnika sa povišenim ukupnim brojem leukocita, povišenim vrednostima sedimentacije, fibrinogena, CRP-a, ALT-a, ukupnog i direktnog bilirubina, gama GT-a i alkalne fosfataze pri prijemu i sedmog dana terapije, nema statistički značajne razlike između posmatranih grupa.

#### Upotreba antibiotika po grupama pacijenata lečenih pod dijagnozom holangitis/holecistitis

a) Ordinirani antibiotici kod pacijenata koji su dobijali antibiotsku terapiju prema izboru lekara (kontrolna grupa)

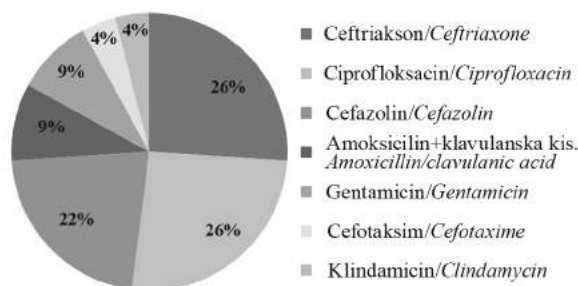
b) Ordinirani antibiotici kod pacijenata koji su dobijali antibiotsku terapiju po farmakoterapijskim smernicama (ispitivana grupa) (**Grafikon 2 a i b**).

U grupi pacijenata koji su dobijali antibiotsku terapiju prema izboru lekara, kao lek izbora bio je ceftriakson i gentamicin sa po 26% (po 5 doza), na drugom mestu je ciprofloksacin sa 22% (4 doze), a na trećem cefotaksim i cefazolin sa 9% (2 doze). Od 36 posmatranih pacijenata kontrolne grupe, kod svih 36 (100%) pacijenata ordiniran je jedan antibiotik i nije bilo promene antibiotske terapije tokom bolničkog lečenja. Istovremeno davanje dva antibiotika, kao početak bolničkog lečenja, ordinirano je kod 4 (11%) pacijenta. Kombinacije kod oba pacijenta bile su ceftriakson sa ciprofloksacinom.

U grupi pacijenata koji su dobijali antibiotsku terapiju po smernicama farmakoterapije, lek prvog izbora bio je ciprofloksacin sa 18% (6 doza), na drugom mestu je cefotaksim sa 15% (5 doza), a na trećem gentamicin sa 12% (4 doze) i zato što su sva tri leka davana u kombinaciji sa metronidazolom on je korišćen u 40% (15 doza). Od 36 posmatranih pacijenata ispitivane grupe, kod 9 (25%) pacijenata primenjen je jedan antibiotik, a kod 9 (25%) pacijenata ordinirano je istovremeno davanje dva antibiotika.

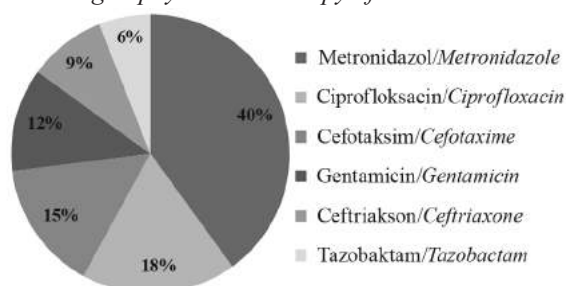
Broj dana primene antibiotske terapije kretao se 2–16 dana u kontrolnoj 3–9 dana u ispitivanoj grupi bolesnika, što znači da nema statistički značajne razlike u dužinama primene antibiotske terapije između ovih grupa (**Tabela 3**).





**Grafikon 2a.** Antibiotici primenjeni kod bolesnika lečenih prema ličnom izboru lekara

**Graph 2a.** Antibiotics administered to patients treated according to physician's therapy of choice



**Grafikon 2b.** Antibiotici primenjeni kod bolesnika lečenih prema farmakoterapijskim smernicama

**Graph 2b.** Antibiotics administered to patients treated in accordance with pharmacotherapy guidelines

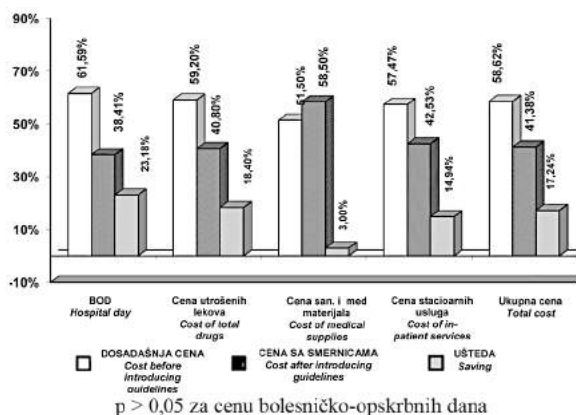
Cene lečenja u obe grupe pacijenata pokazuju velike raspone u maksimalnoj i minimalnoj ceni koštanja po računatim bolesničko-opskrbnim danima, utrošenim lekovima, sanitetskom i medicinskom materijalu i stacionarnim uslugama (**Grafikon 3**).

Ukupna cena izražena je za ukupno 36 pacijenata obe grupe, za ceo period hospitalizacije. Finansijski aspekt izražen je u dinarima i predstavlja razliku srednjih vrednosti cena iz obe grupe; izražen je i u procentu kao srednja vrednost ušteđe. Postoji statistički značajna razlika u ceni bolesničko-opkrbnih dana između grupa. Ušteđa je evidentirana u korist ispitivane grupe u ceni bolesničko-opkrbnih dana (BOD), utrošenih lekova, utrošenog sanitetskog i medicinskog materijala, stacionarnih usluga, te ukupne cene lečenja.

## Diskusija

Na Klinici za infektivne bolesti Kliničkog centra Vojvodine lečena su 72 pacijenta pod dijagnozom holangitis/holecistitis, koji su bili podeljeni u dve grupe. U obe grupe pacijenata najzastupljenija je bila starosna grupa bolesnika od preko 62 godine, što ukazuje na to da je holangitis/holecistitis bolest starijeg životnog doba. Bolesnici su većinom ženskog pola i procentualno obuhvataju 60–70% u obe grupe, što se po demografskim karakteristikama slaže sa američkim i japanskim istraživanjima [3, 10, 11].

Analizom kliničkih pokazatelja (telesna temperatura, bol u trbuhu, pozitivan Marfijev znak,



**Grafikon 3.** Poređenje cene lečenja pre i posle uvođenja farmakoterapijskih smernica kod pacijenata lečenih pod dijagnozom holangitis/holecistitis

**Chart 3.** Comparison of the costs of medical treatment before and after introducing pharmacotherapy guidelines for patients treated under the diagnosis of cholangitis/cholecystitis

povraćanje, svrab i žutilo kože i sklera) i laboratorijskih pokazatelja (ukupan broj leukocita, vrednost sedimentacije prvog sata, vrednost fibrinogena, CRP-a, ALT-a, ukupnog i direktnog bilirubina, gama-GT-a i alkalne fosfataze) pri prijemu i sedmog dana bolničkog lečenja, praćena je efikasnost primenjene terapije kod pacijenata.

Antibiotska terapija data prema ličnom izboru lekara ili ona primenjena prema smernicama iz razvijenih zemalja, jednako je efikasno dovela do sniženja telesne temperature, smanjenja bola u trbuhu, negativizacije Marfijevog znaka i žutila kože i sklera, sedmog dana lečenja. Primenjenim terapijama podjednako efikasno je snižen broj leukocita, kao i vrednost sedimentacije, fibrinogena, CRP-a, ALT-a, bilirubina, gama-GT-a i alkalne fosfataze.

U našem istraživanju nije rađena izolacija bakterijskih uzročnika infekcija bilijarnog trakta. Prema podacima istraživanja uzročnika bilijarne infekcije iz Japana, pozitivna bakterijska bilikultura nađena je u 41–54% slučajeva pacijenata sa akutnim holecistitisom, u 58–63% slučajeva pacijenata sa udruženom hololedoholitijazom i holangitisom i u oko 70% slučajeva pacijenata sa udruženom hepatolitijazom i holangitisom. Najčešće izolovane aerobne bakterije su: *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterococcus* i *Enterobacter*. Iako su anaerobne bakterije, kao što su *Clostridium* i *Bacteroides* često izolovane, većina pacijenata kod kojih su ove bakterije nađene ima polimikrobnu infekciju sa aerobnim bakterijama [10, 12].

U grupi pacijenata koji su dobijali antibiotsku terapiju prema ličnom izboru lekara, kao lek izbora korišćen je ceftriakson i gentamicin sa po 26% (5 doza), potom ciprofloksacin sa 22% (4 doze), dok su na trećem mestu cefotaksim i cefazolin sa 9% (2 doze). Sve ordinirane terapije su opravdane i po preporukama iz literature, što se nalazi i u istraživanjima drugih autora [1–4, 7, 8, 13, 14].

**Tabela 2.** Vrednosti laboratorijskih parametara kod bolesnika obe grupe pri prijemu i nakon sedam dana bolničkog lečenja

**Table 2.** Values of laboratory parameters in patients from both groups upon admission and on the seventh day of hospital treatment

	1. dan/day 1				7. dan/ day 7			
	Povišena/elevated		Normalna/normal		Povišena/elevated		Normalna/normal	
Ukupni br. leukocita Total WBC* count	N	%	N	%	N	%	N	%
Kontrolna grupa/Control group	27	75	9	25	4	11,1	32	88,9
Ispitivana grupa/Test group	23	63,9	13	36,1	5	13,9	31	86,1
Sedimentacija (prvi sat) Sedimentation (first hour)	Povišena/elevated		Normalna/normal		Povišena/elevated		Normalna/normal	
Kontrolna grupa/Control group	31	86,1	5	13,9	29	80,5	7	19,5
Ispitivana grupa/Test group	27	75	9	25	27	75	9	25
Fibrinogen	Povišena/elevated		Normalna/normal		Povišena/elevated		Normalna/normal	
Kontrolna grupa/Control group	21	58,4	15	41,6	18	50,0	18	50
Ispitivana grupa/Test group	27	75	9	25,0	16	44,4	20	55,6
CRP	Povišena/elevated		Normalna/normal		Povišena/elevated		Normalna/normal	
Kontrolna grupa/Control group	27	75	9	25	20	55,6	16	44,4
Ispitivana grupa/Test group	27	75	9	25	16	44,4	20	55,6
ALT	Povišena/elevated		Normalna/normal		Povišena/elevated		Normalna/normal	
Kontrolna grupa/Control group	27	75	9	25	21	58,4	15	41,6
Ispitivana grupa/Test group	27	75	9	25	20	55,6	16	44,4
Ukupni bilirubin/Total bilirubin	Povišena/elevated		Normalna/normal		Povišena/elevated		Normalna/normal	
Kontrolna grupa/Control group	16	44,4	20	55,6	15	41,6	21	58,4
Ispitivana grupa/Test group	20	55,6	16	44,4	15	41,6	21	58,4
Direktni bilirubin/Direct bilirubin	Povišena/elevated		Normalna/normal		Povišena/elevated		Normalna/normal	
Kontrolna grupa/Control group	20	55,6	16	44,4	18	50,0	18	50
Ispitivana grupa/Test group	21	58,4	15	41,6	16	44,4	20	55,6
Gama GT	Povišena/elevated		Normalna/normal		Povišena/elevated		Normalna/normal	
Kontrolna grupa/control group	34	94,5	2	5,5	31	86,1	5	13,9
Ispitivana grupa/test group	27	75,0	9	25	25	69,5	11	30,5
Alkalna fosfataza Alkaline phosphatase	Povišena/elevated		Normalna/normal		Povišena/elevated		Normalna/normal	
Kontrolna grupa/Control group	18	50	18	50	9	25	27	75
Ispitivana grupa/Test group	18	50	18	50	5	13,9	31	86,1

WBC\* - white blood count

Od 36 posmatranih pacijenata kontrolne grupe, kod svih 36 (100%) ordiniran je jedan antibiotik i nije bilo promene antibiotske terapije tokom bolničkog lečenja. Po američkim preporukama u terapiji infekcija bilijarnog trakta cefalosporini III generacije i ciprofloksacin daju se uz metronidazol, što u ovoj grupi pacijenata nije primenjivano [3, 15].

Istovremeno davanje dva antibiotika, kao početak bolničkog lečenja, ordinirano je kod 4 (11%) pacijenta. Kombinacije kod oba pacijenta bile su ceftriakson sa ciprofloksacinom, što se ne slaže sa preporukama iz literature [1-4, 7, 8, 13, 14].

U našem istraživanju antibiotska terapija je trajala 2 do 16 dana, što je duže od preporučenog lečenja nekomplikovanog akutnog holangitisa kon-

**Tabela 3.** Odnos cena lečenja bolesnika pre i nakon uvođenja farmakoterapijskih smernica  
**Table 3.** Ratio of costs of medical treatment before and after introducing pharmacotherapy guidelines

Cene lečenja <i>Medical Costs</i>	Pre upotrebe smernica (din) - kontrolna grupa/ <i>Before introducing guidelines (RSD) - control group</i>			Nakon uvođenja smernica (din) - ispitivana grupa/ <i>After introducing guidelines (RSD) - test group</i>		
	minimum <i>per patient</i>	maximum <i>per patient</i>	$\bar{X} \pm SD$ <i>per patient</i>	minimum <i>per patient</i>	maximum <i>per patient</i>	$\bar{X} \pm SD$ <i>per patient</i>
Bolesničkoopskrbni dan (BOD)/ <i>Hospital day</i>	2 048,30	40 458,89	15 191,11±10 119,9	1 729,29	20 459,51	9 471,85±5 704,76
Utrošeni lekovi <i>Total drugs administered</i>	730,39	53 019,84	5 891,44±11 664,48	586,33	19 599,96	4 060,82±4 796,69
Sanitetski i medicinski materijal/ <i>Medical supplies</i>	870,21	10 116,67	1 837,46±2 159,58	158,99	5 659,82	1 730,70±1 440,57
Stacionarne usluge <i>In-patient services</i>	280,42	19 531,60	5 871,62±4 429,65	140,21	27 611,53	4 344,35±6 209,59
Ukupna cena/ <i>Total cost</i>	5 852,43	105 724	27 957±22 813,49	1 799,75	68 355,40	19 730,13±15 400,11

zervativnim putem, u trajanju od 7 dana [13, 16]. Postoji i istraživanje koje preporučuje trodnevnu antibiotsku terapiju za lečenje holangitisa, što nije bio slučaj u našem istraživanju.

U ispitivanoj grupi pacijenata (pacijenti lečeni po smernicama) lek prvog izbora bio je ciprofloksacin sa 18% (6 doza), na drugom mestu je cefotaksim sa 15% (5 doza), a na trećem mestu je gentamicin sa 12% (4 doze). Metronidazol je korišćen u 40% (15 doza), jer je davan u kombinaciji sa prethodna tri leka. Terapija koja je primenjena u ovoj grupi pacijenata je opravdana i po smernicama iz zemalja sa razvijenom farmakoterapijskom praksom [1–4, 7, 8, 13, 14].

Od 36 posmatranih pacijenata ispitivane grupe, kod 9 (25%) pacijenata primenjen je jedan antibiotik, a kod 9 (25%) pacijenata ordinirano je istovremeno davanje dva antibiotika, što je opravdano jer je drugi antibiotik metronidazol.

Antibiotska terapija primenjena je u trajanju od 3 do 9 dana, što je optimalno i po preporukama [3, 4, 11, 14].

U kontrolnoj grupi pacijenata nije bilo pojave neželjenih efekata tokom lečenja. Tokom bolničkog lečenja i primene antibiotske terapije u ispitivanoj grupi pacijenata bilo je pojave neželjenih efekata kod 4 (11%) pacijenta. Kod jednog pacijenta alergijski osip po koži na terapiju cefaleksinom i kod drugog pacijenta alergijski osip po koži na terapiju ceftriaksonom. Lečenje alergijske ospe bilo je promenom tadašnje antibiotske terapije i antialergijskim lekovima, koje je preporučio specijalista dermatolog. Pojava ovih neželjenih efekata završena je postepenim povlačenjem tegoba i izlečenjem bez posledica. To-

kom ispitivanja javile su se najblaže reakcije preosetljivosti, što se slaže sa podacima iz literature [11].

U našem istraživanju pokazali smo da su u grupi pacijenata gde su primenjene farmakoterapijske smernice, u poređenju sa kontrolnom grupom ostvarene uštede u svakom ispitivanom delu ukupne cene lečenja. Najveća ušteta je postignuta u ceni bolesničko-opskrbnih dana i iznosila je 23,18%, u ceni koštana sanitetskog i medicinskog materijala 3%, ceni stacionarnih usluga 14,94% i ukupna ušteta cene koštana lečenja infekcija bilijarnog trakta, ako se primenjuju farmakoterapijske smernice, bila je 17,24%.

### Zaključak

Efikasnost lečenja antibiotskom terapijom prema ličnom izboru lekara (kontrolna grupa pacijenata) i lečenja prema smernicama iz razvijenih zemalja (ispitivana grupa pacijenata) podjednaka je. Opravdana je primena svih antibakterijskih lekova u istraživanju, jer su svi pacijenti otpušteni oporavljeni. Sa farmakoeonomskog aspekta, opravdana je primena antibakterijskih lekova prema preporukama iz zemalja sa razvijenom farmakoeonomskom praksom.

Cena lečenja holangitisa/holecistitisa u ovom istraživanju bila je materijalno povoljnija u grupi pacijenata kod kojih su primenjene farmakoeonomske smernice iz razvijenih zemalja. Ušteta se odnosila na svaki ispitivani deo ukupne cene lečenja: u ceni bolesničko-opskrbnih dana iznosila je 23,18%, utrošenih lekova 18,40%, utrošenog sanitetskog i medicinskog materijala 3%, stacionarnih usluga 14,94%, a ukupna ušteta cene lečenja iznosila je 17,24%.

### Literatura

1. Dokić Lj. Bakterijske infekcije žučnih puteva. In: Božić M, Dokić Lj, Nikolić S, Pavlović M, Šašić M, editors. Infektivne bolesti: Udžbenik za studente medicine. Beograd: Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu; 2009. p. 192-3.
2. Carpenter FC, Gilpin N. Cholangitis ABX guide [Internet]. Johns Hopkins poc-it center (serial online). Baltimore:

Johns Hopkins University; 2010 [cited 2010 Sep 16]. Available from: [http://hopkins-abxguide.org/diagnosis/sugical\\_infections/full\\_cholangitis.html](http://hopkins-abxguide.org/diagnosis/sugical_infections/full_cholangitis.html).

3. Gladden D, Migala AF, Clinton B, Wolff J. Cholecystitis: Treatment & Medication. Emedicine (serial online). [Internet].

New York: Medscape: 2010. [cited 2010 May 19]. Available from: URL: <http://emedicine.medscape.com/article/171886-treatment>.

4. Carpenter FC, Gilpin N. Cholecystitis ABX guide. Johns Hopkins poc-it center (serial online). [Internet]. Baltimore: Johns Hopkins University: 2010. [cited 2010 Sep 20]. Available from: [http://hopkins-abxguide.org/diagnosis/surgical\\_infections/full\\_cholecystitis.html](http://hopkins-abxguide.org/diagnosis/surgical_infections/full_cholecystitis.html).

5. Stefan-Mikić S, Sević S, Jovanović N. Pravilan izbor antibiotika u zavisnosti od rezistencije i farmakoeekonomskih principa. 1<sup>st</sup> ed. Novi Sad: Litostudio; 2008.

6. Stefan-Mikić S, Vukadinov J, Mihajlović-Ukropina M, Sabo A, Tomić Z, Sević S, et al. Priručnik za pravilno uzimanje i transport uzoraka za mikrobiološki pregled sa farmakoeekonomskim smernicama. 1<sup>st</sup> ed. Novi Sad: Litostudio; 2008.

7. Gilbert DN, Moellering RC Jr, Eliopoulos GM, Chambers HF, Saag MS. The sanford guide to antimicrobial therapy. 44<sup>th</sup> ed. Sperryville: Antimicrobial Therapy Inc; 2014.

8. British National Formulary (BNF). British Medical Association and Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 2014. p. 254-319.

9. Cenovnik zdravstvenih usluga u zdravstvenim ustanovama u Republici Srbiji, izražen relativnim jedinicama. Beograd: Republički zavod za zdravstveno osiguranje; 2009.

10. Kimura Y, Takada T, Kawarada Y, Nimura Y, Hirata K, Sekimoto M, et al. Definition, pathophysiology, and epide-

miology of acute cholangitis and cholecystitis: Tokyo guidelines. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2011;14:15-26.

11. Afdhal NH. Diseases of the gallbladder and bile ducts. In: Goldman L, Schafer AI, editors. *Cecil Medicine.* 24<sup>th</sup> ed. Philadelphia (PA): Saunders Elsevier; 2011.

12. Tanaka A, Takada T, Kawarada Y, Nimura Y, Yoshida M, Miura F, et al. Antimicrobial therapy for acute cholangitis: Tokyo guidelines. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2011;14:59-67.

13. Fujii Y, Ohuchida J, Chijiwa K, Yano K, Imamura N, Nagano M, et al. Verification of Tokyo guidelines for diagnosis and management of acute cholangitis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2012;19(4):487-91.

14. Banz V, Gsponer T, Candinas D, Güller U. Population-based analysis of 4113 patients with acute cholecystitis: defining the optimal time-point for laparoscopic cholecystectomy. *Ann Surg.* 2012;254(6):964-70.

15. The Clinician's Ultimate Reference. Cholecystitis (Gall bladder): Possible therapeutic alternatives. [Internet]. [place unknown]: Global RPh Inc; 2010. [cited 2010 Jul 26]. Available from: <http://globalrph.com/antibiotic/cholecystitis.htm>

16. Mueller T, Beutler C, Picó AH, Shibolet O, Pratt DS, Pascher A, et al. Enhanced innate immune responsiveness and intolerance to intestinal endotoxins in human biliary epithelial cells contributes to chronic cholangitis. *Liver Int.* 2011; 31(10):1574-88.

Rad je primljen 14. X 2014.

Recenziran 24. XI 2014

Prihvaćen za štampu 25. XI 2014.

BIBLID.0025-8105:(2014):LXVII:(Suppl 2):44-51.

Dom zdravlja Novi Sad, Služba za zaštitu zdravlja radnika, Novi Sad, Srbija<sup>1</sup>  
 Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet Novi Sad, Srbija<sup>2</sup>  
 Klinički centar Vojvodine, Klinika za infektivne bolesti<sup>3</sup>  
 Institut za kardiovaskularne bolesti Vojvodine, Sremska Kamenica, Srbija<sup>4</sup>  
 Evropski univerzitet Farmaceutski fakultet, Novi Sad<sup>5</sup>

UDK 616.71-007.233-053.9  
 DOI: 10.2298/MPNS14S2052S

## MONITORING OSTEOPOROZE KOD GERONTOLOŠKE POPULACIJE U PRIMARNOJ ZDRAVSTVENOJ ZAŠTITI

*MONITORING OF OSTEOPOROSIS AMONG GERIATRIC POPULATION IN THE PRIMARY CARE SERVICE*

**Dragana ŠIPOVAC<sup>1</sup>, Siniša SEVIĆ<sup>2, 3</sup>, Sandra STEFAN MIKIĆ<sup>2, 3</sup>, Nadica KOVAČEVIĆ<sup>2, 3</sup>,  
 Igor IVANOV<sup>4</sup> i Nikola EIĆ<sup>5</sup>**

### Sažetak

**Uvod.** Osteoporoza je hronično progresivno oboljenje kostiju koje vodi ka smanjenju mineralne gustine kostiju i narušavanju mikroarhitektonike koštanih gredica. Oboleli od osteoporoze imaju povećan rizik od nastanka fraktura na *malu traum* – stresor koji pod normalnim uslovima kod zdravih osoba neće izazvati frakturu. **Cilj.** Utvrditi učestalost osteoporoze u gerontološkoj populaciji, osnovne demografske parametre (polnu i starosnu strukturu) obolelih, prisustvo komorbiditeta i najčešće upotrebljene terapijske šeme. **Materijal i metode.** Retrospektivna studija je sprovedena u periodu od 1.8.2012. do 12.5.2014. godine. Praćeno je 526 bolesnika starijih od 65 godina, kojima je na osnovu kliničkog nalaza (prisustva/odsustva patoloških fraktura), laboratorijskog i osteodenzitometrijskog testiranja dijagnostikovana osteoporoza. Podaci su obrađeni standardnim statističkim metodama. U svrhu ocene statističke značajnosti korišćeni su  $\chi^2$  i t-test. **Rezultati.** Među obolima od osteoporoze najviše je osoba ženskog pola – 91%. Zastupljenost patoloških fraktura u ispitivanom uzorku iznosi 31,8%. Postojanje dve i više fraktura na malu traum utvrdili smo u 13,6% slučajeva. Od komorbiditeta dominirali su kardiovaskularni 72,70%. Najčešći terapijski izbor predstavljaju bifosfonati sa 77% uz istovremenu upotrebu analoga vitamina D – alfacalciferol (13,6%), holeciferol (40,9%), kalcijum-karbonat + holeciferol (22,7%). **Zaključak.** Osteoporoza pokazuje predomnaciju kod osoba ženskog pola starosnog doba 65–70 godina. Prisustvo komorbiditeta ne povećava rizik od nastanka osteoporoze ali u značajnoj meri smanjuje kvalitet života obolelih. Bifosfonati predstavljaju najčešći terapijski izbor uz istovremenu primenu kalcijuma i analoga vitamina D.

**Ključne reči:** Osteoporoza; Stari ljudi; Stari ljudi, 80 i više godina; Primarna zdravstvena zaštita; Frekvencija oboljevanja; Kombinacija lekova; Dijagnoza; Komorbiditet; Frakture kosti; Spontane frakture

### Uvod

Osteoporoza (OP) je hronično progresivno oboljenje kostiju gde resorpcija koštanog tkiva prevazilazi mogućnosti njegovog obnavljanja. Ovakav pro-

### Summary

**Introduction.** Osteoporosis is a chronic, progressive bone disease which leads to a reduction in bone mineral density and disruption of bone micro-architecture. Patients with osteoporosis have an increased risk of fractures caused by “small trauma” - stresses which would not normally cause fracture in a non-osteoporotic individual. This study was aimed at determining the incidence of osteoporosis in geriatric population, crucial demographic parameters (gender and age structure) in patients, presence of comorbidities, and the most common drug choice in treatment of osteoporosis. **Material and Methods.** A retrospective study was conducted in the period from August 1<sup>st</sup>, 2012 to May 12<sup>th</sup>, 2014 and it included 526 patients over 65 years of age who were diagnosed to have osteoporosis based on clinical findings (presence/absence of pathological fractures), laboratory tests and osteodensitometry. Data were analyzed by using standard statistical methods and statistical significance was assessed by  $\chi^2$  and t – test. **Results.** The most affected patients were women (91%). The incidence of pathological fractures was 31.80%. The presence of two or more fractures caused by a “small trauma” was determined in 13.6%. Cardiovascular comorbidities dominated in 72.70% of cases. The most common therapeutic choice was the bisphosphonates, being administered in 77% along with the simultaneous use of vitamin D analogs - alfacalciferol (13.6%), cholecalciferol (40.9%), calcium carbonate + cholecalciferol (22.7%). **Conclusion.** Osteoporosis shows predominance in females aged 65–70 years. Comorbidities do not increase the risk of disease but significantly reduce the quality of life in patients. Bisphosphonates are the most common drug choice with the simultaneous use of calcium and vitamin D analogs.

**Key words:** Osteoporosis; Aged; Aged, 80 and over; Primary Health Care; Cross-Sectional Studies; Drug Therapy Combination; Diagnosis; Comorbidity; Fractures, Bone; Fractures, Spontaneous

ces vodi ka smanjenju mineralne gustine kostiju i narušavanju mikroarhitektonike koštanih gredica što stvara osnov da oboleli od osteoporoze imaju povećan rizik za nastanak fraktura na *malu traum*. Pojam *mala traum* podrazumeva stresor koji

**Skraćenice**

OP	– osteoporoza
DEXA	– <i>Dual Energy X-Ray Absorbciometry</i>
SD	– standardna devijacija

u normalnim okolnostima kod zdrave osobe neće uzrokovati prelom [1].

Incidencija osteoporoze raste sa starošću i najčešće se javlja kod žena u postmenopauzi. Zbog smanjenja nivoa ovarijalnog estrogena udruženog sa menopauzom, ubrzava se gubitak koštane mase i opada mogućnost remodeliranja kosti [2]. U Sjedinjenim Američkim Državama svaka treća žena bele rase starosti 60–70 godina ima OP dok posle 80. godine života incidencija obolevanja osoba ženskog pola raste na 70%. Procenjeno je da očekivani rizik od frakture kod žena u postmenopauzi do kraja života iznosi 30–40% u zemljama Zapadne Evrope [3].

Osteoporoza predstavlja važan javnozdravstveni problem, povezuje se sa značajnim mobiditetom i mortalitetom i prisutan je kod svake treće žene u postmenopauzi. Karakteriše je značajno umanjeno kvaliteta života zbog prateće simptomatologije – hronični bolovi u kostima i zglobovima, smanjenje telesne visine, invalidnost različitog stepena [3, 4].

Metoda kojom se meri mineralna gustina kosti i procenjuje kvantitet kosti predstavlja i zlatni standard za postavljanje dijagnoze OP – *Dual Energy X-Ray Absorbciometry* (DEXA). DEXA je metoda dvostruke apsorpcijometrije X-zraka gde se na osnovu vrednosti T-skora izraženog u standardnim devijacijama (SD) postavlja dijagnoza. T-skor je odstupanje vrednosti dobijene merenjem (na kuku i/ili lumbalnim pršljenovima) od srednje vrednosti koštane gustine kod mlade zdrave osobe starosti 20–40 godina. Normalnim nalazom smatraju se vrednosti T-skora veće od -1 SD, osteopenija obuhvata opseg T-skora -1 SD do -2,5 SD, dok vrednosti niže od -2,5 SD odgovaraju osteoporozi [5].

Individualna procena rizika od frakture zasniiva se na analizi faktora rizika i komorbiditeta za svakog pojedinačnog pacijenta, nalazu osteodenzitometrije i određivanju biohemijskih markera koštanog metabolizma. Procena markera koštanog metabolizma (alkalna i kisela fosfataza, osteokalcin, prokolagen peptid, kalcijemija, kalciurija itd.) ima značaj za izbor terapije za OP i praćenje njenog biološkog efekta jer se na taj način mogu identifikovati pacijenti sa brzim koštanim metabolizmom i gubitkom koštane mase koji sledi [6].

Smatra se da bolesnici sa visokim stepenom koštane resorpcije imaju i veću korist od antiresorptivne terapije dok kod bolesnika sa niskim koštanim metabolizmom treba forsirati stimulator koštanog formiranja. Bifosfonati, estrogena supstitucionna terapija, kalcitonin, raloksifen i denosumab redukuju resorpciju i stimulišu formiranje kosti. Teriparatid stimuliše na prvom mestu koštano formiranje i terapijski je izbor kod OP izazvane kortikosteroidima [6].

Starenje karakteriše poremećena homeostatska funkcija, smanjenje adaptivnih kapaciteta i promena-

ma u biološko-molekularnim funkcijama. U starosti, naročito posle 70. godine smanjuje se aktivni intestinalni transport kalcijuma kod oba pola. D-1,25 dihidroksi vitamin D je glavni regulator resorpcije kalcijuma i njegova sinteza se sa starošću smanjuje [7].

Obezbeđenje adekvatnog unosa vitamina D ključna je komponenta u terapiji OP. Osobe sa visokim rizikom za nastanak fraktura imaju korist od uzimanja nadoknade vitamina D od najmanje 800 i.j. dnevno. Prema preporukama Svetske zdravstvene organizacije iz 2010. godine nadoknada kalcijuma primenom 1 300 mg kalcijum-glukonata ili citrata sprovodi se uz primenu 600–800 i.j. vitamina D dnevno [7–10].

Prevenција OP u vrhu je prioriteta zdravstvenog sistema svih razvijenih zemalja sveta. Primarna prevencija ima za cilj edukativne postupke da bi se u toku rasta i sazrevanja lokomotornog sistema postigla maksimalna koštana gustina. Sekundarna prevencija podrazumeva identifikaciju individua sa visokim rizikom od nastanka OP i primenu medikamentne terapije (antiresorptivni lekovi uz vitamin D i kalcijum) sa ciljem predupređenja prvog OP preloma. Tercijerne preventivne mere zasniavaju se na sprečavanju nastanka novih multiplih fraktura kod osoba koje su već imale jedan OP prelom [3]. Ciljevi rada bili su da se utvrde učestalost osteoporoze u gerontološkoj populaciji i osnovni demografski parametri (polna i starosna struktura) kod obolelih, kao i prisustvo komorbiditeta kod obolelih od osteoporoze i koje su najčešće upotrebljene terapijske šeme.

**Materijal i metode**

Epidemiološki monitoring osteoporoze u gerontološkoj populaciji sproveden je kao retrospektivna studija, analizom medicinske dokumentacije bolesnika lečenih u Službi za zaštitu zdravlja radnika, Dispanzer „Jovan Jovanović Zmaj“, Dom zdravlja „Novi Sad“ u vremenskom periodu od 1.8.2012. do 12.5.2014. godine. Studija je obuhvatila ukupno 526 bolesnika starijih od 65 godina.

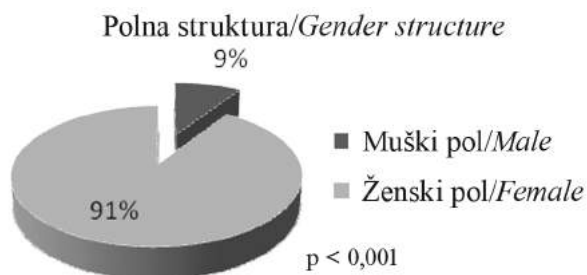
Na osnovu uvida u medicinsku dokumentaciju pacijenata (elektronski karton na odeljenju izabranog lekara) utvrđena je učestalost osteoporoze sa patološkim frakturama i bez njih u okviru ispitivanog uzorka gerontološke populacije u ambulanti primarne zdravstvene zaštite.

Na uzorku od 22 pacijenta sa utvrđenom dijagnozom osteoporoze praćeni su demografski pokazatelji (starost bolesnika, pol obolelih), prisustvo komorbiditeta i najčešće upotrebljene terapijske šeme.

Rezultati istraživanja prikazani su grafički, a obrađeni su standardnim statističkim metodama. U svrhu ocene statističke značajnosti korišćeni su  $\chi^2$  i *t*-test.

**Rezultati**

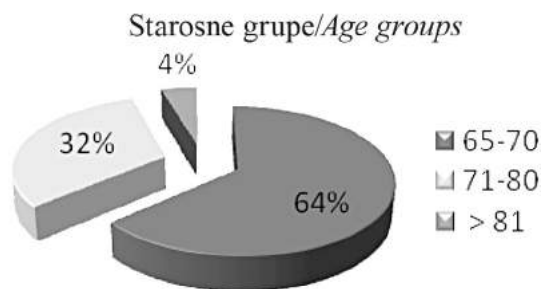
Retrospektivnom analizom utvrđeno je da je u periodu od 1.8.2012. do 12.5.2014. godine u Službi



**Grafikon 1.** Demografska distribucija obolelih od osteoporoze prema polu

**Graph 1.** Demographic distribution of patients by gender

za zaštitu zdravlja radnika, Dispanzer "Jovan Jovanović Zmaj", Dom zdravlja Novi Sad, lečeno 526 pacijenata starijih od 65 godina. Od ukupnog broja pacijenata, gerontološke populacije bilo je 39,2% žena i 60,8% muškaraca. Dijagnoza osteoporoze registrovana je u ispitivanom periodu kod 4,2% (22/526) pacijenata. Distribuciju obolelih po polu i starosnim grupama prikazali smo na **grafikonima 1 i 2**. Utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike u distribuciji obolelih prema polu ( $p < 0,001$ ).



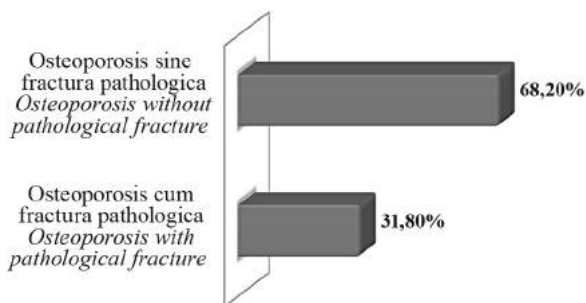
**Grafikon 2.** Demografska distribucija obolelih od osteoporoze prema starosti

**Graph 2.** Demographic distribution of patients by age

Zastupljenost patoloških fraktura u ispitivanom uzorku bolesnika sa osteoporozom iznosi 31,8%. Kod 13,6% obolelih utvrđeno je postojanje dve i više fraktura na malu traumu. Dobijene rezultate prikazali smo grafički (**Grafikon 3**).

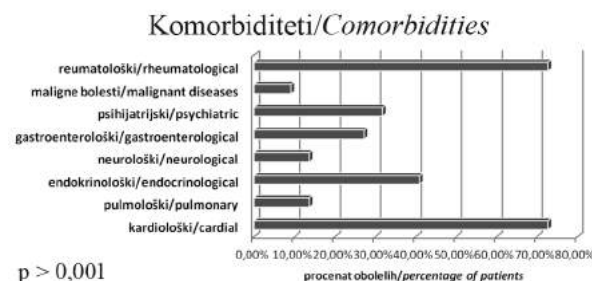
Ispitali smo prisustvo komorbiditeta i predisponirajućih faktora za obolevanje. Prisustvo pridruženih oboljenja registrovano je kod 100% pacijenata. Najveću učestalost kod pacijenata sa komorbiditetima pokazuju kardiovaskularne bolesti (72,7%) i pridružena reumatološka oboljenja (72,7%). Distribuciju ispitivanih grupa oboljenja prikazali smo grafički (**Grafikon 4**). Ne postoji statistički značajna razlika u zastupljenosti posmatranih grupa bolesti.

Posmatrali smo i najčešće terapijske šeme u postupku lečenja OP (**Grafikon 5**). U okviru medikamentne terapije, najčešći izbor predstavljaju bifosfonati sa 77% uz istovremenu upotrebu analoga vita-



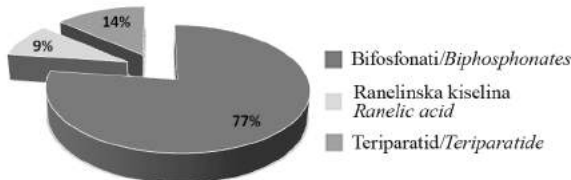
**Grafikon 3.** Učestalost patoloških fraktura kod bolesnika sa osteoporozom

**Graph 3.** The incidence of pathological fractures among patients



**Grafikon 4.** Zastupljenost registrovanih grupa komorbiditeta kod obolelih ( $p > 0,001$ )

**Graph 4.** Percentage of registered groups of comorbidity among patients ( $p > 0,001$ )



**Grafikon 5.** Zastupljenost pojedinačnih grupa lekova u terapiji OP

**Graph 5.** Percentage of registered drug groups among patients

mina D – alfacalciferol (13,6%), holecalficerol (40,9%), kalcijum-karbonat + holecalficerol (22,7%).

## Diskusija

Osteoporoza postaje vodeći problem današnjice prvenstveno zbog učestalosti. Preteća epidemija OP u nastupajućim decenijama posledica je demografskih promena, odnosno povećanja broja osoba starijih od 65 godina i starenja populacije, što doprinosi i većoj učestalosti fraktura. Na bazi OP javlja se više od 1,5 miliona vertebralnih i nevertebralnih fraktura [3]. U našem istraživanju kojim smo obuhvatili 526 pacijenata gerijatrijskog doba dokazana je učestalost OP od 4,2%.

Grupa autora iz Japana ukazuje na veću incidenciju obolevanja osoba ženskog pola i podjednak značaj genetskih i negenetskih faktora za nastanak obolevanja. Ova studija pokazuje da od OP u svetu boluje više od 200 miliona ljudi [11]. Naši podaci u skladu su sa rezultatima japanskih autora. U ispitivanom uzorku gerontološke populacije utvrdili smo predominaciju osoba ženskog pola obolelih od OP (91%).

Heanez u svom istraživanju ističe da žene starije od 50 godina imaju 40–50% izgleda da do kraja života dobiju prelom zbog OP, dok u 90. godini života ove izgleda ima svaka treća žena [12]. Približno 20% bolesnika starijih od 50 godina umire u prvoj godini posle nastanka preloma, 25% ovih pacijenata su dugotrajno nepokretni i zahtevaju negu [13]. Rezultate slične Heanezovoj studiji pokazalo je i naše istraživanje. Sa zastupljenošću od 31,8% OP fraktura kod obolelih, može se konstatovati da svaka treća osoba obolela od OP može da doživi neku vrstu frakture. Nijedan smrtni ishod OP preloma u našoj studiji nije registrovan.

Naša iskustva pokazuju da se inicijalno zbrinjavanje obolelih od OP u ambulancama primarne zdravstvene zaštite zasniva na simptomatskoj terapiji radi kupiranja nastalih tegoba – analgetici, miorelaksanti kod akutnog bola, miorelaksanti i niske doze sedativa kod spazma muskulature, analgetici, naučene vežbe i zaštitni pokreti kod hroničnog bola. Upotrebu ortopedskog midera registrovali smo u 4,6% slučajeva. Izvedeni zaključci koreliraju sa iskustvima koje su predočili Milošević i saradnici sa Univerziteta u Beogradu [7].

Prema stavovima domaćih istraživača, antiresorptivna terapija dovodi do redukcije 30–70% nivoa biohemijskih markera resorpcije, dok anabolička terapija povećava markere koštanog formiranja za 30–50%. Biohemijski markeri koštanog metabolizma imaju ključnu ulogu u izboru medikamentne terapije za OP. Bifosfonati, estrogenska supstitucija, raloksifen, kalcitonin i denosumab smanjuju resorpciju kosti i stimulišu formiranje. Teriparatid na prvom mestu stimuliše koštano formiranje [6]. Naša studija pokazala je da je u gerontološkoj populaciji prvi izbor, u najvećem broju slučajeva, lek iz grupe bifosfonata uz obaveznu supstituciju vitaminom D.

Upotrebom alendronata za 6 meseci postiže se redukcija koštanog metabolizma i traje 12 meseci [6]. Alendronat je među našim ispitanicima najče-

šće upotrebljen bifosfonat – kao čist alendronat u 31,8% slučajeva i kao kombinacija alendronat natrijum + holekalciferol kod 31,8%.

Devogeale ukazuje na poseban značaj teriparatida u terapiji OP indukovane glukokortikoidima [14]. Prema proceni Delmasa i saradnika teriparatid je rezervisan za teži stepen OP, povećava markere formiranja za mesec dana i pokazao je značajan terapijski uspeh [15]. U skladu sa stavovima stranih istraživača, teriparatid je terapijski izbor kod 9,09% naših pacijenata koji imaju minimalno dve frakture na *malu traumatu* i najteže oblike OP.

Ricoli sa saradnicima dokazuje da se smanjenje rizika od nastanka fraktura, kod žena koje pripadaju kategoriji sa visokim rizikom, najbrže postiže istovremenom upotrebom suplemenata vitamina D i kalcijuma. Preporučeni unos 1 000–1 200 mg kalcijuma i 800 i.j. vitamina D na dnevnom nivou. Gotove kombinacije kalcijuma i vitamina D u jednom preparatu imaju veću adhezivnost i pokazuju bolju efikasnost [1]. Fiksne kombinacije kalcijuma i vitamina D – kalcijum-karbonat sa holekalciferolom, kod naših pacijenata upotrebljene su u 22,7% slučajeva. Najčešći terapijski izbor predstavlja holekalciferol sa 40,9% zastupljenosti; alfa-kalciferol se znatno ređe uvodi (13,6%).

Na uzorku od 9 038 pacijenata, u okviru opsežne metanalize Boonen je ispitivao efekat izolovane upotrebe D vitamina i potvrdio sa saradnicima da ovo nije dovoljno da bi se u značajnijoj meri redukovao rizik od nastanka frakture kuka kod žena u postmenopauzi [16].

Supstituciju vitamina D i kalcijuma neophodno je usmeriti na ciljne grupe sa povećanim rizikom za nastanak frakture. Godine starosti uvećavaju rizik za nastanak preloma i indikator su za uvođenje supstitucione terapije u populacionoj strukturi starijih od 65 godina.

## Zaključak

Osteoporoza pokazuje zastupljenost predominantno kod osoba ženskog pola, starosne grupe 65–70 godina. Prisustvo komorbiditeta ne povećava rizik od nastanka osteoporoze, ali u značajnoj meri smanjuje kvalitet života obolelih.

Bifosfonati predstavljaju najčešći terapijski izbor u lečenju osteoporoze, uz istovremenu primenu kalcijuma i analoga vitamina D.

## Literatura

1. Rizzoli R, Boonen S, Brandi ML, et al. The role of calcium and vitamin D in the management of osteoporosis. *Bone*. 2008; 42:246-9.
2. North American Menopause Society. The role of calcium in peri- and postmenopausal women: 2006 position statement of the North American Menopause Society. *Menopause* 2006;13(6):862-77.
3. Vujasinović-Stupar N, Radojčić Lj, Nenadić D. Prevencija osteoporoze. *Vojnosanit Pregl* 2007;64(3):205-10.
4. Vuksanović M, Đurica S, Žerajić B. Dijabetes melitus – faktor rizika od nastanka osteoporoze. *Vojnosanit Pregl*. 2008;65(9):692-8.
5. Zvekić-Svorcan J, Filipov P, Stanimirov B, Filipović K, Subin Teodosijević S. Povezanost mineralne koštane gustine i indeksa telesne mase kao faktora rizika za nastanak osteoporoze. *Timoč Med Glas*. 2011;36:197-200.
6. Kovačev-Zavišić B, Novaković-Paro J, Čurić N, Ičin T, Todorović-Đilas Lj, Kovačev N. Biohemijski markeri košta-



nog metabolizma i biološki efekti terapije za osteoporozu. *Vojnosanit Pregl.* 2012;69(5):432-6.

7. Milošević D, Đurica S, Erceg P, Zdravković S, Despotović N. Osteoporoza u kliničkoj gerijatrijskoj praksi. In: Milošević D, Davidović M, editors. *Medicinska gerontologija* Beograd 2007. p. 137-41.

8. Holick MF, Siris ES, Binkley N, et al. Prevalence of vitamin D inadequacy among postmenopausal North American women receiving osteoporosis therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:3215-24.

9. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(6 Suppl):S1678-88.

10. World Health Organization, Food and Agricultural Organization of the United Nations. Vitamin and mineral requirements in human nutrition. [Internet]. Washington: World Health Organization; 2004[cited 2010 June 6]. Available from. [www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/9241546123/en/index.html](http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/9241546123/en/index.html). Accessed 6 June 2010.

11. Nampei A, Hashimoto J. Bone fracture and the healing mechanisms. *Metabolic bone disease and skeletal healing.* *Clin Calcium* 2009;19(5):648-52.

Rad je primljen 14. X 2014.

Recenziran 24. XI 2014

Prihvaćen za štampu 25. XI 2014.

BIBLID.0025-8105:(2014):LXVII:(Suppl 2):52-56.

12. Heanež RP. Alendronate plus cholecalciferol for the treatment of osteoporosis. *Women's Health* 2006;2(1):23-7.

13. Reginster JY. The high prevalence of inadequate serum vitamin D levels and implications for bone health. *Curr Med Res Opin.* 2005;21(4):579-86.

14. Devogeleer JP, Adler RA, Recknor C, See K, Warner MR, Wong M, et al. Baseline glucocorticoid dose and bone mineral density response with teriparatide or alendronate therapy in patients with glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Rheumatol* 2010;37(1):141-8.

15. Delmas PD, Licata AA, Reginster JY, Crans GG, Chen P, Misurski DA, et al. Fracture risk reduction during treatment with teriparatide is independent of pretreatment bone turnover. *Bone* 2006;39(2):237-43.

16. Boonen S, Lips P, Bouillon R, et al. Need for additional calcium to reduce the risk of hip fracture with vitamin D supplementation: evidence from a comparative meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:1415-23.

Klinički centar Vojvodine, Centralna apoteka, Novi Sad, Srbija  
Odsek za nabavku i izdavanje medicinskih sredstava

UDK 577.115:575  
DOI: 10.2298/MPNS14S2057D

## OPTIMIZACIJA I EVALUACIJA METODE ZA GENOTIPIZACIJU APOLIPOPROTEINA E

### OPTIMISATION AND EVALUATION OF RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLIMORFISM METHOD FOR APOLIPOPROTEIN E

Nevena DRLJEVIĆ

#### Sažetak

**Uvod.** Polimorfizam gena apolipoproteina E karakteriše prisustvo tri alela, e2, e3 i e4, koji kodiraju tri izoforme apolipoproteina E u plazmi E2, E3 i E4. Genetski polimorfizam gena apolipoproteina E predstavlja markere predikcije za razvoj brojnih poremećaja lipidnog statusa. Cilj našeg istraživanja bilo je ispitivanje uspešnosti primene metode detekcije polimorfizama dužine restrikcionih fragmenata prilikom analize gena koji kodiraju sintezu izozima apolipoproteina E. **Materijal i metode.** Materijal korišćen u radu predstavljala je deoksiribonukleinska kiselina. Metodom lančane reakcije polimeraze umnožen je deo četvrtog egzona gena apolipoproteina E. Lančana reakcija polimeraze produkti podvrgnuti su sečenju sa HhaI restrikcionim enzimom. Dobijeni fragmenti razdvojeni su i detektovani ultraljubičastim svetlom. **Rezultati.** Naši rezultati pokazuju da je primena metode polimorfizma dužine restrikcionih fragmenata optimalna za detekciju polimorfni oblika gena lančane reakcije polimeraze. HhaI enzim seče gen na različitim mestima, u zavisnosti od prisustva mutacije na pozicijama 112 i 158 koje kodiraju različiti aleli. **Zaključak.** Na ovaj način se jednostavno, brzo i efikasno, na osnovu različitih dužina isečenih fragmenata, nedvosmisleno određuje genotip pacijenata

**Ključne reči:** RFLP; Apolipoprotein E; Prediktivna vrednost testova; PCR; Biološki markeri; Poremećaji metabolizma lipida

#### Uvod

Humani apolipoprotein E (Apo E) jeste serumski glikoprotein koji sadrži 299 amino-kiselina [1]. ApoE je potentni modulator plazma lipoproteina i nivoa holesterola, koji svoje delovanje ispoljava preko interakcije sa receptorima koji pripadaju familiji lipoproteina male gustine receptora. Kod ljudi, odsustvo ApoE ili prisustvo izmenjenog oblika može dovesti do pojave hiperlipidemije tip III, koju karakteriše rana ateroskleroza i akumulacija plazmatskog holesterola [2].

Zahvalnost: U izradi rada učestvovali su asist. Nataša Jovanović i prof. dr Karmen Stankov.

#### Summary

**Introduction.** Apolipoprotein E gene polymorphism is characterized by the presence of three common alleles, e2, e3 and e4, which encode three isoforms of apolipoprotein E in plasma E2, E3 and E4. Genetic polymorphisms of apolipoprotein E gene are predictive markers for the development of numerous disorders of lipid metabolism, already proven in a large number of clinical trials. This study was aimed at assessing the success rate of restriction fragment length polymorphism method for the detections of genes coding for isoenzymes E2, E3 and E4. **Material and Methods.** Deoxyribonucleic acid, used in this study, was extracted from blood by standard procedure using chloroform and phenol. The polymerase chain reaction method was used to amplify the coding sequence of fourth exon of the apolipoprotein E gene. Amplification products were digested with HhaI. The fragments obtained were separated by electrophoresis and visualized with ultraviolet light. **Results.** Our results showed that the restriction fragment length polymorphism method is optimal for detection of apolipoprotein E polymorphisms. The restriction enzyme HhaI achieved the cleavage of the gene on the specific loci, directly depend of presence or absence of mutations at positions 112 and 158, of different alleles. **Conclusion.** This method enables simple, rapid and efficient analysis of restriction fragment length polymorphisms, directly determining the patient's genotype.

**Key words:** Polymorphism, Restriction Fragment Length; Apolipoproteins E; Predictive Value of Tests; Genetic Testing; Polymerase Chain Reaction; Biological Markers; Lipid Metabolism Disorders

ApoE ima tri alela e2, e3 i e4. Zbog te činjenice u populaciji su pronađena tri homozigota (e2/e2, e3/e3, e4/e4) i tri heterozigota (e2/e3, e2/e4, e3/e4) [3]. Tri izozima (E2, E3 i E4) razlikuju se međusobno prema aminokiselinama koje se nalaze na pozicijama 112 i 158. E2 sadrži cistein i na poziciji 112 i na poziciji 158. E4 sadrži arginin na pozicijama 112 i 158, a E3 sadrži cistein na poziciji 112 i arginin na poziciji 158 [2].

Polimorfizam Apoe naročito ima uticaja kod starije populacije. Nađeno je da različite forme apoE gena imaju drugačije ateroprotektivno dejstvo. Alel e4 je povezan sa ozbiljnijim srčanim bolestima, dok je e2 povezan sa manje ozbiljnim stanjima. To se može objasniti činjenicom da e4 alel ima manju antioksidativnu aktivnost od e2 i e3 oblika [3].

**Skraćenice**

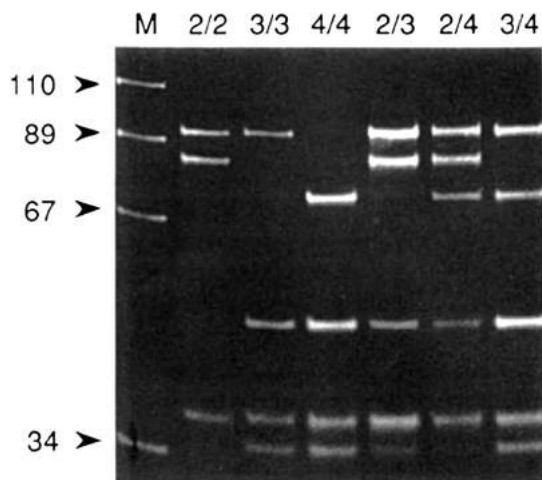
ApoE	– apolipoprotein E
DNK	– dezoksiribonukleinska kiselina
PCR	– lančana reakcija polimeraze
RFLP	– polimorfizam dužine restrikcionih fragmenata
BP	– bazni par
EDTA	– etilen-diamino-tetra sirćetna kiselina
UV	– ultraljubičasto svetlo

Smatra se da cistein na poziciji 112 ima uticaj na povećanje prevalencije abdominalne gojaznosti i niskih vrednosti lipoproteina velike gustine holesterola. S tim u vezi, E3/E3 izoforme u pređenju sa E4 izoformama (E3/E4 i E4/E4) imaju povećani rizik za nastanak gojaznosti i niske vrednosti HDL. Povezanost E2 izoformi (E2/E3 i E2/E2) sa ovim bolestima nije pronađena [4]. Dokazana je i povezanost prisustva e4 alela sa razvojem rezistentnog na insulin, dijabetes melitus tip II [5].

Prisustvo e4 alela povezuje se sa pojavom Alchajmerove bolesti zbog uticaja na akumulaciju  $\beta$ -amiloidnog plaka. Kod ispitanika koji nisu imali e4 alel, prevalencija bolesti dostigla je maksimum u 95. godini, kod heterozigota u 87. godini dok je kod homozigota starosno doba iznosilo 73 godine [6]. S druge strane, studije su pokazale protektivno dejstvo e2 alela.

Rezultati nekoliko studija pokazali su da e4 alel ima uticaj na povećanje rizika od vaskularne demencije. U studiji u koju su bile uključene 3 424 osobe starosti 65 godina i starijih, dokazano je da je alel e4 povezan sa povećanim rizikom od vaskularne demencije i to u zavisnosti od prisustva jednog ili oba alela. Kod heterozigota rizik je povećan 1,6 puta, dok je kod homozigota to povećanje iznosilo 4,4 puta [7].

Zbog velikog uticaja polimorfizma apoE gena na metabolizam, interesovanje za brzo određivanje njegovih alela se povećalo. U ovom radu opisana je me-



**Slika 1.** Određivanje genotipa na gelu pomoću fragmenata različite dužine  
**Figure 1.** Determination of genotype on the gel using various length of the fragments

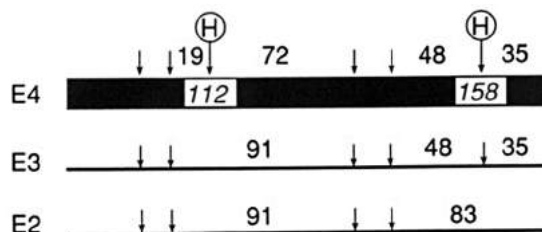
toda polimorfizama dužine restrikcionih fragmenata RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) kao brza i jednostavna metoda za tipizaciju apoE alela. Svaki genotip može biti istaknut jedinstvenom kombinacijom veličina fragmenata u svim homozigotnim i heterozigotnim kombinacijama. HhaI prepoznaje GCGC segment i tu vrši sečenje.

Alel e4 ima 6 mesta na kojima sečenje može biti izvršeno, uključujući i argininske rezidue (GCGC) na pozicijama 112 i 158. Alel e3 na poziciji 112 sadrži cisteinske rezidue (GTGC) i zbog toga kod ovog alela neće biti sečenja na tom mestu, tj. postojaće 5 mesta sečenja. e2 kodira cistein i na poziciji 112(GTGC) i 158(GTGC), zbog toga će kod njega biti ukinuta 2 mesta sečenja, dakle postojaće 4 mesta sečenja [8].

Svaki genotip sadrži jedinstvenu kombinaciju dužina fragmenata (**Slika 1**).

Kod genotipa e4/e4 uočavaju se fragmenti koji sadrže 72 bp i manji fragmenti od 48, 35 i 19 bp. Kod genotipa e2/e2 javljaju se fragmenti od 91 bp i 83 bp jer HhaI ne seče GTGC region cisteinskih rezidua. e3/e3 sadrži fragment dužine 91 bp jer i on na poziciji 112 sadrži cisteinske rezidue (GTGC) koje ukidaju mesto sečenja. Pored ovog, e3 poseduje i manje fragmente od 48 i 35 bp. [8] (**Slika 2**).

Naše istraživanje zasnovano je na hipotezi da primena RFLP metode, predstavlja optimalan metod za detekciju alelnih formi apoE gena. Osnovni



**Slika 2.** Šematski prikaz mesta sečenja pomoću HhaI enzima

**Figure 2.** Schematic view of the cleavage spots by HhaI enzyme

cilj istraživanja je primena i optimizacija RFLP metode za detekciju polimorfizma apoE gena. Za realizaciju ovog cilja analizirali smo uzorke DNK izolovane iz uzoraka krvi zdravih dobrovoljaca.

**Materijal i metode**

Za RFLP analizu smo koristili produkte lančane reakcije polimeraze (PCR) dobijene amplifikacijom dela četvrtog egzona apoE gena iz dezoksiribonukleinske kiseline (DNK) uzoraka dobijenih izolacijom iz leukocita pune krvi dva zdrava dobrovoljca. Uzorke smo sakupljali u kivete sa etilen-diamino-tetra sirćetnom kiselinom nakon 12 sati gladovanja.

*Izolacija DNK iz krvi*

DNK smo izolovali prema standardnoj proceduri izolacije DNK iz krvi pomoću fenola i hlороforma. Radi određivanja koncentracije i kvaliteta dobijene DNK uzorke smo analizirali na spektrofotometru, *BioSpec nano*.

Odnos  $A_{260}/A_{280}$  je najuobičajni način određivanja proteinske kontaminacije. Za rastvor sa odnosom 1,8 smatra se da sadrži čistu DNK. Vrednosti manje od 1,8 upućuju na kontaminaciju proteinima, a vrednosti više od 1,8 na kontaminaciju sa ribonukleinskom kiselinom. Odnos  $A_{230}/A_{260}$  još je bolji indikator proteinske kontaminacije, a takođe i kontaminacije polifenolima i ugljenim hidratima. Vrednosti niže od 0,5 upućuju na čiste uzorke [9].

*Amplifikacija DNK izvođenjem PCR reakcije*

Deo četvrtog egzona apoE gena smo amplifikovali PCR metodom. U svaku kivetu pomešali smo po 2  $\mu$ l DNK i po 23  $\mu$ l mastermiksa. Za pripremu mastermiksa koristili smo QIAGEN kit. Nakon pripreme mastermiksa, u kivete smo dodali po 2  $\mu$ l izolovane DNK. U kivetu za slepu probu nismo dodavali DNK. DNK je potom podvrgnuta umnožavanju pomoću PCR uređaja, *Eppendorf Thermocycler*. Za oba uzorka genomska DNK je amplifikovana tokom 30 ciklusa. Svaki ciklus se sastojao od denaturacije 1 minut na 95° C, veziva-

nja prajmera 1 minut na 60° C i elengacije na 72° C 2 minuta. Pre svih ciklusa, inicijalna denaturacija je izvršena 5 minuta na 95° C.

Provera produkata vršena je uz pomoć elektroforeze na 2% agarozu. Željeni produkt je dužine oko 244 bp (**Slika 3**).

*Sečenje ApoE upotrebom HhaI enzima*

Nakon elektroforeze, preostali deo PCR produkta seče se uz pomoć enzima radi detekcije alela apoE.

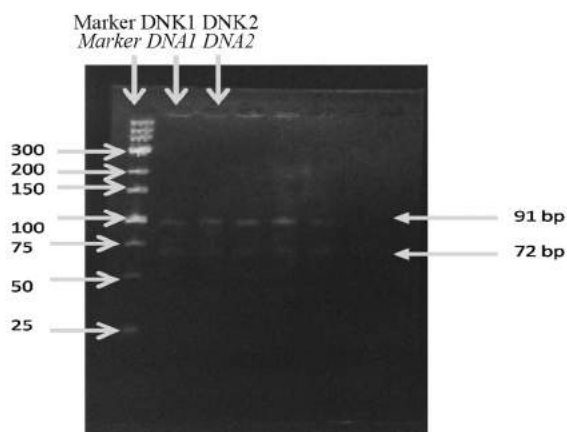
Za RFLP sečenje koristili smo 2  $\mu$ l pufera, 10 u HhaI enzima i 7  $\mu$ l H<sub>2</sub>O za mastermiks u kivetu od 1,5 ml. U svaku kivetu od 0,5 ml stavljeno je 10  $\mu$ l mastermiksa i 10  $\mu$ l PCR produkta, nakon toga kivetu smo obavili parafilomom. Uzorci su inkubirani na 37° C 3 sata. Fragmente smo analizirali elektroforezom na finom *MetaPhore* gelu u 1XTEA puferu, na konstantnoj voltaži od 100 V oko 1 h i 45 minuta. Dodatkom etidijum-bromida prilikom pripreme gela omogućena je vizuelizacija fragmenata pod ultraljubičastim transiluminatorom (**Tabela 1**).

**Rezultati**

Kod prvog uzorka odnos apsorbanci na 260 nm i 280 nm je 1,81, a kod drugog 1,92. Odnos apsorbanci na 230 nm i 260 nm kod prvog uzorka iznosi 0,51, a kod drugog 0,55. Možemo smatrati da naš uzorak sadrži čistu DNK, zadovoljavajuće koncentracije odnosno prinosa.

Proveru PCR produkata izvršili smo na 2% agaroznom gelu. Naš produkt uočen je kao fragment jakog signala od 244 bp.

Nakon RFLP sečenja, HhaI enzimom na finom *MetaPhore* 4% uočeni su fragmenti od 91 bp, 48 bp i 35 bp kod prvog subjekta. Fragmenti tih dužina javljaju se usled sečenja na poziciji 158, dok na poziciji 122 sečenje izostaje. Na osnovu toga zaključujemo da je u pitanju genotip e3/e3. Kod drugog subjekta uočeni su fragmenti 48 bp i 35 bp jakog signala i fragmenti od 91 bp, 72 bp i 19 bp malo slabijeg signala. Fragmenti od 91 bp, 48 bp i 35 bp potiču od alela e3 kod koga se vrši sečenje na poziciji 158(GCGC), dok na poziciji 122(GTGC) nema prepoznavanja od HhaI enzima. Fragmenti od 72 bp, 48 bp, 35 bp i 19 bp potiču od prisustva alela e4 kod koga se sečenje vrši i na poziciji 122 i na poziciji 158. Kao rezultat preklapanja



**Slika 3.** Izgled gela nakon elektroforeze  
**Figure 3.** The appearance of the gel after electrophoresis

**Tabela 1.** Reagensi za mastermiks, potrebni za jednu reakciju  
**Table 1.** Master Mix reagents, required for a single reaction

10 X Buffer	2,5 $\mu$ l
dNTP	2,5 $\mu$
F4 (10 pM)	0,5 $\mu$ l
F6 (10 pM)	0,5 $\mu$ l
5XQ	5 $\mu$ l
d (H <sub>2</sub> O)	9,2 $\mu$ l
MgCl <sub>2</sub>	2,5 $\mu$ l
Taq (5 u/ $\mu$ l)	0,3 $\mu$ l
Ukupna zapremina/Total volume	23 $\mu$ l

**Tabela 2.** Reagensi koji se koriste za reakciju sečenje enzima  
**Table 2.** The reagents used for the reaction of the enzyme cutting

10 X Buffer	2,8 µl
HhaI (10 J/ µL)	1 µl
d H <sub>2</sub> O	6,2 µl
Ukupna zapremina mastermiksa/Total volume of master mix	10 µl

fragmenata od 48 bp i 35 bp, oni se javljaju u vidu jačeg signala. Na osnovu toga zaključujemo da je u ovom slučaju prisutan genotip e3/e4 (**Tabela 2**).

### Diskusija

Primenom RFLP metode izvršili smo uspešnu detekciju alela ApoE gena. Naši rezultati nedvosmisleno prikazuju genotip dva zdrava ispitivana subjekta. Analizom je dokazano da se radi o e3/e3 i e3/e4 genotipu. U ovom slučaju, naši rezultati, koji su prikazali prisustvo divljeg alela e3 bili su očekivani s obzirom da smo ispitivali dva zdrava subjekta.

U ranijim radovima, za genotipizaciju je korišćena *Southern blot* tehnika sa alel-specifičnim oligonukleotidom. Kod ove metode genomski ili amplifikovana DNK podvrgnuta je hibridizaciji sa 4 različita oligonukleotida, koji su obeleženi radioaktivnim izotopima, za razlikovanje cisteina i arginina na poziciji 112 i 158. Ova metoda je tehnički jako zahtevna i oduzima puno vremena [10]. Za razliku od toga, prisustvo HhaI enzima omogućava jednostavnu genotipizaciju apoE gena. Detekcija alela moguća je direktno na gelu, nakon tretiranja etidijum bromidom u prisustvu UV svetla. Vizuelizacija ne zahteva prisustvo specifičnih radionukleotida.

Većina metoda za detekciju alela počiva na hibridizaciji nukleinskih kiselina, upotrebom specifičnih

oligonukleotida. Analizom rezultata RFLP metode dolazi se do zaključka da upotreba ovog metoda predstavlja jednostavniju alternativu za detekciju alela korišćenjem restrikcionog enzima HhaI koji prepoznaje specifičnu sekvencu i omogućava analizu većeg dela datog segmenta, što je u skladu sa rezultatima drugih autora [8]. Hikson (Hixon) i saradnici [8] u svojoj metodi koriste 5u HhaI enzima, međutim, u skladu sa uslovima naše laboratorije, metoda koju smo koristili pokazala je zadovoljavajuće rezultate.

RFLP metoda se preporučuje i koristi kao najjednostavniji metod za brzu genotipizaciju i određivanje polimorfničkih oblika ApoE gena sa ciljem predviđanja genetski predodređenih poremećaja metabolizma i preduzimanja odgovarajućih mera u skladu s tim.

### Zaključak

U skladu sa postavljenim ciljem testirali smo hipotezu da primena metode polimorfizma dužine restrikcionih fragmenata predstavlja optimalan metod za detekciju polimorfničkih oblika gena apolipoproteina E. Naši rezultati su pokazali da je primena ove metode preporučljiva za detekciju i određivanje polimorfizma gena apolipoproteina E, što je naročito značajno kod starije populacije zbog uticaja u dijagnostikovanju poremećaja metabolizma lipida i uticaja na pojavu neurodegenerativnih poremećaja.

### Literatura

1. Verghese P, Casellano J, Holzman D. Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Lancet Neurol* 2011;10:241-52.
2. Hauser P, Narayanswami V, Ryan R. Apolipoprotein E: from lipid transport to neurobiology. *Prog Lipid Res.* 2011;50(1):62-74.
3. Djan I, Stokić E, Sakač D, Djan M, Obreht D, Erak M, et al. Case control study of APOE gene polymorphism in young CHD patients and controls in the Serbian population. *Arch Biol Sci.* 2011;63(1):89-98.
4. Povel C, Boer J, Imholz S, Dolle M, Feskens E. Genetic variant in lipid metabolism are independently associated with multiple features of the metabolic syndrome. *Lipids Health Dis.* 2011;10:118.
5. To A, Ribe E, Chuang T, Schroeder J, Lovestone S. The E3 and E4 alleles of human APOE differentially affect tau

Rad je primljen 14. X 2014.  
 Recenziran 24. XI 2014  
 Prihvaćen za štampu 25. XI 2014.  
 BIBLID.0025-8105:(2014):LXVII:(Suppl 2):57-60.

- phosphorylation in hiperinsulinemic and pioglitazone treated mice. *PLoS One.* 2011;6(2):e16991. PubMed PMID: 21347323.
6. Breitner JCS, Wyse BW, Anthony JC, Welsh-Bohmer KA, et al. APOE-ε4 count predicts age when prevalence of AD increases, then declines. *Neurology.* 1999;53:2321.
7. Chuang YF, Hayden KM, Norton MC, et al. Association between APOE ε4 allele and vascular dementia: the cache county study. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2010;29:248-53.
8. Hixon JE, Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res.* 1990;3:545-8.
9. Pećina-Šlaus N i saradnici. Odabrana poglavlja molekularne biologije. Zagreb: Medicinska naklada; 2009.
10. Main B, Jones P, MacGillivray R, Banfield D. Apolipoprotein E genotyping using the polymerase chain reaction and allele specific-oligonucleotide primers. *J Lipid Res.* 1991;32:183-7.

Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Novi Sad, Srbija  
Klinika za stomatologiju Vojvodine, Novi Sad, Srbija

UDK 616.314.5-089.87  
DOI: 10.2298/MPNS14S2061V

## MOGUĆNOST ODREĐIVANJA ODNOSA IZMEĐU TRANSLATORNOG KRETANJA I NAGIBA ZUBA AGONISTA NAKON EKSTRAKCIJE PRVIH STALNIH MOLARA

*POSSIBILITY OF DETERMINING RELATIONS BETWEEN TRANSLATORY MOVEMENT AND INCLINATION OF AGONIST TEETH AFTER EXTRACTION OF FIRST PERMANENT MOLARS*

Branka VUKIĆ ČULAFIĆ i Đorđe PETROVIĆ

### Sažetak

**Uvod.** Vađenje zuba može dovesti do različitih i brojnih posledica, posebno u pogledu ekstrakcije stalnih zuba. Poznato je da su učestalost karijesa i učestalost prevremenih ekstrakcija najveći kod prvih stalnih molara. Ciljevi ove studije bili su da se ispita mogućnost određivanja odnosa između translatornog kretanja i nagiba zuba agonista u zavisnosti od uzrasta na kom je izvršena ekstrakcija, te da se ispita mogućnost određivanja odnosa između translatornog kretanja i nagiba zuba agonista u zavisnosti od vremenske udaljenosti od ekstrakcije prvog stalnog molara i analize nastalih promena. **Materijal i metode.** Studija je izvedena na uzorku od 185 ispitanika, uzrasta od 11 do 26 godina ( $X = 14$ ) sa ranom (od 11 godina) i kasnom ekstrakcijom prvih stalnih molara u gornjoj i donjoj vilici i sa određenom klasom I okluzalnih odnosa. **Rezultati.** Odnos, izražen kroz matematičku formulu, između translatornog kretanja i nagiba zuba je potvrđen samo u slučajevima kasnih ekstrakcija. Kod ranih ekstrakcija, dobijeni rezultati vrednosti korelacija nisu pokazali međusobnu povezanost translatornog kretanja i nagiba zuba. **Zaključak.** Odnos između translatornog kretanja i nagiba zuba (drugog premolara i drugog stalnog molara) izražen kroz matematičku formulu, potvrđen je datim vrednostima koeficijenta korelacije, ali se odnosi samo na kasne ekstrakcije. Najveće promene u analiziranom položaju zuba (drugog premolara i drugog stalnog molara) javljaju se u prvoj godini nakon kasne ekstrakcije prvih stalnih molara.

**Ključne reči:** Pomeranje zuba; Molar; Stalna denticija; Ekstrakcija zuba; Okluzija

### Summary

**Introduction.** Tooth extractions, particularly of the permanent teeth, lead to different and numerous consequences. It is known that the incidence of caries and the incidence of premature extractions are the highest with the first permanent molars. The aims of this study were to examine the possibility of determining the relations between the translatory movement and the agonist teeth inclination depending on the time of the performed extraction, as well as on the temporal distance from the moment of extracting the first permanent molar to the moment of analyzing the changes. **Material and Methods.** The study was performed on the sample of 185 subjects, their age ranging from 11 to 26 years ( $X=14$ ) with early (by the age of 11 years) and late performed extraction of the first permanent molars in the maxilla and mandible and determined class I of occlusal relationship. **Results.** The relation, expressed by the mathematical expression, between the translatory movement and tooth inclination has been confirmed, but only in case of late extractions. As for early extractions, the obtained results of the correlation coefficient value showed no relations between translatory movement and tooth inclination. **Conclusion.** The relation between translatory movement and teeth inclination (the second premolars and the second permanent molars) expressed by the mathematical expression has been confirmed by the given values of the correlation coefficient, but only in case of late performed extractions. The biggest changes of the analyzed teeth position (the second premolars and the second permanent molars) occur in the first year after late extractions of the first permanent molars.

**Key words:** Tooth Movement; Molar; Dentition, Permanent; Tooth Extraction; Dental Occlusion

### Introduction

Tooth extractions, particularly of the permanent teeth, lead to different and numerous consequences. It is known that the incidence of caries and the incidence of premature extractions are the highest with the first permanent molars [1]. The changes that occur after the loss of the first permanent molars are different depending on the time when the extraction was performed and the initial individual morphological and functional finding [2]. They appear as morphological and functional changes.

Morphological changes affect agonist and antagonist teeth that frequently change their position, i.e. the inclination, which reflects the whole tooth arch, and, possibly, the occlusal relationship [2–4]. Functional changes may be expected in the supporting structures of agonistic and antagonistic teeth, functions of masticatory muscles and temporomandibular joint [5].

The relation of the translatory agonistic tooth movement and changes in tooth inclination may be assessed after the performed extraction of the first permanent molars since the consequences of extracti-

**Table 1.** The examination of subjects  
*Tabela 1.* Pregled ispitanika

	A Subject sample <i>Uzorak ispitanika</i>	A <sub>1</sub> Subject subgroup with the ex- tractions in the maxillary arch <i>Podgrupa ispitanika sa ekstrak- cijama u maksilarnom luku</i>	A <sub>2</sub> Subject subgroup with the extrac- tions in the mandibular arch <i>Podgrupa ispitanika sa ekstrak- cijama u mandibularnom luku</i>
Early performed extractions "e" <i>Rano izvedene ekstrakcije „e”</i>	90	32	58
Late performed extractions "l" <i>Kasno izvedene ekstrakcije „l”</i>	95	33	62
Total/ <i>Ukupno</i>	185	65	120

on depend on the individual biological reaction of the tissue and present an individual reaction to the conditions governing this stadium of development [6]. If it is possible to reestablish the morphological integrity of dentition and the satisfactory occlusal relationship by means of modern orthodontic therapy [7], the issue that remains is weakening their functional capability to stand the chewing pressure [8].

The aims of this study were to examine the possibility of determining the relation between the translatory movement and the agonist teeth inclination depending on the time of the performed extraction, i.e. the degree of teeth development, as well as on the temporal distance from the moment of extracting the first permanent molar to the moment of analyzing the changes.

### Material and Methods

The study was performed on the sample of 185 subjects, their age ranging from 11 to 26 years ( $X=14$ ) with early (by the age of 11 years) and late performed extradition of the first permanent molars ( $M_1$ ) in the maxilla and mandible and determined class I of occlusal relationship. Therefore, it was important that the extraction of the first permanent molar was on one side, so that the opposite side (control side) had the complete dentition and regularly set canines. Such a selection of subjects provided higher degree of precision in the research, not only for biological variability among the similar, but also for the variability regarding the individual biological reaction of subjects. Since the analysis of the differences between genders was not anticipated within the research, the subjects of both genders were presented as a whole group (Table 1).

The eleventh year of life is considered a limiting year since, most often, at 12 years of age all permanent teeth, except the wisdom teeth, have grown; therefore after the extraction of teeth, the movement of agonists may be expected, which is the result of their inclination. On the contrary, the second premolars, and especially the second permanent molars, are located in the alveolar process before 11 years of age, and after the extraction of the first permanent molars, besides the free space, they have their own growth potential. In this way, they may change their

direction of erupting, and grow towards the location of less resistance (extraction space), moving in mostly translatory way.

The extent of certain teeth translatory movement and extent of their inclination may be determined by mathematical expressions (1) and (2).

$$\Delta' = L \times \sin a \quad (1)$$

$$\Delta = \Delta' + \Delta'' \text{ i.e. } (2)$$

$$\Delta = \Delta' + L \times \sin a$$

where L is the length from the top of the crown to the point of hypomochlion, and a is the measured angle of tooth inclination.

The change of linear length ( $\Delta$ ), of the second premolars ( $P_2$ ) and the second permanent molars ( $M_2$ ) are the result of movement that occurred due to the change of tooth inclination  $\Delta'$  and translatory movement ( $\Delta''$ ) (Figure 1).

$\Delta$  is the length from the middle of incisal edge of central incisors to the top of buccal cusps of the second premolars ( $P_2$ ), and to the top of buccomesial cusps of the second permanent molars ( $M_2$ ). It was measured on cast models at the extraction side and healthy side.

The average values of particular tooth parts and the most possible position of the point of hypomochlion between the middle and apical third of tooth root may be used for determining the value (L) in these mathematical formulas [9].

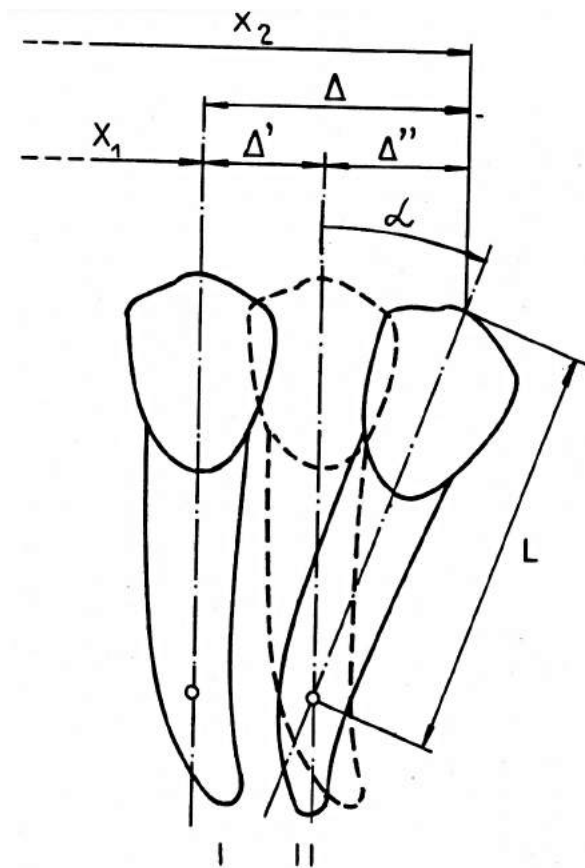
The conditions of tooth inclination were measured in panoramic x-rays, and those were angles created by vertical axes  $P_2$  and  $M_2$  with the eyetooth axis on the side of the extraction and on the healthy side.

The correlation between the examined parameters was analyzed by the scale for interpreting the correlation coefficient values with the following intervals:

- e ranges from  $\pm 0.01$  to  $\pm 0.20$  - no correlation
- e ranges from  $\pm 0.20$  to  $\pm 0.40$  - low correlation
- e ranges from  $\pm 0.40$  to  $\pm 0.70$  - significant correlation
- e ranges from  $\pm 0.70$  to  $\pm 0.99$  - very significant correlation

### Results

After the loss of the contact point, due to tooth extraction, adjacent teeth angulate to the extraction



**Figure 1.** Schematic presentation of the movement of the second premolar after the extraction of the first permanent molar

*Slika 1.* Šematski prikaz kretanja drugog premolara posle ekstrakcije prvog stalnog molara

I Tooth position before the extraction of the first permanent molar/Položaj zuba pre ekstrakcije prvog stalnog molara

II Tooth position after the extraction of the first permanent molar

*II Položaj zuba posle ekstrakcije prvog stalnog molara*

$X_1$  the length from the middle of incisal edge of central incisors to the top of buccal cusp of the second premolar before the extraction of the first permanent molar

$X_1$  dužina od sredine ivice incizije centralnih sekutića do bukalnog vrha drugog premolara pre ekstrakcije prvog stalnog molara

$X_2$  the length from the middle of incisal edge of central incisors after the extraction of the first permanent molar

$X_2$  dužina od sredine ivice incizije centralnih sekutića posle ekstrakcije prvog stalnog molara

Linear movement/Linearno kretanje =  $\Delta' + \Delta''$

$\Delta'$  Translatory tooth movement/Translatorno kretanje zuba

$\Delta''$  The movement resulting from the inclination  $\Delta' = L + \sin \alpha$ /Kretanje nastalo od nagiba  $\Delta' = L + \sin \alpha$

$L$  The length from the top of buccal cusp of the second premolar to the point of hypomochlion/Dužina od bukalnog vrha drugog premolara do tačke hipomochlionona

$\alpha$  The angle of tooth inclination/Ugao nagiba zuba

space around their horizontal axis [3, 5, 6]. The point of inclination (hypomochlion) is based in the section of this horizontal axes and vertical tooth axes. It is frequently based at the joint of middle and apical third of the tooth root. Linear length of the top of the crown  $\Delta''$ , which resulted from such an inclination, may be expressed by mathematical expression (1).

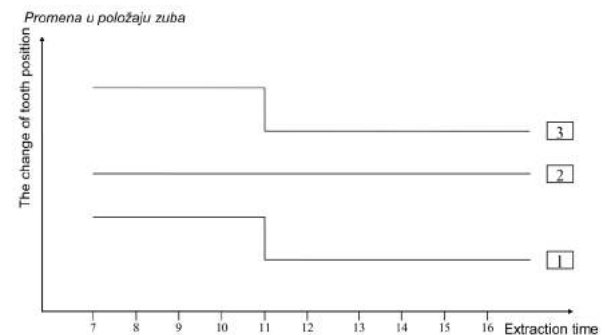
After the loss of the contact point due to the tooth extraction, the adjacent teeth also move in translatory manner, to a higher or lower extent. Then, all tooth parts move equally to a new site, as well as the very hypomochlion point.

Total change of the linear length  $\Delta$ , that has resulted from such a translatory movement  $\Delta'$  and inclination  $\Delta''$ , may be expressed by the mathematical expression (2) that connects changes which have occurred (Table 2).

The relation, expressed by the mathematical expression, between the translatory movement and tooth inclination has been confirmed by the given results of the correlation coefficient value, but only in case of late extractions (Table 3). As for early extractions, the obtained results of the correlation coefficient value showed no relations between translatory movement and tooth inclination.

The analysis of the values for the correlation coefficients between the time when the extraction of the first permanent molars was performed and the change of the movement of adjacent teeth (both linear and angular) showed no relationship between the above-mentioned parameters in any of the examined samples.

The analysis of obtained values for the correlation coefficient between the temporal distance (time



**Figure 2.** The influence of the extraction time on the change of teeth position

*Slika 2.* Uticaj koje vreme ekstrakcije ima na promenu u položaju zuba

1. The change of linear lengths  $P_2$  and  $M_2$  in maxillary and mandibular arch

1 Promena linearnih dužina  $P_2$  i  $M_2$  u maksilarnom i mandibularnom luku

2. The change of tooth inclination  $M_2$  in maxillary and mandibular arch and  $P_2$  maxillary arch

2 Promena nagiba zuba  $M_2$  u maksilarnom i mandibularnom luku i  $P_2$  u maksilarnom luku

3. The change of inclination  $P_2$  in maxillary arch

3 Promena u nagibu  $P_2$  u maksilarnom luku



**Table 2.** Values obtained regarding the translatory movement  
**Tabela 2.** Vrednosti dobijene za translatorno kretanje

Study characteristics <i>Proučavane karakteristike</i>		Early extraction <i>Rana ekstrakcija</i>		Late extraction <i>Kasna ekstrakcija</i>	
		Translatory movement (mm)/ <i>Translatorno kretanje</i>	Movement due to inclination/ <i>Kretanje zbog inklinacije</i>	Translatory movement (mm) <i>Translatorno kretanje</i>	Movement due to inclination/ <i>Kretanje zbog inklinacije</i>
Maxillary arch <i>Maksilarni luk</i>	P <sub>2</sub>	0.98	2.14	0.17	1.13
	M <sub>2</sub>	3.50	3.83	2.07	3.49
Mandibular arch <i>Mandibularni luk</i>	P <sub>2</sub>	1.98	1.25	0.54	1.13
	M <sub>2</sub>	3.19	3.16	1.79	2.94

elapsed from the extraction to the analysis) and the change of the movement of adjacent teeth showed no relationship between the examined parameters in any of the examined samples. This means there is no significance whether the analysis was done one or, for example, five years after the extraction had been performed. It should be noted that in case of early extractions the second premolars – P<sub>2</sub> and the second permanent molars – M<sub>2</sub> have grown to the occlusal plane. This means that if the extraction of the first permanent molar was performed at 7 years of age, minimal necessary temporal distance will be at least four years.

To sum up the above-mentioned, the influence of the extraction time on the change of tooth position within the total examined sample from 7 to 17 years of age may be schematically presented by **Figure 2**.

It has already been emphasized that the second premolar in maxillary arch behaves specifically as presented in the **Figure 2** by broken line 3.

### Discussion

On the basis of performed studies, it can be concluded that the closing of space after the extraction of the first permanent molars is partly a result of the bodily movement, and partly of the

inclination of the adjacent teeth, and it is in accordance with findings of other researchers [2, 3, 10]. The extent to which certain teeth moved bodily and to which they inclined may be determined by the equation (1) and (2). Such obtained values are given in **Table 2**.

According to the results presented in **Table 2** it is possible to conclude that bodily movements of teeth P<sub>2</sub> and M<sub>2</sub> are significantly greater than those following late extractions, around 1.5 mm on average. On the other hand, movements resulting from teeth inclination are approximately the same both after early and late extractions. This may be explained by the palatal position of the bud of these teeth, as well as by limited possibilities of translatory movement due to the specific anatomic form of surrounding maxilla structures (the proximity of sinus cavities).

If the values of translatory and angular movement for a particular tooth are mutually compared, it can be observed that these values are approximately the same after early movements. With late extractions, the values for angular movements are significantly higher, as concluded by Kokich and Kokich in 2006 [7].

According to our results, it may be said that there is mutual dependency between the changes of linear lengths and the angle of tooth inclination with late extractions.

**Table 3.** The relation between translatory movement and tooth inclination  
**Tabela 3.** Odnos između translatornog kretanja i inklinacije zuba

Examined correlations/ <i>Proučavane korelacije</i>	Maxillary arch/ <i>Maksilarni luk</i>		Mandibular arch/ <i>Mandibularni luk</i>					
	Early extractions <i>Rane ekstrakcije</i>	Late extractions <i>Kasne ekstrakcije</i>	Early extractions <i>Rane ekstrakcije</i>	Late extractions <i>Kasne ekstrakcije</i>				
	P <sub>2</sub>	M <sub>2</sub>	P <sub>2</sub>	M <sub>2</sub>				
Linear movement – the time of extraction <i>Linearno kretanje – vreme ekstrakcije</i>	0.17	-0.19	-0.06	-0.01	-0.05	-0.025	-0.28	-0.03
Linear movement – temporal distance <i>Linearno kretanje – vremenska distanca</i>	-0.06	-0.25	-0.08	0.13	0.12	0.28	-0.14	0.12
Angular movement – the time of extraction <i>Angularno kretanje – vreme ekstrakcije</i>	0.22	0.12	0.15	0.17	-0.13	0.01	-0.01	0.17
Angular movement – temporal distance <i>Angularno kretanje – vremenska distanca</i>	0.17	-0.12	-0.15	-0.08	-0.06	0.22	0	-0.14
Linear movement – angular movement <i>Linearno kretanje – angularno kretanje</i>	-0.07	0.13	0.45	0.64	-0.04	0.12	0.47	0.53

By analyzing the influence of time within the examined samples, it has been determined that the time of extraction does not influence the changes of tooth position.

By analyzing the significance of differences, it has been found that the change of tooth inclination does not depend on whether it refers to early or late extraction. On the other hand, as to the application of linear lengths, significant differences are established, as in findings of Jälevik [2].

The presence of correlation between the change of tooth position and temporal distance leads to the conclusion that further teeth movement does not result from the passing of time. This means that, as far as early extractions are concerned, all changes in teeth position occur simultaneously with tooth eruption. Since the temporal distance in this study referred to one year or more, it may be concluded that all established changes of teeth position, which were in occlusion at the time of extraction (late extraction), occurred in the first year after the performed extraction. This is completely in accordance with the expected tooth behavior in the arrange-

ment of teeth if space is adequate on one side and with other findings [2, 7, 10].

However, the above-mentioned dependency is not established with early extractions. This may be explained by high individual variations in the position of these teeth before erupting. These variations are fully expressed after the extraction of the first permanent molars since large space has been acquired, as well as the alveolar ridge shape alterations following extractions [3, 6, 7].

### Conclusions

The relation between translatory movement and teeth inclination (the second premolars and the second permanent molars) expressed by the mathematical expression has been confirmed by the given values of the correlation coefficient, but only in case of late performed extractions.

The biggest changes of the analyzed teeth position (the second premolars and the second permanent molars) occur in the first year after late extractions of the first permanent molars.

### References

1. Albadri S, Zaitoun H, McDonnell ST, Davidson LE. Extraction of first permanent molar teeth: results from three dental hospitals. *Br Dent J.* 2007;203:408-9.
2. Jälevik B, Möller M. Evaluation of spontaneous space closure and development of permanent dentition after extraction of hypomineralized permanent first molars. *Int J Paediatr Dent.* 2007;17:328-35.
3. Ay S, Agar U, Bicakci AA, Kosger HH. Changes in mandibular third molar angle and position after unilateral mandibular first molar extraction. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2006;129:36-41.
4. Yavuz I, Baydas B, Ikbali A, Dagsuyu IM, Ceylan I. Effects of early loss of permanent first molars on the development of third molars. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2006;130:634-8.
5. Shugars DA, Bader JD, Phillips JR SW, White BA, Brantley CF. The Consequences of not replacing a missing posterior tooth. *J Am Dent Assoc.* 2000;131:1317-23.
6. Kanno T, Carlsson GE. A review of the shortened dental arch concept focusing on the work by the Kayser/Nijmegen group. *J Oral Rehabil.* 2006;33:850-62.
7. Kokich VG, Kokich VO. Congenitally missing mandibular second premolars: clinical options. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2006;130:437-44.
8. Armellini D, Fraunhofer A. The shortened dental arch: A review of the literature. *J Prosthet Dent.* 2004;92:531-5.
9. Soumya SV, Vasantharao A. Odontometric data and new regression equations for predicting the size of unerupted permanent canine and premolars for chennai population. *J Ind Orthod Soc.* 2013;47(4):306-31.
10. Asai M, Tomochika A, Yasuhiko A. Molar extraction: a perspective on a clinical study. *Orthod Waves.* 2007;66:41-51.

Rad je primljen 14. X 2014.

Recenziran 24. XI 2014

Prihvaćen za štampu 25. XI 2014.

BIBLID.0025-8105:(2014):LXVII:(Suppl 2):61-65.

## 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 navođenjem 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. Sadrži sve delove originalnog naučnog rada u skraćenom obliku.

**5. Stručni članci** – do 10 stranica. Odnose se na proveru ili reprodukciju poznatih istraživanja i predstavljaju koristan materijal u širenju znanja i prilagođavanja izvornih istraživanja potrebama nauke i prakse.

**6. Prikazi slučajeva** – do 6 stranica. 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, Pfaffler MA. *Medical microbiology*. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

\* *Urednik(ci) kao autor*

Danset J, Colombani J, eds. *Histocompatibility testing 1972*. Copenhagen: Munksgaard, 1973:12-8.

\* *Poglavlje u knjizi*

Weinstein L, Schwartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. In: Soderman WA Jr, Soderman WA, eds. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*. Philadelphia: Saunders; 1974. p. 457-72.

\* *Rad u zborniku radova*

Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editors. *Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming*; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

\* *Disertacije i teze*

Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertation]. Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002.

Elektronski materijal

\* *Članak u Časopisu u elektronskoj formi*

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 1 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htmArticle>

\* *Monografije u elektronskoj formi*

CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on 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 potpisano 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/](http://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](mailto: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, eligibili-

ty 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, Lutten 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: [aseestant.ceon.rs/index.php/medpreg/](http://aseestant.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](mailto:dlv@neobee.net)**