

ČASOPIS MEDICINSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU



MEDICINSKA ISTRAŽIVANJA

UREĐIVAČKI ODBOR - EDITORIAL BOARD

GLAVNI I ODGOVORNI UREDNIK - EDITOR-IN-CHIEF

Prof. dr Đorđe Radak

UREDNIK - EDITOR

Prof. dr Aleksandar Ljubić

SEKRETAR - SECRETARY

Prof. dr Zvezdana Kojić

Članovi - Members:

Akademik Miodrag Ostojić
Akademik Vladimir Kostić
Akademik Vladimir Bumbaširević
Akademik Dragan Micić
Prof. dr Predrag Peško, dopisni član SANU
Prof. dr Nebojša Lalić, dopisni član SANU
Prof. dr Lazar Davidović
Prof. dr Gordana Basta- Jovanović
Prof. dr Vesna Bošnjak-Petrović
Prof. dr Tanja Jovanović
Prof. dr Dragan Delić
Prof. dr Laslo Puškaš
Prof. dr Sandra Šipetić-Grujičić
Prof. dr Nada Dimković
Doc. dr Ivanka Marković
Doc. dr Vladimir Trajković
Asist. dr Petar Otašević
Asist. dr Vojislav Parezanović

Članovi odbora iz inostranstva:

Members of the board from foreign countries

Евгений Иванович Чазов - Rusija, Russia
Николай Романович Палев - Rusija, Russia
Basil D. Thanopoulos - Grčka, Greece
Nicholas Kastilambros - Grčka, Greece
Александр Аметов - Rusija, Russia
Manuel Serrano-Rios - Španija, Spain
Felipe F. Casanueva - Španija, Spain
Maria Angelica Milgino - Brazil, Brasil
Ralf Ferdinand Basting - Nemačka, Germany
Albert Hofman - Holandija, Netherland
Guido Macchiarelli - Italija, Italy

TEHNIČKI SEKRETAR

Milanka Ćirić

MEDICINSKI FAKULTET UNIVERZITETA U BEOGRADU, Zbornik radova, Tom 1. Sv. 1962. i tom 1. Sv. 1. 1964.
ZBORNIK RADOVA, povodom 50-godišnjice rada Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, Beograd 1970.

[illegible]

MEDICINSKA ISTRAŽIVANJA

GODINA 2011.

SADRŽAJ - CONTENTS

VOL. 45. Sveska 4

PAEDIATRIC ANAESTHESIA. DO WE NEED SPECIAL TRAINED PAEDIATRIC ANESTHESIOLOGISTS?	5
<i>Ehrenfried Schindler</i>	
STRAH OD BOLA PRI STOMATOLOŠKIM INTERVENCIJAMA.	10
<i>Lalić Maja, Aleksić Ema, Gajić Mihajlo, Ćuković Anika, Mileusnić Ivan, Borotić Nenad, Stanković Zoran</i>	
OPŠTE OSOBINE I EFEKTI GRELINA NA KARDIOVASKULARNI SISTEM.	15
<i>Emina Sudar, Edita Stokić, Dragana Nikolić, Branislava Dobutović, Sanja Soskić, Milan Obradović, Slobodan Tanasković, Đorđe Radak i Esma R. Isenović</i>	
LEČENJE DUPYTREN-OVE KONTRAKTURE	30
<i>Bandić J., Lukić D., Karabeg R., Jović D., Babić N., Sibinčić S., Lazić P.</i>	
LEČENJE ŽENSKJE ALOPECIJE	38
<i>Lukić D., Bandić J., Babić N., Sibinčić S., Jović D., Karabeg R., Lazić P.</i>	
TRAUMATSKA RUPTURA LEVE HEMIDIJAFRAGME	46
<i>Srđan Đorđev, Slobodan Tanasković, Miodrag Ilić, Nikola Dolovac</i>	
EDEM EKSTREMITETA NAKON ORTOPEDSKIH INTERVENCIJA - DIJAGNOSTIČKI PROBLEM U REHABILITACIJI.	51
<i>Žaklina Damnjanović, Rade Kostić, Dragica Rondović, Djordje Radak</i>	
AKTIVNOST ALFA NAFTIL BUTIRAT ESTERAZE U HUMANOM KAROTIDNOM PLAKU RAZLIČITE MORFOLOGIJE	56
<i>Danijela Vučević, Đorđe Radak, Predrag Gajin, Tatjana Radosavljević, Dušan Mladenović, Ivan Milovanović, Zorana Stojanović, Milena Zec</i>	
ATEROSKLEROZA I EFEKTI OKSIDACIJE LIPOPROTEINA MALE GUSTINE U PATOGENEZI ARTEROSKLEROZE	66
<i>Milan Obradović, Dragana Nikolić, Branislava Dobutović, Emina Sudar, Sanja Soskić, Slobodan Tanasković, Miljana Boljević, Biljana Mušicki, Đorđe Radak, i Esma R. Isenović</i>	
TERAPIJA PNEUMONIJA UDRUŽENIH SA VENTILATORNOM POTPOROM BOLESNIKA.	72
<i>Dejan Marković, Nevena Kalezić</i>	
TRETMAN AKUTNOG TROMBOFLEBITISA POVRŠINSKIH VENA DONJIH EKSTREMITETA.	77
<i>Đorđe Radak (*), Bogdan Crnokrak (**)</i>	

*Dept. of Paediatric Anaesthesiology, Children's Hospital Asklepios Klinik Sankt Augustin,
visiting Professor University of Belgrade, Serbia*

PAEDIATRIC ANAESTHESIA. DO WE NEED SPECIAL TRAINED PAEDIATRIC ANESTHESIOLOGISTS?

Ehrenfried Schindler

Introduction

"Baby died from decimal error" was one headline brought by BBC News, England from Friday, 20th May 2005. The authors are describing a case where a 15 day old baby has received a ten times higher dose of a heart active drug as recommended. The error was made by an inexperienced nurse due to a mathematical miscalculation. This is just one example of the difference and difficulty medical stuff will encounter when working with newborn, infants and children. The British National Health Service (NHS) has reported in 1998 a statistic reading that wrong drug doses (28%), application route (18%), bad handwriting/documentation (14%) wrong date (9,9%) and the application frequency (9,4%) could lead to deadly medical errors in children¹. The question now is why

children are special and why the mentioned errors are more often in children than in adults? First, the application of drugs must be adjusted to the body weight of the children which requires complex mathematical calculation. Second, paediatric studies and study data are rare and only in the last few years pharmaceutical companies are forced by European law to initiate safety studies in children as well as in adults. Third, vials, tablets or other application formats are provided for adults and must be adjusted or separated for children.

Children are a very heterogeneous group of patients. Preterm infants are totally different from regular newborns which are different from six month old and other than 2 year old children whereas school-age kids need again different medical and psychological treatment.

What are the main problems in Paediatric Anaesthesia?

Age

Nathalie Jiminez and co-workers have analyzed medical closed claims in the United States dealing with children from 1990-2000². As a main cause for primary damaging events in children they found in 23% of all cases respiratory problems to be number one followed by cardiovascular events in 26% of all cases. 10% of the cardiovascular cases could not be explained but were suspected as a secondary result of hypoxemia. A large patient number study was published from a Brazilian group in 2006³. Braz and colleagues have analysed 53,718 anaesthetic procedures over 9 years in a teaching hospital in Brazil. From 1994 to 2004 they found out of 15,253 anaesthetic procedures 35 cardiac arrests. Looking closely at the group of age where there was a cumulation of those adverse

events in the extreme edges of age. Major risk factors for cardiac arrest were neonates, children under 1 yr and the elderly ($P < 0.05$), male patients with ASA III or poorer physical status ($P < 0.05$), in emergency surgery ($P < 0.05$) and under general anaesthesia ($P < 0.05$). Chinachoti and co-workers looked at a register in Thailand about delayed detection of esophageal intubation (DDEI)⁴. As a result they have found forty four cases of DDEI which were reported from total of 85,021 cases underwent general anesthesia with endotracheal intubation (5.2: 10,000). The incidence was highest in tertiary care hospital (11.6:10,000). Infant patients ($< \text{or} = 1$ year of age), emergency operation and technique of rapid sequence induction with cricoid pressure were identified

as risk factors of DDEI. Interestingly the relative incidence of DDEI was nearly 50% in the group of infant patients <1 year of age. These data were confirmed by a recently published study from Bharti and coworkers⁵. In their study they found were a total of 27 cardiac arrests out of 12 158 procedures. Major risk factors for cardiac arrests were children under 1 year of age ($P < 0.05$), ASA physical status (ASA-PS) III or more ($P < 0.001$) and emergency surgery ($P < 0.01$). There were nine cardiac arrests attributed to anaesthesia, three totally and six partially related to anaesthesia. The main causes of anaesthesia-related cardiac arrest were respiratory events (56%), followed by cardiac events (33%). Anaesthesia-related mortality was 1.2/10 000 anaesthetics in patients with ASA-PS I-II and 7.7/10 000 anaesthetics in patients with ASA-PS III-V with a survival rate of 56%.

Von Ungern-Sternberg recently have presented their data from a prospective cohort study published 2010 in Lancet about risk assessment for respiratory complications in paediatric anaesthesia⁶. 9297 questionnaires were available for analysis. A positive respiratory history (nocturnal dry cough, wheezing during exercise, wheezing more than three times in the past 12 months, or a history of present or past eczema) was associated with an increased risk for bronchospasm (relative risk [RR] 8.46, 95% CI 6.18-11.59; $p < 0.0001$), laryngospasm (4.13, 3.37-5.08; $p < 0.0001$), and perioperative cough, desaturation, or airway obstruction (3.05, 2.76-3.37; $p < 0.0001$). Upper respiratory tract infection was associated with an increased risk for perioperative respiratory adverse events only when symptoms were present (RR 2.05, 95% CI 1.82-2.31; $p < 0.0001$) or less than 2 weeks before the procedure (2.34, 2.07-2.66; $p < 0.0001$), whereas symptoms of upper respiratory tract infection 2-4 weeks before the procedure significantly lowered the incidence of perioperative respiratory adverse events (0.66, 0.53-0.81; $p < 0.0001$).

Experience

It seems to be obvious that someone how is doing things very often is more experienced and is producing a better quality than someone how is rarely doing the same thing. One the other hand it is very difficult to prove this evidence and to find out what "very often" means. One of the most cited

study in paediatric anaesthesia was a questionnaire among French anaesthesiologists published by Auroy in 1997⁷. They have studied the occurrence of complications in paediatric anaesthesia and its relationship to pediatric practice in France through an anonymous retrospective postal survey (Table 1). A significantly ($P < 0.05$) higher incidence of complications was found in the groups that performed 1 to 100 (7.0 $\pm$ 24.8 per 1000 anaesthetics) and 100 to 200 paediatric anaesthetics (2.8 $\pm$ 10.1 per 1000 anaesthetics) than in the group that administered more than 200 paediatric anaesthetics/year (1.3 $\pm$ 4.3 per 1000 anaesthetics). As a main result they stated that an anaesthesiologist has to do more than 200 paediatric anaesthesia per year to be judged as experienced. Coming back to the study of von Ungern-Sternberg cited before. Besides their results according respiratory problems in paediatric anaesthesia they have reported that the risk was lower when the airway management was done by a specialist paediatric anaesthetist compared with a registrar (all $p < 0.0001$).

In my opinion supported by the literature there is a strong evidence that the highest group of risk children below one year should be handled by special trained anaesthesiologists who are mainly practicing paediatric anaesthesia.

Anaesthetics/y (n)	Complications/1000 anaesthetics (n)
1-100	7,0 $\pm$ 24,8
100-200	2,8 $\pm$ 10,1
> 200	1,3 $\pm$ 4,3*

The occurrence of complications in paediatric anaesthesia and its relationship to the amount of pediatric anaesthesia done per anaesthesiologist in France (* $p < 0,05$)

How to improve Paediatric Anaesthesia?

Guidelines

In the last ten years a lot of effort was done by developing peer-reviewed guidelines about standard of care in paediatric anaesthesiology. Some major European and US organizations like the "European Society for Paediatric Anesthesiology, ESPA", the European Society

for Anaesthesiology, ESA”, the “Association of Paediatric Anaesthesiologists, APA” in Great Britain just to name the local ones are publishing their recommendations on their websites. It is wise to co-opt these recommendations and to incorporate them for the local hospital service. The major problem with guidelines is not the guideline itself but the transport and implementation in our daily practice. This is even more delicate because the standard of care is not ending in the recovery room. Sometime the child has to be transferred to the regular ward and recommendations for infusion therapy, pain therapy and postoperative drugs must be continued. A very good example is the topic of paediatric postoperative pain therapy. It is not enough to write down a certain drug. One has to control if the application is in accordance with the guidelines, a system of pain measurement has to be implemented, special trained pain nurses have to visit the patient and all medical stuff should agree in one guideline for post-operative pain therapy. Every year this program must be evaluated by a management protocol and there must be an agreement about collecting data to prove the effectiveness. In Germany there is a free database available where every registered centre can deliver data about their pain management service in children and can compare it with all other centers. These Paediatric Pain Benchmark (<http://www.quips-projekt.de/>) revealed excellent insights about the quality of care compared to other centers. The example of pain therapy in children postoperatively should demonstrated that if we want to achieve highest quality in paediatric anaesthesia we have to establish or adopt guidelines and we have to follow them.

Training

As stated a minimum of 200 anaesthetic procedures per year are necessary to decrease the complication rate in children. Looking at the birth rates in developing countries it is obvious that the numbers of paediatric patients are decreasing. Additionally the organization of health care is different in all European countries. Some of them are in favor of centralization of subspecialties. It is also obvious that the specialized centers are responsible to offer training program for residents and consultants as well to improve their abilities in this special group of patients. Health

care providers as well as hospitals must support their medicals staff to enable them to take part in training programs.

Critical incident reporting systems

Critical incident reporting systems are excellent tools to identify risks and near misses even in single institutions and can therefore improve quality and safety in paediatric anaesthesia. A CIRS system is not made to find the guilty and punish them but to uncover the origins of errors in order to eliminate them properly.

As an example the implementation of near miss reporting systems (CIRS) in German hospitals has been constantly rising since 2004: in 2009, 54 % of the interviewed hospitals reported an implemented CIRS; of these, 72 % reported the system to be hospital-wide. An association between CIRS and private, public or NPO-operator could not be detected (Fisher $p = 1.000$); however, the degree of CIRS implementation was significantly increasing with the size of the hospital, i.e., the number of beds (Fisher $p = 0.008$): only 38 % of the hospitals with less than 100 beds reported CIRS implementation against 52 % of those between 100 to 500 beds, and 67 % of those with more than 500 beds. While 62 % of the hospitals interviewed reported the maintenance of a risk management committee, only 14 % reported the implementation of risk analyzing techniques. As to clinical risk management, 92 % of the hospitals see potential for internal improvement; 44 % have already communicated with external consultants.

Simulation

Infants <one year or newborns are difficult to handle. That was one major statement from the text above. Training was said to be the major step to improve quality in paediatric anaesthesia. The problem is that critically ill newborns or infants are not subjects for training. Therefore simulation of critical incidences in anesthesia and intensive care could be an interesting option. Nevertheless these simulators could not be purchased on the market. Simulators have to be designed for the specific situations. For that purpose highly trained medical experts are needed to design and run specific paediatric simulators.

Certification “Paediatric Anaesthesia”

Recently Karin Becke for the working group for paediatric anaesthesia of the German Society of Anaesthesia and Critical Care Medicine (DGAI) has published a milestone paper for German Anaesthesiologists⁸. First time in the history of the German society they have defined criteria that have to be fulfilled to become a certified “Paediatric Anaesthesiologist”. The criteria are listed in table 2. After proving the formal criteria a oral examination has to be passed. Additionally the society has defined centers where the best training could be achieved. To guarantee a continuous education a yearly seminar will be offered to the participants.

With the “Summer School for Paediatric Anaesthesiology” a comparable course for continuous education is offered in Serbia for some years. The growing number of participants and their big interest is showing the importance of such a program. In 2011 more interactive workshops are offered with great numbers of doctors attending.

Curriculum “Paediatric Anaesthesia (PA)”

Seminar “Paediatric Anaesthesiology” Part I	Theoretical aspects and physiology of children
Seminar “Paediatric Anaesthesiology” Part II	Special aspects of paediatric anaesthesiology
Practical skills PA	Minimum of 12 month continuous work with children in a specialized center
Special knowledge in emergency medicine for children	3 day course i.e “European Pediatric Life Support EPLS” offered by European Resuscitation Council (ERC). Done not longer than 12 month before
Oral examination	Minimum of 45 minutes

Conclusion

Children are rare patients. Only 4 % of all anaesthetic procedures are done in children below 15 years. The patients of risk from these 4% are newborns and preterms with a number of 0, 4%. It is generally accepted that these patients are of increased risk for perioperative complications. In the last 10 years more and more complex and high risk operative procedures in those patients are made. It is therefore clear that modern anaesthesia has to minimize mortality and morbidity not only because children have a high social and political priority in our society. Patient safety and quality of medical service are the essential topics in modern medicine. A specialization for paediatric anaesthesia is recommended to ensure highest medical quality and the need for a certificate is clearly indicated.

Acknowledgement

I would like to thank the honorary medical faculty of the University of Belgrade for the honor being the first visiting Professor for Paediatric Anaesthesia. I will work with appreciation, all my power and with my heart to fulfill the duties you gave to me.

Reference List

1. Walsh KE, Kaushal R, Chessare JB: How to avoid paediatric medication errors: a user's guide to the literature. *Arch.Dis.Child* 2005; 90: 698-702
2. Jimenez N, Posner KL, Cheney FW, Caplan RA, Lee LA, Domino KB: An update on pediatric anesthesia liability: a closed claims analysis. *Anesth.Analg.* 2007; 104: 147-53
3. Braz LG, Modolo NS, do NP, Jr., Bruschi BA, Castiglia YM, Ganem EM, de Carvalho LR, Braz JR: Perioperative cardiac arrest: a study of 53,718 anaesthetics over 9 yr from a Brazilian teaching hospital. *Br.J.Anaesth.* 2006; 96: 569-75
4. Chinachoti T, Suraseranivongse S, Pengpol W, Valairucha S: Delayed detection of esophageal intubation: Thai Anesthesia Incidents Study (THAI Study) database of 163,403 cases. *J.Med.Assoc.Thai.* 2005; 88 Suppl 7: S69-S75
5. Bharti N, Batra YK, Kaur H: Paediatric peri-operative cardiac arrest and its mortality: database of a 60-month period from a tertiary care paediatric centre. *Eur.J.Anaesthesiol.* 2009; 26: 490-5
6. von Ungern-Sternberg BS, Boda K, Chambers NA, Rebmann C, Johnson C, Sly PD, Habre W: Risk assessment for respiratory complications in paediatric anaesthesia: a prospective cohort study. *Lancet* 2010; 376: 773-83
7. Auroy Y, Ecoffey C, Messiah A, Rouvier B: Relationship between complications of pediatric anesthesia and volume of pediatric anaesthetics. *Anesth.Analg.* 1997; 84: 234-5
8. Becke K, Eich C, Kretz F-J: Spezielle Kinderanästhesie. *Anästhesi Intensivmed* 2011; 52: 375-8

STRAH OD BOLA PRI STOMATOLOŠKIM INTERVENCIJAMA

DENTAL ANXIETY AND FEAR OF DENTAL PAIN

Lalić Maja, Aleksić Ema, Gajić Mihajlo, Ćuković Anika, Mileusnić Ivan, Borotić Nenad, Stanković Zoran

Sažetak: Anksiozni ljudi često preuveličavaju intenzitet neprijatnih osećanja kao što su strah i bol. Cilj ovog istraživanja bio je da se ispita povezanost između anksioznosti i straha od bola pri stomatološkim intervencijama. U istraživanju je učestvovalo 188 odraslih pacijenata (starosti od 21 do 73 godine) lečenih na Odeljenju za parodontologiju i oralnu medicinu i Odeljenju za protetiku Stomatološkog fakulteta Pančevo. Za procenu nivoa anksioznosti korišćena je kratka forma Korahove Skale dentalne anksioznosti (SDA). Za procenu straha od bola korišćen je upitnik Strah od bola (Fear of Dental Pain - FDP) u kome je navedeno 18 stomatoloških procedura, a pacijenti su rangirali osećaj straha prema Likertovoj petostepenoj skali (1- minimalan strah, 5-maksimalan strah). Svaka od 18 FDP stavki proširena je pitanjem da li je ispitanik ikada lično iskusio navedenu intervenciju (da ili ne). Oko 24% pacijenata pokazuje visok stepen anksioznosti pri stomatološkom tretmanu (SDA skor 13 ili više). Prosečna vrednost za strah od bola za grupu visoko anksioznih pacijenata je bila 3,90 i 2,83 za grupu pacijenata sa niskim i umerenim nivoom anksioznosti. Pacijenti su prijavili manji strah od bola za procedure sa kojima su se ranije susreli u poređenju sa intervencijama koje nisu lično iskusili (prosečan FDP skor 3,58 i 4,29 za anksiozne, odnosno 2,82 i 3,29 za grupu umereno anksioznih pacijenata). Nivo opšte anksioznosti pri stomatološkom tretmanu signifikantno utiče na pojavu straha od bola, pri čemu pozitivno prethodno iskustvo može pomoći da se strah umanji. Visoko anksiozne osobe imaju povišen subjektivni doživljaj bola i predstavljaju izazov stomatolozima u smislu potrebe da sa njima uspostave adekvatnu saradnju i omoguće odvijanje stomatološkog tretmana bez stresa kako za pacijenta, tako i za stomatološki tim.

Ključne reči: *anksioznost, stomatološke intervencije*

Summary: Anxious people tend to overestimate the intensity of aversive events such as fear and pain. The objective of this study was to investigate association between dental anxiety and fear of dental pain. Sample consisted of 188 adult patients (aged 21 to 73 years) of Department of Periodontology and Oral Medicine and Department of Prosthodontics of Faculty of Stomatology Pancevo. The authors used Short 4-item Form of Corah's Dental Anxiety Scale to measure respondents' dental anxiety level. Patients completed a Dental Anxiety Scale and the Fear of Dental Pain (FDP) questionnaire. All 18 FDP items were extended with the question whether the subject ever experienced the pain personally (yes or no).

About 24% of patients had high dental anxiety (a score of 13 or higher on the Corah's scale). Mean FDP score for highly anxious group of patients was 3,90. Patients with low and moderate anxiety level had mean FDP score 2,83. Less fear was reported when the pain had been experienced personally (mean FDP score 3,58 vs. 4,29 for anxious and 2,83 vs. 3,29 in group of low and moderately anxious patients).

The results suggest that fear of dental pain is an important covariate in dental pain research. Practitioners need to be educated about the causes of dental anxiety and receive training in how to treat the problem.

Key words: *anxiety, dental intervention*

Uvod

Dobro oralno zdravlje je esencijalni deo opšteg zdravlja i ima veliki uticaj na kvalitet života pojedinca. Redovni odlasci stomatologu, uz odgovarajuću svakodnevnu brigu o zubima, pružaju mogućnost za prevenciju, rano otkrivanje i pravovremenu terapiju oboljenja usta i zu-

ba. [1,2] Osobe koje redovno posećuju stomatologa radi kontrole, imaju bolje oralno zdravlje u poređenju sa ljudima koji pomoć stomatologa traže samo kada se jave određeni problemi.[3,4] Populacione studije identifikovale su, između ostalih, strah od stomatoloških intervencija, kao jedan od važnijih razloga izbegavanja odlaska na redovne kontrole kod stomatologa.[5,6]

Strah od bola prilikom stomatoloških intervencija je značajan istraživački problem u stomatologiji[7]. Dok anksioznost i strah predstavljaju osećanje neprijatnosti izazvano naslućivanjem ili doživljavanjem opasnosti, strah od bola je osećanje neprijatnosti izazvano specifičnim stimulusom-bolom [8]. Istraživanja ukazuju da anksiozne osobe često preuveličavaju doživljaj bola, kao i intenzitet svih neprijatnih doživljaja, uključujući i strah[9,10]. Stoga, postoji povećani rizik da osobe sa izraženim strahom od bola pri stomatološkim intervencijama završe u začaranom krugu anksioznosti, straha od bola i izbegavanja odlaska stomatologu[11].

Cilj

Cilj ove studije bio je da se utvrdi nivo anksioznosti kod pacijenta Stomatološkog fakulteta u Pančevu, ispita povezanost stepena anksioznosti i nivoa straha koji, prema samoproceni, pacijenti doživljavaju prilikom određenih stomatoloških procedura, te da se ispita priroda i stepen povezanosti anksioznosti izazvane stomatološkom intervencijom i subjektivnog doživljaja količine bola prilikom sondiranja parodontalnih džepova.

Materijal i metod

U istraživanju je učestvovalo 188 pacijenata starosti od 21 do 73 godine, koja su u periodu februar-jun 2010. godine lečeni na Odeljenju stomatološke protetike i Odeljenju za parodontologiju i oralnu medicinu Stomatološkog fakulteta u Pančevu. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog odbora Stomatološkog fakulteta u Pančevu. Svi pacijenti su usmeno informisani o ciljevima i metodama istraživanja sa mogućnošću da odustanu od učešća u istraživanju u bilo kom trenutku.

Osnovni instrument istraživanja su upitnici – kratka verzija Korahove skale dentalne anksioznosti (skraćeno SDA) i upitnik Strah od bola pri stomatološkim intervencijama na osnovu

kojih se određuje opšti nivo stomatološke anksioznosti i nivo straha od pojedinih stomatoloških procedura. Sondiranje parodontalnih džepova je sprovedeno kod pacijenata koji su imali potrebu za parodontološkim tretmanom, pri čemu su pacijenti stepen neprijatnosti koju ova procedura izaziva rangirali na Numeričkoj skali od 1 do 10 (1- u potpunosti bezbolno, 10- najjači mogući bol), na osnovu čega je bilo moguće odrediti subjektivan osećaj percipiranog bola kod pacijenata[12].

Skraćena forma Korahove skale dentalne anksioznosti (SDA)[13] sastoji se iz 4 pitanja a odgovori se boduju prema petostepenoj Likertovoj skali. Upitnik za procenu straha od bola pri stomatološkim intervencijama razvili su van Wijk i Hoogstraten [7]. Sastoji se iz 18 pitanja koja se odnose različite stomatološke procedure i intervencije (npr. davanje lokalne anestezije, endodontski tretman kanala korena zuba, vađenje zuba). Ispitanici su zamoljeni da razmisle i procene koliko su bolne pomenute procedure te, shodno tome, da navedu koliki strah osećaju pri pomisli na te intervencije. Skor odgovora kretao se u opsegu od 1 (nimalo se ne plaše) do 5 (ekstremni strah). Bilo je potrebno da pacijenti navedu da li su i lično iskusili (da/ne) svaku od 18 navedenih procedura.

Podaci su statistički obrađeni u programu SPSS (SPSS for Windows, release 15.0, SPSS, Chicago, IL). Numeričke varijable su prikazane kao prosečne vrednosti sa standardnim devijacijama. Za ispitivanje međusobnog odnosa anksioznosti, straha od bola i subjektivne percepcije bola korišćene su ANOVA i korelaciona analiza.

Rezultati

Na osnovu skora SDA, 52 pacijenta su svrstana u kategoriju visoko anksioznih ($SDA \geq 13$), a 136 u kategoriju umereno i nisko anksioznih ($SDA < 13$). Među visoko anksioznim pacijentima, 91,7% ispitanika su žene, prosečne starosti 33 godine, dok u grupi umereno anksioznih pacijenata ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji vrednosti DAS u odnosu na pol.

U grupi visoko anksioznih pacijenata, skor dobijen na osnovu upitnika Strah od bola iznosio je 3,74, dok je isti skor u grupi umereno anksioznih pacijenata 2,68 (Tabela 1). Testom ANOVA potvrđena je statistički signifikantna povezanost

između nivoa anksioznosti i straha od bola pri stomatološkim intervencijama ($F=43,25$; $p<0,001$). Multivarijantni efekat se na uzorku ispoljava u smislu da visoko anksiozni pacijenti pokazuju i veći stepen straha od bola u poređenju sa umereno anksioznim pacijentima.

Prosečan skor za strah od bola pri stomatološkim intervencijama koje su ispitanici lično iskusili iznosio je 2,43 i 3,52 za umereno i visoko anksiozne pacijente, respektivno ($F=34,61$; $p<0,001$). S druge strane, veći skor za strah od bola zabeležen je za procedure koje pacijenti nisu nikada lično iskusili (3,08 i 4,01 za umereno i visoko anksiozne pacijente; $F=24,17$; $p<0,001$). Ovakav rezultat ukazuje da su pacijenti skloni preuveličavanju straha od bola ukoliko nisu prethodno imali iskustvo sa određenom procedurom, što bi im omogućilo objektivniju procenu bola (Tabela 2 a i b). Da bi se ispitao uticaj anksioznosti i straha od bola na procenu doživljenog stepena bola, pacijenti su podvrgnuti proceduri sondiranja parodontalnih džepova koja se smatra umereno bolnom. Prosečan stepen bola prilikom sondiranja džepova iznosio je $3,68 \pm 2,36$ na numeričkoj skali od 0-10. Veći stepen bola registrovan je u grupi visoko anksioznih pacijenata ($4,85 \pm 2,19$) u poređenju sa ostalim pacijentima ($3,24 \pm 2,28$). Signifikantan uticaj anksioznosti na stepen bola koji pacijenti subjektivno osećaju, potvrđen je testom ANOVA ($F=9,60$; $p<0,005$). Korelaciona analiza je pokazala da u grupi visoko anksioznih pacijenata postoji povezanost između SDA skora i skora Strah od bola ($R=0,613$, na nivou značajnosti $p=0,001$) i skora Strah od bola pri procedurama koje ovi pacijenti nisu lično iskusili ($R=0,475$, na nivou značajnosti $p=0,005$).

U grupi umereno anksioznih pacijenata, prema rezultatima korelacione analize, postoji povezanost između varijable SDA i varijabli:

- Strah od bola ($R=0,358$; na nivou signifikantnosti $p=0,001$)
- Strah od bola pri intervencijama koje su pacijenti lično iskusili ($R=0,449$; na nivou signifikantnosti $p=0,001$)
- Strah od bola pri intervencijama koje nisu lično iskusili ($R=0,196$; na nivou signifikantnosti $p=0,05$)
- Bol prilikom sondiranja parodontalnih džepova ($R=0,264$; na nivou signifikantnosti $p=0,005$).

Tabela 1. Strah od bola pri stomatološkim intervencijama

	stepen anksioznosti		Ukupno
	umeren	visok	
Broj ispitanika	136	52	188
Minimalna vrednost	1,00	2,17	1,00
Maksimalna vrednost	4,00	5,00	5,00
Prosečna vrednost	2,68	3,74	2,97
Standardna devijacija	0,72	0,67	0,85
Koeficijent varijacije u %	26,73	17,93	28,55
<i>Interval poverenja (nivo značajnosti 95%)</i>			
donja granica	2,51	3,49	2,80
Gornja granica	2,85	4,00	3,14
test ANOVA	$F=43,25$; $p<0,001$		

Tabela 2a. Strah od bola pri stomatološkim intervencijama koje su pacijenti prethodno lično iskusili

	stepen anksioznosti		Ukupno
	umeren	visok	
Broj ispitanika	136	52	188
Minimalna vrednost	1,00	2,33	1,00
Maksimalna vrednost	3,92	5,00	5,00
Prosečna vrednost	2,43	3,52	2,73
Standardna devijacija	0,82	0,77	0,94
Koeficijent varijacije u %	33,66	21,90	34,40
<i>Interval poverenja (nivo značajnosti 95%)</i>			
donja granica	2,23	3,22	2,54
Gornja granica	2,62	3,81	2,92
test ANOVA	$F=34,61$; $p<0,001$		

Tabela 2b. Strah od bola pri intervencijama koje pacijenti nisu do sada iskusili

	stepen anksioznosti		Ukupno
	umeren	visok	
Broj ispitanika	136	52	188
Minimalna vrednost	1	2	1
Maksimalna vrednost	4,67	5	5
Prosečna vrednost	3,08	4,01	3,34
Standardna devijacija	0,79	0,91	0,92
Koeficijent varijacije u %	25,66	22,73	27,63
<i>Interval poverenja (nivo značajnosti 95%)</i>			
donja granica	2,89	3,66	3,15
Gornja granica	3,27	4,36	3,52
test ANOVA	$F=24,17$; $p<0,001$		

Diskusija

Brojna istraživanja potvrđuju da pacijenti usled straha da bi stomatološki tretman mogao biti bolan ili neprijatan izbegavaju ili odlažu intervenciju, te odlaze stomatologu najčešće iz simptomatskih razloga. Iako se naše istraživanje nije bavilo ispitivanjem uticaja anksioznosti i straha na stanje oralnog zdravlja, prema nekim istraživanjima smatra se da je usled izbegavanja stomatoloških tretmana i odlazaka na redovne kontrole oralno zdravlje visoko anksioznih pacijenata lošije u odnosu na oralno zdravlje umereno ili nisko anksioznih pacijenata. Visoko anksiozni pacijenti imaju više nesaniranog karijesa i izvađenih zuba, a manje ispuna ili funkcionalno zadovoljavajućih zuba u odnosu na ostale pacijente [14].

Povezanost anksioznosti sa starošću i polom pacijenata je dobro dokumentovana [15,16]. Anksioznost je češća kod žena nego kod muškaraca, u uzrastu od 20 do 39 godina u odnosu na starije ili mlađe uzraste. U našem istraživanju, u grupi visoko anksioznih pacijenata žene su bile statistički značajno češće zastupljene u odnosu na muškarce, a prosečna starost visoko anksioznih ispitanika bila je 33 godine.

Ova studija je pokazala da osobe generalno očekuju veći bol prilikom stomatološkog tretmana u odnosu na objektivni bol koji opažaju tokom određene procedure, pri čemu je ovaj efekat izraženiji kod pacijenata sa većim stepenom anksioznosti. Naše istraživanje potvrdilo je rezultate drugih istraživanja prema kojima visoko anksiozni pacijenti tokom stomatoloških procedura (npr. sondiranje parodontalnih džepova) percipiraju veći stepen bola u odnosu na umereno anksiozne pacijente. Takođe, u grupi umereno anksioznih pacijenata postoji statistički značajna korelacija između nivoa anksioznosti i procene bola tokom same intervencije.

Prethodno stomatološko iskustvo može modifikovati anksioznost i strah kod pacijenata prilikom naredne posete, u čemu značajnu ulogu ima stomatološki tim koji svojim ponašanjem može pomoći pacijentu da prevlada ili smanji nivo straha i anksioznosti [17]. Pacijenti preuveličavaju strah od bola najčešće pri intervencijama sa kojima se prethodno nisu susreli, što je potvrdilo i naše istraživanje. S druge strane, pojedini autori smatraju da je uzrok pojave straha od određene intervencije kod visoko anksioznih pacijenata upra-

vo izazvano prethodnim lošim iskustvom [18,19]. Rana bolna iskustva pri posetama stomatologu, neadekvatna komunikacija na relaciji pacijent – stomatolog, kao i negativan uticaj i zastrašivanje u krugu porodice, vršnjaka ili putem medija, smatraju se najčešćim mehanizmom nastanka straha od stomatologa u dečjem uzrastu. Dok strah kod umereno anksioznih pacijenata ima protektivnu ulogu (u smislu da pacijent bodri sebe da intervencija neće biti neprijatnija u odnosu na ono što zamišlja), kod visoko anksioznih pacijenata strah može biti rezultat izrazito lošeg ranijeg iskustva koje je bilo daleko neprijatnije od njihovih očekivanja [20]. U našem istraživanju strah od stomatoloških intervencija bio je veći kod pacijenata sa većim stepenom anksioznosti. Prosečan skor straha od bola bio je viši za intervencije koje pacijenti nisu lično iskusili u odnosu na intervencije sa kojima se pacijent prethodno susretao, pri čemu je ista povezanost utvrđena u grupi visokih i u grupi nisko i umereno anksioznih pacijenata. Ograničenja ove studije leže u dizajnu tipa studije preseka, korišćenju prigodnog uzorka i relativno malom broju pacijenata u uzorku. Prigodan uzorak onemogućava identifikaciju upravo onih visoko anksioznih pacijenata koji zbog anksioznosti izbegavaju odlazak stomatologu do pojave izraženih tegoba, obzirom da su uzorkom obuhvaćeni pacijenti koji su se samostalno javili radi stomatološkog lečenja. Dalja istraživanja na polju anksioznosti i straha od bola su potrebna kako bi se rasvetlio uticaj ovih psiholoških komponenti na ponašanje pacijenata u stomatološkoj ordinaciji i njihov odnos prema odlasku kod stomatologa i prema zdravlju usta i zuba, kako bi im se olakšalo prihvatanje optimalnog tretmana a samim tim i očuvanje oralnog zdravlja.

Zaključak

Nivo opšte anksioznosti pri stomatološkom tretmanu značajno utiče na pojavu straha od bola, pri čemu pozitivno prethodno iskustvo može pomoći da se strah umani. Visoko anksiozne osobe imaju povišen subjektivni doživljaj bola i predstavljaju izazov stomatolozima u smislu potrebe da sa njima uspostave adekvatnu saradnju i omoguće odvijanje stomatološkog tretmana bez stresa kako za pacijenta, tako i za stomatološki tim.

Kod visoko anksioznih pacijenata savetuje se primena različitih bihejvioralnih tehnika za modifikaciju ponašanja pacijenata, koje imaju za cilj da smanjen stepen anksioznosti i opuste pacijenta kako bi lakše podneo potreban stomatološki tretman. Pri samom stomatološkom tretmanu anksioznih pacijenata može biti potrebno da se aplikuje više lokalnog anestetika nego što je

uobičajeno, kao i da se primene alternativne metode anesteziranja jer je i sama lokalna anestezija stresan događaj za pacijenta. Pacijentima koji se ekstremno plaše bola pri stomatološkoj intervenciji, kao i u slučajevima gde bihejvioralna terapija straha ne daje odgovarajuće rezultate, poželjno je ordinirati anksiolitike da bi se redukovao strah i nelagodnost i omogućio komforan tretman.

Literatura

1. National Institute of Dental and Craniofacial Research. *Oral health in America: A report of the Surgeon General*. Rockville, Md.: U.S. Public Health Service, Department of Health and Human Services; 2000.
2. Petersen PE, Holst D. Utilization of dental health services. In: Cohen LK, Gift HC, eds. *Disease prevention and oral health promotion: Socio-dental sciences in action*. Copenhagen, Denmark: Munksgaard; 1995:341-86.
3. Newman JF, Gift HC. Regular pattern of preventive dental services: a measure of access. *Soc Sci Med* 1992;35:997-1001.
4. Tickle M, Williams M, Jenner T, Blinkhorn A. The effects of socioeconomic status and dental attendance on dental caries' experience, and treatment patterns in 5-year-old children. *Br Dent J* 1999;186: 135-7.
5. Pavi E, Kay EJ, Stephen KW. The effect of social and personal factors on the utilisation of dental services in Glasgow, Scotland. *Community Dent Health* 1995;12:208-15.
6. Woolfolk MW, Lang WP, Borgnakke WS, Taylor GW, Ronis DL, Nyquist LV. Determining dental checkup frequency. *JADA* 1999;130:715-23.
7. van Wijk AJ, Hoogstraten J. The fear of dental pain questionnaire; construction and validity. *Eur J Oral Sci* 2003; 111:12-18.
8. Gower PL, editor. In: *Psychology of fear*. New York: Nova Science Publishers, Inc, 2004.
9. Arntz A, Dreessen L, de Jong P. The influence of anxiety on pain: attentional and attributional mediators. *Pain* 1994; 56:307-314.
10. Rachman S. The overprediction of fear: a review. *Behav Res Ther* 1994; 32:683-690.
11. van Wijk AJ, Hoogstraten J. Experience with Dental Pain and Fear of Dental Pain. *J Dent Res* 2005; 84(10):947-950.
12. Turk DC, Melzack R. In: *Handbook of pain assessment*. New York: The Guilford Press, 1992.
13. Aartman IH. Reliability and validity of the short version of the Dental Anxiety Inventory. *Community Dent Oral Epidemiol* 1998; 26:350-354.
14. Schuller, A. A., Willumsen, T. and Holst, D. Are there differences in oral health and oral health behavior between individuals with high and low dental fear?. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 2003; 31: 116-121.
15. Liddell, A. and Locker, D. Gender and age differences in attitudes to dental pain and dental control. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 1997; 25: 314-318.
16. Hakeberg, M., Berggren, U. and Carlsson, S. G. (1992), Prevalence of dental anxiety in an adult population in a major urban area in Sweden. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 20: 97-101.
17. Modulation of dental anxiety — the role of past experiences, psychopathologic traits and individual attachment patterns I. Eli, N. Uziel, R. Blumensohn and R. Baht *Br Dent J* 2004; 196: 689-694.
18. Klages U, Ulusoy Ö, Kianifard S, Wehrbein H. Dental trait anxiety and pain sensitivity as predictors of expected and experienced pain in stressful dental procedures. *Eur J Oral Sci* 2004;112:477-483.
19. Locker D, Shapiro D, Liddell A. Negative dental experiences and their relationship to dental anxiety. *Community Dent Health* 1996; 13:86-92.
20. Rachman S. The overprediction of fear: A review. *Behaviour Research and Therapy* 1994; 32(7): 683-690.

¹ Institut "Vinča", Laboratorija za radiobiologiju i molekularnu genetiku, Beograd

² Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Institut za internu medicinu, Klinički centar Vojvodina, Novi Sad

³ Institut za kardiovaskularne bolesti „Dedinje“, Klinika za vaskularnu hirurgiju, Beograd

OPŠTE OSOBINE I EFEKTI GRELINA NA KARDIOVASKULARNI SISTEM

GHRELIN STRUCTURE AND CARDIOVASCULAR EFFECTS

¹Emina Sudar, ²Edita Stokić, ¹Dragana Nikolić, ¹Branislava Dobutović, ¹Sanja Soskić, ¹Milan Obradović,

³Slobodan Tanasković, ³Đorđe Radak i ¹Esmā R. Isenović

Sažetak: Sekretagozi hormona rasta (GHS) su sintetička jedinjenja koja su potentni stimulatori oslobađanja hormona rasta (GH) i deluju preko receptora spregnutog sa guanin nukleotid-vezujućim (G) proteinom, koji se naziva GHS-receptor (GHS-R). Metodom reverzne farmakologije identifikovan je i okarakterisan endogeni ligand za GHS-R tipa 1a (GHS-R1a), koji je nazvan grelin. Grelina je peptidni hormon građen od 28 aminokiselina, u kome je aminokiselina Serin-3 (Ser³) n-oktanoilovana, odnosno ima modifikaciju u vidu lanca masnih kiselina koja je esencijalna za njegovu aktivnost. Grelina se najviše sintetiše u želucu, a GHS-R su eksprimirani većinom u hipotalamusu i hipofizi.

Ishrana je najvažniji faktor koji utiče na regulaciju sekrecije grelina. Koncentracija grelina u cirkulaciji povećana je za vreme gladovanja, a opada nakon uzimanja hrane.

Grelina stimuliše oslobađanje GH u mnogo većim količinama nego maksimalne doze GH-oslobađajućeg hormona (GHRH) što ukazuje na drugačiji mehanizam delovanja grelina na nivou hipofize.

iRNK za grelin i za GHS-R1a identifikovane su i u srcu i u aorti. Proučavanja efekata grelina, pokazala su njegove povoljne efekte na kardiovaskularni sistem (CVS). S obzirom da grelin stimuliše oslobađanje GH, za koji je ranije pokazano da ima kardioprotektivne efekte, grelin može da ispoljava povoljne efekte na CVS posredovane preko GH, ali i efekte koji su nezavisni od efekata GH. Povoljni efekti grelina na CVS pružaju mogućnost da se grelin koristi u terapiji oboljenja CVS kao što su poremećaji u radu srca, hipertenzija i bolesti ishemije srca.

Ključne reči: *Grelina, hormon rasta, GHS-receptor, kardiovaskularni sistem, kardiovaskularne bolesti*

Summary: Small synthetic molecules called growth hormone (GH) secretagogues (GHS) stimulate the release of GH from the pituitary. They act through the GHS-receptor (GHS-R), a G protein coupled receptor. Recently, by using a method of reverse pharmacology the endogenous ligand for the GHS-R type 1a (GHS-R1a) has been discovered.

Ghrelina is a 28 amino acid peptide hormone in which the third amino acid serine (Ser³) is modified by a fatty acid and this modification is essential for ghrelina's activity. Ghrelina is produced mainly in the stomach and GHS-R is mainly expressed in hypothalamus and in the pituitary.

The discovery of ghrelina indicates that the release of GH from the pituitary might be regulated not only by hypothalamic GH-releasing hormone (GHRH), but also by ghrelina derived from the stomach.

In addition, ghrelina stimulates appetite by acting on the hypothalamic arcuate nucleus, a region known to control food intake.

The tissue distribution of ghrelina is widespread, and it is also present in cardiomyocytes. In addition, expression of mRNA encoding both ghrelina and GHSR-1a has been observed in the heart and aortas.

Recent evidence indicates that ghrelin feature a variety of cardiovascular activities, including increase of myocardial contractility, vasodilatation, and protection from myocardial infarction. It has been shown that ghrelin may improve cardiac function partly through GH dependent mechanisms but also, some evidence suggests that ghrelin's cardioprotective activity is independent from GH secretion. Thus, ghrelin may be a new thera-

Uvod

Hormon rasta (GH; engl. growth hormone) je peptidni hormon koga luče somatotropne ćelije prednjeg režnja hipofize (adenohipofiza) i spada u hormone sa više funkcija u organizmu: reguliše rast, kako ćelija, tako i organizma u celini, reguliše metabolizam ugljenih hidrata, proteina i lipida, a takođe reguliše i balans elektrolita i vode u organizmu [5; 16]. Za lučenje GH najznačajnija su dva neuropeptida iz hipotalamusa, a to su somatostatin, koji inhibira oslobađanje GH i GH-oslobađajući hormon (GHRH; engl. GH-releasing hormone), koji stimuliše oslobađanje GH [3]. Nedavno [28] u studijama o GH-sekretagogima (GHS; engl. GH-secretagogues), otkriven je i treći veoma bitan način regulacije oslobađanja GH koji se ostvaruje uz pomoć GHS. GHS su sintetička jedinjenja koja su veoma potentni stimulatori oslobađanja GH i deluju preko receptora spregnutog sa guanin nukleotid-vezujućim (G) proteinom (GPCR; engl. G protein-coupled receptor), koji se naziva GHS-receptor (GHS-R; engl. GHS-receptor). Pored sintetičkih, pretpostavljeno je da postoje i prirodni, endogeni ligandi koji se vezuju za GHS-R i vrše slične funkcije kao i GHS in situ [50; 67; 96].

GHS-R spadaju u grupu receptora „siročića“ (engl. orphan receptors), koji su otkriveni i okarakterisani u organizmu pre nego što je otkriven ligand koji se vezuje za njih. Identifikacija endogenog liganda koji se vezuje za GHS-R se analizira u ćelijama u kojima je stabilno eksprimiran receptor, koje se tretiraju ekstraktom peptida i zatim se prati „odgovor“, tj. nivo sekundarnih glasnika. Ukoliko je ciljani receptor funkcionalno eksprimiran na površini ćelije i ukoliko ekstrakt peptida sadrži endogeni ligand koji može da aktivira receptor, dolazi do smanjenja ili do povećanja odgovora sekundarnih glasnika, a to

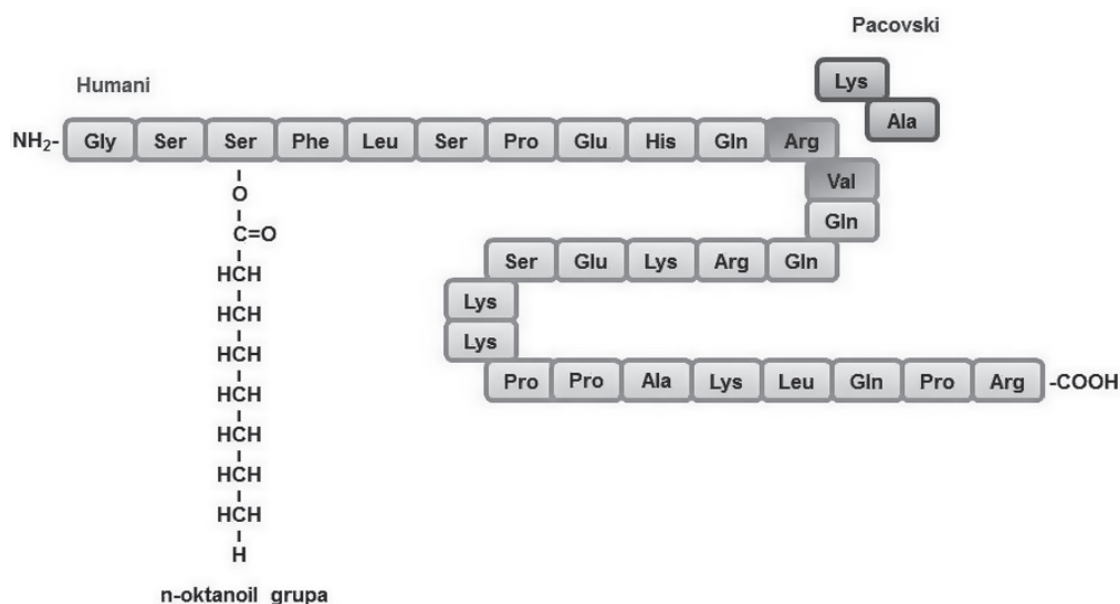
peutic agent for the treatment of some cardiovascular disturbances and diseases. Further studies are necessary to investigate the potential mechanisms for the effects of ghrelin on cardiovascular system.

Key words: *ghrelin, growth hormone, GHS-receptor, cardiovascular system, cardiovascular diseases*

su, najčešće, nivo cikličnog adenozin monofosfata (cAMP) ili koncentracija jona kalcijuma (Ca^{2+}) u ćeliji. Endogeni ligand, zatim se može izolovati uz primenu hromatografije visokih performanci (HPLC; engl. high pressure liquid chromatography) i masene spektrometrije (engl. mass spectrometry). Ovakav postupak prepoznavanja, identifikovanja i karakterisanja endogenog liganda za već poznati, okarakterisani receptor, nazivamo „reverznom farmakologijom“ [51; 64; 115]. Metodom reverzne farmakologije, Kojima i sar. su 1999. godine identifikovali i okarakterisali endogeni ligand za GHS-R tipa 1a (GHS-R1a) koji je nazvan grelin (engl. ghrelin), od proto-endo-evropske reči „ghre“, koja znači rast i pošto ima GH oslobađajuće efekte (eng. GH releasing) nastavka „relin“ [62; 63].

Građa i opšte osobine grelina

Grelina je, neočekivano, prvo izolovan iz želuca pacova iako su receptori GHS-R eksprimirani većinom u hipotalamusu i hipofizi [62]. Grelina je peptidni hormon u čiji sastav ulazi 28 aminokiselina, u kome je aminokiselina Serin-3 (Ser^3) n-oktanoilovana, odnosno ima modifikaciju u vidu lanca masnih kiselina koja je esencijalna za aktivnost ovog hormona (Slika 1.). Grelina je prvi prirodni peptid za koji je pokazano da ima ovu acil grupu kao rezultat post-translacione modifikacije. Humani i pacovski grelin razlikuju se po svom sastavu u samo dve aminokiseline (Slika 1.): na poziciji 11 humanog grelina je arginin (Arg^{11}), a na poziciji 12 valin (Val^{12}), a kod pacovskog grelina su na pozicijama 11 i 12, lizin (Lis^{11}) i alanin (Ala^{12}), respektivno [48; 62].



Slika 1. Struktura humanog i pacovskog grelina:

Sekvenca aminokiselina humanog grelina: Gly-Ser-Ser(n-octanoyl)-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-Arg-Val-Gln-Gln-Arg-Lys-Glu-Ser-Lys-Lys-Pro-Pro-Ala-Lys-Leu-Gln-Pro-Arg; Sekvenca aminokiselina pacovskog grelina: Gly-Ser-Ser(n-octanoyl)-Phe-Leu-Ser-Pro-Glu-His-Gln-Lys-Ala-Gln-Gln-Arg-Lys-Glu-Ser-Lys-Lys-Pro-Pro-Ala-Lys-Leu-Gln-Pro-Arg

Daljim izučavanjima, u želucu pacova, identifikovan je i des-Gln¹⁴-ghrelin (građen od 27 aminokiselina), koji je osim delecije glutamina (Gln) na poziciji 14, identičan pacovskom grelinu, kako po strukturi, tako i po aktivnosti. Des-Gln¹⁴-ghrelin, također, ima n-octanoil modifikaciju na Ser³ koja mu je neophodna za aktivnost, a i stimulise oslobađanje GH nakon injeciranja kod pacova. Dakle, oslobađanje GH je regulisano sa dva peptida želuca: grelinom i des-Gln¹⁴-ghrelinom, ali je des-Gln¹⁴-ghrelin prisutan u mnogo manjoj količini, što ukazuje da je grelin dominantna aktivna forma [49; 64]. Takođe, kod pacova, identifikovana je još jedna, manje zastupljena, modifikovana forma grelina, tzv. n-decenoil grelin. Pri prečišćavanju grelina iz humanog želuca, identifikovano je nekoliko formi koje su prisutne u znatno manjim količinama nego grelin (npr. neacilovana i dekanoilovana forma). Neacilovana forma grelina (des-acil grelin), identifikovana je kako u želucu, tako i u krvi, pri čemu je zastupljenost des-acil grelina u cirkulaciji znatno veća u odnosu na acilovanu formu [64]. U plazmi, grelin se vezuje za lipoproteine visoke gustine (HDL; engl. high-density lipoproteins) koji sadrže plazma esterase, paraoksonaze i klusterin [10]. Pošto je n-oktanoil grupa na Ser³ u molekulu grelina vezana estarskom vezom moguće je da je

paraoksonaza odgovorna za dezacilaciju grelina. S obzirom na to, pretpostavljalo se da des-acil grelin predstavlja ili prekursor ili produkt razgradnje acilovanog grelina [62; 64; 68].

Kod sisara, sekvenca aminokiselina u prekursoru grelina veoma je dobro konzervirana. Prekursor, prepro-peptid (prepro-ghrelin) izgrađen je od 117 aminokiselina, ima N terminalnu signalnu sekvencu i C terminalni rep koji se odstranjuje proteolitičkom degradacijom. Prepro-ghrelin sadrži signalni peptid koga čine 23 aminokiseline, 94 aminokiseline pro-ghrelina koji uključuje i 28 aminokiselina aktivnog grelina i "rep" od 66 aminokiselina. Enzim koji katalizuje acilnu modifikaciju grelina je, nedavno, identifikovan od strane dve nezavisne grupe naučnika [41; 116] i nazvan je grelin O-acil transferaza (GOAT). GOAT je lokalizovana u endoplazmatičnom retikulumu i pretpostavlja se da oktanoil koenzim A (Co-A) ima funkciju donora za oktanoilizaciju [116]. Takođe je pokazano da se GOAT eksprimira samo u gastrointestinalnom traktu, testisima [116] i pankreasu [41] što i jesu tkiva u kojima se grelin sintetiše u najvećoj meri.

Od zajedničkog prekursora prohormona, prepro-ghrelina, alternativnom post-translacionom obradom, osim grelina, sintetišu se još dva peptida: des-acil grelin i obestatin. Dakle, identifikovana

su tri produkta gena za grelin, koja predstavljaju tri različita peptida sa različitim funkcijama, a to su: grelin, des-acil grelin i obestatin [40; 44; 119]. Des-acil grelin ima istu sekvencu aminokiselina kao i grelin (28 aminokiselina), ali bez prisustva O-n-oktanoil modifikacije [62]. Des-acil grelin ne supstituiše grelin na njegovim mestima vezivanja u hipotalamusu i hipofizi i nema sposobnost da stimuliše oslobađanje GH in vivo, niti kod pacova, niti kod ljudi. Ipak, mnoge studije ukazuju na postojanje bioaktivnosti desoktanoil grelina i pokazano je da desoktanoil grelin ispoljava suprotne efekte od grelina na unos hrane i pokretljivost creva [8; 18], kao i da utiče na adipogenezu [106], sekreciju i rezistentnost na insulin [59; 120], a takođe utiče i na proliferaciju ćelija i njihovo preživljavanje u in vitro uslovima [9; 36; 37].

Regulacija sekrecije grelina u organizmu

Regulacija sekrecije grelina u organizmu se ostvaruje na više nivoa: na nivou transkripcije gena za grelin, translacije iRNK za grelin, post-translacione modifikacije, zatim na nivou učestalosti sekrecije grelina iz želuca, hipotalamusa i iz drugih organa, kao i na nivou proteina za koje se vezuje u cirkulaciji (grelina vezujući proteini), transporta kroz krvno-moždanu barijeru, prečišćavanja grelina preko bubrega ili jetre, uticaja drugih liganda na GHS-R, ekspresije GHS-R i unutarćelijske signalne mreže GHS-R [68; 110]. Naučni rezultati koji govore o regulaciji sekrecije grelina su u porastu, međutim, tačan mehanizam regulacije još uvek je nedovoljno poznat.

Jedan od najvažnijih faktora koji utiče na regulaciju sekrecije grelina jeste ishrana. Koncentracija grelina u cirkulaciji povećana je za vreme gladovanja, a pada nakon uzimanja hrane, što ukazuje da je grelin signal inicijacije uzimanja hrane ili pak da je sekrecija grelina kontrolisana nekim od nutritivnih faktora iz krvi [20; 108]. Još uvek nije poznato koji su faktori uključeni u regulaciju sekrecije grelina. Pretpostavlja se da je nivo glukoze u krvi jedan od kritičnih faktora, jer je pokazano da oralnom ili intravenskom (IV) aplikacijom glukoze, dolazi do smanjenja koncentracije grelina u cirkulaciji [76]. Takođe, isključena je mogućnost da mehaničko rastezanje (naduvenost) želuca utiče na sekreciju grelina, usled toga što želudac napunjen vodom ne dovodi do promene u koncentraciji grelina. Nivo grelina je

veoma senzitivna na sastav hrane koja se unosi u organizam, tako da je naročito izraženo sniženje u koncentraciji grelina nakon obroka bogatog mastima (HF; engl. high fat) [29; 38]. Takođe, zapaženo je da mršave osobe imaju viši nivo grelina u cirkulaciji nego gojazne osobe istog pola i uzrasta [109]. Praćenjem ranijih otkrića o pozitivnom uticaju nekih GHS na apetit, uočeno je da GH nezavisno povećanje u apetitu i telesnoj težini regulisano grelinom [64; 68].

Tretman somatostatinom i njegovim analogima kao što je octreotid, ili tretman urocortinom-1, koji je veoma potentan anoreksigeni peptid, dovodi do supresije nivoa grelina u cirkulaciji, dok primena leptina, međutim, ne utiče na nivo grelina [17; 26; 42; 101]. Uočena je, takođe, i veza u pulsnoj sekreciji grelina i GH, što sugerise ili da grelin učestvuje u oslobađanju GH ili da su ova dva hormona simultano koregulisana [70].

Distribucija grelina u organizmu

Fiziološke koncentracije grelina, u uzorcima humane plazme, su u opsegu od 10-20 fmol/ml za n-oktanoil grelin, a 100-150 fmol/ml za ukupni grelin (acilovani i neacilovani), dok su kod pacova izmerene vrednosti u cirkulaciji u opsegu od 12 ± 5 ng/ml [64; 68].

Grelina je identifikovan u mnogim tkivima, kako na nivou iRNK, tako i na nivou proteina ili oboje. Najveća količina grelina, kod svih kičmenjaka, sintetiše se u želucu [6], ali se takođe sintetiše, u manjoj količini, i u mnogim drugim tkivima, što ukazuje na njegove kako endokrine, tako i parakrine efekte.

U mukozi želuca, in situ hibridizacijom i imuno-histohemijskim metodama, pokazano je, da ćelije koje sadrže grelin smešten u okruglim, kompaktnim granulama, predstavljaju poseban tip imunoreaktivnih endokrinih ćelija, tzv. X/A slične ćelije. Imunoreaktivne ćelije na grelin pronađene su i u duodenumu, jejunumu, ileumu i kolonu, pri čemu koncentracija grelina opada u pravcu od duodenuma ka kolonu [22]. Takođe, imunoreaktivne ćelije na grelin identifikovane su i u pankreasu [25].

Iznenadjuće je što je grelin, iako su GHS-R1a većinski eksprimirani u hipotalamusu i hipofizi, samo u malim količinama detektovan u mozgu [48; 62] gde je prisutan u arkuatusu, jedru hipotalamusa koje je važan region u regulaciji apetita [62; 73], kao i u nekim jedrima hipotalamusa koja se nalaze u blizini treće moždane komore,

između dorzalnog, ventralnog, paraventrikularnog i arkuatnog jedra hipotalamusa [19]. Ovakva lokalizacija grelina ukazuje na mogućnost da grelin ima ulogu u kontroli unosa hrane, što je pokazano eksperimentima gde injeciranje grelina, u cerebralne ventrikule pacova, dovodi do potentne stimulacije unosa hrane [64]. Takođe, grelin je detektovan i u hipofizi u kojoj deluje autokrino/parakrino na oslobađanje GH [66; 69]. Ostala tkiva i organi u kojima je eksprimiran grelin su: ćelije imunog sistema (limfociti) [46], pluća [111], placenta [39], jajnici [15], testisi [102] i bubrezi [117] koji predstavljaju mesto kako prečišćavanja tako i degradacije grelina [34].

Receptor za grelin (GHS-R1a)

GHS-R je tipičan GPCR, sa sedam transmembranskih domena (7-TM). Do sada su izolovane dve različite cDNK za GHS-R: jedna za GHS-R1a, a druga za GHS-R tipa 1b (GHS-R1b). Ova dva tipa GHS-R nastala su kao rezultat alternativne obrade iRNK za GHS-R.

GHS-R pripada superfamiliji GPCR receptora koju čine receptori za grelin, motilin, neuromedin U i neurotenzin. Svi ovi peptidi detektovani su u gastrointestinalnom traktu i imaju uticaj na gastrointestinalne pokrete kao i druge funkcije. U ovu familiju GPCR, takođe, se ubraja i receptor GPR39 za koji se smatra da je receptor za obestatin [118; 119], mada postoje i studije koje osporavaju tu tvrdnju [47; 71]. Najveću homologiju GHS-R ima sa receptorom za motilin, što je i logično obzirom da grelin i motilin imaju slične sekvence aminokiselina [31; 64]. Zbog svih ovih zajedničkih karakteristika, kako strukturnih, tako i funkcionalnih, smatra se da grelin i motilin formiraju superfamiliju peptida i pretpostavlja se da su evoluirali od zajedničkog gena pretka [32]. Takođe, pokazano je da motilin može da stimuliše receptor za grelin, ali ne i obrnuto [21]. Pretpostavlja se da postoji još jedan tip GHS-R, pošto je uočena aktivnost grelina u ćelijama (npr. H9c2 kardiomiocyte) koje nemaju eksprimiran GHS-R1a niti GHS-R1b [9].

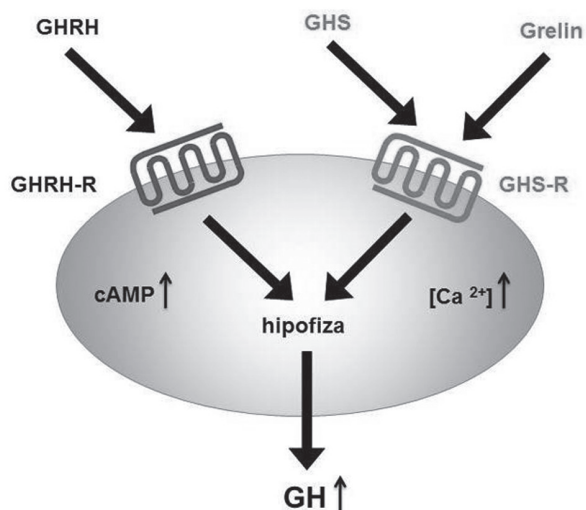
GHS-R1a je veoma dobro konzerviran među vrstama kičmenjaka kod kojih je do sada analiziran, što ukazuje na njegovu veoma bitnu fiziološku ulogu [88; 96]. GHS-R1a je identifikovan, pored hipotalamusa (u arkuatusu i ventromedijalnom jedru) i hipofize, i u hipokampusu (CA2 i CA3 regioni i girus dentatus), u crnoj masi ventralne tegmentalne zone srednjeg mozga i u dorzalnog i medijalnog jedru rafe. Takođe je GHS-R1a identifikovan i u mnogim perifernim organima, uključujući pluća, jetru, bubrege, pankreas, želudac, debelo i tanko crevo, masno tkivo, ćelije imunog sistema, srce i krvne sudove, što ukazuje na ulogu grelina u svim nabrojenim tkivima i organima [64; 68].

Fiziološki efekti grelina u organizmu

Pokazano je da grelin utiče na više različitih sistema uključujući oslobađanje GH, adrenokortikotropnog hormona (ACTH) i prolaktina, zatim na regulaciju apetita, sekreciju želudačne kiseline, pokretljivost želuca i proliferaciju ćelija u organima [64; 68]. Za ostvarivanje efekata grelina kao što je npr. otpuštanje GH, neophodna je njegova modifikacija tj. acilovanje, dok za neke to nije neophodno [64; 68].

Pokazano je da IV injeciranje grelina dovodi do oslobađanja GH, kako kod pacova, tako i kod ljudi [7]. Intracerebroventrikularno (ICV) injeciranje grelina pacovima takođe dovodi do stimulacije oslobađanja GH [98], pri čemu mnogo manje doze grelina dovode do signifikantnijeg efekta na sekreciju GH [23]. Grelina stimuliše oslobađanje GH in vitro i in vivo na dozno zavisani način. Osim na sekreciju GH, visoke doze grelina kod ljudi dovode do povećanja ACTH, prolaktina i kortizola [64; 68].

Grelina potencira efekte GHRH ili deluje sinergistički sa GHRH (najpotentnije oslobađanje GH), a kod zdravih individua stimuliše oslobađanje GH u mnogo većim količinama nego maksimalne doze GHRH [45] što ukazuje na drugačiji mehanizam delovanja grelina na nivou hipofize.

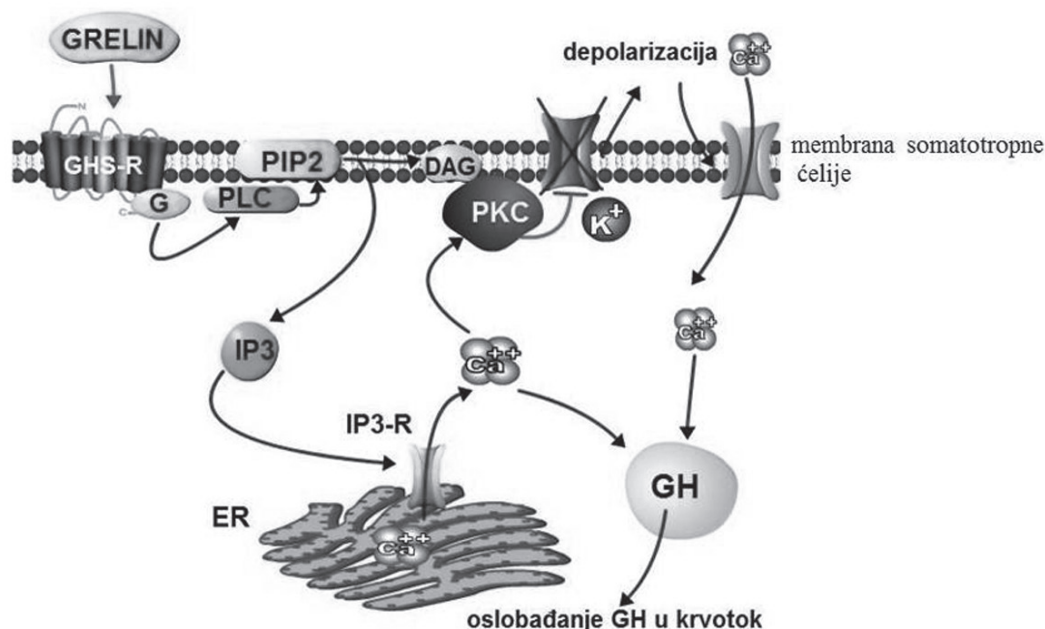


Slika 2. Šematski prikaz različite regulacije oslobađanja GH iz hipofize pod uticajem GHRH ili grelina

GH - hormon rasta; GHRH - GH-oslobađajući hormon; GHS - GH sekretagozi; GHRH-R - GHRH receptor; GHS-R - GHS receptor; cAMP - ciklični adenozin monofosfat; Ca^{2+} - joni kalcijuma; $[\text{Ca}^{2+}]$ - koncentracija Ca^{2+}

Za razliku od GHRH, koji se vezuje za GHRH receptor (GHRH-R) i aktivira adenilat ciklazu (AC), grelin se vezuje za GHS-R (Slika 2.) i aktivira fosfolipazu C (PLC) [50; 64; 68]. Aktivacija AC dovodi

do povećanja koncentracije cAMP u ćeliji, koji zatim služi kao sekundarni glasnik za aktivaciju protein kinaze A (PKA) nakon čega dolazi do sekrecije GH, što ukazuje na vezu GHRH-R sa Gs tipom G proteina. S druge strane, aktiviranje PLC hidrolizuje fosfatidil-inositol 4,5- bifosfat (PIP_2), koji se nalazi u membrani, i nastaju inozitol 1,4,5-trifosfat (IP_3) i diacil-glicerol (DAG). IP_3 se vezuje za IP_3 receptor (IP_3 -R) na endoplazmatičnom retikulumu što dovodi do oslobađanja Ca^{2+} iz depoa i time povećanja koncentracije Ca^{2+} u ćeliji, usled čega dolazi do sekrecije GH (Slika 3.), što ukazuje na vezu GHS-R sa Gq subjedinicom G proteina [64; 68]. Takođe, postoji i pretpostavka da IP_3 omogućava oslobađanje GH spajanjem GH sekretornih granula sa plazma membranom [97]. S druge strane, DAG aktivira protein kinazu C (PKC), koja se premešta u plazma membranu usled povećane koncentracije Ca^{2+} u ćeliji. Aktivirana PKC fosforilacijom inhibira kanale za jone kalijuma (K^+), što dovodi do depolarizacije membrane usled koje se otvaraju voltažno zavisni Ca^{2+} kanali tipa L što, takođe, dovodi do povećanja koncentracije Ca^{2+} u ćeliji i do sekrecije GH (Slika 3.) [68; 97].



Slika 3. Šematski prikaz oslobađanja GH iz hipofize regulisanog grelinom

GH - hormon rasta; GHS-R - GHS receptor; Ca^{2+} - joni kalcijuma; K^+ - joni kalijuma; G - guanin nukleotid-vezujući protein; PLC - fosfolipaza C; PIP_2 - fosfatidil-inositol 4,5- bifosfat; IP_3 - inozitol 1,4,5-trifosfat; DAG - diacil-glicerol; PKC - protein kinaza C; IP_3 -R - IP_3 receptor; ER - endoplazmatični retikulum

Grelin je i jedini do sada poznati cirkulišući oreksigeni hormon - hormon koji utiče na povećanje apetita. Pokazano je da ICV tretman grelinom dovodi do povećanja u telesnoj težini [84; 99]. U početku, grelin je smatran potentnim sekretagogom GH koji je snažan lipolitički hormon, dok je grelin sam po sebi lipogeničan hormon. Kombinovani efekti grelina (povećanje rasta i apetita, kao i povećanje akumulacije masti i glukoneogeneze) sugerišu da je grelin "ultimativni anabolični hormon" koji deluje delimično iz perifernih organa, a delimično iz mozga [68]. Grelina se primarno sintetise u gastrointestinalnom traktu kao odgovor na glad i gladovanje i cirkulišući u krvi služi kao periferni signal centralnom nervnom sistemu (CNS) da stimuliše konzumiranje hrane. Peptidni hormoni perifernih organa većinom ne prolaze ili prolaze u sasvim malim količinama krvno-moždanu barijeru, što je pokazano i za grelin [64]. Dakle, grelin koji deluje iz perifernih organa mora da aktivira odgovarajuće regione hipotalamusa, na indirektan način, da bi ostvario svoje fiziološke efekte. Otkriće GHS-R na vagalnim aferentnim neuronima kod pacova, sugerise da se signali grelina iz želuca prenose do CNS preko vagusnog nerva, a pokazano je i da vagotomija inhibira grelin da stimuliše kako apetit tako i oslobađanje GH [24; 121].

Pokazano je da IV aplikacija grelina, na dozno zavisani način, dovodi i do povećanja sekrecije želudačne kiseline i stimulacije pokretljivosti želuca kod pacova [74].

Takođe je pokazano da grelin utiče i na sekreciju insulina, međutim, rezultati o uticaju grelina na sekreciju insulina su kontradiktorni. U nekim eksperimentima je pokazano da grelin inhibira sekreciju insulina, dok je u drugim pokazano da je stimuliše [1; 13; 25].

Povoljni efekti grelina na kardiovaskularni sistem (CVS) pokazani su kako kod čoveka tako i kod eksperimentalnih životinja. S obzirom da grelin stimuliše oslobađanje GH, za koji je ranije pokazano da ima kardioprotektivne efekte [2; 9; 30], grelin može da ispoljava povoljne efekte na CVS posredovane preko GH, ali i efekte koji su nezavisni od efekata GH [82; 83; 94].

Efekti grelina na kardiovaskularni sistem

Proučavanja efekata grelina, kako u animalnim modelima, tako i kod ljudi, pokazala su njegove

povoljne efekte na CVS, što pruža mogućnost da se grelin koristi u terapiji oboljenja CVS kao što su poremećaji u radu srca, hipertenzija i bolesti ishemije srca. Ranije je pokazano da GH ima povoljno dejstvo na pozitivan ishod kod srčanih oboljenja [30]. Takođe su uočeni i povoljni efekti GHS na CVS, s tim što su povoljni efekti GHS zapaženi i kod hipofizektomisanih životinja i kod pacijenata sa dijagnostikovanom GH deficijencijom, što ukazuje na efekat GHS koji je nezavisan od efekata GH [14; 77; 107]. Pored toga, iRNK za grelin i za GHS-R1a identifikovane su kako u srcu tako i u aorti [11; 35].

Mogući direktni efekti grelina na CVS proučavani su u ćelijskoj kulturi primarnih adultnih i H9c2 kardiomiocita, kao i endotelних ćelija [9; 90]. Grelina inhibira apoptozu ćelija srca preko signalnog puta koji uključuje Ser/treonin (Thr) kinazu - protein kinazu B (Akt) i protein kinazu aktiviranu mitogenom (MAPK), a ovi anti-apoptotički efekti grelina na kardiomiocite pokazani su od strane različitih grupa naučnika koji su koristili različite modele [9; 90] u svojim istraživanjima. Dva minuta nakon stimulacije ćelija grelinom dolazi do aktivacije MAPK, dok inhibicija signalnog puta, specifičnim inhibitorima MAPK ili fosfatidil-inositol-3 kinaze (PI3-K), dovoljna je da poništi efekte zapažene usled delovanja grelina [9]. Interesantno je da H9c2 ćelije nemaju eksprimiran GHS-R, što ukazuje na postojanje još nekog, za sada neidentifikovanog, receptora srodnog sa GHS-R [56]. U CVS identifikovan je i GHS-R1b, ali njegova uloga još nije razjašnjena. Takođe, pokazano je da IV injekcija grelina dovodi do sniženja krvnog pritiska, ne menjajući brzinu srčanih otkucaja [80; 81], a u eksperimentima sa radioaktivno obeleženim grelinom ($[^{125}\text{I-His}^9]$ grelina), pokazano je vezivanje grelina za srce i periferne krvne sudove [57]. Kod pacova sa hroničnom srčanom insuficijencijom (CHF; engl. chronic heart failure), nakon tretmana grelinom, zapažen je veći minutni volumen srca, veća količina krvi koja se ispumpava iz srca pri kontrakciji i veći $\text{dP/dt} [\text{max}]$ leve komore (LV; engl. left ventriculium), u poređenju sa obolelim, ali placebo tretiranim kontrolama [78]. Grelina je kod ovih životinja, osim povećanja telesne mase, indukovao i povećanje debljine posteriornog zida koji nije zahvaćen infarktom, u toku diastole, zatim inhibirao uvećanje LV i povećao frakciju skraćenja LV [83]. Takođe, pokazano je da akutni tretman

grelinom dovodi do sistemskog smanjenja vaskularne rezistencije i povećanja indeksa srca [79]. Uz povećanje telesne mase, uočeno nakon tretmana grelinom u trajanju od tri nedelje, zapaženo je i jačanje mišića što ukazuje na mogućnost da grelin ojačava već oslabljeni srčani mišić, kako kod pacova [83], tako i kod pacijenata [82] sa CHF ili opštim stanjem slabosti organizma koja predstavljaju teška stanja karakterisana gubitkom telesne mase i iznemoglošću mišića, a rezistentna su na dugoročni tretman nutritivnim suplementima. Dakle, grelin poboljšava funkciju LV i umanjuje razvoj remodelovanja (dilatacije i stanjivanja zida) LV, poboljšava kontraktilnost srca i umanjuje slabost organizma kod CHF [79]. Naročito je važno otkriće da tretman grelinom značajno smanjuje površinu srca koja je zahvaćena infarktom u animalnim modelima sa ishemijskom reperfuzijom [33; 83; 103]. Nakon ovih saznanja, predloženo je da IV injekcija grelina bude pomoćna terapija kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom [82; 103]. Sniženje arterijskog krvnog pritiska, indukovano grelinom, izgleda da nije posledica direktnog efekta grelina na CVS, već da se javlja usled uticaja grelina na jedro solitarnog trakta. Injeciranjem grelina direktno u jedro solitarnog trakta dolazi do značajnog sniženja arterijskog krvnog pritiska i brzine srčanih otkucaja, kao i do supresije simpatičkih aktivnosti [72; 75].

Da grelin utiče na intracelularnu homeostazu energije pokazali su Kola i sar., mereći aktivnost 5'-AMP-aktivirane protein kinaze (AMPK) nakon aplikacije grelina. Anaerobni uslovi dovode do pada koncentracije adenosin trifosfata (ATP; engl. adenosine triphosphate) u ćeliji, a koncentracija AMP raste. Ove promene u nivoima adeninskih nukleotida vode aktivaciji AMPK, zajedno sa aktivacijom AMPK kinaze. Aktivacija AMPK dovodi do povećane translokacije glukoznog transportera izoforme 4 (GLUT 4) i fosforilacije različitih proteina kao što je za srce specifična 6-fosfofrukto-2-kinaza, koja u fosforilanoj formi aktivira produkciju ATP glikolizom [92; 93]. Mereći aktivnost AMPK u kardiomiocitama, nakon tretmana grelinom, pokazano je da on pospešuje njenu fosforilaciju i aktivnost. Isti rezultati dobijeni su i u hipotalamusu, dok je aktivnost AMPK u jetri i adipoznom tkivu bila inhibirana nakon tretmana grelinom [65].

S druge strane, u in vitro studiji na humanim arterijama dojke, ukazano je na mogućnost da gre-

lin dovodi do vazorelaksacije antagonizovanjem kontrakcije koju izaziva endotelin 1 (ET1) [114]. Kod pacijenata sa metaboličkim sindromom (MS), pokazano je da uz tretman grelinom, dolazi do vraćanja funkcije endotela, tako što grelin povećava sintezu azot-monoksida (NO; engl. nitric oxide), aktivirajući signalni put koji uključuje GHS-R1a, PI3-K, Akt i endotelnu NO sintazu (eNOS; engl. endothelial nitric oxide synthase) [104]. Takođe, pokazano je da u slučajevima promenjenog odnosa NO/ET1, grelin normalizuje njihov odnos u krvnim sudovima pacijenata sa MS, što ukazuje na ulogu ovog peptida u regulaciji vaskularne homeostaze [52; 104; 105]. I u in vivo eksperimentima kod pacova sa GH deficijencijom, vazokonstrikcija usled dejstva acetilholina, onemogućena je grelinom, pri čemu se povećao nivo eNOS [94].

Iako postoje studije koje ukazuju da se efekti grelina na CVS ostvaruju preko NO, postoje i istraživanja u kojima je pronađen signalni put grelina koji je nezavisan od eNOS, a takođe dovodi do vazodilatacije [86] i studije koje ukazuju da su ovi efekti nezavisni od NO [95].

Osim direktnih efekata na CVS, kao što je već ranije pomenuto, grelin može da ima i povoljne efekte na CVS koji su posredovani sa GH, a pretpostavlja se da te efekte grelin ostvaruje uz pomoć NO. Insulinu sličan faktor rasta 1 (IGF-1; engl. Insulin-like growth factor-1) je medijator GH i zajedno su neophodni za pravilan razvoj i funkcionisanje miokardiuma. Receptori i za GH i za IGF-1 ekspimirani su u kardiomiocitama, pri čemu GH može da deluje direktno na srce, a može da deluje i preko indukcije lokalnog ili sistemskog IGF-1, a IGF-1 može da deluje endokrinim, parakrinim ili autokrinim mehanizmima [112]. Lokalno sintetisani IGF-1 in vivo ima vazodilatatorne efekte [43; 58; 113] i ovi efekti se ostvaruju stimulacijom NOS [12; 54; 100]. Pokazano je da tretman grelinom dovodi do povećanja koncentracije IGF-1 u plazmi [27], a GH tretman doveo je do poboljšanja u eksperimentalno indukovanim poremećajima u radu srca [112]. Međutim, kod pacijenata sa CHF, GH tretman nije dao zadovoljavajuće rezultate [87], što je dovelo do pokušaja primene GHS kao fizioloških stimulatora sekrecije GH [89]. U eksperimentima Nagaye i sar., tretman grelinom pacijenata sa CHF, tokom tri nedelje, dovodi do povećanja telesne mase kao i jačanja mišića. Ovi rezultati ukazuju na mogućnost da grelin može

da ojača oslabljeni srčani mišić kod istih pacijenata, pri čemu bi ovi efekti mogli da budu, barem delimično, posredovani sa GH/IGF-1 [82], za koje se smatra da su esencijalni za razvoj mišića [2]. Povišen nivo GH u serumu i normalan ili snižen nivo IGF-1 zabeleženi su kod malaksalih pacijenata sa CHF [4; 85]. Ova otkrića ukazuju na mogućnost da poremećaji GH/IGF-1 signalnog puta dovode do poremećaja u radu srca.

IGF-1 ostvaruje svoje delovanje na vazorelaksaciju, povećavajući ekspresiju i aktivaciju NOS [54]. Efekti IGF-1 na aktivnost NOS i sintezu NO ostvaruju se preko signalnog puta PI3K/Akt [53; 55], a Kim i sar. objavili su da IGF-1 aktivira i fosforilaciju MAPK [60]. Radovi iz literature ukazuju da u stanjima MS, u kojima je nivo grelina smanjen, egzogeno davanje grelina utiče na endotelnu disfunkciju, tako što grelin povećava dostupnost NO. Mehanizmi kojima IGF-1 ispoljava svoje delovanje na vaskularni tonus, kako u normalnim fiziološkim uslovima, tako i u patofiziološkim stanjima, još uvek su nedovoljno razjašnjeni. Naši nedavno objavljeni rezultati [100] pokazuju da tetman grelinom in vivo dovodi do povećanja aktivnosti NOS enzima preko mehanizma koji uključuje aktivaciju Akt i MAPK kinaza.

Interesantno je da grelin i insulin imaju neka zajednička centralna i periferna delovanja uključena u regulaciju homeostaze energije, uključujući stimulaciju unosa hrane i metabolizam glukoze. Ovi efekti insulina, na regulaciju homeostaze energije, ostvaruju se preko aktivacije

PI3-K. Vazodilatatorni efekti insulina koji se ostvaruju tako što stimuliše sintezu NO u vaskularnom endotelu, ostvaruju se, takođe, preko PI3-K [61; 91]. Na osnovu ovih saznanja pretpostavljeno je da grelin stimuliše sintezu NO u endotelnim ćelijama krvnih sudova tako što oponaša efekte insulina, tj. koristi molekule signalne kaskade kao i insulin, a to su PI3-K i Akt [52]. Uloga NO u kardioprotektivnim efektima grelina još uvek nedovoljno je razjašnjena, kao i uloga signalnog puta Akt/MAPK u regulaciji NO pod delovanjem generičkih agonista [53; 55; 100].

U zaključku, uzimajući u obzir literarne podatke, kao i naše objavljene i naše preliminarne rezultate koji se odnose na protektivne efekte grelina na CVS, sugerise se da bi grelin mogao biti jedan od bitnih terapijskih molekula u lečenju srčanih poremećaja i oboljenja. Razumevanje molekularnih mehanizama koji su u osnovi efekata grelina na CVS, kako u fiziološkim, tako i u patofiziološkim stanjima, stoga je od velike važnosti.

Zahvalnica

Izrada ovog rada je finansirana sredstvima sa projekata br. 173033 (E.R.I.) i br. 41002 (Đ.R.) od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

Literatura

- [1] Adeghate, E. and Ponery, A. S. "Ghrelin stimulates insulin secretion from the pancreas of normal and diabetic rats." *J Neuroendocrinol* (2002) 14 (7): 555-560.
- [2] Amato, G., Carella, C., Fazio, S., et al. "Body composition, bone metabolism, and heart structure and function in growth hormone (GH)-deficient adults before and after GH replacement therapy at low doses." *J Clin Endocrinol Metab* (1993) 77 (6): 1671-1676.
- [3] Anderson, L. L., Jeftinija, S. and Scanes, C. G. "Growth hormone secretion: molecular and cellular mechanisms and in vivo approaches." *Exp Biol Med* (Maywood) (2004) 229 (4): 291-302.
- [4] Anker, S. D., Chua, T. P., Ponikowski, P., et al. "Hormonal changes and catabolic/anabolic imbalance in chronic heart failure and their importance for cardiac cachexia." *Circulation* (1997) 96 (2): 526-534.
- [5] Argetsinger, L. S. and Carter-Su, C. "Mechanism of signaling by growth hormone receptor." *Physiol Rev* (1996) 76 (4): 1089-1107.
- [6] Ariyasu, H., Takaya, K., Tagami, T., et al. "Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans." *J Clin Endocrinol Metab* (2001) 86 (10): 4753-4758.
- [7] Arvat, E., Di Vito, L., Broglio, F., et al. "Preliminary evidence that Ghrelin, the natural GH secretagogue (GHS)-receptor ligand, strongly stimulates GH secretion in humans." *J Endocrinol Invest* (2000) 23 (8): 493-495.
- [8] Asakawa, A., Inui, A., Fujimiya, M., et al. "Stomach regulates energy balance via acylated ghrelin and desacyl ghrelin." *Gut* (2005) 54 (1): 18-24.
- [9] Baldanzi, G., Filigheddu, N., Cutrupi, S., et al. "Ghrelin and des-acyl ghrelin inhibit cell death in cardiomyocytes and endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT." *J Cell Biol* (2002) 159 (6): 1029-1037.
- [10] Beaumont, N. J., Skinner, V. O., Tan, T. M., et al. "Ghrelin can bind to a species of high density lipoprotein associated with paraoxonase." *J Biol Chem* (2003) 278 (11): 8877-8880.
- [11] Bodart, V., Bouchard, J. F., McNicoll, N., et al. "Identification and characterization of a new growth hormone-releasing peptide receptor in the heart." *Circ Res* (1999) 85 (9): 796-802.
- [12] Boger, R. H., Skamira, C., Bode-Boger, S. M., et al. "Nitric oxide may mediate the hemodynamic effects of recombinant growth hormone in patients with acquired growth hormone deficiency. A double-blind, placebo-controlled study." *J Clin Invest* (1996) 98 (12): 2706-2713.
- [13] Broglio, F., Arvat, E., Benso, A., et al. "Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans." *J Clin Endocrinol Metab* (2001) 86 (10): 5083-5086.
- [14] Broglio, F., Benso, A., Valetto, M. R., et al. "Growth hormone-independent cardiotropic activities of growth hormone-releasing peptides in normal subjects, in patients with growth hormone deficiency, and in patients with idiopathic or ischemic dilated cardiomyopathy." *Endocrine* (2001) 14 (1): 105-108.
- [15] Caminos, J. E., Tena-Sempere, M., Gaytan, F., et al. "Expression of ghrelin in the cyclic and pregnant rat ovary." *Endocrinology* (2003) 144 (4): 1594-1602.
- [16] Carter-Su, C., King, A. P., Argetsinger, L. S., et al. "Signalling pathway of GH." *Endocr J* (1996) 43 Suppl: S65-70.
- [17] Chan, J. L., Bullen, J., Lee, J. H., et al. "Ghrelin levels are not regulated by recombinant leptin administration and/or three days of fasting in healthy subjects." *J Clin Endocrinol Metab* (2004) 89 (1): 335-343.
- [18] Chen, C. Y., Inui, A., Asakawa, A., et al. "Des-acyl ghrelin acts by CRF type 2 receptors to disrupt fasted stomach motility in conscious rats." *Gastroenterology* (2005) 129 (1): 8-25.
- [19] Cowley, M. A., Smith, R. G., Diano, S., et al. "The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis." *Neuron* (2003) 37 (4): 649-661.
- [20] Cummings, D. E., Purnell, J. Q., Frayo, R. S., et al. "A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans." *Diabetes* (2001) [21] Dass, N. B., Hill, J., Muir, A., et al. "The rabbit motilin receptor:

- molecular characterisation and pharmacology." *Br J Pharmacol* (2003) 140 (5): 948-954.
- [22] Date, Y., Kojima, M., Hosoda, H., et al. "Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans." *Endocrinology* (2000) 141 (11): 4255-4261.
- [23] Date, Y., Murakami, N., Kojima, M., et al. "Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rats." *Biochem Biophys Res Commun* (2000) 275 (2): 477-480.
- [24] Date, Y., Murakami, N., Toshinai, K., et al. "The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats." *Gastroenterology* (2002) 123 (4): 1120-1128.
- [25] Date, Y., Nakazato, M., Hashiguchi, S., et al. "Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion." *Diabetes* (2002) 51 (1): 124-129.
- [26] Davis, M. E., Pemberton, C. J., Yandle, T. G., et al. "Urocortin-1 infusion in normal humans." *J Clin Endocrinol Metab* (2004) 89 (3): 1402-1409.
- [27] Dembinski, A., Warzecha, Z., Ceranowicz, P., et al. "Variable effect of ghrelin administration on pancreatic development in young rats. Role of insulin-like growth factor-1." *J Physiol Pharmacol* (2005) 56 (4): 555-570.
- [28] Dickson, S. L., Bailey, A. R. and Leng, G. "Growth hormone (GH) secretagogues and neuroendocrine regulation of GH secretion." *Growth Horm IGF Res* (1999) 9 Suppl A: 89-91.
- [29] Erdmann, J., Lippl, F. and Schusdziarra, V. "Differential effect of protein and fat on plasma ghrelin levels in man." *Regul Pept* (2003) 116 (1-3): 101-107.
- [30] Fazio, S., Sabatini, D., Capaldo, B., et al. "A preliminary study of growth hormone in the treatment of dilated cardiomyopathy." *N Engl J Med* (1996) 334 (13): 809-814.
- [31] Feighner, S. D., Tan, C. P., McKee, K. K., et al. "Receptor for motilin identified in the human gastrointestinal system." *Science* (1999) 284 (5423): 2184-2188.
- [32] Folwaczny, C., Chang, J. K. and Tschop, M. "Ghrelin and motilin: two sides of one coin?" *Eur J Endocrinol* (2001) 144 (4): R1-3.
- [33] Frascarelli, S., Ghelardoni, S., Ronca-Testoni, S., et al. "Effect of ghrelin and synthetic growth hormone secretagogues in normal and ischemic rat heart." *Basic Res Cardiol* (2003) 98 (6): 401-405.
- [34] Ghelardoni, S., Carnicelli, V., Frascarelli, S., et al. "Ghrelin tissue distribution: comparison between gene and protein expression." *J Endocrinol Invest* (2006) 29 (2): 115-121.
- [35] Gnanapavan, S., Kola, B., Bustin, S. A., et al. "The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans." *J Clin Endocrinol Metab* (2002) 87 (6): 2988.
- [36] Granata, R., Settanni, F., Biancone, L., et al. "Acylated and unacylated ghrelin promote proliferation and inhibit apoptosis of pancreatic beta-cells and human islets: involvement of 3',5'-cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A, extracellular signal-regulated kinase 1/2, and phosphatidyl inositol 3-Kinase/Akt signaling." *Endocrinology* (2007) 148 (2): 512-529.
- [37] Granata, R., Settanni, F., Trovato, L., et al. "Unacylated as well as acylated ghrelin promotes cell survival and inhibit apoptosis in HIT-T15 pancreatic beta-cells." *J Endocrinol Invest* (2006) 29 (9): RC19-22.
- [38] Greenman, Y., Golani, N., Gilad, S., et al. "Ghrelin secretion is modulated in a nutrient- and gender-specific manner." *Clin Endocrinol (Oxf)* (2004) 60 (3): 382-388.
- [39] Gualillo, O., Caminos, J., Blanco, M., et al. "Ghrelin, a novel placental-derived hormone." *Endocrinology* (2001) 142 (2): 788-794.
- [40] Gualillo, O., Lago, F., Casanueva, F. F., et al. "One ancestor, several peptides post-translational modifications of preproghrelin generate several peptides with antithetical effects." *Mol Cell Endocrinol* (2006) 256 (1-2): 1-8.
- [41] Gutierrez, J. A., Solenberg, P. J., Perkins, D. R., et al. "Ghrelin octanoylation mediated by an orphan lipid transferase." *Proc Natl Acad Sci U S A* (2008) 105 (17): 6320-6325.
- [42] Haqq, A. M., Stadler, D. D., Rosenfeld, R. G., et al. "Circulating ghrelin levels are suppressed by meals and octreotide therapy in children with Prader-Willi syndrome." *J Clin Endocrinol Metab* (2003) 88 (8): 3573-3576.
- [43] Hasdai, D., Rizza, R. A., Holmes, D. R., Jr., et al. "Insulin and insulin-like growth factor-

- I cause coronary vasorelaxation in vitro.*" Hypertension (1998) 32 (2): 228-234.
- [44] Hassouna, R., Zizzari, P. and Tolle, V. "The ghrelin/obestatin balance in the physiological and pathological control of growth hormone secretion, body composition and food intake." J Neuroendocrinol (2010) 22 (7): 793-804.
- [45] Hataya, Y., Akamizu, T., Takaya, K., et al. "A low dose of ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH-releasing hormone in humans." J Clin Endocrinol Metab (2001) 86 (9): 4552.
- [46] Hattori, N., Saito, T., Yagyu, T., et al. "GH, GH receptor, GH secretagogue receptor, and ghrelin expression in human T cells, B cells, and neutrophils." J Clin Endocrinol Metab (2001) 86 (9): 4284-4291.
- [47] Holst, B., Egerod, K. L., Schild, E., et al. "GPR39 signaling is stimulated by zinc ions but not by obestatin." Endocrinology (2007) 148 (1): 13-20.
- [48] Hosoda, H., Kojima, M., Matsuo, H., et al. "Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue." Biochem Biophys Res Commun (2000) 279 (3): 909-913.
- [49] Hosoda, H., Kojima, M., Matsuo, H., et al. "Purification and characterization of rat des-Gln14-Ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor." J Biol Chem (2000) 275 (29): 21995-22000.
- [50] Howard, A. D., Feighner, S. D., Cully, D. F., et al. "A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release." Science (1996) 273 (5277): 974-977.
- [51] Howard, A. D., McAllister, G., Feighner, S. D., et al. "Orphan G-protein-coupled receptors and natural ligand discovery." Trends Pharmacol Sci (2001) 22 (3): 132-140.
- [52] Iantorno, M., Chen, H., Kim, J. A., et al. "Ghrelin has novel vascular actions that mimic PI 3-kinase-dependent actions of insulin to stimulate production of NO from endothelial cells." Am J Physiol Endocrinol Metab (2007) 292 (3): E756-764.
- [53] Isenovic, E., Walsh, M. F., Muniyappa, R., et al. "Phosphatidylinositol 3-kinase may mediate isoproterenol-induced vascular relaxation in part through nitric oxide production." Metabolism (2002) 51 (3): 380-386.
- [54] Isenovic, E. R., Divald, A., Milivojevic, N., et al. "Interactive effects of insulin-like growth factor-1 and beta-estradiol on endothelial nitric oxide synthase activity in rat aortic endothelial cells." Metabolism (2003) 52 (4): 482-487.
- [55] Isenovic, E. R., Meng, Y., Divald, A., et al. "Role of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in angiotensin II and insulin-like growth factor-1 modulation of nitric oxide synthase in vascular smooth muscle cells." Endocrine (2002) 19 (3): 287-292.
- [56] Isgaard, J., Barlund, A. and Johansson, I. "Cardiovascular effects of ghrelin and growth hormone secretagogues." Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets (2008) 8 (2): 133-137.
- [57] Katugampola, S. D., Pallikaros, Z. and Davenport, A. P. "[125I-His(9)]-ghrelin, a novel radioligand for localizing GHS orphan receptors in human and rat tissue: up-regulation of receptors with atherosclerosis." Br J Pharmacol (2001) 134 (1): 143-149.
- [58] Khorsandi, M. J., Fagin, J. A., Giannella-Neto, D., et al. "Regulation of insulin-like growth factor-I and its receptor in rat aorta after balloon denudation. Evidence for local bioactivity." J Clin Invest (1992) 90 (5): 1926-1931.
- [59] Kiewiet, R. M., van Aken, M. O., van der Weerd, K., et al. "Effects of acute administration of acylated and unacylated ghrelin on glucose and insulin concentrations in morbidly obese subjects without overt diabetes." Eur J Endocrinol (2009) 161 (4): 567-573.
- [60] Kim, J., Song, G., Gao, H., et al. "Insulin-like growth factor II activates phosphatidylinositol 3-kinase-protooncogenic protein kinase 1 and mitogen-activated protein kinase cell Signaling pathways, and stimulates migration of ovine trophoblast cells." Endocrinology (2008) 149 (6): 3085-3094.
- [61] Kim, J. A., Montagnani, M., Koh, K. K., et al. "Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms." Circulation (2006) 113 (15): 1888-1904.
- [62] Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., et al. "Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach." Nature (1999) 402 (6762): 656-660.

- [63] Kojima, M., Hosoda, H., Matsuo, H., et al. "Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor." *Trends Endocrinol Metab* (2001) 12 (3): 118-122.
- [64] Kojima, M. and Kangawa, K. "Ghrelin: structure and function." *Physiol Rev* (2005) 85 (2): 495-522.
- [65] Kola, B., Hubina, E., Tucci, S. A., et al. "Cannabinoids and ghrelin have both central and peripheral metabolic and cardiac effects via AMP-activated protein kinase." *J Biol Chem* (2005) 280 (26): 25196-25201.
- [66] Korbonits, M., Bustin, S. A., Kojima, M., et al. "The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors." *J Clin Endocrinol Metab* (2001) 86 (2): 881-887.
- [67] Korbonits, M., Ciccarelli, E., Ghigo, E., et al. "The growth hormone secretagogue receptor." *Growth Horm IGF Res* (1999) 9 Suppl A: 93-99.
- [68] Korbonits, M., Goldstone, A. P., Gueorguiev, M., et al. "Ghrelin--a hormone with multiple functions." *Front Neuroendocrinol* (2004) 25 (1): 27-68.
- [69] Korbonits, M., Kojima, M., Kangawa, K., et al. "Presence of ghrelin in normal and adenomatous human pituitary." *Endocrine* (2001) 14 (1): 101-104.
- [70] Koutkia, P., Canavan, B., Breu, J., et al. "Nocturnal ghrelin pulsatility and response to growth hormone secretagogues in healthy men." *Am J Physiol Endocrinol Metab* (2004) 287 (3): E506-512.
- [71] Lauwers, E., Landuyt, B., Arckens, L., et al. "Obestatin does not activate orphan G protein-coupled receptor GPR39." *Biochem Biophys Res Commun* (2006) 351 (1): 21-25.
- [72] Lin, Y., Matsumura, K., Fukuhara, M., et al. "Ghrelin acts at the nucleus of the solitary tract to decrease arterial pressure in rats." *Hypertension* (2004) 43 (5): 977-982.
- [73] Lu, S., Guan, J. L., Wang, Q. P., et al. "Immunocytochemical observation of ghrelin-containing neurons in the rat arcuate nucleus." *Neurosci Lett* (2002) 321 (3): 157-160.
- [74] Masuda, Y., Tanaka, T., Inomata, N., et al. "Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats." *Biochem Biophys Res Commun* (2000) 276 (3): 905-908.
- [75] Matsumura, K., Tsuchihashi, T., Fujii, K., et al. "Central ghrelin modulates sympathetic activity in conscious rabbits." *Hypertension* (2002) 40 (5): 694-699.
- [76] McCowen, K. C., Maykel, J. A., Bistran, B. R., et al. "Circulating ghrelin concentrations are lowered by intravenous glucose or hyperinsulinemic euglycemic conditions in rodents." *J Endocrinol* (2002) 175 (2): R7-11.
- [77] Muccioli, G., Broglio, F., Valetto, M. R., et al. "Growth hormone-releasing peptides and the cardiovascular system." *Ann Endocrinol (Paris)* (2000) 61 (1): 27-31.
- [78] Nagaya, N. and Kangawa, K. "Ghrelin improves left ventricular dysfunction and cardiac cachexia in heart failure." *Curr Opin Pharmacol* (2003) 3 (2): 146-151.
- [79] Nagaya, N. and Kangawa, K. "Ghrelin, a novel growth hormone-releasing peptide, in the treatment of chronic heart failure." *Regul Pept* (2003) 114 (2-3): 71-77.
- [80] Nagaya, N., Kojima, M., Uematsu, M., et al. "Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers." *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* (2001) 280 (5): R1483-1487.
- [81] Nagaya, N., Miyatake, K., Uematsu, M., et al. "Hemodynamic, renal, and hormonal effects of ghrelin infusion in patients with chronic heart failure." *J Clin Endocrinol Metab* (2001) 86 (12): 5854-5859.
- [82] Nagaya, N., Moriya, J., Yasumura, Y., et al. "Effects of ghrelin administration on left ventricular function, exercise capacity, and muscle wasting in patients with chronic heart failure." *Circulation* (2004) 110 (24): 3674-3679.
- [83] Nagaya, N., Uematsu, M., Kojima, M., et al. "Chronic administration of ghrelin improves left ventricular dysfunction and attenuates development of cardiac cachexia in rats with heart failure." *Circulation* (2001) 104 (12): 1430-1435.
- [84] Nesic, D. M., Stevanovic, D. M., Ille, T., et al. "Centrally applied ghrelin affects feeding dynamics in male rats." *J Physiol Pharmacol* (2008) 59 (3): 489-500.
- [85] Niebauer, J., Pflaum, C. D., Clark, A. L., et al. "Deficient insulin-like growth factor I in chronic heart failure predicts altered body

- composition, anabolic deficiency, cytokine and neurohormonal activation." *J Am Coll Cardiol* (1998) 32 (2): 393-397.
- [86] Okumura, H., Nagaya, N., Enomoto, M., et al. "Vasodilatory effect of ghrelin, an endogenous peptide from the stomach." *J Cardiovasc Pharmacol* (2002) 39 (6): 779-783.
- [87] Osterziel, K. J., Strohm, O., Schuler, J., et al. "Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of human recombinant growth hormone in patients with chronic heart failure due to dilated cardiomyopathy." *Lancet* (1998) 351 (9111): 1233-1237.
- [88] Palyha, O. C., Feighner, S. D., Tan, C. P., et al. "Ligand activation domain of human orphan growth hormone (GH) secretagogue receptor (GHS-R) conserved from Pufferfish to humans." *Mol Endocrinol* (2000) 14 (1): 160-169.
- [89] Pecker, F. "Ghrelin in the heart and growth hormone: which is chicken, which is egg?" *Cardiovasc Res* (2004) 62 (3): 442-443.
- [90] Pettersson, I., Muccioli, G., Granata, R., et al. "Natural (ghrelin) and synthetic (hexarelin) GH secretagogues stimulate H9c2 cardiomyocyte cell proliferation." *J Endocrinol* (2002) 175 (1): 201-209.
- [91] Plum, L., Belgardt, B. F. and Bruning, J. C. "Central insulin action in energy and glucose homeostasis." *J Clin Invest* (2006) 116 (7): 1761-1766.
- [92] Russell, R. R., 3rd, Bergeron, R., Shulman, G. I., et al. "Translocation of myocardial GLUT-4 and increased glucose uptake through activation of AMPK by AICAR." *Am J Physiol* (1999) 277 (2 Pt 2): H643-649.
- [93] Russell, R. R., 3rd, Li, J., Coven, D. L., et al. "AMP-activated protein kinase mediates ischemic glucose uptake and prevents postischemic cardiac dysfunction, apoptosis, and injury." *J Clin Invest* (2004) 114 (4): 495-503.
- [94] Shimizu, Y., Nagaya, N., Teranishi, Y., et al. "Ghrelin improves endothelial dysfunction through growth hormone-independent mechanisms in rats." *Biochem Biophys Res Commun* (2003) 310 (3): 830-835.
- [95] Shinde, U. A., Desai, K. M., Yu, C., et al. "Nitric oxide synthase inhibition exaggerates the hypotensive response to ghrelin: role of calcium-activated potassium channels." *J Hypertens* (2005) 23 (4): 779-784.
- [96] Smith, R. G., Feighner, S., Prendergast, K., et al. "A New Orphan Receptor Involved in Pulsatile Growth Hormone Release." *Trends Endocrinol Metab* (1999) 10 (4): 128-135.
- [97] Smith, R. G., Van der Ploeg, L. H., Howard, A. D., et al. "Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion." *Endocr Rev* (1997) 18 (5): 621-645.
- [98] Stevanovic, D., Milosevic, V., Nesic, D., et al. "Central effects of ghrelin on serum growth hormone and morphology of pituitary somatotropes in rats." *Exp Biol Med* (Maywood) (2006) 231 (10): 1610-1615.
- [99] Stevanovic, D., Nesic, D., Milosevic, V., et al. "Consummatory behavior and metabolic indicators after central ghrelin injections in rats." *Regul Pept* (2008) 147 (1-3): 52-59.
- [100] Sudar, E., Dobutovic, B., Soskic, S., et al. "Regulation of inducible nitric oxide synthase activity/expression in rat hearts from ghrelin-treated rats." *J Physiol Biochem* (2010).
- [101] Tan, T. M., Vanderpump, M., Khoo, B., et al. "Somatostatin infusion lowers plasma ghrelin without reducing appetite in adults with Prader-Willi syndrome." *J Clin Endocrinol Metab* (2004) 89 (8): 4162-4165.
- [102] Tena-Sempere, M., Barreiro, M. L., Gonzalez, L. C., et al. "Novel expression and functional role of ghrelin in rat testis." *Endocrinology* (2002) 143 (2): 717-725.
- [103] Tesouro, M., Schinzari, F., Caramanti, M., et al. "Metabolic and cardiovascular effects of ghrelin." *Int J Pept* (2010) 2010.
- [104] Tesouro, M., Schinzari, F., Iantorno, M., et al. "Ghrelin improves endothelial function in patients with metabolic syndrome." *Circulation* (2005) 112 (19): 2986-2992.
- [105] Tesouro, M., Schinzari, F., Rovella, V., et al. "Ghrelin restores the endothelin 1/nitric oxide balance in patients with obesity-related metabolic syndrome." *Hypertension* (2009) 54 (5): 995-1000.
- [106] Thompson, N. M., Gill, D. A., Davies, R., et al. "Ghrelin and des-octanoyl ghrelin promote adipogenesis directly in vivo by a mechanism independent of the type 1a growth hormone secretagogue receptor." *Endocrinology* (2004) 145 (1): 234-242.
- [107] Tivesten, A., Bollano, E., Caidahl, K., et al. "The growth hormone secretagogue hexarelin improves cardiac function in rats after experi-

- mental myocardial infarction." *Endocrinology* (2000) 141 (1): 60-66.
- [108] Tschop, M., Wawarta, R., Riepl, R. L., et al. "Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels." *J Endocrinol Invest* (2001) 24 (6): RC19-21.
- [109] Tschop, M., Weyer, C., Tataranni, P. A., et al. "Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity." *Diabetes* (2001) 50 (4): 707-709.
- [110] van der Lely, A. J., Tschop, M., Heiman, M. L., et al. "Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin." *Endocr Rev* (2004) 25 (3): 426-457.
- [111] Volante, M., Fulcheri, E., Allia, E., et al. "Ghrelin expression in fetal, infant, and adult human lung." *J Histochem Cytochem* (2002) 50 (8): 1013-1021.
- [112] Volterrani, M., Manelli, F., Cicoira, M., et al. "Role of growth hormone in chronic heart failure. Therapeutic implications." *Drugs* (2000) 60 (4): 711-719.
- [113] Walsh, M. F., Barazi, M., Pete, G., et al. "Insulin-like growth factor I diminishes in vivo and in vitro vascular contractility: role of vascular nitric oxide." *Endocrinology* (1996) 137 (5): 1798-1803.
- [114] Wiley, K. E. and Davenport, A. P. "Comparison of vasodilators in human internal mammary artery: ghrelin is a potent physiological antagonist of endothelin-1." *Br J Pharmacol* (2002) 136 (8): 1146-1152.
- [115] Wise, A., Jupe, S. C. and Rees, S. "The identification of ligands at orphan G-protein coupled receptors." *Annu Rev Pharmacol Toxicol* (2004) 44: 43-66.
- [116] Yang, J., Brown, M. S., Liang, G., et al. "Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone." *Cell* (2008) 132 (3): 387-396.
- [117] Yoshimoto, A., Mori, K., Sugawara, A., et al. "Plasma ghrelin and desacyl ghrelin concentrations in renal failure." *J Am Soc Nephrol* (2002) 13 (11): 2748-2752.
- [118] Zhang, J. V., Jahr, H., Luo, C. W., et al. "Obestatin induction of early-response gene expression in gastrointestinal and adipose tissues and the mediatory role of G protein-coupled receptor, GPR39." *Mol Endocrinol* (2008) 22 (6): 1464-1475.
- [119] Zhang, J. V., Ren, P. G., Avsian-Kretchmer, O., et al. "Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake." *Science* (2005) 310 (5750): 996-999.
- [120] Zhang, W., Chai, B., Li, J. Y., et al. "Effect of des-acyl ghrelin on adiposity and glucose metabolism." *Endocrinology* (2008) 149 (9): 4710-4716.
- [121] Zhang, W., Lin, T. R., Hu, Y., et al. "Ghrelin stimulates neurogenesis in the dorsal motor nucleus of the vagus." *J Physiol* (2004) 559 (Pt 3): 729-737.

*Specijalna bolnica «ORS Hospital» Beograd
Kliničko Univerzitetski Centar Sarajevo
Zdravstvena ustanova S-tetic, Banja Luka
FZORS Banja Luka
Zdravstvena ustanova Medico-S, Banja Luka
Opšta bolnica Doboj*

LEČENJE DUPUYTREN-OVE KONTRAKTURE

THE TREATMENT OF DUPUYTREN'S CONTRACTURE

Bandić J.,¹ Lukić D.,¹ Karabeg R.,² Jović D.,³ Babić N.,⁴ Sibirčić S.,⁵ Lazić P.⁶

Sažetak: Prospektivnom studijom u periodu od juna 2006. do avgusta 2011. godine, upoređivani su rezultati lečenja Dupuytren-ove kontraktуре prstiju šake primenjujući operativne tehnike po Palmen-u (40 pacijenata), po Iselin-u (44 pacijenata) i tehnikom minimalno invazivne fasciotomije (MIF) (55 pacijenata). Parametri za poređenje rezultata lečenja bili su uspeh u oslobađanju prstiju od kontraktуре, broj recidiva, vreme proteklo od operacije do recidiva, hipoestezija i prolongirana bol u prstima i šaci.

Cilj rada bio je da se utvrdi koja od pomenutih operativnih tehnika ima prednost u lečenju Dupuytren-ove kontraktуре.

Nije pronađena značajna statistička razlika kod pacijenata lečenih operativnom tehnikom po Palmen-u i metodom po Iselin-u

Potvrđeno je da je tehnika minimalno invazivne fasciotomije (MIF) ima znatno više prednosti za lečenje Dupuytren-ove kontraktуре jer je značajno efikasnija isključenjem potrebe za radikalnim zahvatima na šaci, hospitalizacijom pacijenta, opštom ili regionalnom anestezijom, šivanjem operativne rane. Ovom operativnom metodom postiže se minimalan procenat recidiva obolenja.

Zbog statistički značajno manjeg broja recidiva i neželjenih efekata, operativna tehnika minimalno invazivne fasciotomije (MIF) kao otvorena ograničena fasciotomija, ima prednost u lečenju Dupuytren-ove kontraktуре.

Ključne riječi: *Dupuytren, kontraktura, šaka,*

Abstract: With the prospective study, from June 2006 to August 2011, were compared the results of treating Dupuytren's contracture of the palm fingers using surgical techniques by Palmen (40 patients), by Iselin (44 patients) and the technique of minimally invasive fasciotomy (MIF) (55 patients). Parameters to compare the treatment results were success in release of the fingers contracture, a number of recurrences, time elapsed from surgery to recurrences, hypoesthesia and prolonged pain in the fingers and palm.

The aim was to determine which of these surgical techniques has the advantage in the treatment of Dupuytren's contracture.

There was no statistically significant difference in patients treated with operative technique by Palmen and by Iselin method.

It was confirmed that the technique of minimally invasive fasciotomy (MIF) has much more advantages for the treatment of Dupuytren's contracture because it is considerably more efficient by the exclusion of the need for radical procedures on the palm, by the patient's hospitalization, general or regional anesthesia, operative woundstitching. Minimum percentage of disease recurrence is achieved by this operating method.

Because of statistically significant fewer relapses and side effects, the surgical technique of minimally invasive fasciotomy (MIF) as an open limited fasciotomy, has the advantage in the treatment of Dupuytren's contracture.

Key words: *Dupuytren, contracture, palm*

Uvod

Dupuytren-ova kontraktura je jedno od najčešćih degenerativnih obolenje šake. Radi se o kontrakturi palmarne fascije šake koja dovodi do sukcesivnog, trajnog «savijanja» jednog ili više prstiju šake prema dlanu. Razlozi ovog obolenja do danas nisu poznati. Kontraktura se registruje češće kod pacijenata muškog pola i to poslije 50-e godine starosti, mada obolevaju i žene, bez obzira na zanimanje.

Dupuytren-ova kontraktura je zabeležena i kod više članova jedne porodice, zatim prema nekim podacima češće kod osoba sa obolenjima jetre (ciroza), dijabetičara, alkoholičara i epileptičara.

Patološki «supstrat» ovog obolenja čine promene u vidu čvornovatih zadebljanja unutar palmarne fascije dlana. Zatim dolazi do adhezije kože u zoni pretendinoznih tračaka fascije, što rezultuje početnom depresijom debele kože dlana u vidu karakteristične «uvučenosti u dlan». Sukcesivni razvoj kontrakture očituje se daljnjim zahvatanjem pretendinoznih tračaka i vertikalnih septa što rezultuje ograničenim pokretima prstiju u vidu fleksionone kontrakture.

Kontrakture su karakteristične za metakarpofalangalne i proksimalne interfalangealne zglobove. Najčešće zahvaćeni prsti su: mali, domali i srednji prst jedne ili obe šake.

Hirurški tretman podrazumeva osnovne tri tehnike.

Otvorena fasciotomija je relativno jednostavna procedura koja se izvodi u uslovima lokalne anestezije. Načine se male incizije na koži kroz koje se pristupa fasciji, i zadebljanjima u potkožnom tkivu koja se presecaju, čime se prekida kontinuitet «strune» koja povlači prst ka dlanu i (ne)dozvoljava mogućnost ispružanja prsta.

Ubodna fasciotomija je najmanje invazivna tehnika, koja se takođe izvodi u lokalnoj anesteziji. Iglom se ulazi direktno u potkožna zadebljanja i pomeranjem iste širinom zadebljanja, načine se sitne mikrotraume koje omogućavaju da se uz upotrebu naglog ispružanja, prst oslobodi iz položaja ukočenosti (kontrakture). Upotreba ove tehnike ima svoja ograničenja. Naime, nije izvodiva u slučajevima težeg oblika kontraktura, moguća su oštećenja nerava i krvnih sudova te ponovno javljanje znakova kontrakture (u periodu od 3-5 godina od operacije).

Ograničena fasciektomija je najduže korišćena hirurška tehnika koja i dalje ima svoje indikaciono mesto, a pre svega u svim slučajevima teških kontraktura kao i u svim slučajevima kada prethodne dve tehnike nisu efikasne.

Ograničena ili parcijalna fasciektomija podrazumeva uklanjanje svih potkožnih zadebljanja (čvorova i traka) ali to ujedno znači i stvaranje defekta mekih tkiva. Prema načinu na koji će se rešiti nastali defekt, ograničena fasciektomija može biti otvorena i zatvorena.

Otvorena fasciotomija podrazumeva da defekt bude ostavljen da spontano zarasta. Prosečno vreme zarastanja kreće se od 3 do 4 nedelje. Zatvorena fasciektomija podrazumeva zatvaranje nastalog operativnog defekta primarnom suturom (direktnim zatvaranjem) ili upotrebom kožnog transplantata. U tom slučaju na nastali defekt kože dlana plasira se i fiksira kožni transplantat uzet sa neke druge regije na koži.

Cilj rada

Cilj rada je odabir optimalne operativne procedure za lečenje Dupuytren-ove kontrakture kao metode izbora za najveći broj slučajeva ovog obolenja.

Ispitanici i metode

Prospektivnom studijom u periodu od juna 2006. do avgusta 2011. godine, upoređivani su rezultati lečenja Dupuytren-ove kontrakture prstiju šake kod ukupno 139 pacijenata. Pacijenti su podeljeni u 3 grupe.

Prvu grupu (grupu A) činilo je 40 ispitanika koji su lečeni operativnom tehnikom po Palmen-u. Drugu grupu (grupu B) činilo je 44 ispitanika koji su lečeni operativnom metodom po Iselin-u.

Treću grupu (grupu C), činilo je 55 ispitanika koji su operisani minimalno invazivnom fasciotomijom (MIF) odnosno otvorenom ograničenom fasciotomijom. Ovu grupu činili su ispitanici koji nisu želeli hospitalno lečenje.

Za dijagnozu obolenja bila je dovoljna anamneza i klinički nalaz. Svi ispitanici imali su karakterističnu fleksionu «zakočenost» prsta (prstiju) određenog stepena. Svim ispitanicima je objašnjena suština operativnih zahvata i prognoza efekata operativnih procedura.

Podela ispitanika prema polu, starosti, anatomskoj poziciji kontrakture, vrsti anestezije, trajanju operacije, prikazana je u tabelama od 1-5.

Parametri za poređenje rezultata lečenja bili su: funkcionalnost prsiju nakon operacije, broj recidiva, vreme proteklo od operacije do pojave recidiva, i eventualni nus efekti operacije: hipoestezija i prolongirana bol u prstima i šaci.

Ispitanici su operisani u opštoj, regionalnoj i lokalnoj anesteziji.

Ispitanici koji su operisani operativnim tehnikama po Iselin-u i Palmen-u su hospitalizovani. Ispitanici operisani ograničenom fasciotomijom, nisu hospitalizovani.

Kod većine ispitanika došlo je do trenutnog «oslobađanja prstiju» odnosno potpuno normalne fleksije i ekstenzije prstiju nakon čega je proveden postoperativni fizikalni tretman.

Incizije učinjene pri ograničenoj fasciotomiji (MIF) nisu šivane već ostavljene da zarastu per secundam.

Svi ispitanici su previjani na II dan u bolnici ili nadležnoj ambulanti i redovno kontrolisani.

Tabela 1. Podela ispitanika prema polu.

POL	Grupa A	Grupa B	Grupa C
Muški	40 (90,9%)	37(92,5%)	50 (94,3%)
Ženski	4(9,1%)	3 (7,5%)	3(5,7%)
Ukupno	44(100%)	40(100%)	53(100%)

Tabela 2. Podela ispitanika prema starosti

STAROST	Grupa A	Grupa B	Grupa C
40-50	12(27,2 %)	4(10%)	8(15%)
50-55	13(29,5%)	13(32,5%)	17(32%)
55-60	11(25%)	13(32,5%)	15(28,3%)
Preko 60	8(18,2%)	10(10%)	13(24,5%)
Ukupno	44(100%)	40(100%)	53(100%)

Tabela 3. Anatomsko pozicija kontrakture

ŠAKA	Grupa A	Grupa B	Grupa C
Dominantna šaka	18(40,9%)	17(42,5%)	22(41,5%)
Druga šaka	12(27,2 %)	13(32,5%)	18(33,9%)
Obostrano	14(31,8 %)	10(25%)	13(24,5%)
Ukupno	44 (100 %)	40(100%)	53(100%)

Tabela 4. Podela ispitanika prema vrsta anestezije

Anestezija	Grupa A	Grupa B	Grupa C
Opšta	12(27,3 %)	17(42,5 %)	0
Regionalna	32(72,7 %)	23(57,5 %)	0
Lokalna	0	0	53(100 %)

Tabela 5. Podela ispitanika prema trajanju operacije

Trajanje operacije	Grupa A	Grupa B	Grupa C
Do 30 minuta	0	0	51(96,2%)
30-60 minuta	16(36,3%)	17(42,5%)	2(3,8%)
60-120 minuta	20(45,4%)	13(32,5%)	0
120-180 minuta	8(18,3%)	10(25%)	0
Ukupno	44 (100%)	40(100%)	53(100%)

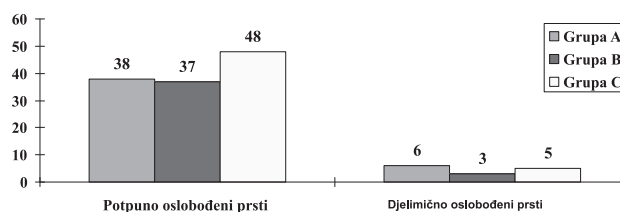
Rezultati

Analizirano je 137 ispitanika podeljenih u 3 grupe. U grupi A su ispitanici operisani tehnikom po Palmen-u, u grupi B su ispitanici operisani po Iselin-u dok grupu C čine ispitanici koji su lečeni minimalno invazivnom fasciotomijom (MIF), ti rezultati su prikazani u tabelama i grafikonima od 6 do 10.

Tabela 6. Rezultat:Oslobođeni prsti

Rezultat	Grupa A	Grupa B	Grupa C
Potpuno oslobođeni prsti	38 (86,3%)	37 (92,5%)	48 (90,5%)
Djelimično oslobođeni prsti	6 (13,7%)	3 (7,5%)	5 (9,5%)
Ukupno	44 (100%)	40(100%)	53(100%)

Grafikon 6: Rezultat:Oslobođeni prsti po grupama ispitanika



Hi-Kvadrat Test

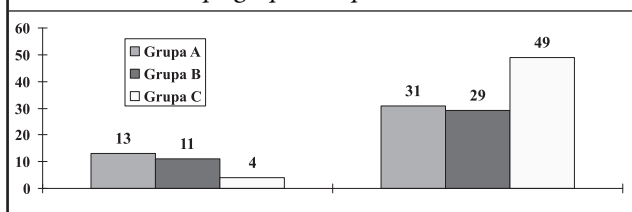
	Vrednost	Broj stepeni slobode	Značajnost (p<0.01 značajno)
Pearson Hi-Kvadrat	.918	2	.632

Grupe A, B i C se statistički ne razlikuju kod oslobođenih prstiju. Sva tri metoda lečenja daju sličan odnos potpuno i delimično oslobođenih prstiju ($p>0.01$).

Tabela 7. Nusefekat operacije-Recidiv

Recidiv	Grupa A	Grupa B	Grupa C
Da	13(29,5%)	11(27,5%)	4(7,5%)
Ne	31 (70,5%)	29(72,5%)	49(92,5%)
Ukupno	44(100%)	40(100%)	53(100%)

Grafikon 7: Nusfekata operacije-Recidiv po grupama ispitanika



Hi-Kvadrat Test sve tri Grupe

SVE TRI GRUPE	Vrednost	Broj stepeni slobode	Značajnost (p<0.01 značajno)
Pearson Hi-Kvadrat	8.887	2	.012

Pojava recidiva po grupama se značajno razlikuje < 0.05 ali ne visoko značajno jer je $p > 0.01$.

Pojava recidiva kod Grupe A i Grupe C je visoko statistički značajna. Kod Grupe C je pojava recidiva značajno manja nego kod Grupe A

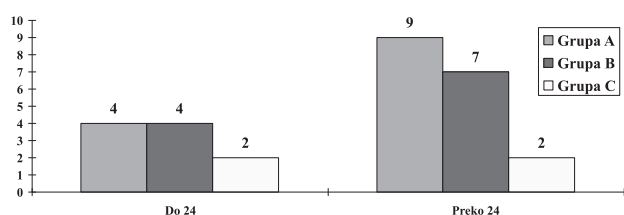
Nema statistički značajnih razlika kod pojave recidiva kod grupa A i Grupa B ($p > 0.01$).

Pojava recidiva između grupa B i C je statistički značajna $p < 0.05$ ali nije visoko značajna ($p > 0.01$).

Tabela 8. Vreme proteklo od op. do recidiva

Vreme/ meseci	Grupa A	Grupa B	Grupa C
Do 24	4(30,7%)	4(36,3%)	2 (50%)
Preko 24	9(69,3%)	7(63,7%)	2(50%)
Ukupno	13(100%)	11(100%)	4(100%)

Grafikon 8: Vreme proteklo do recidiva po grupama ispitanika



Hi-Kvadrat Test

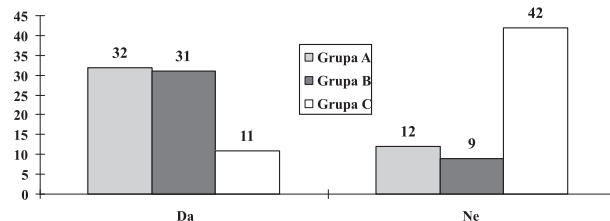
	Vrednost	Broj stepeni slobode	Značajnost (p<0.01 značajno)
Pearson Hi-Kvadrat	.496	2	.780
Likelihood Ratio	.484	2	.785

Nema statistički značajne razlike po vremenu od pojave recidiva po grupama ($p > 0.01$).

Tabela 9. Nusfekata operacije-Hipoestezija

Hipoestezija	Grupa A	Grupa B	Grupa C
Da	32(72,7%)	31(77,5%)	11(20,7%)
Ne	12(27,3%)	9(22,5%)	42(79,3%)
Ukupno	44(100%)	40(100%)	53(100%)

Grafikon 9:Hipoestezija po grupama ispitanika



Hi-Kvadrat Test

SVE TRI GRUPE	Vrednost	Broj stepeni slobode	Značajnost (p<0.01 značajno)
Pearson Hi-Kvadrat	38.689	2	.000

Nusfekata operacije-Hipoestezija se statistički visoko značajno razlikuje ako se posmatraju sve tri grupe zajedno ($p < 0.01$)

Nusfekata operacije-Hipoestezija je statistički visoko značajno razlikuje ako se posmatraju Grupa A i Grupa C ($p < 0.01$)

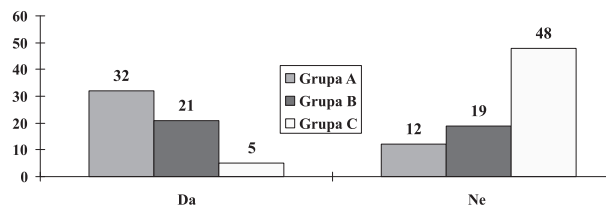
Nusfekata operacije-Hipoestezija se statistički značajno ne razlikuje ako se posmatraju Grupa A i Grupa B ($p > 0.01$)

Nusfekata operacije-Hipoestezija je statistički visoko značajno razlikuje ako se posmatraju Grupa B i Grupa C ($p < 0.01$) što ukazuje da se samo Grupa C statistički značajno razlikuje od grupa A i B. Hipoestezija se statistički najmanje javlja kod Grupe C.

Tabela 10. Nusfekata operacije-Prolongirana bol u prstima i šaci

Bol u prstima i šaci	Grupa A	Grupa B	Grupa C
Da	32(72,7%)	21(52,5%)	5(9,4%)
Ne	12(27,3%)	19(47,5%)	48(90,6%)
Ukupno	44(100%)	40(100%)	53(100%)

Grafikon 10: Nusfekata operacije-Prolongirana bol u prstima i šaci po grupama ispitanika



Hi-Kvadrat Test ABC-UKUPNO

	Vrednost	Broj stepeni slobode	Značajnost (p<0.01 značajno)
Pearson Hi-Kvadrat	41.842	2	.000

Nusefekat operacije-Prolongirana bol u prstima i šaci je statistički značajno različit po Grupama (p<0.01). Najmanji je u grupi C.

Nusefekat operacije-Prolongirana bol u prstima i šaci statistički nije značajno različit između Grupe A i Grupe B (p>0.01).

Nusefekat operacije-Prolongirana bol u prstima i šaci je statistički značajno različit po Grupama A i C (p<0.01). Statistički, značajno je manji u grupi C.

Nusefekat operacije-Prolongirana bol u prstima i šaci je statistički značajno različit po Grupama B i C (p<0.01). Statistički, značajno je manji u grupi C.

Diskusija

Dupuytren-ova kontraktura javlja se dominantno kod pacijenata muškog pola i to starijih od 50 godina. U oko polovine slučajeva obolenje je bilateralno.¹

Naše istraživanje je pokazalo da je 90% pacijenata muškog pola a starost ispitaika je 60% u rasponu od 50-60 godina. Kontraktura je registrovana bilateralno kod 28,4% pacijenata.

Dupuytren-ova kontraktura se pojavljuje kod oba pola ali kod žena je to mnogo manja učestalost¹. Može da se razvije kod žena koje ne rade, odnosno kod radnika na šaci koja je manje aktivna, tako da postoji verovanje da obolenje ne zavisi od stepena korišćenja šake.^{1,2}

Naše istraživanje je pokazalo da je učestalost Dupuytren-ove kontrakture kod žena 10% što je u skladu sa podacima u dostupnoj literaturi^{1,2}.

Raznovrsnost hirurških tehnika za operativni tretman čini amplitudu manje ili više komplikovanih varijanti što je dovoljno za nedoumicu hirurga u pogledu opredelenja za metodu izbora.

Standardne operativne tehnike Dupuytren-ove kontrakture (kao što su metoda po Palmen-u ili Iselin-u) još uvek podrazumevaju opštu anesteziju u mnogim bolnicama u svetu³. Drugi praktikuju «blok brahijalnog pleksusa»³.

Pri tome vreme od punkcije do hirurške anestezije (početka bloka) iznosi oko 25-30 minuta. Prosečno trajanje bloka, odnosno hirurške an-

estezije za Dupuytren-ovu kontrakturu je prema nekim istraživanjima oko 2,5 časova⁴.

Anestezija ekstremiteta blokadom brahijalnog pleksusa najčešće je uspešna, i to od 70%-99% slučajeva. Komplikacije su sporadične i proleznе. Odnose se uglavnom na neurotraumu od uboda igle (intraneuralna injekcija ili epineuralni edem)⁵.

Naši pacijenti koji su operisani tehnikama po Palmen-u ili Iselin-u operisani su češće u regionalnoj a zatim u opštoj anesteziji. Minimalno invazivna fasciotomije (MIF) tehnika podrazumeva isključivo lokalnu anesteziju.

Lečenje ispitanika po grupama prema vrsti anestezije statistički se visoko značajno razlikuje. Naime ispitanici iz grupe C su imali samo lokalnu anesteziju dok su iz preostale dve grupe imali regionalnu i opštu anesteziju. Istovremeno, između grupa A i B nema značajne statističke razlike u pogledu izbora anestezije za vreme operacije.

U roku od 2 časa često se uradi «oslobađanje» samo jednog prsta od Dupuytren-ove kontraktуре. O operaciji koja bi podrazumevala uklanjanje Dupuytren-ove kontraktуре sa po dva prsta na obe šake to vreme iznosi i po 3 i više časova^{1,2}.

Naše istraživanje je pokazalo da su operacije tehnikom po Palmen-u (grupa A) trajale u 45% slučajeva od 1-2 časa a da je 18,2% ispitanika operisano od 2 do 3 časa. Operativnom tehnikom po Isulin-u (grupa B) operacije su trajale nešto kraće i statistički bez značajn razlike u odnosu grupe A i B. Ispitanici grupe C koja je lečena tehnikom minimalno invazivne fasciotomije (MIF), operisani su o okviru 30 minuta i to u 96% što je statistički visoko značajna razlika u odnosu na grupe A i B.

Različiti su podaci u literaturi o operativnim procedurama Dupuytren-ove kontraktуре. Zajedničko za sve do sada objavljene tehnike je veći broj incizija na koži dlana, i prstiju koje završavaju suturom operativne rane.^{1,2,5} Izuzetak je tehnika po Mc Keš-u gde nakon operacije izostane primarni šav rane na dlanu ali ova tehnika podrazumeva «cik-cak» suturu incizije na prstima, odnosno primenu «Z» plastike na istim⁵.

Neki smatraju⁶ da je najbolje rešenje ove kontraktуре radikalna fasciektomija, koja daje najbolje dugoročne rezultate ali da pacijenti moraju biti upoznati sa velikim tehničkim teškoćama operacije. Postoje mišljenja⁷ da kod slučajeva kada su zahvaćena longitudinalna pretendinozna vlakna fascije i kada je koža iznad nje slobodno pokretna,

dolazi u obzir operacija sa nekoliko malih longitudinalnih incizija.

Kod ispitanika u grupi A, (tehnika po Palmen-u) primenjivana je incizija koja u vidu izlomljene («cik-cak») linije od zgloba distalne falange do sredine dlana. Fasciektomija je rađena uz maksimalnu protekciju neurovaskularne mreže. Uklanjanje su zadebljanja unutar palmarne strane dlana i uklonjene adhezije kože u zoni pretendinoznih tračaka fascije. Operativne incizije su zatim primarno šivane.

Kod ispitanika u grupi B, (tehnika po Isulin-u) najduža incizionna linija rađena je od zgloba distalne falange do sredine dlana i bila je pravolinijska uz 5-6 poprečnih kosih incizija na prstima i dlanu. Uklanjanje su čvornovata zadebljanja palmarne fascije i vertikalne septe koje rezultuju fleksionom kontrakturom. Operativne incizije su primarno sašivene.

Kod ispitanika u grupi C, nisu rađene duge incizije uzduž prsiju i dlana već otvorena minimalna fasciotomija (MIF).

Minimalno invazivna fasciotomije (MIF) je dakle poštena tehnika, jer podrazumeva samo jednu inciziju u zoni dlana, ili kod težih slučajeva, još jednu inciziju na zahvaćenom prstu. Incizije su dužine do 1 cm. i podrazumijevaju odsustvo šivanja bilo koje incizije. Na ovaj način rešeni su i najkomplikovaniji slučajevi Dupuytren-ove kontrakture.

Sušтина operacije je u pažljivoj preparaciji kontrakturalnih vlakana kroz mali rez na koži i njihova sekcija uz maksimalnu protekciju okolnih struktura. Minimalno invazivna fasciotomije (MIF) je ograničena i otvorena poštena hirurgija šake pri uklanjanju Dupuytren-ove kontrakture. Ova operativna tehnika je veoma zahvalna i za hirurga i za pacijenta, prvenstveno jer traje kratko, najčešće do 30 minuta.

Većina operativnih tehnika koje se danas primenjuju su egzaktna u krajnjem efektu, jer Dupuytren-ova kontraktura bude uklonjena i omogućiti se normalna funkcija šake.^{1,2,6,7}

Kod naših ispitanika u sve tri grupe efekat operacije bio je egzaktna. Dakle, efekat operacije-potpuno oslobođeni prsti, u grupi A je zabeležen u 86,3%, u grupi B kod 92,5% i u grupi C kod 90,5% ispitanika. Grupe A, B i C se po ovom obeležju statistički ne razlikuju. Sva tri operativna načina lečenja daju sličan odnos potpuno oslobođenih prstiju.

Redukovana fleksija prsta dešava se kod 5% operisanih, dok se prolongirana inflamacija dešava kod 5-6% pacijenata. Redukovana fleksija prsta je neželjen efekat operacije nakon što su prsti sasvim ispravljeni. Međutim, ovaj tip ograničene fleksije treba razlikovati od slučaja kada se intraoperativno odustane od radikalnog ispravljanja prstiju u prvom operativnom aktu. To su slučajevi kada se radi o pacijentima koji su dijabetičari ili alkoholičari i mudro je primeniti sukcesivan put do oslobađanja prstiju u dodatnom operativnom aktu, ukoliko se pokaže neophodnim.^{1,2,5,6,7,10}

Našim ispitanicima u svim grupama rađene su operacije za delimično oslobađanje prstiju kada se radilo o teškim kontrakturama, sa ukočenim zglobovima, kao i kod ispitanika koji su procenjeni kao rizični za radikalne zahvate na šaci. Dakle, efekat operacije-«delimično oslobođeni prsti» u grupi A je zabeležen u 13,7%, u grupi B kod 7,5% i u grupi C kod 9,5% ispitanika. Po ovom obeležju nije pronađena statistički značajna razlika među upoređivanim grupama ispitanika.

Incidenca komplikacija kod operacije Dupuytren-ove kontrakture je aproksimativno u 17% slučajeva¹⁶. Recidivi Dupuytren-ove kontrakture su dosta česti i to oko 40% pacijenata.^{6,7,10} Kod tih pacijenata postoji potreba za sekundarnom operativnom intervencijom.

Recidiv Dupuytren-ove kontrakture u grupi A je 29,5% a u grupi B je 27,5% dok je u grupi C 7,5%. Statističkom analizom obeležja «nus efekat-recidiv», utvrđeno je da između grupa A i B ne postoji statistički značajna razlika. Naprotiv statistički visoka razlika postoji u uporedbi grupa A i B sa jedne strane i grupe C sa druge strane jer je u ovoj grupi broj ispitanika sa recidivom znatno manji. Vreme pojave recidiva nakon operacije Dupuytrenove kontrakture kod većine operativnih tehnika je posle 2 do 3 godine od operacije^{1,2}.

Vremenska distanca od operacije do pojave recidiva u grupi A bila je u 69% slučajeva nakon dve godine, u grupi B je većina recidiva zabeležena posle 24 meseca i to u 63,7% recidiva a u grupi C recidivi su je javljani pre i posle 24 meseca u 50% slučajeva recidiva. Tako po ovom obeležju nije pronađena statistički značajna razlika između ispitivanim grupama.

Postoperativni hematoma karakterističan za radikalnije fasciektomije pogodno je tlo za razvoj infekcije i uzrok je posledične dehiscencije kod

oko 10% pacijenata.¹¹⁻¹⁵ Ni jedan ispitanik svrstan u grupe A, B i C nije imao postoperativnu infekciju ili dehiscenciju.

Tokom bilo kojeg operativnog lečenja Dupuytren-ove kontrakture moguće su komplikacije u smislu povreda digitalnih nerava i dešavaju se kod 1,5% pacijenata.^{8-10, 11-15}

Hipoestezija je kao nus efekat operacije u grupi A zabeležena kod 72,7% ispitanika, u grupi B je to u 77,5% ispitanika dok je u grupi C taj procenat znatno manji, 20,7%. Dakle, zabeležena je visoka statistička razlika između grupa A i B u odnosu na grupu C. Nema sumnje da je ovaj rezultat posledica minimalno invazivne tehnike (MIF) koja je poštena za sve strukture u zoni operacije.

Jedan broj operisanih pacijenata dugo se žali na produžene bolove u prstima i šaci nakon operacije Dupuytrenove kontrakture. Prema nekim autorima^{8-10, 11-15} to je u procentualnom razmaku od 30-40% slučajeva. Moguće je naravno da neki procenat senzibilizovanih pacijenata oseća i neodređene tegobe koje opisuje kao bol ali je istovremeno sigurno da neki pacijenti koji kasnije imaju bolove u šaci shvate to kao neminovnu posledicu operacije.^{8-10, 11-15}

Ispitanici grupe A imali su prolongiranu bol u šaci u 72,7% slučajeva dok je u grupi B taj procenat 52,5%. U grupi C je bilo znatno manje ispitanika koji su prijavili prolongiranu bol 9,4% što je statistički visoko značajno u usporedbi sa grupama A i B.

Zaključak

Dupuytren-ova kontraktura je degenerativno obolenje šake, češće kod pacijenata muškog pola. Obolenje se češće nalazi na prstima dominantne šake.

Nije pronađena statistički značajna razlika u pogledu efikasnosti lečenja tj. oslobađanja prstiju šake u Dupuytren-ovoj kontrakturi, operativnim tehnikama po Palmen-u, Iselin-u i minimalno invazivnoj fasciotomiji (MIF).

Nađena je statistički značajna razlika između operativnih tehnika po Palmen i Iselin-u u odnosu na minimalno invazivnu fasciotomiju (MIF) u pogledu pojave recidiva, hipoestezije i prolongirane boli u prstima i šaci.

Vreme proteklo od operacije do pojave recidiva je uglavnom identično za sve tri operativne tehnike. Minimalno invazivna fasciotomija (MIF) u lečanju Dupuytren-ove kontrakture je lako primenjiva za većinu pacijenata, jer je tehnički jednostavna, izvodi se u lokalnoj anesteziji i ne zahteva hospitalizaciju.

Recidivi i nus efekti minimalno invazivne fasciotomije (MIF) su izuzetno retki.

Zbog statistički znatno manjeg broja neželjenih efekata, operativna tehnika minimalno invazivne fasciotomije (MIF), ima značajnu prednost u lečenju Dupuytren-ove kontrakture na šaci.

Literatura:

1. Hueston J.T.: *Regression of Dupuytren's contracture*. J. Hand Surg. 1992;17B:453.
2. McFarlane R.M.: *Dupuytren's disease: relation to work and injury*. J. Hand Surg. 1991;16A:775.
3. Neal J.M., Hebl J.R., Gerancher J.C.: *Brachial plexus anesthesia: essentials of our current understanding*. Reg Anesth Pain Med 2002; 27:402-28.
4. Brown D.L.: *Brachial plexus anesthesia: an analysis of options*. Yale J Biol Med 1993; 66:415-31.
5. Auroy Y., Narchi P., Messiah A.: *Serious complications of brachial plexus blocks*. Cah. Anesthesiol 1990; 38:561-7.
6. Logan A.M.: *Radical digital dermofasciectomy in Dupuytren's disease*. J Hand Surg 1985; 10:353.
7. Tonkin M.A.: *Dupuytren's contracture: A comparative study of fasciectomy and dermofasciectomy in one hundred patients*. J Hand Surg 1984; 9:156.
8. Messina A., Messina J.: *The continuous elongation treatment by the TEC device for severe Dupuytren's contracture of the fingers*. Plast. Reconstr.Surg. 1993;92:84.
9. Mikkelsen O.A.: *the prevalence of Dupuytren's disease in Norway. A study in a representative population sample of the municipality of Haugesund*. Acta Hir. Scand. 1972;138:695.
10. Seyfer A.E., Hueston J.T.: *Hand Clinics: Dupuytren's Contracture*. Philadelphia:Saunders, 1991;Pp. 617-776.
11. Hill N.A.: *Dupuytren's contracture*. J Bone Joint Surg 1985;67.1439.
12. Larkin J.G., Frier B.M.: *Limited joint mobility and Dupuytren's contracture in diabetic, hypertensive, and normal populations*. Br Med J 1986; 292:1494.
13. Lagge J.W.: *Dupuytren disease*. Surg Annu, 1985;17:355.
14. Schneider L.H.: *surgery of Dupuytren's disease: A review of the open palm method*. J Hand Surg 1986; 11:23.
15. Ushijama M.: *Dupuytren type fibromatoses: A clinicopathologic study of 62 cases*. Acta Pathol Jpn, 1984; 34:991.
16. McFarlane R.M., McGrouther D.A., Flint M.H.: *Dupuytren's disease: Byologi and Treatment* New York:churchill Livingstone, 1990;Pp.1-45.

Specijalna bolnica «ORS Hospital» Beograd
FZORS Banja Luka
Zdravstvena ustanova Medico-S, Banja luka
Zdravstvena ustanova S-tetic, Banja luka
Kliničko Univerzitetski Centar Srajevo
Opšta bolnica Doboj

LEČENJE ŽENSKE ALOPECIJE

THE TREATMENT OF ALOPECIA IN WOMEN

Lukić D.¹, Bandić J.¹, Babić N.², Sibinčić S.³, Jović D.⁴, Karabeg R.⁵, Lazić P.⁶

Sažetak: Prospektivnom studijom, u periodu od maja 2005.godine do maja 2010. godine, upoređivani su rezultati lečenja ženske alopecije. U analizu je uvedeno ukupno 67 ispitanica koji su podeljene u 2 grupe. Prva, grupa, «A» (32 pacijentkinje), lečena je minoksidil rastvorom u koncentraciji 2%. Druga grupa, «B» (30 pacijentkinja), lečena je minoksidil rastvorom u koncentraciji 5%.

Cilj rada bio je da se utvrdi koja koncentracija rastvora minoksidila ima prednost u lečenju ženske alopecije.

Osnovni parametri za procenu rezultata lečenja bili su: vidljivi efekat lečenja, vreme proteklo do vidljivog rezultata lečenja, nus efekti lečenja (svrabež, pojačanja periferna maljavost, lokalni dermatitis, eventualno neželjeno zaustavljenje lečenja).

Primećeno je da su poboljšanja u smislu zaustavljanja alopecije i oporavka vlasišta znatno češće kod ispitanica koje su lečene minoksidilom 5%, ali je i broj nusfekata češći u ovoj grupi. Pacijentkinje koje su lečene minoksidil 2% imale su dobar terapijski odgovor sa manje nus efekata. Zbog statistički značajno manjeg broja neželjenih efekata, minoksidil u rastvoru od 2% ima prednost u lečenju ženske alopecije.

Ključne reči: Alopecija, žene, minoksidil

Uvod

Razni preparati za koje se tvrdi da mogu vratiti izgubljenju kosu, navodno ispitani u relevantnim laboratorijama u svetu i marketinški prezentovani putem masovnih medija sasvim su beskorisni. Vrhovni sud USA je 1989. godine zabranio reklamiranje «čudotvornih vodica» za lečenje

Abstract: With the prospective study, from May 2005 to May 2010, were compared the results of treatment of female alopecia. The analysis has introduced a total of 67 women who were divided into 2 groups. First, the group «A» (32 patients) was treated with minoxidil solution in the concentration of 2%. The second group, «B» (30 patients) was treated with minoxidil solution in the concentration of 5%.

The aim was to determine which concentration of the minoxidil solution has the advantage in the treatment of female alopecia.

Basic parameters for assessing the results of treatment were: visible effect of treatment, time elapsed until the visible results of treatment, side effects of treatment (itching, increased peripheral hairiness, local dermatitis, possibly unwanted end of treatment).

It was noted that the improvements in terms of stopping alopecia and recovery of scalp are more frequent in women who were treated with Minoxidil 5%, but and the number of side effects is more common in this group. Patients who were treated with minoxidil 2% had a good therapeutic response with fewer side effects.

Because of statistically significant fewer side effects minoxidil in solution of 2% has the advantage in the treatment of female alopecia.

Key words: alopecia, women, minoxidil

alopecije.¹ Kod nas se naprotiv «spasonosni preparati protiv ćelavosti» prezentuju neograničeno. Istovremeno, lek koji je zaista pokazao povoljan efekat u lečenju alopecije, nije primarno plasiran kao preparat za kosu. Taj lek je minoksidil.

Minoksidil je derivat piperidinopiramidina i moćan periferni arteriolarni vazodilatator⁴ koji se koristi u lečenju rezistentne hipertenzije⁵. Hipertrichoza je bila česta kontraindikacija oralne terapije kod odraslih,^{4,5,6,7,8} pa čak i kod dece.⁹ Hipertihotična područja uključuju skalp,^{5,8} slepoočnice, čelo, lice,¹⁰ obrve, uši, podlaktice, noge i telo. Zabeležene dužine rasta dlake idu i do 4 cm na podlakticama⁴, nogama i telu. Kada se prekine terapija minoksidilom, hipertrihotski rast naglo prestaje i u narednih nekoliko meseci dolazi do opadanja dlake. Upotrebom laserske Doppler tehnike, dokazano je da dolazi do povećanog protoka krvi posle lokalne primene minoksidila na ćelavu poglavinu pacijenta.^{11,12} Mada siguran mehanizam delovanja po kojem dolazi do stimulacije rasta kose nije ustanovljen, smatra se da ovaj lek otvara kalijumove kanale,¹³ i verovatno deluje na sprečavanju da testosteronske frakcije destruišu folikule kose.¹

Bilo da se primenjuje oralno ili se aplicira lokalno, za minoksidil se veruje da nema sistemskog delovanja na metabolizam androgena.^{14,15} Nedavno je međutim otkriveno da je minoksidil inhibitor (istina slab) 5alfa reduktaza enzima u folikulu dlake¹⁶. Takođe, efekti nekih istraživanja su pokazali da minoksidil stimuliše rast dlake povećanjem perfuzije u koži poglavine, odnosno tako što smanjuje razliku u temperaturi između korena i kože. Povećanjem temperature kože, stepen rasta dlake može da se poveća.¹⁷ Začuđujući stepen sličnosti u izazivanju hipertrichoze izazvane minoksidilom je sa pojačanom dlakavošću koju indukuje diazoksid.^{17,18} Ovo dodatno upućuje na vazodilatacioni mehanizam delovanja minoksidila. Naravno, hiperemija kože je već dobro poznat razlog stečene lokalne hipertrichoze.¹⁹

Postoji mogućnost da se radi i o drugom mehanizmu delovanja minoksidila, odnosno na njegovom direktnom uticaju na dlaku. Naime, minoksidil usporava starenje epidermalnih keratinocita u kulturi, slično onome nađenom kod faktora epidermalnog rasta.²⁰ U kulturi epidermalnih ćelija glodara minoksidil deluje na epidermalne ćelije na taj način što menja njihovu šemu rasta i fenotipski izgled.²¹

Standardna primena minoksidila podrazumeva 2% soluciju. U 2% rastvoru minoksidil se aplicira lokalno u područja gde je kosa proređena u klasičnim dozama od nekoliko mililitara, obično dva puta dnevno¹. Za većinu pacijenata nusefekti

primene ovog leka ne postoje (ili su minorni) ali žene u trudnoći i dojilje ne treba da koriste minoksidil.^{1,4,7}

Cilj rada

Cilj rada je iznalaženje optimalne koncentracije minoksidil rastvora za lečenje alopecije kod žena.

Ispitanici i metode

Prospektivnom studijom, u periodu maja 2005. godine do maja 2010. godine, upoređivani su rezultati lečenja ženske ćelavosti. U analizu je uvedeno ukupno 67 ispitanica koje su podeljene u 2 grupe. Prva grupa, grupa A (32 ispitanice), lečena je minoksidil rastvorom u koncentraciji 2%. Druga grupa, grupa B (30 ispitanica), lečena je minoksidil rastvorom u koncentraciji 5%.

Dijagnoza je postavljena nakon anamneze i kliničkog nalaza a gustina postojećeg vlasišta merena je brojem vlasi na kvadratnom centimetru dermatoskopom, povećanjem 10 X.

Uz ličnu i porodičnu anamnezu, beleženi su svi podaci koji su ukazivali na «sindrom viška testosterona». Posebna pažnja usmeravana je na pojave kao što su hirsutizam, akne, mutiran glas i sl.

U slučajevima kada je to bilo neophodno, rađeni su testovi štitne žlezde i testovi nivoa testosterona: slobodni testosteron, globulin koji vezuje testosteron, androstenidion, itd. U slučajevima kada su ovi testovi visoko odstupali od referentnih vrednosti konsultovan je endokrinolog i ginekolog.

Pre lečenja ispitanicama je objašnjen princip primene minoksidila u predviđenim koncentracijama i ritam aplikacije.

Minoksidil je spravljan u vidu 2% i 5% solucije i apliciran lokalno masiranjem u proređeno vlasište u dozama od po 2 ml./2 puta dnevno (u jutro i u večer), u periodu od 6 meseci.

Ispitanice su kontrolisane ambulantno po mogućnosti na 10 dana u prvih dva meseca, a zatim mesečno. Ispitanice su praćene 60 meseci a procena efekata lečenja je vršena merenjem gustine vlasišta i beleženjem subjektivnih osećaja ispitanica koji se odnosio na eventualne tegobe i nus efekte lečenja. Svaka ispitanica je na kontrolama dobijala upitnik u koji je beležila vlastita zapažanja u okviru zadatih pitanja. Upitnici su podom dostavljani lično ili poštom. Zatim je izvršeno skorovanje upitnika i uvedeno u analizu.

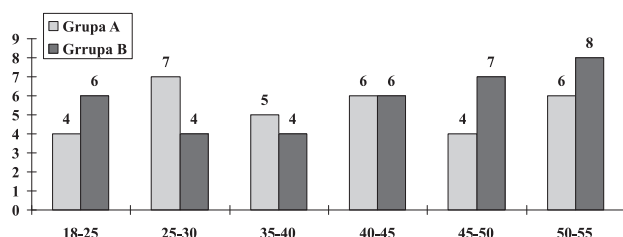
Rezultati

Rezultati lečenja alopecije kod žena u ispitivanim grupama prikazani su u tabelama i grafikoni- ma od 1-7. Parametri za poređenje bili su: Uticaj starosti ispitanica po grupama i tipa alopecije na efekat lečenja. Efekti lečenja (zaustavljanje alopecije, smanjenje ćelave površine, normalizacija gustine kose) i vreme proteklo od početka lečenja do vidljivog efekta kao i nus efekti lečenja (periferna maljavost, lokalni dermatitis i zamašćivanje ili perutanje poglavine).

Tabela 1. Podela ispitanica prema starosti

Starost /godina	Grupa A	Grupa B
18-25	4(12,5%)	6(17,1%)
25-30	7 (21,8%)	4 (11,4%)
35-40	5 (15,6%)	4(11,4%)
40-45	6(18,7)	6(17,1%)
45-50	4(12,5%)	7(20%)
50-55	6(18,7)	8(22,8%)
Ukupno	32 (100%)	35(100%)

Grafikon 1: Starost ispitanica po grupama



Chi-Square Tests

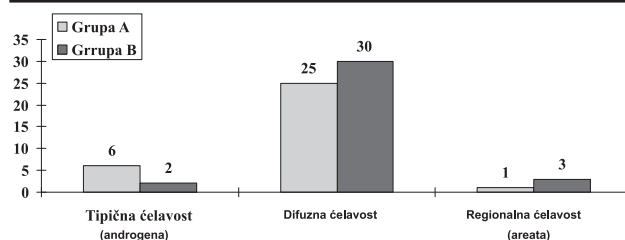
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	2.303(a)	5	.806

Ne postoji statistički značajna razlika Grupa A i Grupa B po starosti ($p>0.01$). To znaci da se ispitanice u grupama nisu razlikovali po starosti i da razlike po starosti ne utiču na rezultat.

Tabela 2. Tip alopecije po grupama

Tip ćelavosti	Grupa A	Grupa B
Tipična ćelavost (androgena)	6(18,7)	22 (5,7%)
Difuzna ćelavost	25(78,1%)	30(85,7%)
Regionalna ćelavost (areata)	11 (3,1%)	3(8,5%)
Ukupno	32 (100%)	35(100%)

Grafikon 2: Tip alopecije po grupama ispitanika



Chi-Square Tests

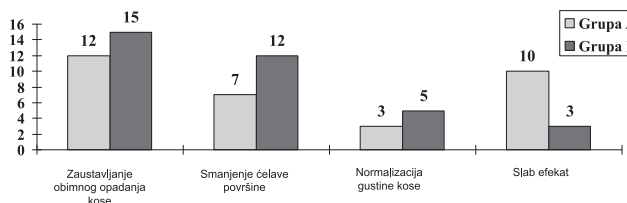
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3.327(a)	2	.189

Ne postoji statistički značajna razlika Grupa A i Grupa B po tipu ćelavosti ($p>0.01$). To znači da ispitanice u okviru grupa po tom obeležju ne utiču na rezultat.

Tabela 3. Efekat lečenja

Rezultat /efekat lečenja	Grupa A	Grupa B
Zaustavljanje obimnog opadanja kose	12(37,5%)	15(42,8%)
Smanjenje ćelave površine	7 (21,8%)	12(34,2%)
Normalizacija gustine kose	3(9,3%)	5(14,2%)
Slab efekat	10(31,25%)	3(8,5%)
Ukupno	32(100%)	35(100%)

Grafikon 3: Rezultat /efekat lečenja po grupama ispitanika



Chi-Square Tests

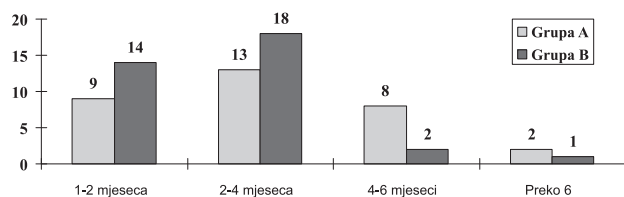
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	5.796(a)	3	.122

Nema statistički značajne razlike na efekat lečenja za Grupu A i Grupu B ($p>0.01$).

Tabela 3. Vreme lečenja do vidljivog efekta

Vrijeme do vidljivog efekta	Grupa A	Grupa B
1-2 meseca	9 (28,1%)	14(40%)
2-4 meseca	13(40,4%)	18(51,5%)
4-6 meseci	8(25%)	2(5,7%)
Preko 6	2(6,5%)	1(2,8%)
Ukupno	32(100%)	35(100%)

Grafikon 3: Vreme do vidljivog efekta
po grupama ispitanica



Hi-Kvadrat Test

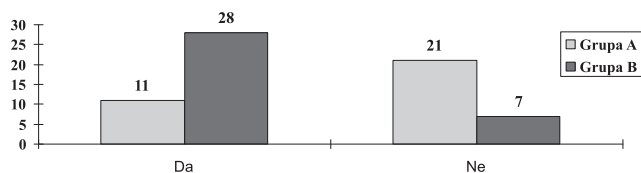
	Vrednost	Broj stepeni slobode	Značajnost (p<0.01 značajno)
Pearson Hi-Kvadrat	5.539	2	.063

Ne postoji statistički značajna razlika Grupa A i Grupa B po vremenu do vidljivog efekta ($p>0.01$). Međutim ovde se uočava statistička značajnost na nivou od 90% da su broj ispitanica koje su lečene od 4 meseca veći kod grupe B, a preko tog vremena kod Grupe A.

Tabela 4. Nus efekti liječenja-svrabež vlasista

Rezultat / nus efekti lečenja	Grupa A	Grupa B
Svrabež vlasista		
Da	11 (34%)	28 (80%)
Ne	21 (65,6%)	7 (20%)
Ukupno	32 (100%)	35(100%)

Grafikon 4: Nus efekti lečenja-Svrabež vlasista
po grupama ispitanika



Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	14.305(b)	1	.000		
Continuity Correction(a)	12.491	1	.000		
N of Valid Cases	67				

a Computed only for a 2x2 table

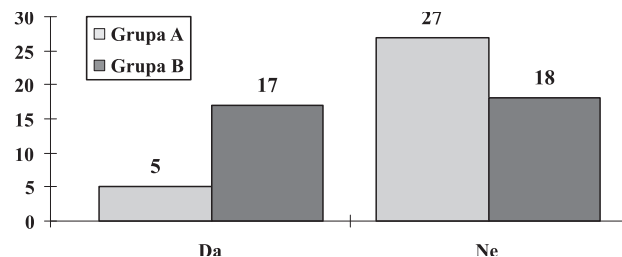
Postoji visoka statistički značajna razlika kod obeležja svrabež vlasista ($p<0.01$). Naime, ispitanice Grupe B imale su značajno više svrabeža

vlasista zbog terapije minoksidilom nego ispitanice lečene u Grupi A.

Tabela 5. Nus efekti lečenja-periferna maljavost

Rezultat / nus efekti lečenja	Grupa A	Grupa B
Periferna maljavost		
Da	5 (15,7%)	17(48,5%)
Ne	27(84,3%)	18(51,5%)
Ukupno	32 (100%)	35 (100%)

Grafikon 5: Nus efekti lečenja-Periferna maljavost
po grupama ispitanika



Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	8.228(b)	1	.004		
Continuity Correction(a)	6.802	1	.009		
N of Valid Cases	67				

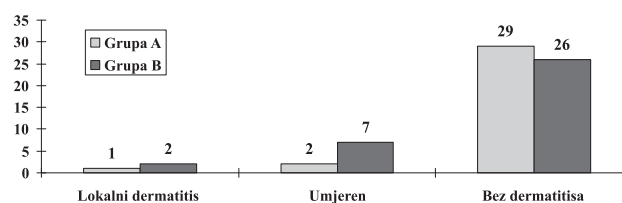
a Computed only for a 2x2 table

Postoji visoka statistički značajana razlika kod obeležja periferna maljavost ($p<0.01$). Naime, ispitanici u Grupi B imaju značajno više periferne maljavosti nego ispitanici Grupe A.

Tabela 6. Nus efekti liječenja-lokalni dermatitis

Rezultat/ lokalni dermatitis	Grupa A	Grupa B
Lokalni dermatitis	1 (3,1%)	2 (5,7%)
Umjeren dermatitis ili iritacija	2 (6,2%)	7 (20%)
Bez dermatitisa	29 (90,6%)	26 (74,2%)
Zaustavljeno liječenje Minoksidilom	0	0
Ukupno	32 (100%)	35 (100%)

Grafikon 6: Nus efekti lečenja-lokalni dermatitis
po grupama ispitanika



Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3.035(b)	1	.081		
Continuity Correction(a)	2.026	1	.155		
N of Valid Cases	67				

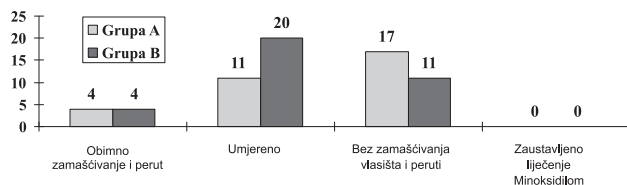
a Computed only for a 2x2 table

Ne postoji visoka statistički značajna razlika kod obeležja lokalni dermatitis ($p > 0.01$). Ovo jasnije potvrđuje YATES-ova korekcija za tabele 2X2, koja je preciznija u slučaju tabele 2X2.

Tabela 7. Nus efekti liječenja-zamašćivanje ili perutanje vlasišta

Rezultat/zamašćivanje ili perutanje vlasišta	Grupa A	Grupa B
Obimno zamašćivanje i perut	4(12,5%)	4 (11,4%)
Umereno	11(34%)	20(57,1%)
Bez zamašćivanja vlasišta i peruti	17(53,1)	11(31,4%)
Zaustavljeno liječenje Minoksidilom	0	0
Ukupno	32 (100%)	35(100%)

Grafikon 7:Nus efekti lečenja-zamašćivanje ili perutanje vlasišta po grupama ispitanika



Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3.772(a)	2	.152

Ne postoji visoka statistički značajna razlika kod obeležja zamašćivanje ili perutanje vlasišta ($p > 0.01$).

Diskusija

Žene najčešće gube kosu radi osjetljivosti dlake na testosteron (1,2 dehidrotestosteron) koji poseduju iz nadbubrega ili je to radi metaboličkog debalansa u radu štitne žlezde.¹ Istovremeno, žene u oba slučaja češće sačuvaju prednju liniju vlasišta i najčešće nemaju potpuno ćelave regije. Retko,

žene mogu imati ekstremnu alopeciju kada je čak i kosa pozadi glave jako retka.²²

U muškoj populaciji ćelavost se javlja već u mladosti, u vreme «buđenja» polnih hormona²² i u principu najbolji rezultati lečenja minoksidilom, dobijaju se kod najmlađih muškaraca kod kojih se alopecija tek pojavila i to na manjim površinama.¹ Kod žena vreme pojave alopecije nije karakteristično.^{1,2}

U toku naše analize pokazalo se da starost ispitanica po grupama nije bila statistički značajna da bi uticala na rezultat.

Žene od alopecije obolevaju najčešće u vidu difuzne alopecije koja pogađa celo vlasište, zatim od difuzne alopecije koja je kombinovana sa diskretnim ili opsežnijim ograničenim zonama gubitka kose, i u vidu tipične muške alopecije koja češće pogađa zone uz slepocnice. Regionalna alopecija (areata) je poseban oblik alopecije, oštro ograničene od ostalog vlasišta i najčešće sasvim bez dlake.

Naše ispitanice su u najvećem broju lečene od difuzne alopecije, u grupi A, to je 78.1% i u grupi B njih 85,7% što je u skladu sa podacima u literaturi o najčešćem tipu alopecije kod žena koji zahteva lečenje.^{1,7,8,9,22}

Primena minoxidil 2% rastvora dovodi do ograničenog poboljšanja kod muškaraca sa androgenom alopecijom.¹ Kod većine muškaraca minoxidil ne pospešuje bitno rast nove kose ali je značajno ojačanje postojeće dlake, koja je prethodno istanjena. Prema nekim mišljenjima klinički značajan ponovni rast kose lečenih muškaraca verovatno se javlja kod manje od 10% tretiranih pacijenata.¹⁶⁻²¹

Odnosno, to se događa samo kod 6-8% pacijenata.¹ Većini pacijenata nova kosa izraste kratko, i tankih stabljika dlake.²² Istovremeno, mnogi pacijenti koji vide neki rezultat, vide samo usporavanje ili umanjenje gubitka kose.¹ Naprotiv, minoxidil ima bolje dejstvo i efekte kada su žene u pitanju.^{1,22}

Naše istraživanje pokazalo je da najveći broj ispitanica ima povoljan efekat lečenja alopecije minoksidilom. U grupi A, koja je lečena 2% solucijom minoksidila, povoljan efekat registrovan je u 68,7% ispitanica dok je u grupi B koja je lečena koncentracijom minoksidila 5% neki od povoljnih efekata zabeležen čak u 91,4%.

U globalu, bolji efekat minoksidila može se očekivati u koncentraciji leka od 5%.¹ Smanjenje

ćelave površine i porast nove kose bio je značajniji u grupi B (34%), kod naših ispitanica koje su lečene minoksidilom 5%. Prema tvrdnjama ispitanica, prethodno slaba i istanjena stabljika dlake je postajala jača i kvalitetnija.

Istovremeno, zaključeno je da ne postoji visoka statistički značajna korelacija između razlike delovanja minoksidila 5% i minoksidila 2% na globalni efekat lečenja.

Glavni nedostatak upotrebe minoksidila je činjenica, da je poboljšanje samo privremeno.¹ Odnosno, izgleda da minoksidil usporava proces ćelavljenja ako se stalno primenjuje^{22,23,24} što je potvrđeno i našim istraživanjem.

Neki izveštaji² pokazuju da se prethodna kosa obnavlja, ali da se novi porast gubi nakon 4-5 godina upotrebe ovog leka. Osim toga, svako poboljšanje koje se dobilo korištenjem minoksidila izgubiće se brzo nakon prestanka sa njegovom upotrebom².

Naša analiza je pokazala da se ostvareni napredak zaista gubi nakon 5-6 meseci apstinencije od upotrebe minoksidila, ali da pauza od aplikacije minoksidila u trajanju od 15 dana omogućuje komfornije lečenje, ukoliko postoje neki od nus-efekata lečenja. Nastavak upotrebe minoksidila nakon pauze, čuva postignut povoljan efekat.

Na dobijene rezultate bitno utiče i izbor pacijenata. Primena minoksidila kod pacijenata u I, II i III stadijumu alopecije praćen je znatno boljim rezultatima nego kod pacijenata u višim stadijumima alopecije¹.

Više analiza pokazalo je povoljnije delovanje minoksidila 2% kod žena u višem stepenu alopecije nego kod muških pacijenata u istom stadijumu.^{3,4,5,6}

Na udaljene rezultate utiču navike i upornost pacijenata jer ponekad može proći i do 2-4 meseca pre nekakvih rezultata lečenja. Jasno je da neredovna i neadekvatna primena može znatno uticati na rezultate lečenja.²³

Kod naših ispitanica u grupi A, kod njih 40,4% vreme proteklo od početka lečenja do merljivog efekta lečenja je 2-4 meseca, dok je u grupi B u istom periodu, boljitak od lečenja zabeležen u 51,5%. Po tom obeležju nije bilo statistički značajne razlike. Pokazalo se da ukoliko nema merljivog efekta u periodu do 6 meseci od početka lečenja, praktično nema smisla koristiti minoksidil.

Uporna i neprijatna svrab poglavine je relativno česta komplikacija lečenja minoksidilom¹. U nekim slučajevima svrab je razlog zaustavljan-

ja primene ovog leka.^{22,23,24} Svrabež je intenzivna posledica duže primene minoksidila i zahvata upravo zone lečenja, ali i okolne zone.^{19,21,24}

Naše istraživanje pokazalo je da je svrabež poglavine kao nus efekat i posledica lečenja alopecije minoksidilom ređa u grupi A, gde je zabeležena kod 34% ispitanica dok je u grupi B taj procenat dosta viši i iznosi 80%.

Tako je zaključeno da postoji visoka statistički značajna korelacija između razlike dejstva minoksidila 2% i minoksidila 5% i svraba poglavine.

Neželjeni rast dlake može da se javi na koži u blizini mesta lečenih minoksidilom bez obzira na koncentraciju leka, što je posebno uznemirujuće kada su pacijenti ženskog pola u pitanju.^{22,23,24} Periferna pojačana maljavost je česta kontraindikacija oralne terapije kod odraslih.^{4,5,6,7,8} Hipertihotična područja uključuju skalp^{5,8}, slepoočnice, čelo, lice¹⁰, obrve, uši, podlaktice, noge i telo. Zabeležene dužine rasta dlake idu i do 4 cm na podlakticama,⁴ nogama i telu.

Naše istraživanje pokazalo je da je periferna maljavost kao nus efekat i posledica lečenja alopecije minoksidilom retka u grupi A, gde je zabeležena kod 15,7% ispitanica, ali je u grupi B taj procenat dosta viši i iznosi 48,5%.

Dakle, zaključeno je da postoji visoka statistički značajna korelacija između razlike u delovanju minoksidila 2% i minoksidila 5% i periferne maljavosti kao nus efekta.

Prema nekim mišljenjima,^{20,21,23,24} lokalna iritacija i (ili) alergijski dermatitis su izgleda jedine povremene ozbiljnije kontraindikacije primene minoksidila u lečenju alopecije. Poznato je da se minoksidil loše apsorbuje kroz kožu. Zato primena minoksidila sa tretinoinom (Retin -A) može da poveća apsorpciju i efikasnost leka ali to takođe može da poveća učestalost iritacije^{23,24}.

Naše istraživanje pokazalo je pojavu lokalnog dermatitisa ili umeren dermatitis- iritaciju kože u grupi A kod 9,3% ispitanica i u grupi B kod 25,7% ispitanica.

Nije nađena visoka statistički značajna razlika kod nus efekata lečenja-lokalni dermatitis između dve upoređivane grupe ispitanica obzirom na lečenje u 2% i 5% koncentraciji minoksidila.

Lečenje alopecije minoksidilom, češće otežava zamašćivanje ili ljuspanje (perut) poglavine¹. Ovo je neprijatno i zbog činjenice da iziskuje gotovo svakodnevno pranje vlasišta što vremenom potiče sve intenzivnije novo zamašćivanje vlasišta.^{21,24}

Naše istraživanje pokazalo je pojavu obimnog zamašćivanja i peruti u grupi A, kod 12,5% ispitanica, i u grupi B kod 11,4% ispitanica. Umereno zamašćivanje vlasišta u grupi A registrovano je kod 34% a u grupi B kod 57% ispitanica.

Nije nađena visoka statistički značajna razlika kod nus efekata lečenja-lokalni dermatitis između dve upoređivane grupe ispitanica obzirom na lečenje u 2% i 5% koncentraciji minoksidila.

Kod naših ispitanica nisu registrovane nikakve komplikacije koje bi zahtevale obustavu primene minoksidila, ni u jednoj fazi lečenja, niti je dokazan značajan sistemski uticaj leka na krvni pritisak.

Lečenje alopecije minoksidilom zahteva dalja istraživanja i precizno praćenje pacijenata oba pola. Podaci o primeni različitih doza leka ukazuju da su mogući efekti ovog leka još uvek nedovoljno utvrđeni i da su klinička iskustva skromna^{25,26}.

Relativno manji broj lečenih pacijentkinja u našem istraživanju i analizi ne dozvoljava donošenje isključivog zaključka o optimalnoj dozi primene, niti o mogućim mehanizmima kliničkog učinka, ali je pokazana značajna efikasnost i opravdanost primene minoksidil solucije u lečenju početnih stadijuma alopecije, pogotovo kod mlađih pacijentkinja.

Zaključak

Minoksidil rastvor, kao lek za lokalnu aplikaciju u proređeno vlasište, ima povoljan efekat u lečenju ženske alopecije. Lek se može spravljati i koristiti u koncentracijama od 2% i 5%.

Minoksidil naravno, nije u stanju da vrati kosu na poglavini gde ne postoje folikuli dlake, ali poseduje moć da ojača i potakne rast istanjene i slabašne vlasi, odnosno da (makar i privremeno) zaustavi ili uspori gubitak kose.

Nije nađena statistički značajna razlika u delovanju minoksidila u 2% i 5% rastvoru u pogledu efekata lečenja kao što su smanjenje ćelave površine, zaustavljanje obimnog opadanja kose i normalizacija gustine kose. Merljivi efekat lečenja minoksidilom najčešće je vidljiv posle 2-4 meseca lečenja. Primena minoksidila u 5% rastvoru češće izaziva svrabež vlasišta, perifernu maljavost i lolani dermatitis.

Primena minoksidila 2% zbog značajno manjeg broja neželjenih efekata ima prednost u lečenju ženske alopecije.

Lokalno apliciran minoksidil ne deluje sistemski na krvni pritisak a lokalne nuspojave ni u jednom slučaju nisu razlog za zaustavljanje lečenja alopecije minoksidilom.

Primena minoksidila mora biti kontinuirana i praktično trajna uz moguće pauze u lečenju koje traju do 15 dana.

Literatura

1. Pomerantz M.A., Rassman W.R.: *Hair today and tomorrow*. New Hair Institute Med. Group. 3:30-31, 1993.
2. DuCharme D. W., Freyburger W.A., Graham B.E., and Carlson R.G.: Pharmacologic properties of minoxidil: a new hypotensive agent. *J. Pharm. Exp. Ther.*, 184:662, 1973.
3. Mehta P.K., Mamdani B., Sharsky R.M.: Severe hypertension: Treatment with minoxidil. *JAMA*, 233:249-252, 1975.
4. Burton J.L., Marshall A.: Hipertrichosis due to minoxidil. *Br.J. Dermatol.*, 101:593-597, 1979.
5. Zappacosta A.R.: Reversal of baldness in patient receiving minoxidil for hypertension. *N. Engl. J. Med.*, 303:1840-1841, 1980.
6. Devine B.L., Fife R., Trust P.M.: Minoxidil for severe hypertension after failure of other hypotensive drugs. *Br. Med. J.*, 2:667, 1977.
7. Dargie H.J., Dollery C.T., Daniel J.: Minoxidil in resistant hypertension. *Lancet*, 2:515, 1977.
8. Seidman M., Westfried M., Maxey R., Rao T.K.S., Freidman e.A.: Reversal of male pattern baldness by minoxidil. *Cutis*, 28:551-553, 1981.
9. Pennisi A.J., Takahashi M., Bernstein B.H.: Minoxidil therapy in children with severe hypertension. *Paediatr. Pharmacol. Ther.*, 90:813, 1977.
10. Wilkin J.K., Kirkendall W.: Porphyria mimicked during minoxidil therapy. *Cutis*, 31:61-64, 1983.
11. Frantz T.: Percutaneous absorption of minoxidil in man. *Arch. Dermatol.*, 121:203-206, 1985.
12. Wester R.C., Maibach H.I., Guy R.H.: Minoxidil stimulates cutaneous blood flow in human balding scalps: Pharmacodynamics measured by laser Doppler velocimetry and photopulse plethysmography. *J Invest. Dermatol.*, 82:515-517, 1984.
13. Buhl A.E.: Minoxidil's action in hair follicles. *J. Invest. Dermatol.*, 96:73S, 1991.
14. Earhart R.N., Ball J., Nuss D.D., Aeling J.L.: Minoxidil-induced hypertrichosis: Treatment with calcium thioglycolate depilatory. *South. Med. J.*, 70:442, 1977.
15. Parker L.N., Lifrag E.T., Odell W.D.: Lack of a gonadal or adrenal androgenic mechanism for the hypertrichosis produced by diazoxide, phenytoin and minoxidil. *Biochem. Pharmacol.*, 31:1948-1950, 1982.
16. Mellin T.N., Busch R.D., Rasmusson G.H.: Azasteroids as inhibitors of testosterone 5 alpha -reductase in mammalian skin. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 44:121-31, 1993.
17. Burton J.L., Schutt W.H., Caldwell I. W.: Hypertrichosis due to diazoxide. *Br.J. Dermatol.*, 93:707, 1975.
18. Morris A.I., Montuschi E.: Growth of head hair during treatment with diazoxide. *Lancet*, 2:1384, 1975.
19. Ebling F.J., Rook A.: In textbook of Dermatology Vol. 2, 3rd ed., A.J. Rook D.S. Wilkinson, F.J. Ebling, eds. Blackwell Scientific Oxford, p.757, 1979.
20. Baden H.P., Kubilus J.: Effect of minoxidil on culture of keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* 81:558-560, 1983.
21. Cohen R.L., Alves M.E.A.F., Weiss V.C.: Direct effects of minoxidil on epidermal cells in culture. *J. Invest. Dermatol.*, 82:90-93, 1984.
22. Lukić D.: Transplantacija kose. Medicinski fakultet, Banja Luka. 2004.
23. Olsen E.A.: Topical minoxidil in the treatment of androgenetic alopecia in women. *Cutis*, 48:243-248, 1991.
24. De Villev R.L., Jacobs J.P., Warner M.L.: Androgenetic alopecia in the female: Treatment with 2% topical minoxidil solution. *Arch. Dermatol.* 130:303-307, 1994.
25. Whiting D.A., Jacobson C.: Treatment of female androgenetic alopecia with minoxidil 2%. *Int. J. Dermatol.*, 31:800-804, 1975.

(*) Opšta bolnica „Vršac“ - Vršac

(**) Institut za kardiovaskularne bolesti Dedinje-Beograd

TRAUMATSKA RUPTURA LEVE HEMIDIJAFRAGME

TRAUMATIC RUPTURE OF THE LEFT HEMIDIAPHRAGM

Srđan Đorđev (*), Slobodan Tanasković (**), Miodrag Ilić (**), Nikola Dolovac (*)

Sažetak: Traumatska povreda dijafragme je retka povreda i zastupljena je u oko 1,5% kod hospitalizovanih pacijenata. Može biti rezultat delovanja tupe sile (75%) ili penetrantne (25%). Neretko traumatska ruptura dijafragme udružena je sa traumatskim oštećenjem vitalnih organa. Teorijske pretpostavke su da do rascepa dijafragme dolazi usled avulzije pripoja dijafragme, razvlačenja elastične membrane i usled sile koja se prenosi kroz visceralne organe.

Prednjači ruptura leve hemidijafragme u odnosu na desnu, jer je na levoj strani relativno nezaštićena. Kreće se u odnosu 75 % za levu stranu naprema 25 % za desnu stranu dijafragme.

U manje od 45 % dijagnoza traume dijafragme se postavlja preoperativno. Najčešće se postavlja intraoperativno ili na autopsiji te je u senci ozbiljnih povreda u abdomenu.

Dijagnoza se postavlja na osnovu anamnestičkih podataka, kliničke slike, RTG snimaka, ultrasonografije i CT-a.

Cilj rada: Ukazati na problematiku pri postavljanju dijagnoze i isticanje značaja traumatske rupture dijafragme u ukupnom traumatskom morbiditetu i mortalitetu.

Summary: Traumatic diaphragmatic rupture is a rare injury and there are about 1.5% in hospitalized patients. It may be the result of blunt force (75%) or penetrating (15%). Often traumatic diaphragm rupture associated with traumatic damage to vital organs. Theoretical assumptions are that the diaphragm ruptures are due to avulsion of insertion diaphragm strength and elastic membrane because the force is transmitted through the visceral organs.

Materijal i metode: Korišćena je medicinska dokumentacija u periodu od 1985. do 2006. godine, operisanih na odeljenju hirurgije Opšte bolnice „Vršac“, zbog traumatskih povreda leve dijafragme. Svi pacijenti primljeni su kao hitni slučajevi, sa znacima intraabdominalne traume.

Diskusija i rezultati: Obradena je medicinska dokumentacija tri pacijenta, prosečne starosti 55,7 godina. Kod dva pacijenta bila je prisutna ruptura slezine a kod jednog i prelom leve potkoljenice. Veličina rascepa iznosila je od 6 do 9 cm (prosečno 7,3 cm). Intraoperativno otkrivena je ruptura kod dva pacijenta a preoperativno kod jednog. Kod svih pacijenata plasiran je torakalni dren.

Na našem materijalu povrede leve dijafragme predstavljaju 0,015% od svih operisanih pacijenata i 1,45% pacijenata operisanih nakon traume.

Zaključak: Prepoznavanje traume dijafragme je otežano, ali od izuzetne važnosti jer je lečenje isključivo operativno.

Cljučne reči: ruptura dijafragme, hirurško lečenje

Rupture of left hemidiaphragm leading over to the right, because on the left side is relatively not protected. Ranging than 75% for the left side 25% compared to the one for the right side of the diaphragm.

In less than 45% of diagnoses of trauma the diaphragm is placed ago operation. Most placed intraoperatively or at autopsy and was overshadowed by serious injuries in the abdomen. Diagnosis is based on history data, clinical presentation, radiographic images, ultrasound and CT.

Objective: Is to indicate problems in the diagnosis and emphasize the importance of traumatic diaphragmatic rupture in total traumatic morbidity and mortality.

Material and methods: We used medical records for the period since 1985. by 2006. years, operated in the department of surgery of the General Hospital "Vrsac", due to traumatic injury left diaphragm. All patients were admitted as emergencies, with signs of abdominal trauma.

Discussion and results: The study medical records of 3 patients, average age 55.7 years. Two patients was diagnosed rupture of the spleen and one and

a fractured left below knee. Size cleft ranged from 6 to 9 cm (mean 7.3 cm). Intraoperative rupture was detected in 2 patients and preoperative in one. In all patients thoracic drain was placed. In our material breach of the left diaphragm represent 0.015% of all treated patients and 1.45% of patients treated after the trauma.

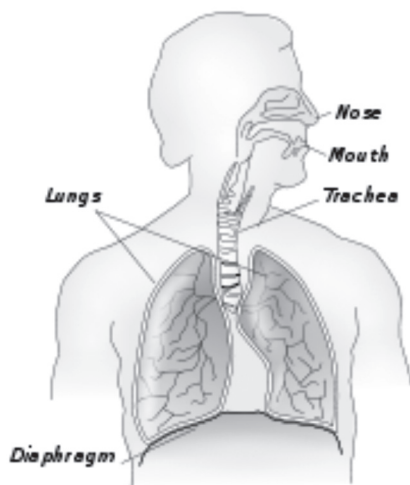
Conclusion: The recognition of trauma the diaphragm is difficult but very important because the treatment is exclusively surgical.

Key words: *diaphragm rupture, surgical treatment*

Uvod:

Dijafragma je mišić koji se nalazi između grudnog koša i stomaka i prirodna je granica između ova dva dela tela. (Slika 1,2) Njena najznačajnija

uloga je u procesu disanja pošto se njenim kontrakcijama neizmenično smanjuje i povećava pritisak u grudnom košu.



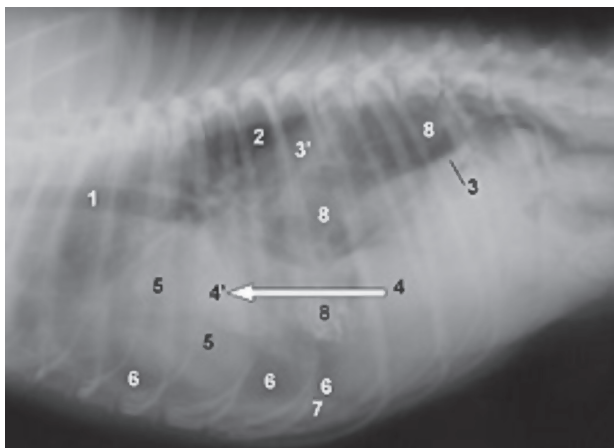
Slika 1.



Slika 2.

Traumatska povreda dijafragme je retka povreda i zastupljena je u oko 1,5% kod hospitalizovanih pacijenata. Može biti rezultat delovanja tupe sile (75%) ili penetrantne (15%). Najveći broj povređenih u okviru tupe torakoabdominalne traume nastaje nakon saobraćajnih nesreća (oko 90%) i pada sa visine, dok kod penetrantnih najčešće stradaju od uboda ili ustrela.

Neretko traumatska ruptura dijafragme udružena je sa traumatskim oštećenjem vitalnih organa. Pošto je intraabdominalni pritisak veći nego pritisak u grudnom košu, ruptura dijafragme je skoro uvek povezana sa hernijacijom abdominalnih organa u grudni koš. (Slika 3,4)



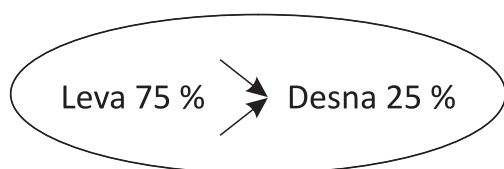
Slika 3.



Slika 4.

Teorijske pretpostavke su da do rascepa dijafragme dolazi usled avulzije pripoja dijafragme, razvlačenja elastične membrane i usled sile koja se prenosi kroz visceralne organe.

Prednjači ruptura leve hemidijafragme u odnosu na desnu, jer je na levoj strani relativno nezaštićena. Kreće se u odnosu 75 % za levu stranu naprema 25 % za desnu stranu dijafragme.

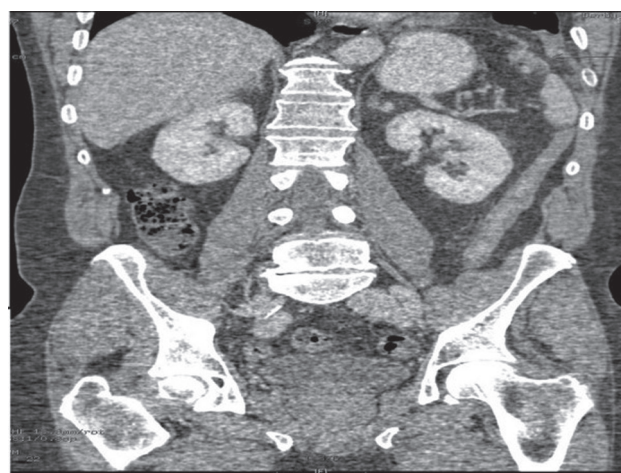


U manje od 45 % dijagnoza traume dijafragme se postavlja preoperativno. Najčešće se postavlja intraoperativno ili na autopsiji. Povreda dijafragme obično je u senci ozbiljnih povreda u abdomenu, povreda glave ili grudnog koša, tako da izostaje pravovremena dijagnoza.

Grimes je klasifikovao dijafragmalne povrede u tri faze:

- Akutna faza
- Latentna faza
- Opstruktivna faza

Dijagnoza se postavlja na osnovu anamnestičkih podataka, kliničke slike, RTG snimaka, ultrasonografije i CT-a. (Slika 5)



Slika 5. CT snimak koji pokazuje hernijaciju intraabdominalnih organa u grudni koš.

Znaci i simptomi su bol u stomaku i grudima, otežano disanje i smanjen kapacitet pluća.

S obzirom na simptomatologiju teško je na osnovu kliničke slike i anamnestičkih podataka postaviti dijagnozu, tako da je neophodno koristiti RTG, ultrasonografiju i CT.

Cilj rada:

Ukazati na problematiku sa kojom se susreću lekari pri postavljanju dijagnoze i isticanje značaja traumatske rupture dijafragme u ukupnom traumatskom morbiditetu i mortalitetu kao i adekvatnog zbrinjavanja ovih povreda da bi se izbegle fatalne posledice.

MATERIJAL I METODE:

Korišćena je medicinska dokumentacija u periodu od 1985. do 2006. godine, operisanih na odeljenju hirurgije Opšte bolnice „Vršac“, zbog traumatskih povreda leve dijafragme. Sagledane su dijagnostičke metode i način zbrinjavanja povreda. Svi pacijenti primljeni su kao hitni slučajevi, sa znacima intraabdominalne traume i tretirani su kao teški pacijenti. Preoperativno svim pacijentima rađeni su laboratorijski nalazi, ultrasonografija i RTG grudog koša. Intraoperativno bili smo prinuđeni da rešavamo i udružene povrede. Nakon operacije praćeni su vitalni parametri i po otpuštanju pacijenti su redovno kontrolisani.

Diskusija i rezultati:

Obradena je medicinska dokumentacija tri pacijenta, prosečne starosti 55,7 godina, operisanih na odeljenju hirurgije Opšte bolnice „Vršac“. Bilo je dva pacijenta ženskog pola (66,7%) i jedan muškog (33,3%). Svi pacijenti hospitalizovani su zbog bolova u trbuhu i grudnom košu nakon traume. Kod 2 pacijenta uzrok povreda je saobraćajna nesreća dok je kod jednog pacijenta uzrok pad sa visine. Kod dva pacijenta bila je prisutna ruptura slezine a kod jednog i prelom leve potkolenice. Veličina rascepa iznosila je od 6 do 9 cm (prosečno 7,3 cm).

Redni broj	Pol	Veličina rascepa	Povređen visceralni organ
1.	Ženski	6 cm	Ne
2.	Ženski	7 cm	Da
3.	Muški	9 cm	Da

Tabela 1.

Rupture dijafragme uzrokovane delovanjem tupe sile klinički se manifestuju hernijacijom organa trbušne duplje u grudni koš. Najčešće prolazi želudac, leva fleksura kolona, tanko crevo, slezina, omentum ili bubreg. Nakon povređivanja pregledom može se uočiti respiratorni distres, difuzni abdominalni i torakalni bolovi, oslabljen disajni šum ali i čujna peristaltika.

Na našem materijalu povrede leve dijafragme predstavljaju 0,015% od svih operisanih pacijenata i 1,45% pacijenata operisanih nakon traume. Klinički se pojavio u odgovarajućem procentu. (Tabela 2)

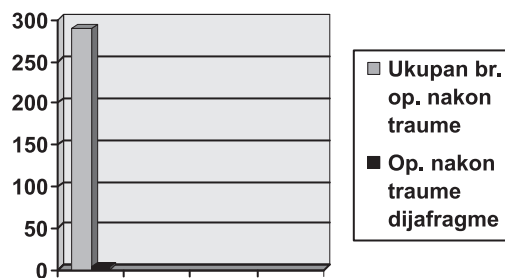


Tabela 2

Veličina rascepa je do 10 cm, što je slučaj i u prikazanom materijalu.

Kod dva pacijenta intraoperativno je otkrivena ruptura dijafragme (66,7%) jer je preoperativna dijagnoza bila ruptura slezine. Načinjena je splenektomija i direktna sutura rascepa dijafragme.

Kod jedne pacijentkinje (33,3%) nakon RTG snimka uočena je hernijacija organa i medijalnom laparatomijom otvorena trbušna duplja pa direktna sutura dijafragme. Ista pacijentkinja imala je frakturu leve potkolenice. Kod svih pacijenata plasiran je torakalni dren.

Uporednom analizom rezultata koje je objavio Farhan Rashid sa saradnicima sa Univerziteta u Nottinghamu, Velika Britanija, primećuje se da je broj operisanih 1,5% u odnosu na druge operisane što odgovara i našim rezultatima. Najviše je bilo ruptura slezine kao udruženih povreda 68%, što takođe odgovara i našim rezultatima.

Eray Kara, Mithatpasa i saradnici septembra 2004. objavili su sličnu studiju. Dobijeni su rezultati koji ne odstupaju od naših s tim što navode da je rascep na dijafragmi u 59% iznosio više od 10 cm, što kod nas nije bio slučaj.

Zaključak:

S obzirom na prikazane rezultate može se zaključiti da je prepoznavanje traume dijafragme otežano, ali je od izuzetne važnosti jer je lečenje isključivo operativno. Izostanak pravovremene reakcije i nesigurnost pri postavljanju dijagnoze može dovesti do povećanja smrtnosti. U tome se i ogleda značaj ove teme da bi se pacijentima pružio adekvatan hirurški tretman.

LITERATURA:

1. P. Hihos, K. Potaris, J. Gakidis, J. Paraskevopoulos, P. Varrtatsoulis, B. Gougoutas, G. Papadakis, *Traumatic rupture of the diaphragm: experience with 65 patients*, *Injury*, Vol. 34 Issue 3, 169-172, March 2003.
2. Athanassiadi K, Kalavrouziotis G, Athanassiou M, Vernikos P, Skrekas G, Poultisidi A, Bellenis I. *Blunt diaphragmatic rupture*. *Eur J Cardiothorac Surg*. Apr;15(4):469-74;1999.
3. McCollum C, Anyanwu CH, Umeh UO, Swarup AS. *Management of traumatic rupture of the diaphragm*. 2005; 74:181-3.
4. Garcia-Navaro A, Villar-Del Moral JM, Muffak-Granero K, et al. *Traumatic diaphragmatic rupture*. *Chir* 2006; 77:360-66.
5. Shanmuganathan K, Killeen K, Mirvis SE, White CS. *Imaging of diaphragmatic injuries*. *J Thorac Imaging* 2000; 15:104-11.
6. Guth, A.A., Pachter, H.L., Kim, U. (1995) *Pitfalls in the diagnosis of blunt diaphragmatic injury*. *Am J Surg*, 170(1): 5-9
7. Sharma, O.P. (1989) *Traumatic diaphragmatic rupture: Not an uncommon entity: Personal experience with collective review of the 1980's*. *J Trauma*, 29(5): 678-82
8. Reber PU, Schmied B, Seiler CA, Baer HU, Patel AG, Buchler MW. *Missed diaphragmatic injuries and their long-term sequelae*. *J Trauma* 1998;44:183-188
9. Ozkan S, Akinoglu A, Yagmur O, Alabaz O, Demiryurek H, Demircan O: **Blunt and penetrating ruptures of the diaphragm**. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 1998,
10. Turhan K, Makay O, Cakan A, Samancilar O, Firat O, Icoz G, Cagirici U: **Traumatic diaphragmatic rupture: look to see**. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008,

Traumatic rupture of the left hemidia- phragm

dr Srdjan Djordjevic (*), dr Slobodan Tanaskovic (**), dr Miodrag Ilic (**), dr Nikola Dolovac (*)
 (*) General Hospital "Vrsac";-Department of Surgery
 (**) Institute of Cardiovascular Diseases KBC Dedinje-Belgrade

Specijalna bolnica "Gamzigrad" Gamzigradska Banja
Institut za kardiovaskularne bolesti "Dedinje"

EDEM EKSTREMITETA NAKON ORTOPEDSKIH INTERVENCIJA- DIJAGNOSTIČKI PROBLEM U REHABILITACIJI

LEG EDEMA AFTER ORTHOPEDIC INTERVENTIONS – DIAGNOSTIC PROBLEM IN REHABILITATION

Žaklina Damnjanović, Rade Kostić, Dragica Rondović, Djordje Radak

Sažetak

Uvod: Čest slučaj u fizijatrijskoj praksi su pacijenti sa edemom ekstremiteta, koji do dolaska na rehabilitaciju nije verifikovan. Tromboza dubokih vena (TDV) jedan je od najčešćih uzroka edema ekstremiteta nakon fraktura, dugotrajne imobilizacije ili operativnog lečenja (ugradnja endoproteze kuka i kolena ili osteosintetskog materijala). Predstavlja istovremeno i stanje koje je povezano sa životnom ugroženoscju i visokim invaliditetom, ako se blagovremeno ne dijagnostikuje i ne leci.

Cilj rada: Pokazati da je TDV čest uzrok edema nakon ortopedskih intervencija. Imajući u vidu da klinička slika nije specifična za postavljanje dijagnoze TDV, želeli smo da podsetimo i na dijagnostičke smernice za TDV.

Metod rada: Prospektivnim kliničkim istraživanjem kod pacijenata upućenih na rehabilitaciju u našu ustanovu nakon ortopedskih intervencija, obuhvaćeni su pacijenti kod kojih je na pr-

vom kliničkom pregledu verifikovan unilateralni edem ekstremiteta. Toj grupi pacijenata izmeren je Welssov scor za TDV i uradjen ultrasonografski pregled vena.

Rezultati: U periodu od januara 2007. godine do aprila meseca 2010. godine, od 130 pacijenata sa edemom, kod svih je Welssov scor bio >2, a TDV dijagnostikovana kod 62 pacijenta.

Zaključak: Prateći algoritme za TDV kod pacijenata sa edemom ekstremiteta možemo isključiti ili verifikovati TDV, što je od velikog značaja za dalje lečenje i sprečavanje komplikacija (plućna embolija, posttrombotske sekvele). TDV je takodje kontraindikacija za primenu fizikalnih procedura koje mogu dovesti do retromboze i fragmentacije tromba.

Ključne reči: edem ekstremiteta, tromboza dubokih vena, ortopedske intervencije

Abstract

Introduction: Common cases in physiatrists practice are the patients with leg edema which was not verified before the patient's coming to rehabilitation. Deep venous thrombosis (DVT) is one of the most common causes of leg edema after fractures, long-lasting immobilization or operative cure (implantation endoprosthesis in a hip or a knee or some osteosynthesis material). The edema is at the same time the condition which is bound to life jeopardy and great disability if it not diagnosed and cured on time.

The aim: To establish that DVT is the common cause of the edema in posttraumatic conditions.

Bearing in mind the fact that the clinical sight is not characteristic in diagnosing of DVT, we wanted to emphasize the diagnostic guidelines for DVT.

Method: Prospective clinical research of the patients sent to rehabilitation in our institution, after orthopedic interventions, included patients suffering from unilateral leg edema which was verified after the first clinical examination. All the patients from the group were treated as follows: Wells score was taken and ultrasonography vein examination was run.

Results: From January to April 2010 in 130 patients out of 130 suffering from edema Wells score was ≥ 2 and diagnostic DVT of various level of obstruction and degree of localization was diagnosed by ultrasonography.

Conclusion: Following the algorithms for DVT in patients with leg edema we can exclude or verify TDV which is of great importance for further

treatment therapy and preventing from possible complications (embolism pulmonary, post-thrombotic consequences). TDV is as well a contraindication for the application of physical procedures which can result in re-thrombosis or thrombus fragmenting.

Key words: *leg edema, deep venous thrombosis, orthopedic interventions*

Uvod

Tromboza dubokih vena (TDV) jedan je od najčešćih uzroka edema ekstremiteta nakon: fraktura, dugotrajne imobilizacije, operativnog lečenja (ugradnja endoproteze kuka i kolena ili osteosintetskog materijala) (1). Dovodi do životne ugroženosti i visokog invaliditeta, ako se blagovremeno ne dijagnostikuje i ne leči. Ranu sekvelu TDV predstavlja tromboembolija plućne arterije, koja je i najteža komplikacija TDV. TDV zajedno sa tromboembolijom plućne arterije čini jedinstven patološki entitet - „venski tromboembolizam”. Kasne sekvele TDV su: posttrombotski sindrom, i venske ulceracije.

Podvrgavanje ortopedskim intervencijama predstavlja visok rizik za nastanak TDV (30-60%) (2,3,4). Primenom profilakse rizik se smanjuje na 10-30% (5,6,7,8). Na procenat TDV sem faktora rizika (9), utiču i vrsta i dužine anestezije - primena epiduralne anestezije smanjuje rizik za nastanak TDV, kao i kraće trajanje same operativne intervencije (10).

Pacijenti sa edemom ekstremiteta nakon ortopedskih intervencija su čest slučaj u fizijatrijskoj praksi. U većini slučajeva, edem nije verifikovan do dolaska na rehabilitaciju. Kod edema ekstremiteta, sem TDV, diferencijalno dijagnostički u obzir dolaze: limfedem, akutni celulitis i limfag-

itis, ruptura mišića, hematom, tendinitis Ahilove tetive, ruptura Bekerove ciste, superficijalni tromboflebitis, varikozne vene, asimetrični periferni edem kod bolesti srca, jetre ili bubrega.

Cilj rada:

Cilj rada našeg rada bio da pokažemo da je TDV čest uzrok edema nakon ortopedskih intervencija. Imajući u vidu da klinička slika nije specifična za postavljanje dijagnoze TDV, želeli smo da podsetimo i na dijagnostičke smernice za TDV.

Metod rada:

Prospektivnim kliničkim istraživanjem obuhvaćeni su pacijenti upućeni na rehabilitaciju u SB „Gamzigrad” Gamzigradska Banja nakon ortopedskih intervencija, kod kojih je na prvom kliničkom pregledu verifikovan unilateralni edem ekstremiteta.

Prateći algoritme za dijagnozu TDV (Shema br. 1.) svim pacijentima je izmeren je Wellsov skor (Tabela br. 1) za TDV i s obzirom da je skor kod svih pacijenata bio jednak ili veći od 2, urađen im je i ultrasonografski pregled vena. Kod pacijenata kod kojih je UZ isključena TDV, izmerene su i vrednosti i D- dimera.

Shema br.1- Dijagnostičke smernice za TDV

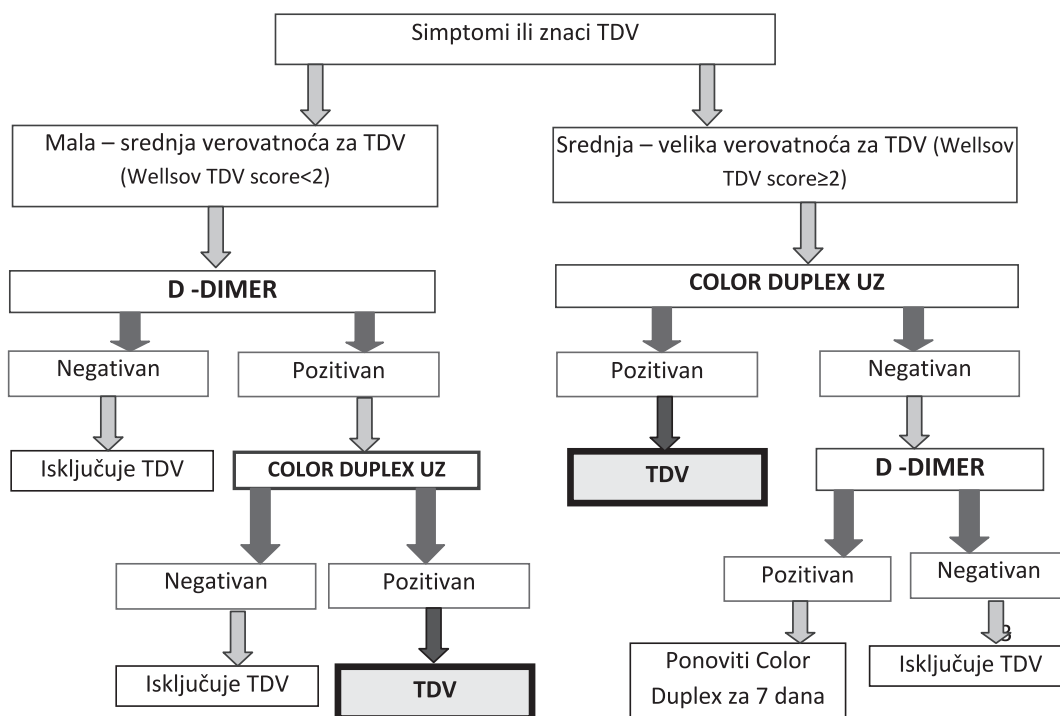


Tabela br.1- Najnoviji Wells-ov klinički model za procenu "pretest" probabiliteta TDV

Klinički parametri	Score
Aktivni karcinom (lečenje u toku, ili u prvih 6 meseci ili palijativno)	+1
Paraliza ili nedavna imobilizacija donjih ekstremiteta	+1
Nedavna vezanost za postelju >3 dana ili veći hirurški zahvat tokom poslednja 3 meseca	+1
Lokalizovana bolna osetljivost u distribuciji sistema dubokih vena	+1
Otok noge u celini	+1
Otok lista potkolenice >3 cm u odnosu na asimptomatski ekstremitet	+1
Testasti edem (veći na simptomatskoj nozi)	+1
Ranije potvrđena TDV	+1
Dilatirane koleteralne superficijalne vene (nevarikozne)	+1
Druge dijagnoze (veće verovatnoće nego DVT)	-2

Verovatnoća	Ukupni zbir (Score)
Velika verovatnoća	≥ 3
Srednja verovatnoća	1 ili 2
Mala verovatnoća	≤ 0

Rezultati rada:

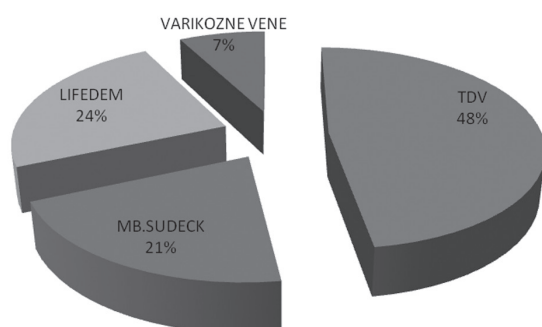
U periodu od januara 2007.g. do aprila 2010.godine pregledano je 130 pacijenata sa edemom ekstremiteta. Vreme proteklo od ortopedске intervencije do dolaska na rehabilitaciju bilo je od jed-

nog do četiri meseca. Kod 130 pacijenata Wellsov scor je bio jednak ili veći od dva. Kod 62 pacijenata (48%) je UZ dijagnostikovana TDV različitog stepena opstrukcije i nivoa lokalizacije: popliteo-kruralna kod 44, femoropoplitealna kod 18. Kod 68 pacijenata (52%) isključena je TDV. Kod ovih pacijenata je i D-dimer bio negativan. Uzroci edema bili su: Mb.Sudeck (21%), limfedem (24%) i varikozne vene (8%). U tabeli br. 2 i dijagramu br.1 predstavljeni su uzroci edema kod naše grupe ispitanika.

Tabela br.2.- Uzroci edema ekstremiteta

Dijagnoza	Broj pacijenata	%
TDV	62	48%
MB.SUDECK	27	21%
LIFEDEM	31	24%
VARIKOZNE VENE	10	8%
UKUPNO	130	100%

Dijagram br.1- Procentualna zastupljenost dijagnostikovanih oboljenja kod pacijenata sa edemom



Diskusija:

Prateći algoritme za TDV kod pacijenata sa edemom ekstremiteta, zahvaljujući dijagnostičkim mogućnostima ultrazvuka I iskustvu ehosonografista, kao I određivanja D dimera, pouzdano se može utvrditi ili isključiti TDV(11). D-dimer je marker hiperkoagulabilnosti *in vivo*, ali nije specifičan za trombozu. Povećane vrednosti D-dimera nalaze se i u inflamatornim procesima sa ekstravaskularnim depozitima fibrina:DIK,

malignitet, sepsa, preeklampsija itd. Različiti komercijalni testovi za određivanje D-dimera Imaju visoku senzitivnost, ali različitu, mnogo nižu specifičnost.Ako se D-dimer koristi za dijagnozu TDV: mora prethodno da se uradi uradi PTP po Wellsovim kriterijumima, a za tumačenje rezultata koriste se cut-off vrednosti za svaki test ponaosob(12,13). Svi naši pacijenti su zbog uočenog edema I nedavne hirurške intervencije ili imobilizacije (Wellsov scor =2) imali srednju verovatnoću za TDV, što je po dijagnostičkom algoritmu isključivalo primenu samo D-dimera za verifikaciju ili isključenje TDV, već je D- dimer rađen tek nakon urađenog ultrazvuka vena I to u slučaju kada je UZ vena bio negativan za TDV. Na našem uzorku, u tim slučajevima je I D-dimer bio negativan, ali smo pacijente pratili do poboljšanja kliničkog nalaza.

Zaključak:

Imajući u vidu da bez obzira na tromboembolijsku profilaksu pre i nakon ortopedskih intervencija, jedan broj pacijenata koji dođe na rehabilitaciju već ima znake za TDV(15), svaki edem ekstremiteta treba pažljivo sagledati i primenom dijagnostičkog algoritama za TDV pravovremeno isključiti ili potvrditi TDV.TDV je kontraindikacija za primenu fizikalnih procedura koje mogu dovesti do retromboze i fragmentacije tromba. Samo pravilna primena metoda rehabilitacije, naročito rane rehabilitacije usporava razvoj kliničke slike hronične venske insuficijencije I sprečava nastanak TDV kod operisanih pacijenata.

Reference

1. Merli GJ. Pathophysiology of venous thrombosis, thrombophilia, and the diagnosis of deep vein thrombosis-pulmonary embolism in the elderly. *Clin Geriatr Med*. 2006;22(1):75-92.
2. Nicolaides, AN, Fareed, J, Kakkar, AK, et al Prevention and treatment of venous thromboembolism: international consensus statement (guidelines according to scientific evidence). *Int Angiol* 2006;25,101-161
3. Lachiewicz, PF, Soileau, ES Multimodal prophylaxis for THA with mechanical compression. *Clin Orthop* 2006;453,225-230
4. White RH, Romano PS, Zhou H, Rodrigo J, Bargar W. Incidence and time course of thromboembolic outcomes following total hip or knee arthroplasty. *Arch Intern Med*.1998;158:1525-31.
5. Keeney, JA, Clohisey, JC, Curry, MC, et al Efficacy of combined modality prophylaxis including short-duration warfarin to prevent venous thromboembolism after total hip arthroplasty. *J Arthroplasty* 2006;21,469-475
6. Maksimović Ž.: Osnove vaskularne hirurgije i angiologije, CIBID Beograd 2004.
7. Rajaganesan, R, Dussa, CU, Sahni, V National survey in the United Kingdom of prophylaxis of deep vein thrombosis for patients with fracture of the neck of the femur. *Injury* 2006;37,721-726
8. Silbersack, Y, Taute, BM, Hein, W, et al Prevention of deep-vein thrombosis after total hip and knee replacement: low-molecular-weight heparin in combination with intermittent pneumatic compression. *J Bone Joint Surg Br* 2004;86,809-812
9. Rosendaal, FR Risk factors for venous thrombotic disease. *Thromb Haemost* 1999;82,610-619
10. Jaffer AK, Barsoum WK, Krebs V, Hurbanek JG, Morra N, Brotman DJ. Duration of anesthesia and venous thromboembolism after hip and knee arthroplasty. *Mayo Clin Proc*. 2005 Jun;80(6):732-8.
11. Anand SS, Wells PS, Hunt D, Brill-Edwards P, Cook D, Ginsberg JS Does this patient have deep vein thrombosis? *JAMA*. 1998 Apr 8;279(14):1094-9.
12. Wells PS, Anderson DR, Rodger M, Forgie M, Kearon C, Dreyer J, et al. Evaluation of D-Dimer in the diagnosis of suspected deep vein thrombosis. *N Engl J Med* 2003; 349(13): 1227-35.
13. Wells PS, Anderson DR, Bormanis J, Guy F, Mitchell M, Gray L. Value of assessment of pretest probability of deep-vein thrombosis in clinical management. *Lancet* 1997; 350: 1795-8.
14. Kelly J, Hunt BJ. The utility of pretest probability assessment in patients with clinically suspected venous thromboembolism. *Thromb Haemostas* 2003; 1(9):1
15. Rogers BA, Little NJ. Thromboprophylaxis in orthopaedic surgery: a clinical review. *J Perioper Pract*. 2010 Oct;20(10):358-62.

¹Institut za patološku fiziologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

²Institut za kardiovaskularne bolesti "Dedinje", Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

AKTIVNOST ALFA NAFTIL BUTIRAT ESTERAZE U HUMANOM KAROTIDNOM PLAKU RAZLIČITE MORFOLOGIJE

ACTIVITY OF ALPHA NAPHTHYL BUTYRATE ESTERASE IN HUMAN CAROTID PLAQUE WITH DIFERENT MORPHOLOGY

Danijela Vučević¹, Đorđe Radak², Predrag Gajin², Tatjana Radosavljević¹, Dušan Mladenović¹, Ivan Milovanović¹, Zorana Stojanović¹, Milena Zec¹

Sažetak: Uprkos neprestanom ovladavanju biomedicinskim znanjima i tehnikama, naučnici su još uvek daleko od potpunog razumevanja poremećaja molekulskih funkcija i njihovog značaja u aterogenezi. U tom smislu, posebno polje istraživanja predstavljaju ćelijske nespecifične esterase, s obzirom na ulogu koju imaju u širokom spektru bolesti, uključujući i aterosklerozu. U našoj studiji vršena je analiza citohemijske aktivnosti α -naftil butirat esterase (BUT) u imprintima karotidnih plakova pacijenata sa aterosklerozom različitih morfoloških grupa (n=32), kao i u kontrolnoj grupi pacijenata sa kinkingom i/ili koilingom karotidnih arterija (n=8). BUT status u

imprintima normalnog i aterosklerozno izmenjenog tkiva humane karotidne arterije je određivan primenom citohemijskog scoring sistema (metoda po Higiju, Barnsu i Hejhou, koju su modifikovali Cvetković, Radak i Đorđević-Denić). Naši rezultati uglavnom pokazuju da postoji statistički značajna razlika relativne vrednosti BUT esternog skora u karotidnim arterijama/plakovima između ispitivanih grupa pacijenata. Ovi rezultati mogli bi da ukažu na značaj BUT u procesu aterogeneze.

Cljučne reči: α -naftil butirat esteraza (BUT), ateroskleroza, karotidni plak, kinking, koiling

Summary: In spite of the constantly growing body of biomedical knowledge and techniques, scientists are still far from a complete understanding of molecular system dysfunctions and their relevance in atherogenesis. Accordingly, cellular non specific esterases represent a special field of research, due to their role in a wide range of diseases, including atherosclerosis. In our study analysis of α -naphthyl butyrate esterase (BUT) cytochemical activity was performed in imprints of carotid plaques obtained from patients with different morphological groups of atherosclerotic lesions (n=32), as well as in control group of patients with

kinking and/or coiling of carotid arteries (n=8). BUT status in imprints of normal and atherosclerotic human carotid tissue was determined by cytochemical scoring system (Higgy, Burns and Hayhoe's method modified by Cvetković, Radak and Đorđević-Denić). Our results mostly show that there is statistically significant difference in relative score value of esterases in carotid artery/plaque tissue between investigated groups of patients. This findings may indicate importance of BUT in atherogenesis.

Key words: α -naphthyl butyrate esterase (BUT), atherosclerosis, carotid plaque, kinking, coiling

Uvod

Ateroskleroza je metaboličko, hronično, inflamacijsko, imunski posredovano oboljenje zida arterijskog krvnog suda (1-3). Ova progresivna, multifaktorska bolest dovodi do očvršćavanja, zakrečavanja i suženja velikih arterija (aorta, karotide, ilijake, arterije mozga, koronarne arterije) i arterija srednje veličine, sa predilekcionom lokalizacijom na mestima račvanja, odnosno njihovog odvajanja. Početne patološke promene se nalaze u intimi arterija. Osnovna karakteristična lezija je aterosklerozna ploča (plak /franc. plaque/), tj. aterom (grčki atheroma) (4-6).

Centralnu ulogu u razvoju ateroskleroznog plaka, posebno u ranim fazama njegovog stvaranja, imaju potencijalno reverzibilni činioci (poremećena sinteza azot monoksida /NO/), odgovor na vazodilatacijske supstance, inflamacija, aktivnost makrofaga i metaloproteinaza, agregacija trombocita i proliferacija glatkih mišićnih ćelija (7, 8). Dalje napredovanje i rast ateroskleroznog plaka odvija se kao posledica interakcije različitih frakcija lipida, partikula oksidovanih lipoproteina male gustine (ox-LDL → engl. oxidized low density lipoproteins), reverznog transporta lipoproteina velike gustine (HDL → engl. high density lipoproteins) i lokalnih faktora endotela (9). Međutim, uprkos velikoj pažnji koja se posvećuje proučavanju ateroskleroze, pokretač primarnog patološkog događaja je još uvek nepoznat. U tom smislu posebno polje istraživanja predstavljaju nespecifične esteraze, imajući u vidu ulogu koju ovi enzimi imaju u širokom spektru bolesti, uključujući i ateroskrozu.

Pod terminom nespecifične esteraze (proste esteraze) u citohemiji se podrazumeva grupa enzima (karboksil esteraze, aril esteraze i acetil esteraze) koji vrše hidrolizu prostih estara (α -naftil acetata, α -naftil butirata, hloracetata, indoksil acetata, i dr.), pri čemu nastaju N-slobodni alkoholi i organske kiseline (10).

U modifikovanim uslovima lokalne mikrosredine nespecifične esteraze u većoj količini prelaze iz lizozoma u ekstracelularni prostor. Naime, u osoba obolelih od ateroskleroze i u pušača sa razvijenom aterosklerozom dolazi do otpuštanja ovih enzima (11, 12), koji u sadejstvu sa kiselim fosfatazama, elastazama, hijaluronidazom, katepsinom, kolagenazama i aktivatorima plazmina mogu da oštete okolne plemenite strukture (13).

U toku sazrevanja makrofaga raste količina hidrolitičkih enzima u njihovim lizozomima. Stepenn aktivnosti esteraza je u mononuklearima u korelaciji sa ćelijskim vijabilitetom i mitotskim kapacitetom. U određenim uslovima makrofagi snažno podstiču imunsku reakciju, oslobađajući citokine i faktore rasta, koji zatim aktiviraju limfocite. Razni lokalni stimuli (imunski kompleksi, antigeni, limfokini, delovi bakterija, itd.) mogu da pokrenu oslobađanje hidrolitičkih lizozomskih enzima u vanćelijski prostor sa autodestruktivnim posledicama (14). S tim u vezi, histohe-mijskim metodama je utvrđeno da je aktivnost nespecifičnih esteraza u makrofagima arterijskog zida povišena u toku aterogeneze indukovane hiperholesterolskom dijetom, a takođe i prilikom povreda endotela balon kateterom. Uočeno je, takođe, da je količina esteraza direktno proporcionalna stepenu zasićenosti intime lipoproteinima i drugim makromolekulima (15).

Citohemijskom analizom aterosklerozno promenjenih plakova ustanovljeno je prisustvo α -naftil butirat esteraze (BUT → engl. α -naphthyl butyrate esterase). Rezultati dosadašnjih istraživanja dovode u vezu aktivnost ovog enzima, kao prvenstvenog markera monocitno-makrofagne ćelijske loze, sa morfološkim karakteristikama plaka i njegovom progresijom (10, 16, 17). U tom smislu, utvrđivanje dinamike promene aktivnosti BUT u aterogenezi bi moglo imati terapijsku implikaciju, s obzirom da ovaj enzim može biti potencijalna meta u prevenciji progresije ateroskleroze. Stoga je cilj ovog rada bio da se ispita ekspresija BUT u humanom karotidnom plaku različite morfologije.

Materijal i metode

Ispitanici

Istraživanje, koje je odobrio Etički komitet Medicinskog fakulteta u Beogradu, je obuhvatalo 40 bolesnika primljenih u Institut za kardiovaskularne bolesti "Dedinje" u Beogradu zbog kardioloških i vaskularnih tegoba. Period praćenja ovih bolesnika je bio od oktobra 2007. godine do februara 2008. godine. Od 40 operisanih pacijenata, 32 (80%) pacijenta su imala ateroskrozu karotidnih krvnih sudova, i zbog stenoze karotidne arterije jednake ili veće od 70%, kao i pris-

ustva fokalnih ili globalnih simptoma cerebralne ishemije, bili operisani primenom everziona karotidne endarterektomije. Osam (20%) pacijenata bez morfoloških znakova ateroskleroze karotidnih krvnih sudova koji su činili kontrolnu grupu, bilo je podvrgnuto resekciji elongirane karotidne arterije zbog otklanjanja hemodinamski značajnog kinkinga (/engl. kinking/ koleno, pregib) ili koilinga (/engl. coiling/ petlja, klupko). Kod bolesnika je vršeno preoperativno kliničko neuroangiološko i kardiološko ispitivanje, kao i ultrazvučno ispitivanje morfologije i procenta stenozne karotidne arterije.

Karotidni aterosklerozni plak je ispitivan ultrasonografski preoperativno, kao i makroskopski intraoperativno. Na osnovu makroskopsko-morfoloških karakteristika, sve lezije karotidnih arterija su podeljene u četiri morfološke grupe:

- grupa sa karakteristikama fibroznog tkiva u intimalnom i medijalnom delu karotidne arterije (FIB-fibrolipidni plak),
- grupa sa intraplakalnom hemoragijom karotidnog plaka (HEM-krvarenje u plaku),
- grupa sa egzulceracijom karotidnog plaka (ULC-egzulcerisani plak) i
- grupa sa kalcifikovanim depozitima u karotidnom plaku (KALC-kalcifikovani plak).

Ispitivanje je obuhvatilo i uzorke normalnog tkiva karotidne arterije kontrolne grupe (K), sa kinkingom ili koilingom.

Citohemijsko ispitivanje BUT metodom imprinta

Ćelijske nespecifične esterase su ispitivane u Institutu za patološku fiziologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu.

Odstranjeni delovi karotidne arterije sa morfološki prisutnim ateromom i morfološki "zdravim" delovima arterije (kinking i koiling bez ateroskleroznih promena, tj. kontrolne morfološke grupe - K) korišćeni su za citološko i citohemijsko ispitivanje aktivnosti BUT metodom imprinta (otiska). Ispitivani uzorci tkiva karotidnih arterija utiskivani su na mikroskopsku pločicu prethodno tretiranu rastvorom 70% etil-alkohola, a potom su imprinti (otisci) ispitivanih i kontrolnih uzoraka tkiva bojeni citohemijskim bojama za vizualizaciju BUT.

Aktivnost BUT u monocitno-makrofagnoj ćelijskoj populaciji određivana je po metodi Higija (Higgy), Barnsa (Burns) i Hejhoa (Hayhoe) (10, 18), koju su modifikovali i usavršili Cvetković, Radak i Đorđević-Denić (19, 20). U tom cilju upotrebljen je supstrat sastavljen od 0.1 mol/L fosfatnog pufera (pH 8.0)-10 mL, α -naftil butirata (Sigma diagnostics)-0.5 mg, 2.33×10^{-4} mol/L u 0.5 mL acetona koji se brzo dodaje i Fast Garnet GBC soli (Sigma diagnostics)-3 mg (9×10^{-10} mol/L).

Procedura bojenja je obuhvatila fiksiranje preparata u parama formalina u toku 4 minuta, ispiranje preparata destilovanom vodom, prelivanje preparata sveže napravljenim rastvorom supstrata, inkubaciju sa supstratom u mraku na sobnoj temperaturi u trajanju od 15 do 30 minuta, ispiranje preparata destilovanom vodom, sušenje preparata na vazduhu i bojenje preparata Harris ili Karazzi hematoksilinom u trajanju od 5 minuta. Pozitivna reakcija se manifestovala pojavom braon do ljubičasto prebojenih granula.

Citohemijska analiza preparata karotidnih arterija i plakova vršena je pomoću svetlosnog mikroskopa BIO-OPTICA (uveličanje 100x i imerzija). Zatim su specifična polja fotografisana korišćenjem digitalnog fotoaparata na mikroskopu OLYMPUS DP70 (uveličanje 40x, 100x i 400x).

Citohemijska procena BUT esterazne aktivnosti metodom indeksiranja i skoriranja

U proceni citohemijske aktivnosti BUT pošlo se od iskustava i standarda postavljenih za semikvantitativnu procenu pozitivnosti citohemijskih reakcija metodom indeksiranja i skora (engl. scoring method), koju su opisali Hejho (Hayhoe) i Kvalino (Quaglino) (10), a modifikovali Cvetković, Radak i Đorđević-Denić (21). Navedena iskustva se odnose na procenu pozitivnosti citohemijskih reakcija na hematološkim preparatima, kao i na preparatima alveolarnih makrofaga dobijenim bronhoalveolarnom lavažom na eksperimentalnim modelima.

Skoring sistem je zasnovan na prisustvu različitog stepena esterazne pozitivnosti u granulocitnoj, limfocitnoj i monocitno-makrofagnoj populaciji ćelija (22).

Procena stepena BUT esterazne aktivnosti se vrši na 100 ćelija, tako što se pozitivnost u vidu većeg

broja grubih granula označava sa "+++", pozitivnost u vidu umereno grubih granula označava se sa "++", pozitivnost u vidu sitnijih diskretnih granula u citoplazmi označava se sa "+", dok se negativna reakcija označava sa "0". Suma aktivnosti 100 ćelija daje BUT esterazni skor za svaki preparat, čije se varijacije kreću od 0 do 300 (22). Aktivnost BUT procenjena je na 100 ćelija, koje pokazuju različit stepen aktivnosti (od negativnog do izrazito pozitivnog), pri čemu je na osnovu zajedničkog indeksa (skora) određivana srednja vrednost skora aktivnosti ovog enzima. Kvantifikacijom dobijenih srednjih vrednosti skora, određivana je relativna vrednost skora (22). Relativna vrednost skora predstavlja izraz srednje vrednosti skora u odnosu na maksimalnu vrednost skora za pojedinačnu aktivnost ispitivane esterase, izražena u obliku procenta (22). Analiza rezultata istraživanja vršena je na osnovu odgovarajućih statističkih parametara (aritmetička sredina, standardna devijacija, koeficijent varijacije), metoda (Studentov t test, analiza varijanse / ANOVA/, Fišerov /Fisher/ post hoc test, Kruskal-Wallis test), i kompjuterskih statističkih programa (STATISTICA 7.0 Professional Edition, SPSS 15.0 Professional Edition).

Rezultati

Pol i starost bolesnika. - Raspodela pacijenata ispitivanih grupa po polu prikazana je u tabeli 1.

Tabela 1. Raspodela ispitivanih pacijenata po polu

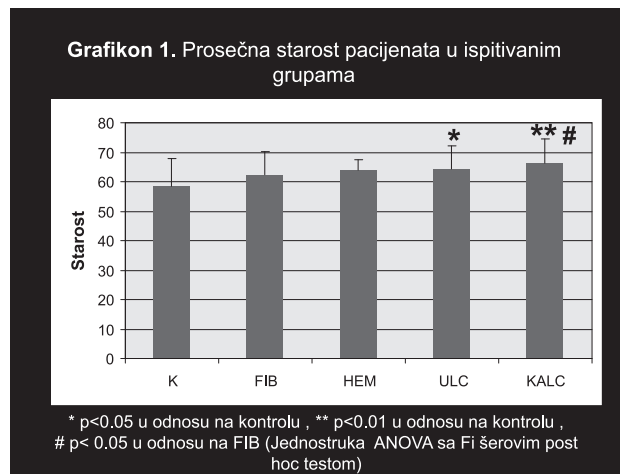
Rezultati

Tabela 1. Raspodela pacijenata ispitivanih morfoloških grupa po polu

Grupa	Muški pol	Ženski pol	Svega	%
K	2	6	8	20
FIB	4	2	6	15
HEM	2	1	3	7.5
ULC	8	4	12	30
KALC	6	5	11	27.5
UKUPNO	22	18	40	100

Analizom starosnog doba ispitanika u našoj studiji, dobijeni su rezultati prikazani kao srednja vrednost ($\bar{X}$) $\pm$ standardna devijacija (SD) (grafikon 1).

Grafikon 1. Starosna raspodela ispitivanih pacijenata



p - nivo statističke značajnosti;

* - *p* < 0.05 statistički značajna razlika u odnosu na kontrolnu grupu (K);

** - *p* < 0.01 visoko statistički značajna razlika u odnosu na kontrolnu grupu (K);

- *p* < 0.05 statistički značajna razlika u odnosu na grupu sa fibrolipidnim plakom (FIB);

Prosečna starost svih ispitivanih bolesnika (22 muškarca i 18 žena) iznosila je 62.90 ± 8.32 godine. Takođe, zbirno posmatrano u grupi bolesnika sa karotidnom aterosklerozom bilo je 20 muškaraca i 12 žena (tabela 1), čija je starost u proseku iznosila 63.85 ± 6.57 godine.

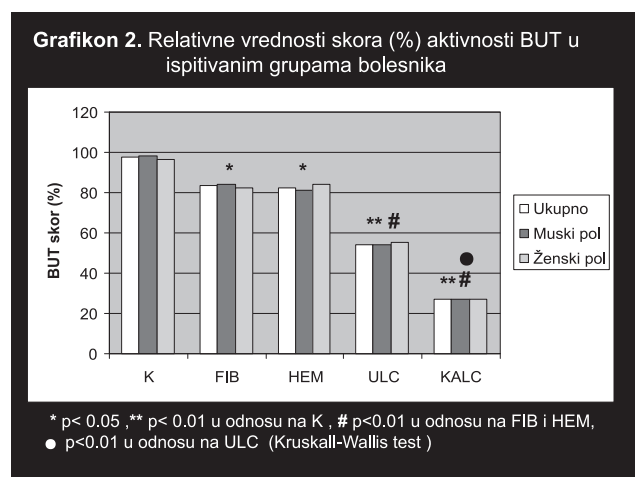
Kao što se može uočiti, u kontrolnoj grupi (K) je bilo 2 muškarca i 6 žena, tj. 20% ispitanika (tabela 1), koji su u proseku bili stari 58.45 ± 9.37 godina (grafikon 1). U grupi sa fibrolipidnim plakom (FIB) bilo je 6 bolesnika (/15% ispitanika/ 4 muškarca i 2 žene) (tabela 1) prosečne starosti 62.49 ± 7.59 (grafikon 1). U grupi sa intra-plakalnom hemoragijom (HEM) bilo je 3 bolesnika (/7.5% ispitanika/ 2 muškarca i 1 žena) (tabela 1) prosečne starosti 63.76 ± 3.83 (grafikon 1). Morfološku grupu sa egzulcerisanim karotidnim plakom (ULC) činilo je 12 bolesnika (/30% ispitanika/ 8 muškaraca i 4 žene) (tabela 1) prosečne starosti 64.20 ± 7.84 (grafikon 1), dok je u morfološkoj grupi sa izraženim kalcifikacijama karotidnog plaka (KALC) bilo 11 bolesnika (/27.5% ispitanika/ 6 muškaraca i 5 žena) (tabela 1) prosečne starosti 66.28 ± 8.37 (grafikon 1).

Analizom varijanse (ANOVA) za kontinuirane varijable je ustanovljeno da postoji razlika u prosečnim godinama starosti ovih pet grupa ispitanika. Fišerovom post hoc metodom testiranja međugrupnih razlika značajnosti pokazano je

da takav rezultat ($p < 0.01$) najvećim delom potiče od razlike između prosečnih godina starosti pacijenata sa kalcifikovanim ateroskleroznim plakom (66.28 ± 8.37) i ispitanika kontrolne grupe (58.45 ± 9.37) (grafikon 1).

Analiza BUT esterazne aktivnosti u kontrolnoj i morfološkim grupama. Rezultati dobijeni analizom aktivnosti BUT u ispitivanim grupama pacijenata su predstavljeni na grafikonu 2.

Grafikon 2. Relativne vrednosti skora (%) aktivnosti BUT u ispitivanim bolesnika



p - nivo statističke značajnosti;

* - $p < 0.05$ statistički značajna razlika u odnosu na kontrolnu grupu (K);

** - $p < 0.01$ visoko statistički značajna razlika u odnosu na kontrolnu grupu (K);

- $p < 0.01$ visoko statistički značajna razlika u odnosu na grupe sa fibrolipidnim plakom (FIB) i intraplakalnom hemoragijom (HEM);

• - $p < 0.01$ visoko statistički značajna razlika u odnosu na grupu sa egzulcerisanim plakom (ULC);

U odnosu na ukupnu relativnu vrednost skora (% skora) aktivnosti BUT koja je registrovana u kontrolnoj grupi, relativna vrednost skora aktivnosti ove esteraze je u muškaraca viša, dok je u žena niža (grafikon 2). Uz to, u odnosu na ukupnu relativnu vrednost skora (% skora) aktivnosti BUT, koja je registrovana u ispitanika sa fibrolipidnim plakom, relativna vrednost skora aktivnosti ove esteraze je u muškaraca viša, dok je u žena niža (grafikon 2).

Nasuprot tome, u pacijenata sa intraplakalnom hemoragijom relativna vrednost skora (% skora) aktivnosti BUT je u odnosu na ukupnu relativnu vrednost skora (% skora) aktivnosti ove esteraze niža, dok je u pacijentkinja viša (grafikon 2).

U odnosu na ukupnu relativnu vrednost skora (% skora) aktivnosti BUT, koja je registrovana u ispitanika sa egzulcerisanim plakom, relativna vrednost skora aktivnosti ove esteraze je u muškaraca niža, dok je u žena viša (grafikon 2).

U pacijenata sa kalcifikovanim plakom relativna vrednost skora (% skora) aktivnosti BUT je u odnosu na ukupnu relativnu vrednost skora (% skora) aktivnosti ove esteraze neznatno niža, dok je u pacijentkinja nešto viša (grafikon 2).

Smanjenje aktivnosti BUT u FIB grupi u odnosu na ukupnu relativnu vrednost skora ovog enzima i njegove vrednosti u oba pola u kontrolnoj grupi je statistički značajno ($p < 0.05$) (grafikon 2).

Statistički značajno smanjenje ($p < 0.05$) aktivnosti BUT je registrovano i u HEM grupi u odnosu na ukupnu relativnu vrednost skora ovog enzima i njegove vrednosti u oba pola u kontrolnoj grupi (grafikon 2).

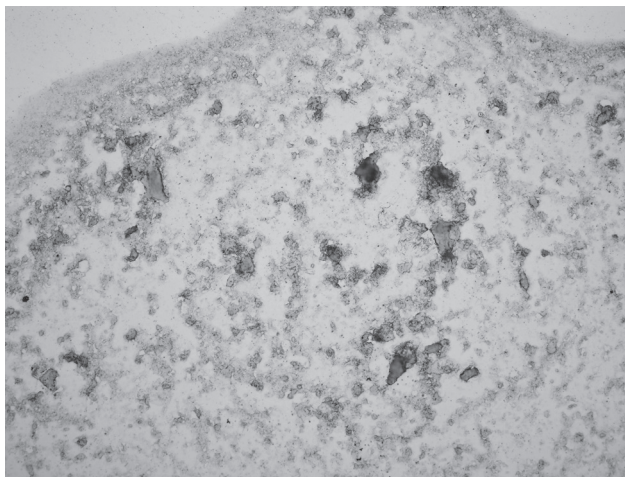
Visoko statistički značajno smanjenje ($p < 0.01$) aktivnosti BUT je registrovano u ULC i KALC grupi u odnosu na ukupnu relativnu vrednost skora ovog enzima i njegove vrednosti u oba pola u kontrolnoj grupi (grafikon 2).

Poređenjem relativne vrednosti BUT skora između HEM i FIB grupe nije uočeno statistički značajno povećanje ($p > 0.05$) aktivnosti BUT u HEM grupi u odnosu na ukupnu relativnu vrednost skora ovog enzima i njegove vrednosti u oba pola u FIB grupi (grafikon 2).

Visoko statistički značajno smanjenje ($p < 0.01$) aktivnosti BUT je nađeno u ULC i KALC grupi u odnosu na ukupnu relativnu vrednost skora ovog enzima i njegove vrednosti u oba pola u FIB grupi, u ULC grupi u odnosu na ukupnu relativnu vrednost skora ovog enzima i njegove vrednosti u oba pola u HEM grupi, kao i u KALC grupi u odnosu na ukupnu relativnu vrednost skora ovog enzima i njegove vrednosti u oba pola u HEM i ULC grupi (grafikon 2).

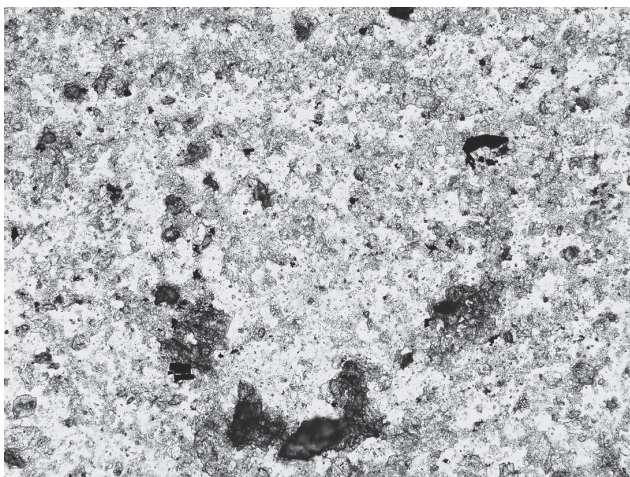
Citohemijska analiza BUT esterazne aktivnosti u kontrolnoj i morfološkim grupama. Metodološki pristup korišćen u našem radu, potvrđen je i citohemijski. Rezultati citohemijske analize BUT esterazne aktivnosti preparata karotidnih arterija i plakova, koji su prikazani na slikama 1-5, ukazuju na različit stepen esterazno pozitivnih makrofaga i granulocita.

Slika 1. BUT - imprint kontrolne grupe (K)



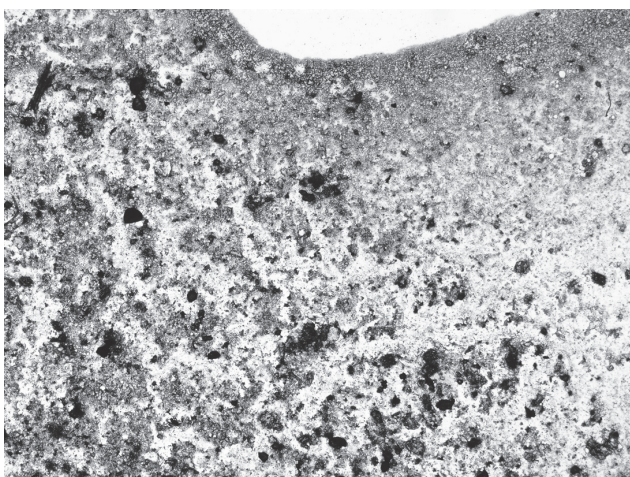
Uočavaju se difuzno raspoređeni makrofagi sa krupnim granulama, mahom na obodu ćelije (uveličanje 100 x).

Slika 2. BUT - imprint fibrolipidnog plaka (FIB)



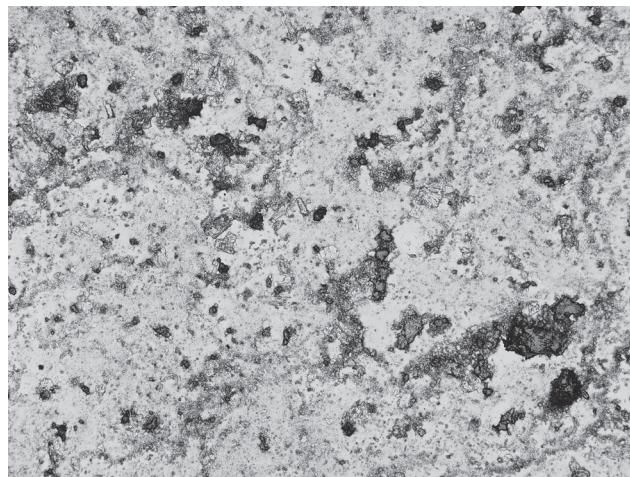
Vide se izrazito esterazno pozitivni makrofagi sa krupnim granulama i mnoštvo lipofaga (uveličanje 400 x).

Slika 3. BUT - imprint egzulcerisanog plaka (ULC)



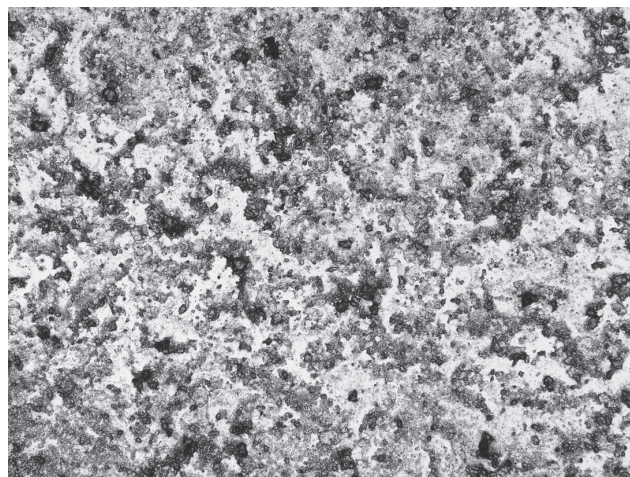
Uočava se mnoštvo lipofaga, kao i pozitivnih makrofaga i granulocita, naročito u egzulcerisanom oštećenju intime karotidne arterije (uveličanje 100 x).

Slika 4. BUT - imprint krvarenja u plaku (HEM)



Uočava se intraplakalna hemoragija praćena prisustvom velikog broja lipofaga i difuzno raspoređenih pozitivnih granulocita i makrofaga (uveličanje 40 x).

Slika 5. BUT - imprint kalcifikovanog plaka (KALC)



Uočavaju se kalcifikati, lipofagi i esterazno pozitivni makrofagi i granulociti (uveličanje 40 x).

Diskusija

Starost ispitanika. - Ateroskleroza predstavlja globalni zdravstveni problem. U razvijenim zemljama ateroskleroza i njene komplikacije dovode do 50% svih smrtnih ishoda i 1/3 smrtnih ishoda kod ljudi između 35. i 65. godine života. Od ukupnog broja obolelih od ateroskleroze, više od 60% oboljeva u zemljama u razvoju. Od tog broja, više od 50% mortaliteta i invaliditeta pripada bolestima srca i moždanom udaru. Procenjuje se da globalna prevalenca karotidne ateroskleroze iznosi oko 25%, a prevalenca ateroskleroznog plaka oko 13% (23).

U našem istraživanju prosečna starost svih ispitivanih bolesnika iznosila je 62.90 ± 8.32 godine.

Bolesnici sa aterosklerozom karotidne arterije su bili u proseku nešto stariji (63.85 ± 6.57) u odnosu na kontrolnu grupu (58.45 ± 9.37). Ovakav naš nalaz je u skladu sa opšte prihvaćenim mišljenjem da je ateroskleroza bolest starijeg životnog doba. Uz to, naše istraživanje je pokazalo da među bolesnicima sa komplikacijama ateroskleroznih lezija karotidnog plaka preovlađuju muškarci starosti između 55 i 65 godina, što je u saglasnosti sa literaturnim podacima (22, 24, 25).

Analiza starosti ispitivanih bolesnika u odnosu na morfološke grupe je pokazala da su pripadnici morfološke grupe sa kalcifikovanim karotidnim plakom značajno stariji u odnosu na bolesnike u kontrolnoj grupi ($p < 0.01$) (grafikon 1), potvrđujući, na taj način, međusobnu povezanost starenja i uznapredovale ateroskleroze. Naime, poznato je da sa starenjem kod bolesnika sa karotidnom aterosklerozom dolazi do povećanja incidence kalcifikovanih plakova, a smanjenja incidence fibroznih plakova, što je praćeno redukcijom glatkih mišićnih ćelija unutar samog plaka (26-28). Različite studije sprovedene u poslednje dve decenije su pružile potvrdu da starenje arterija, koje se karakteriše zadebljanjem i dilatacijom zidova arterija (prvenstveno intime i medije), značajno utiče na razvoj ateroskleroze (29, 30).

Međusobnu povezanost starenja i uznapredovale ateroskleroze, koja predstavlja nalaz dobijen u našem istraživanju, potkrepljuje i činjenica da je povećana biosinteza fosfolipida, masnih kiselina i sterola dokazana u arterijama u kojima su već nastali ateromi. Osim toga, pokazano je da je aktivnost lipaza i esteraza smanjena u aortama eksperimentalnih životinja na aterogenoj dijeti, uz lokalni gubitak aktivnosti adenozintrifosfataze (ATP-aze) u ateromatoznim lezijama (31). Takođe je naglašen značaj funkcijskog stanja lizozomskog enzimskog sistema arterijskog zida za normalnu rezistenciju intime u odnosu na hiperlipemiju i lezije endotela. Lizozomski enzimi mogu da dovedu do generalizovane razgradnje ćelijskih komponenti bitnih za kontinuirano samoobnavljanje. Ovaj enzimski sistem je uključen u proces starenja (nakupljanja lipofuscina, tj. pigmenta starenja). Smatra se da povećano taloženje estara holesterola u glatkim mišićnim ćelijama arterija može biti povezano sa delimičnim nedostatkom lizozomske hidrolaze holesterolskih estara. Estri holesterola se nagomilavaju u lizozomima i mogu da dovedu do ćelijske smrti. U saglasno-

sti sa ovim, osobe kod kojih je ustanovljena ova retko zastupljena enzimopatija mogu imati ubrzanu aterosklerozu (32).

Pol bolesnika.- Od 40 bolesnika u našoj studiji, 22 bolesnika je bilo muškog pola, dok je 12 bolesnika pripadalo ženskom polu. Kontrolna grupa je obuhvatila 2 (25%) muškarca i 6 (75%) žena. U grupi bolesnika sa karotidnom aterosklerozom bilo je 20 (63%) muškaraca i 12 (37%) žena (tabela 1). Ovaj podatak je u skladu sa činjenicom da su procesu ateroskleroze podložnije osobe muškog pola (33).

Analizom raspodele ispitanika različitih morfoloških grupa i kontrolne grupe po polu, dobijeni su rezultati koji pokazuju razliku između grupa, pre svega usled većeg prisustva žena u kontrolnoj grupi u poređenju sa ostalim morfološkim grupama (tabela 1). Takođe, kao što je već naglašeno, registrovan je veći broj pripadnika muškog pola u bolesnika sa značajnom aterosklerozom karotidne arterije u svim morfološkim grupama u odnosu na ženski pol (tabela 1). Distribucija naših ispitanika po polu je u skladu sa većom incidencom karotidne ateroskleroze u muškoj populaciji (33, 34), odnosno kinkinga i koilinga u ženskoj populaciji (35). Pokazano je, takođe, da u svim uzrasnim grupama muškarci imaju veći procenat "mekših" karotidnih plakova, koji su bogati lipidima, u odnosu na žene (36). Pored toga, kod žena posle menopauze je utvrđena značajna razlika u smislu veće prevalencije karotidnog plaka ($p < 0.001$) u odnosu na žene pre menopauze (37). Posebno je interesantno novije istraživanje uticaja muških polnih hormona na karotidnu aterosklerozu, koje ukazuje na naglašen razvoj zadebljanja zida zajedničke karotidne arterije i karotidnog bulbosa u sredovečnih muškaraca u tzv. andropauzi (testosteron < 9.8 nmol/L) (38).

BUT esterazna aktivnost u kontrolnoj i morfološkim grupama.- Analizom citohemijske aktivnosti BUT registrovano je statistički značajno smanjenje ($p < 0.05$) aktivnosti BUT u grupi ispitanika sa fibrolipidnim plakom u odnosu na ukupnu relativnu vrednost skora ovog enzima i njegove vrednosti u oba pola u kontrolnoj grupi (grafikon 2). S obzirom da BUT spada u monocitne esteraze (MSE-engl. *monocyte specific / carboxylesterase*/) koje stupaju u reakciju sa velikim brojem različitih supstrata, očekivali bismo da BUT esterazni skor bude veći u morfološkim grupama koje odražavaju veći stepen egzulceraci-

je ateromatozno promenjenog karotidnog plaka. Međutim, naše istraživanje BUT esteraznog skora pokazalo je da je u odnosu na vrednosti u kontrolnoj grupi nađeno značajno smanjenje BUT esteraznog skora u pacijenata sa fibrolipidnim plakom. Ovakav naš rezultat se može dovesti u vezu sa slabim stepenom opšte celularnosti citohemijskih imprinata fibrolipidnih karotidnih plakova ispitanika u ovoj morfološkoj grupi u odnosu na kontrolnu grupu (slike 1 i 2). Nizak stepen celularnosti fibrolipidnog plaka ukazuje na relativno stabilnu sliku ćelijske infiltracije intimalnog dela plaka. Osim toga, ovakav naš rezultat BUT skora ukazuje, takođe, i na relativnu zastupljenost BUT aktivnih monocita.

Statistički značajno smanjenje ($p < 0.05$) aktivnosti BUT je registrovano i u ispitanika sa intraplakalnom hemoragijom ($p < 0.05$), egzulcerisanim i kalcifikovanim plakom ($p < 0.01$) u odnosu na ukupnu relativnu vrednost skora ovog enzima i njegove vrednosti u oba pola u kontrolnoj grupi (grafikon 2). Moguće objašnjenje ovakvog našeg rezultata povezano je sa niskim stepenom celularnosti pomenutih morfoloških grupa (slike 3-5) u poređenju sa kontrolnim vrednostima. Ovakav naš rezultat je u saglasnosti sa ranije objavljenim podacima u literaturi koji ukazuju na varijacije aktivnosti BUT u populaciji monocita periferne krvi. Takve varijacije opisane su kod pojedinačnih monocita, što je od velikog značaja u odnosu na već konstatovanu slabu celularnost citohemijskih imprinata u ispitanika sa intraplakalnom hemoragijom, egzulcerisanim i kalcifikovanim plakom u našem istraživanju. Ovaj naš nalaz naglašava potrebu da se ispitivanje BUT esteraznog skora upoređuje sa esteraznim skorom kako α -naftil acetat esteraze (ANAE), tako i α -naftil hloracetat esteraze (CHL), radi preciznije identifikacije aterogeno potentnih ćelija (10, 19, 22, 39, 40).

Visoko statistički značajno povećanje ($p < 0.01$) aktivnosti BUT u grupi ispitanika sa krvarenjem u plaku u odnosu na ispitanike sa egzulcerisanim plakom (grafikon 2) predstavlja naš nalaz, koji ukazuje na veću citohemijsku aktivnost ćelija u karotidnom plakom ispitanika sa intraplakalnom hemoragijom u odnosu na relativno "mirnu" citohemijsku aktivnost ćelija u karotidnom tkivu pacijenata sa morfološki nestabilnim egzulcerisanim plakom (slike 3 i 4). Ispoljavanju većeg BUT esteraznog skora u ispitanika HEM grupe u poređenju sa ispitanicima ULC grupe doprinosi i proces or-

ganizacije, tj. ožiljavanja egzulcerisane karotidne lezije.

Visoko statistički značajno smanjenje ($p < 0.01$) aktivnosti BUT u pacijenata sa egzulcerisanim i kalcifikovanim plakom u odnosu na pacijente sa fibrolipidnim plakom i intraplakalnom hemoragijom (grafikon 2) može se objasniti većom pojedinačnom citohemijskom aktivnošću ćelija karotidnog plaka ispitanika FIB grupe u odnosu na ispitanike ULC i KALC grupe. Ovakav naš rezultat se može tumačiti i slabijim BUT esteraznim odgovorom u intraplakalnoj hemoragiji usled većeg prisustva eritrocita i trombocita, koji normalno pokazuju malu BUT esteraznu aktivnost (10, 41).

U našoj studiji je utvrđeno visoko statistički značajno smanjenje ($p < 0.01$) aktivnosti BUT u ispitanika sa kalcifikovanim plakom u odnosu na aktivnost koji je ovaj enzim ispoljavao u ispitanika sa krvarenjem u plaku (grafikon 2). Ovakav naš nalaz je u saglasnosti sa publikovanim rezultatima istraživanja intraplakalne hemoragije, koji ukazuju da još u ranoj fazi razvoja ovog morfološkog tipa karotidnog plaka dolazi do aktiviranja trombocita i oslobađanja mitogena na mestu disfunkcije endotela. Pokazano je, takođe, da aktiviranje koagulacijskog sistema ima sposobnost da aktivira različite ćelije u krvi i aterosklerozno izmenjenom arterijskom zidu, uključujući i makrofage. Uz to, značajno je napomenuti i da ponavljano taloženje elemenata krvi (trombocita i fibrina) na endotelu prouzrokuje stvaranje mikrotromba. U takvoj situaciji, iako stariji depoziti degenerišu, stalno se talože novi, a trombociti neprekidno oslobađaju faktore rasta koji, pored ostalog, podstiču makrofage na pojačanu aktivnost (3, 42, 43).

Zaključak

Statistički značajne varijacije aktivnosti alfa naftil butirat esteraze u našem istraživanju mogle bi da ukažu na značaj esterazne aktivnosti u procesu aterogeneze. S tim u vezi, uočene varijacije aktivnosti alfa naftil butirat esteraze u ispitanika sa karotidnim plakovima različite morfologije upućuju na potrebu detaljnijeg ispitivanja uloge ovog enzima u tkivu aterosklerozno izmenjenih arterija.

Literatura

1. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340(2):115-26.
2. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420(19/26):868-74.
3. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352:1685-95.
4. Kanjuh V, Lastić-Maletić S, Velimirović D. Ateroskleroza. U: Maksimović Ž (gl. ur.). *Osnove vaskularne hirurgije i angiologije*, CIBID, Beograd, 2004, 93-5.
5. Vučević D, Radak Đ, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I. Fibrozni plak kao metabolički stadijum aterogeneze. *Medicinska istraživanja* 2009; 43(1):35-47.
6. Vučević D, Čolić J, Šljivančanin T, Radosavljević T, Mladenović D. Lipidni profil i sadržaj gvožđa u serumu kunića sa eksperimentalnom aterosklerozom. *Medicinska istraživanja* 2010; 44(2):43-52.
7. Dollery CM, Libby P. Atherosclerosis and proteinase activation. *Cardiovasc Res* 2006; 69:625-35.
8. Gorenne I, Kavurma M, Scott S, Bennett M. Vascular smooth muscle cell senescence in atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 2006; 72:9-17.
9. Rodriguez-Porcel M, Lerman LO, Herrmann J, Sawamura T, Napoli C, Lerman A. Hypercholesterolemia and hypertension have synergistic deleterious effects on coronary endothelial function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:885-91.
10. Hayhoe FGJ, Quaglini D. *Haematological cytochemistry*, Churchill & Livingstone, Edinburgh, London, 1990.
11. Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, et al. Global strategy for the diagnosis, management and prevention of COPD: GOLD executive summary. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176:532-55.
12. Krugmann J, Neuenfeld M, Krautschick I. Peroxide treatment changes activity of non specific esterase in vascular endothelium of isolated pig aorta in vitro. *Exp Toxicol Pathol* 1997; 49(5):355-9.
13. Calore EE, Sesso A, Puga FR, Cavaliere MJ, Calore NM, Weg R. Sarcoplasmic lipase and non-specific esterase inhibition in myofibers of rats intoxicated with the organophosphate isofenphos. *Exp Toxicol Pathol* 1999; 51(1):27-33.
14. Da Fonseca LM, Yavo B, Catalani LH, Falcao RP, Brunetti IL, Campa A. Chemiluminescent determination of esterases in monocytes. *J Biolumin Chemilumin* 1998; 13(4):195-200.
15. Tselepis AD, John Chapman M. Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet activating factor-acetylhydrolase. *Atheroscler Suppl* 2002; 3(4):57-68.
16. Pussantino L, Patrino R, Cianciotta A, et al. A phylogenetic comparison between acute monocytic leukemia cells and monocytes-macrophages in lower vertebrates. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2003; 25(1):87-99.
17. Uphoff CC, Drexler HG. Biology of monocyte-specific esterase. *Leukemia and Lymphoma* 2000; 39(3-4):257-70.
18. Higgy KE, Burns GF, Hayhoe FGJ. Discrimination of B, T and null lymphocytes by esterase cytochemistry. *Scand J Haematol* 1977; 18:437-42.
19. Cvetković P. Vrednost citohemijskog određivanja normalnih i patoloških T, B i "nulla" limfocita. Doktorska disertacija, Medicinski fakultet, Beograd, 1981.
20. Cvetković P. Alpha naphthyl AS-D chloroacetate esterase in pH 8.0 substrate a marker for non T non B cALL a positive lymphoblasts. *Med Pediatr Oncology* 1989; 17:340-7.
21. Đorđević-Denić G, Radak Đ, Cvetković P, Perović M. Cytochemical examination of the amount of lipids in alveolar macrophages during experimental atherosclerosis. *Yugoslav Physiol et Pharmacol Acta* 1987; 23(1):105-6.
22. Cvetković Z. Citohemijska analiza i određivanje oligoelemenata u aterosklerotično promenjenom karotidnom plaku. Doktorska disertacija, Medicinski fakultet, Beograd, 2000.

23. Đurić D. Ateroskleroza:epidemiologija, faktori rizika i globalno uspešne intervencije. U: Đurić MD (ur.). Ateroskleroza: faktori rizika, patogeneza, terapija, prevencija: sa međunarodno prihvaćenim preporukama za prevenciju ateroskleroze. Društvo fiziologa Srbije (Kragujevac: Grafičar), Beograd, 2005, 7-13.
24. Oostrom O. Age-related changes in plaque composition. A study in patients suffering from carotid artery stenosis. *Cardiovasc Pathol* 2005; 14:126-34.
25. Rapp JH, Owens CD, Johnson MD. Blood vessel and lymphatic disorders. In: Mc Phee SJ, Papadakis MA, editors. *Current Medical Diagnosis and Treatment*. New York, Chicago, London: Mc Graw Hill Companies, Inc; 2011, 446-69.
26. Tintut Y, Demer LL. Recent advances in multifactorial regulation of vascular calcification. *Curr Opin Lipidol* 2001; 12:555-60.
27. Doherty TM, Fitzpatrick LA, Shaheen A. Genetic determinants of arterial calcification associated with atherosclerosis. *Mayo Clin Proc* 2004; 79:197-210.
28. Rattazzi M, Bennett BJ, Bea F, Kirk EA, Ricks JL, Speer M. Calcification of advanced atherosclerotic lesions in innominate arteries of apoE-deficient mice. Potential role of chondrocyte-like cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:1420-5.
29. Cheng KS, Mikhaliadis DP, Hamilton G, Seifalian MA. A review of the carotid and femoral intima-media thickness as an indicator of the presence of peripheral vascular disease and cardiovascular risk factors. *Cardiovasc Res* 2002; 54:528-38.
30. Hegele RA, Al-Shali K, Khan HMR, et al. Carotid ultrasound in one, two and three dimensions. *Vasc Dis Prev* 2005; 2:87-91.
31. Velkovski S. Bazična istraživanja ateroskleroze i eksperimentalni modeli. U: Đurić MD (ur.). Ateroskleroza: faktori rizika, patogeneza, terapija, prevencija: sa međunarodno prihvaćenim preporukama za prevenciju ateroskleroze. Društvo fiziologa Srbije (Kragujevac: Grafičar), Beograd, 2005, 73-8.
32. Porth MC. Cellular adaptation, injury and death. In: Porth MC (ed.). *Pathophysiology. Concepts of altered health states*. Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, 2005, 103-17.
33. Joakimsen O, Bõnaa KH, Bugge ES, Jacobsen BK. Age and Sex Differences in the Distribution and Ultrasound Morphology of Carotid Atherosclerosis The Tromso Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:3007-13.
34. Lawlor DA. Sex differences in body fat distribution and carotid intima media thickness: cross sectional survey using data from the British regional heart study. *J Epidemiol Community Health* 2004; 58:700-4.
35. Togay-Isikay C. Carotid artery tortuosity, kinking, coiling: stroke risk factor, marker or curiosity? *Acta Neurol Belg* 2005; 105(2):68-72.
36. Fujii K, Abe I, Ohya Y, Ohta Y. Risk factors for the progression of early carotid atherosclerosis in a male working population. *Hypertens Res* 2003; 26: 465-71.
37. Sutton-Tyrrell K. Carotid atherosclerosis in premenopausal and postmenopausal women and its association with risk factors measured after menopause. *Stroke* 1998; 29:1116-21.
38. Makinen J. Increased carotid atherosclerosis in andropausal middle-aged men. *JACC* 2005; 45(10):1603-8.
39. Sandikci M, Eren U, Kum S. Alpha-naphthyl acetate esterase activity in the spleen, lymph nodes and conjunctiva associated lymphoid tissues of camels (*Camelus dromedarius*). *Revue Méd Vét* 2005; 156(2):99-103.
40. Özcan Z. Determination of alpha naphthyl acetate esterase activity in the peripheral blood leukocytes in Angora rabbits. *Turk J Vet Anim Sci* 2005; 29:881-4.
41. Catovsky D. *Leukaemic cells*, Churcil & Livingstone, London, 1992.
42. Durand E, Scoazec A, Lafont A, Boddaert J, Hajzen AA, Addad F. In vivo induction of endothelial apoptosis leads to vessel thrombosis and endothelial denudation: a clue to the understanding of the mechanisms of thrombotic plaque erosion. *Circulation* 2004; 109:2503-6.
43. Aikawa M, Libby P. The vulnerable atherosclerotic plaque. Pathogenesis and therapeutic approach. *Cardiovasc Pathol* 2004; 13:125-38.

ATEROSKLEROZA I EFEKTI OKSIDACIJE LIPOPROTEINA MALE GUSTINE U PATOGENEZI ARTEROSKLEROZE

ATHEROSCLEROSIS AND EFFECT OF OXIDATION LOW DENSITY LIPOPROTEIN IN PATHOGENESIS OF ATHEROSCLEROSIS

¹Milan Obradović, ¹Dragana Nikolić, ¹Branislava Dobutović, ¹Emina Sudar, ¹Sanja Soskić, ²Slobodan Tanasković, ²Miljana Boljević, ³Biljana Mušicki, ²Đorđe Radak, i ¹Esma R. Isenović

Sažetak: Ateroskleroza se manifestuje kao bolest koronarnih, perifernih i cerebrovaskularnih arterija. Aterosklerotične promene dovode do sužavanja prečnika arterija što dovodi do ishemije u mnogobrojnim organima, čime je poremećeno normalno funkcionisanje kako organa tako i organizma u celini. Centralnu ulogu u patogenezi ateroskleroze zauzima aterogena dislipidemija. Razvoj ateroskleroze počinje malim oštećenjima endotela izazvanim različitim činiocima, koji mogu uticati na povećanje ekspresije adhezivnih molekula. Disfunkcionalni endotel je mesto gde dolazi do infiltracije i akumulacije lipoproteina male gustine (LDL) u vaskularnom zidu. LDL tada podleže oksidativnoj modifikaciji, a kao krajnji produkt nastaje oksidovani LDL (oxLDL). Mnogobrojna eksperimentalna istraživanja ukazuju da su male guste LDL-čestice mnogo aterogenije u poređenju sa većim i lakšim LDL česticama. LDL podleže različitom stepenu oksidacije. Minimalno oksidovani LDL (LDL(-)) pokazuje svoj aterogeni potencijal time što

stimuliše vaskularne endotelne ćelije na lučenje velikog broja pro-inflamatornih molekula kao što su adhezivni molekuli, hemotaktni proteini i faktori rasta. Za razliku od LDL(-), potpuno oksidovani LDL nema sposobnost preuzimanja putem LDL receptora već ga prepoznaju receptori "hvatači", što dovodi do formiranja makrofag penastih ćelija a u nastavku i stvaranja ateroma. Prisustvo oxLDL u cirkulaciji kod ljudi predstavlja jedan od glavnih faktora rizika od kardiovaskularnih bolesti i ateroskleroze. Buduće studije imaju zadatak da izuče šta se dešava sa oxLDL-om *in vivo*, kao i da li je i u kojoj meri oksidacija LDL koja igra ključnu ulogu u nastanku penastih ćelija, značajna u kasnijim fazama stvaranja plaka. U okviru ovog preglednog člana, izloženi su najnoviji podaci iz literature o uticaju oxLDL-a u patogenezi arteroskleroze.

Ključne reči: *Lipoproteini male gustine, oksidovani lipoproteini male gustine, ateroskleroza.*

Abstract: Atherosclerosis is manifested as a disease of coronary, cerebrovascular and peripheral arteries. Atherosclerotic changes lead to narrowing of the diameter of the arteries leading to ischemia in various organs, which disturbs the normal functioning of both organs and organism as a whole. Atherogenic dyslipidemia has a central role in the pathogenesis of atherosclerosis. Development of atherosclerosis begins with endothelial damage caused by variety of factors, which may cause an increase in expression of adhesion molecules. Dysfunctional endothelium is the place where infiltration and accumulation of

low density lipoprotein (LDL) in the vascular wall occurs. LDL undergoes oxidative modification and the final product produced is oxidized LDL (oxLDL). Numerous experimental studies suggest that small dense LDL particles are particularly atherogenic compared with larger and lighter LDL particles. LDL is subject to varying degrees of oxidation. Minimally oxidized LDL (LDL(-)) exhibits its atherogenic potential by stimulating vascular endothelial cells to secrete a large number of pro-inflammatory molecules, such as adhesion molecules, chemotactic proteins, and growth factors. Unlike the LDL(-), fully oxidized

LDL cannot bind the LDL receptors, but is recognized by scavenger receptors, which leads to the formation of macrophage foam cells and eventually atheroma.

The presence of oxLDL in the circulation in humans is a major risk factor for cardiovascular disease and atherosclerosis. Future studies are warranted to elucidate the role of oxLDL in vivo, and

whether and to what extent oxidation of LDL, which plays a key role in the development of foam cells, is critical for later stages in creating the plaque. In this review article, we present current knowledge of the impact of oxLDL in the pathogenesis of arteriosclerosis.

Key words: *low density lipoprotein, oxidized low density lipoprotein, atherosclerosis.*

Uvod

Ateroskleroza je bolest koju karakteriše nakupljanje holesterolskih naslaga u makrofagima velikih i srednjih arterija, usled delovanja mnogobrojnih sredinskih i genetskih faktora rizika kao što su: hiperlipidemija, hipertenzija, dijabetes, gojaznost, muški pol, pušenje, godine, porodična anamneza, fizička neaktivnost i infekcije [11; 21; 22; 28; 39].

Prvi stadijum u razvoju ateroskleroze jeste pojava endotelne disfunkcije, pri čemu dolazi do povećanja prijemčivosti endotela u odnosu na leukocite ili trombocite, povećane propustljivosti lipoproteina, proizvodnje vazoaktivnih molekula, citokina i faktora rasta [20].

Povećan nivo lipoproteina male gustine (LDL), odnosno oksidativno modifikovanih LDL čestica (oxLDL) u cirkulaciji predstavlja jedan od glavnih faktora rizika od ateroskleroze, pošto dovodi do zapaljenskih procesa u arterijskom zidu [4; 8]. Iako LDL čestice podležu različitom stepenu oksidacije, pokazano je da svi tipovi oxLDL-a imaju negativan uticaj na funkciju endotela, dovodeći do pojave različitih zapaljenskih mehanizama koji učestvuju u daljem razvoju ateroskleroze [32; 44].

Uloga LDL-a u pojavi i razvoju ateroskleroze

Ateroskleroza je progresivna bolest koja uključuje razvoj vaskularnih aterosklerotičnih lezija koje karakteriše nakupljanje lipida, zapaljenje, ćelijska smrt i fibroza [22; 39]. Aterosklerotične promene sužavaju prečnik arterija što ima za posledicu pojavu ishemijske u mnogobrojnim organima [12; 34; 39]. U nastavku aterosklerotski nagomilani plak može u potpunosti dovesti do začepjenja arterije, prekida cirkulacije i sprečavanja dotoka kiseonika u okolna tkiva, pri čemu može da nastupi smrt uzrokovana infarktom miokarda ili moždanim ud-

arom ili pak može doći do paralize uzrokovane šlogom [38].

Ateroskleroza je jedan od vodećih uzročnika smrti kod ljudi kako u razvijenim zemljama [16] tako i kod nas [39], u kojima svakodnevna izloženost stresu, gojaznost, fizička neaktivnost i pušenje, pripadaju faktorima koji u mnogome doprinose pojavi i razvoju ove bolesti [21]. Među ostalim faktorima koji takođe doprinose pojavi i razvoju ateroskleroze su i nasledni faktor, ishemijska bolest srca u porodičnoj anamnezi, hipertenzija, dijabetes, muški pol, godine, infekcije, povećanje LDL, smanjenje lipoproteina velike gustine (HDL), povećanje C- reaktivnog proteina, povećanje faktora kaogulacije i povećanje homocisteina [8; 20; 22]. Jedan od glavnih problema u dijagnostikovanju ateroskleroze je upravo to što fokalne promene u intimi velikih i srednjih arterija stihijski egzistiraju godinama, sve do momenta kada aterosklerotične lezije, pod fizičkim pritiskom protoka krvi, ne dovedu do ozbiljnih poremećaja što ukazuje na poodmakli stadijum već razvijene bolesti [21]. I pored toga, što u patogenezi ateroskleroze učestvuje veliki broj faktora i dalje centralnu ulogu zauzima poremećaj lipida, za koji je pokazano da predstavlja glavni katalizator aterosklerotskog procesa [13; 18]. Ključni faktori koji karakterišu aterogenu dislipidemiju su hipertrigliceridemija, nizak HDL holesterol i velika količina malih, gustih LDL čestica [1; 31].

Kod zdravih osoba endotelne ćelije imaju ključnu ulogu u održavanju homeostaze zida krvnog suda sintetišući vazoaktivne, anti-inflamatorne, anti-trombske i citostatičke agense, što pomaže u održavanju vaskularnog tonusa i štiti zidove sudova od zapaljenskih procesa, adhezije trombocita, formiranja tromba i proliferacije vaskularnih ćelija [3; 29; 40]. Razvoj ateroskleroze počinje malim oštećenjima endotela izaz-

vanim različitim činiocima, koji mogu uticati na povećanje ekspresije adhezivnih molekula, kao što su intraćelijski adhezivni molekul, adhezivni molekul vaskularnih ćelija, P-selktin i E selektin, što dovodi do adhezivnosti endotela [5]. Posebno osetljivim mestima smatraju se zapravo mesta račvanja krvnih sudova na kojima se akumuliraju viškovi cirkulišućeg LDL-a, dovodeći do endotelnog oštećenja koje se manifestuje promenama u permeabilnosti endotelne barijere [24; 41]. Disfunkcionalni endotel je mesto gde dolazi do infiltracije i akumulacije LDL-a u vaskularnom zidu [20]. Kada se infiltrira u zid krvnog suda nativni LDL postaje zarobljen i podleže kako enzimskoj tako i neenzimskoj modifikaciji, uključujući oksidaciju, lipolizu, proteolizu i agregaciju a kao krajnji produkt nastaje oxLDL [22]. Akumulacija oxLDL-a stimuliše vaskularne endotelne ćelije na lučenje velikog broja pro-inflamatornih molekula kao što su adhezivni molekul, hemotaktni proteini kao što je monocyti hemotaktni protein (MCP-1) i faktore rasta kao što je monocyti/makrofagnji faktor stimulacije kolonije (M-CSF)) [4; 30].

Oksidacija LDL-a i efekti oxLDL-a u aterosklerozi

LDL su heterogene čestice koje su klasifikovane u više različitih podklasa koje se međusobno razlikuju po veličini, gustini, fizičko-hemijskom sastavu, metabolizmu i oksidativnoj osetljivosti, kao i faktoru rizika za aterosklerozu [7]. LDL čestice se mogu podeliti u četiri podvrste: 1) velike LDL-I, 2) srednje LDL-II, 3) male LDL-III i 4) veoma male LDL-IV čestice [1]. Sve veći broj eksperimentalnih dokaza ukazuje da su male guste LDL-čestice mnogo aterogenije u poređenju sa većim i lakšim LDL česticama, duže se zadržavaju u krvotoku, a zbog svoje male veličine lakše prodiru kroz endotel gde su podložnije procesu oksidacije [1; 19; 31].

Mnogobrojni su eksperimentalni dokazi koji apostrofiraju značajnost oxLDL kao glavnog aterosklerotskog faktora [35; 36; 42]. Tako npr. eksperimentalni rezultati dobijeni na miševima su pokazali da uklanjanje oxLDL iz cirkulacije skoro u potpunosti zaustavlja progresiju ateroskleroze [14]. Takođe, prisustvo oxLDL u cirkulaciji kod ljudi predstavlja jedan od glavnih faktora rizika od kardiovaskularnih bolesti i ateroskleroze [6].

Osnovna uloga i specifičnost građe LDL čestica jeste da omogućuje transport holesterola (koji je esterifikovan oleatom) i lipida, koji su okruženi sa apolipoproteinom B-100 (Apo B-100) kroz krvotok [33] do perifernog tkiva gde se pomoću LDL receptora koji se nalaze na površini ćelija, endocitozom prebacuju u citosol i na taj način snabdevaju periferne ćelije holesterolom, koje nemaju sposobnost da ga same sintetišu [9].

Prilikom oksidacije LDL čestica, dolazi do lipidne peroksidacije i destrukcije receptora za uklanjanje LDL-a, tako da se oxLDL dalje uklanja alternativnim putem, preko makrofaga [22]. Naime oxLDL je hemotaktičan za monocite, ali inhibira migraciju makrofaga, tako što omogućava adheziju monocita za endotel i njihov prodor u subendotelni prostor, gde se monocite diferenciraju u makrofage, koje putem receptora "hvatača", koji nemaju regulacionu sposobnost po sistemu negativne povratne sprege, nekontrolisano preuzimaju oxLDL usled čega makrofage bubre i tako nastaju penaste ćelije [38]. Osim toga, makrofage sekretuju faktore rasta i citokine u većim količinama što dovodi do toga da glatke mišićne ćelije proliferišu iz medije u intimu, sintetišu ekstracelularni matriks (kolagen) i stvaraju fibroznu kapu, pri čemu nastaje plak ili aterom [8; 20; 22].

oxLDL ima nekoliko pro-aterogenih potencijala, kao što su stimulacija endotelne ćelije i monocita prema povećanju inflamatornih markera citokina, hemokina i adhezivnih molekula [25]. Takođe, pokazano je da je oxLDL mitogeničan za glatke mišićne ćelije i makrofage, ali je takođe i imunogeničan jer dovodi do stvaranja antitela i aktivacije T ćelija, izaziva inhibiciju endotelne azot-oksida sintaze (eNOS) i na taj način dovodi do vazokonstrikcije, izaziva povećanje agregacije trombocita usled smanjenja azot(II)oksida (NO), utiče na povećanje trombogenosti zbog smanjenja tkivnog aktivatora plazminogena što povećava stvaranje inhibitora aktivatora plazminogena a takođe, oxLDL utiče i na stvaranje citotoksina koji mogu indukovati proces apoptoze [38; 43; 44]. Oksidacija LDL-a uglavnom se predominantno dešava u arterijskom zidu, a vrlo retko u samoj cirkulaciji, usled dobre zaštićenosti serumskih lipoproteina i lipida od oksidacije, od strane snažne antioksidativne odbrane, dok i same LDL čestice sadrže α -tokoferol tj. antioksidativni vitamin u velikoj koncentraciji [15]. LDL podleže različitom stepenu oksidacije [44] i predpostavlja se da se

proces LDL oksidacije odvija u dve faze [35; 37]. Tokom početne faze oksidacije LDL-a, može doći do malih promena u samom Apo B-100, kao i do oksidacije nezasićenih alkilnih lanaca u estrima holesterola i fosfolipidima [32]. Ovako modifikovan LDL, naziva se minimalno oksidovani LDL ili elektronegativni LDL (LDL (-)), za koji je pokazano da još uvek ima afinitet za vezivanje za LDL receptor [44] [45], ali može dovesti do adhezije monocita za endotel a potom i migracije u subendotelni prostor tako što stimuliše endotelne ćelije i glatko mišićne ćelije da stvaraju i luče MCP-1 [4; 10]. LDL(-) stimuliše stvaranje M-CSF, koji utiče na diferencijaciju i proliferaciju monocita u makrofage [23]. Dalje, oksidacija LDL(-) se nastavlja, većina nezasićenih masnih kiselina je oksidovana pri čemu je sam Apo B-100 protein izmenjen, fragmentisan i derivatizovan, što sve zajedno dovodi do gubitka sposobnosti prepoznavanja LDL receptora i prelaska u potpuno oksidovani oblik koji prepoznaju receptori "hvatači", što dovodi do formiranja makrofag penastih ćelija [22; 35; 38].

Oksidaciju LDL čestica izazivaju različiti oksidansi, različitim mehanizmima [23; 25]. LDL može biti izložen uticaju oksidanasa poreklom iz ćelija u subendotelnom prostoru arterija ili može biti oksidovan neenzimski od strane metalnih jona prisutnih u proteinima, hemina i drugih katalizatora [25; 44]. Polinezasićene masne kiseline

u LDL česticama su posebno sklone modifikaciji u prisustvu slobodnih radikala, pri čemu nastaju različite promene uključujući i nastanak aldehida koji mogu reagovati sa amino kiselinama lizinom i tirozinom iz Apo B-100 proteina, što uzrokuje njegovu modifikacije i gubitak funkcije [27].

Zaključak

Oksidativnu modifikaciju LDL-a mogu izazvati različiti oksidansi, različitim mehanizmima [2; 17]. Da bi se sprečila oksidacija LDL-a, a time i pojava i razvoj ateroskleroze mora se detaljno ispitati šta se dešava sa oxLDL-om *in vivo*, kao i da li je oksidacija LDL koja igra ključnu ulogu u nastanku penastih ćelija, možda manje bitna u kasnijim fazama stvaranja plaka [35]. Takođe sprečavanje oksidacije LDL mora biti u korelaciji sa određenim odricanjima kod pojedinaca kao što su pušenje, alkohol, manji telesni maseni indeks i redovna fizička aktivnost [26].

Zahvalnica

Izrada ovog rada je finansirana sredstvima sa projekata br. 173033 (E.R.I.) i br. 41002 (Đ.R.) od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

LITERATURA

- [1] Berneis, K. K. and Krauss, R. M. "Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity." *J Lipid Res* (2002) 43 (9): 1363-1379.
- [2] Bruckdorfer, K. R. "Antioxidants and CVD." *Proc Nutr Soc* (2008) 67 (2): 214-222.
- [3] Cines, D. B., Pollak, E. S., Buck, C. A., et al. "Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders." *Blood* (1998) 91 (10): 3527-3561.
- [4] de Castellarnau, C., Bancells, C., Benitez, S., et al. "Atherogenic and inflammatory profile of human arterial endothelial cells (HUAEC) in response to LDL subfractions." *Clin Chim Acta* (2007) 376 (1-2): 233-236.
- [5] Demerath, E., Towne, B., Blangero, J., et al. "The relationship of soluble ICAM-1, VCAM-1, P-selectin and E-selectin to cardiovascular disease risk factors in healthy men and women." *Ann Hum Biol* (2001) 28 (6): 664-678.
- [6] Fraley, A. E. and Tsimikas, S. "Clinical applications of circulating oxidized low-density lipoprotein biomarkers in cardiovascular disease." *Curr Opin Lipidol* (2006) 17 (5): 502-509.
- [7] Galeano, N. F., Al-Haideri, M., Keyserman, F., et al. "Small dense low density lipoprotein has increased affinity for LDL receptor-independent cell surface binding sites: a potential mechanism for increased atherogenicity." *J Lipid Res* (1998) 39 (6): 1263-1273.
- [8] Galle, J., Hansen-Hagge, T., Wanner, C., et al. "Impact of oxidized low density lipoprotein on vascular cells." *Atherosclerosis* (2006) 185 (2): 219-226.
- [9] Ginsberg, H. N. "Lipoprotein physiology." *Endocrinol Metab Clin North Am* (1998) 27 (3): 503-519.
- [10] Gosling, J., Slaymaker, S., Gu, L., et al. "MCP-1 deficiency reduces susceptibility to atherosclerosis in mice that overexpress human apolipoprotein B." *J Clin Invest* (1999) 103 (6): 773-778.
- [11] Haidara, M. A., Yassin, H. Z., Zakula, Z., et al. "Diabetes and antioxidants: myth or reality?" *Curr Vasc Pharmacol* (2010) 8 (5): 661-672.
- [12] Hansson, G. K. "Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease." *N Engl J Med* (2005) 352 (16): 1685-1695.
- [13] Hazen, S. L. "Neutrophils, hypercholesterolemia, and atherogenesis." *Circulation* (2010) 122 (18): 1786-1788.
- [14] Ishigaki, Y., Katagiri, H., Gao, J., et al. "Impact of plasma oxidized low-density lipoprotein removal on atherosclerosis." *Circulation* (2008) 118 (1): 75-83.
- [15] Itabe, H. "Oxidative modification of LDL: its pathological role in atherosclerosis." *Clin Rev Allergy Immunol* (2009) 37 (1): 4-11.
- [16] Katagiri, H., Yamada, T. and Oka, Y. "Adiposity and cardiovascular disorders: disturbance of the regulatory system consisting of humoral and neuronal signals." *Circ Res* (2007) 101 (1): 27-39.
- [17] Katsiki, N. and Manes, C. "Is there a role for supplemented antioxidants in the prevention of atherosclerosis?" *Clin Nutr* (2009) 28 (1): 3-9.
- [18] Koba, S. and Hirano, T. "[Dyslipidemia and atherosclerosis]." *Nippon Rinsho* (2011) 69 (1): 138-143.
- [19] Koba, S., Yokota, Y., Hirano, T., et al. "Small LDL-cholesterol is superior to LDL-cholesterol for determining severe coronary atherosclerosis." *J Atheroscler Thromb* (2008) 15 (5): 250-260.
- [20] Libby, P. "Inflammation in atherosclerosis." *Nature* (2002) 420 (6917): 868-874.
- [21] Libby, P. and Theroux, P. "Pathophysiology of coronary artery disease." *Circulation* (2005) 111 (25): 3481-3488.
- [22] Lusis, A. J. "Atherosclerosis." *Nature* (2000) 407 (6801): 233-241.
- [23] Madamanchi, N. R., Vendrov, A. and Runge, M. S. "Oxidative stress and vascular disease." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* (2005) 25 (1): 29-38.
- [24] Mannarino, E. and Pirro, M. "Endothelial injury and repair: a novel theory for atherosclerosis." *Angiology* (2008) 59 (2 Suppl): 69S-72S.
- [25] Miller, Y. I., Choi, S. H., Fang, L., et al. "Lipoprotein modification and macrophage uptake: role of pathologic cholesterol transport in atherogenesis." *Subcell Biochem* (2010) 51: 229-251.

- [26] Morris, C. D. and Carson, S. "Routine vitamin supplementation to prevent cardiovascular disease: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force." *Ann Intern Med* (2003) 139 (1): 56-70.
- [27] Niki, E. "Do free radicals play causal role in atherosclerosis? Low density lipoprotein oxidation and vitamin E revisited." *J Clin Biochem Nutr* (2011) 48 (1): 3-7.
- [28] Petrovic-Oggiano, G., Damjanov, V., Gurinovic, M., et al. "[Physical activity in prevention and reduction of cardiovascular risk]." *Med Pregl* (2010) 63 (3-4): 200-207.
- [29] Quyyumi, A. A. "Endothelial function in health and disease: new insights into the genesis of cardiovascular disease." *Am J Med* (1998) 105 (1A): 32S-39S.
- [30] Rader, D. J. and Dugi, K. A. "The endothelium and lipoproteins: insights from recent cell biology and animal studies." *Semin Thromb Hemost* (2000) 26 (5): 521-528.
- [31] Rizzo, M., Kotur-Stevuljevic, J., Berneis, K., et al. "Atherogenic dyslipidemia and oxidative stress: a new look." *Transl Res* (2009) 153 (5): 217-223.
- [32] Sanchez-Quesada, J. L., Benitez, S. and Ordonez-Llanos, J. "Electronegative low-density lipoprotein." *Curr Opin Lipidol* (2004) 15 (3): 329-335.
- [33] Segrest, J. P., Jones, M. K., De Loof, H., et al. "Structure of apolipoprotein B-100 in low density lipoproteins." *J Lipid Res* (2001) 42 (9): 1346-1367.
- [34] Stary, H. C., Chandler, A. B., Dinsmore, R. E., et al. "A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* (1995) 15 (9): 1512-1531.
- [35] Steinberg, D. "The LDL modification hypothesis of atherogenesis: an update." *J Lipid Res* (2009) 50 Suppl: S376-381.
- [36] Steinberg, D. and Witztum, J. L. "Oxidized low-density lipoprotein and atherosclerosis." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* (2010) 30 (12): 2311-2316.
- [37] Stocker, R. and Keaney, J. F., Jr. "New insights on oxidative stress in the artery wall." *J Thromb Haemost* (2005) 3 (8): 1825-1834.
- [38] Stocker, R. and Keaney, J. F., Jr. "Role of oxidative modifications in atherosclerosis." *Physiol Rev* (2004) 84 (4): 1381-1478.
- [39] Tanaskovic, S., Isenovic, E. R. and Radak, D. "Inflammation as a marker for the prediction of internal carotid artery restenosis following eversion endarterectomy - Evidence from clinical studies." *Angiology* (2011).
- [40] Vanhoutte, P. M. "Endothelial dysfunction: the first step toward coronary arteriosclerosis." *Circ J* (2009) 73 (4): 595-601.
- [41] Vanhoutte, P. M. "Regeneration of the endothelium in vascular injury." *Cardiovasc Drugs Ther* (2010) 24 (4): 299-303.
- [42] Viigimaa, M., Abina, J., Zemtsovskaya, G., et al. "Malondialdehyde-modified low-density lipoproteins as biomarker for atherosclerosis." *Blood Press* (2010) 19 (3): 164-168.
- [43] Witztum, J. L. and Steinberg, D. "The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: does it hold for humans?" *Trends Cardiovasc Med* (2001) 11 (3-4): 93-102.
- [44] Yoshida, H. and Kisugi, R. "Mechanisms of LDL oxidation." *Clin Chim Acta* (2010) 411 (23-24): 1875-1882.
- [45] Yoshida, H., Quehenberger, O., Kondratenko, N., et al. "Minimally oxidized low-density lipoprotein increases expression of scavenger receptor A, CD36, and macrosialin in resident mouse peritoneal macrophages." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* (1998) 18 (5): 794-802.

TERAPIJA PNEUMONIJA UDRUŽENIH SA VENTILATORNOM POTPOROM BOLESNIKA

THERAPY OF PNEUMONIAS ASSOCIATED WITH VENTILATION SUPPORTED PATIENTS

Dejan Marković, Nevena Kalezić

Rezime: Ventilator udružena pneumonija je vrsta intrahospitalne pneumonije. Predstavlja čestu komplikaciju kod mehanički ventiliranih bolesnika i udružena je sa visokom stopom mortaliteta. Po postavljanju sumnje na ventilator udruženu pneumoniju terapiju terba započeti što pre. Terapija se sprovodi jednim antibiotikom - monoterapija ili kombinacijom više antibiotika. Izbor antibiotika zavisi od vremena nastanka pneumonije u odnosu na početak mehaničke ventilacije i prisustva faktora rizika za nastanak infekcije uzrokovane multirezistentnim sojevima bakterija. Brižljivo praćenje kliničke slike bolesnika kao i mikrobioloških i laboratorijskih rezultata neophodno je u daljem modifikovanju inicijalne antibiotske terapije i njenom pravovremenom ukidanju. Optimalna antibiotska terapija predstavlja ključ uspešnog lečenja bolesnika sa ventilator udruženom pneumonijom.

Ključne reči: *ventilator udružena pneumonija, antibiotici, farmakološki tretman, prokalcitonin.*

Uvod

Pneumonija udružena sa ventilatornom potporom bolesnika (Ventilator-associated pneumonia, VAP) se definiše kao pneumonija nastala 48 sati nakon intubacije i započinjanja mehaničke ventilacije pluća.(1,2) Nastaje kod 9-27% intubiranih bolesnika, udružena je sa visokom stopom smrtnosti 27-43%, produžava vreme boravka bolesnika u jedinici intenzivnog lečenja za 3-5 dana, produžava ukupnu dužinu bolničkog lečenja dva do tri puta i povećava cenu lečenja bolesnika.(3,4) Uzročnici VAP-a su najčešće bakterije (jedna ili više istovremeno), dok su virusi i gljivice retki uzročnici u imunokompetentnih osoba. Kolonizacija orofarinksa patogenim bakterijama je prvi korak u patogenezi VAP-a. Nakon toga kon-

Abstract: Ventilator associated pneumonia is the most common nosocomial infection encountered in the ICU setting. When ventilator associated pneumonia is suspected an antibiotic treatment should be start as soon as possible. Antibiotic therapy may include the use of single antibiotic as a monotherapy or combination of two or more antibiotics. The choice of antibiotics depends on the time of pneumonia onset and the presence of risk factors for infections with multidrug resistant pathogens. Careful monitoring of patients, microbiological and laboratory results are necessary to further modification of the initial antibiotic therapy. Optimal antibiotic therapy is the key of successful treatment in patients with ventilator associated pneumonia.

Key words: *ventilator associated pneumonia, antibiotics, pharmacologic treatment, procalcitonin.*

taminirani sekret dospeva u donje partije respiratornog trakta gde nastaje bakterijska kolonizacija, proliferacija i razvoj infekcije ako su nadjačane odbrambene snage organizma. Vreme nastanka pneumonije je važan epidemiološki podatak zbog rizika od nastanka pneumonije uzrokovane rezistentnim sojevima bakterija što bitno utiče na ishod lečenja. U odnosu na vreme nastanka razlikujemo rano nastalu pneumoniju (Early onset pneumonia) i kasno nastalu pneumoniju (Late onset pneumonia).(5) Rano nastala pneumonija je ona koja nastaje u prva 4 dana od intubacije, obično je uzrokovana bakterijskim sojevima koji su osetljivi na antibiotike i ima bolju prognozu. Kasno nastala pneumonija je ona koja nastaje nakon 4

dana (96 sati) od intubacije, uzrokovana je multirezistentnim bakterijskim sojevima (oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* species, i *Enterobacter* species) i ima lošiju prognozu. Posebnu grupu čine bolesnici kod kojih je VAP nastala u prva četiri dana od intubacije a koji su prethodno bili na antibiotskoj terapiji ili su bili hospitalizovani u poslednjih 90 dana. Oni su pod povećanim rizikom za kolonizaciju i infekciju multirezistentnim sojevima bakterija i zahtevaju tretman kao i bolesnici sa kasno nastalom pneumonijom. Dijagnoza VAP-a se postavlja na osnovu kliničke slike (povišena telesna temperatura, broj leukocita veći od 11000 ili manji od 4000, purulentan sekret) i radiografskog snimka pluća (novi ili perzistirajući infiltrat na plućima), ili korišćenjem scoring sistema (CPIS – clinical pulmonary infection score). (6) Definitivna potvrda se dobija nakon mikrobiološke analize uzorka iz disajnih puteva dobijenog nebronhoskopskim (endotrahealna aspiracija) ili bronhoskopskim metodama (bronhoalveolarna lavaža - BAL ili uzimanje uzoraka specijalnim četkicama na vrhu ktetera koji se bronhoskopski uvodi u pluća – PSB metoda).

Terapija VAP

Optimalna i pravovremena antibiotska terapija nakon postavljanja sumnje da se radi o pneumoniji udruženoj sa ventilatornom potporom je od ključnog značaja. Neadekvatna inicijalna terapija ili odložena primena odgovarajućeg antibiotika je udružena sa povećanim mortalitetom.(7) Pre započinjanja antibiotske terapije (ili promene antibiotika ako je bolesnik pre toga već bio na antibiotskoj terapiji) treba uzeti uzorak krvi i uzorak sekreta iz disajnih puteva i poslati ih na mikrobiološko ispitivanje. Izbor inicijalne empirijske antibiotske terapije zavisi od prisustva faktora rizika za nastanak infekcije multirezistentnim sojevima bakterija. Ako je pneumonija nastala u prva četiri dana od intubacije i ne postoje faktori rizika za prisustvo multirezistentnih sojeva bakterija verovatni uzročnici su gram pozitivne bakterije (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*), ili gram negativne bakterije osetljive na antibiotike (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* species, *Proteus* species, *Serratia marcescens*). U tom slučaju lek izbora je jedan od sledećih antibiotika: ceftriaxon, hinoloni (levofloxacin ili ciprofloksacin), ampicillin /sulbactam, ili ertapenem (tabela 1).(8)

Tabela 1. Inicijalna empirijska antibiotska terapija za VAP kod bolesnika bez rizika za prisustvo multirezistentnih sojeva bakterija.

Potencijalni patogeni	Preporučeni antibiotik
<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> Methicillin-osetljiv <i>Staphylococcus aureus</i> Antibiotik-osetljivi gram negativni bacilli <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterobacter</i> species <i>Proteus</i> species <i>Serratia marcescens</i>	Ceftriaxon ili Levofloxacin, moxifloxacin, ili ciprofloksacin ili Ampicillin/sulbactam ili Ertapenem

U faktore rizika za prisustvo multirezistentnih sojeva bakterija spadaju: antibiotska terapija u proteklih 90 dana, trenutna hospitalizacija duža od 5 dana, prisustvo antibiotske rezistencije u bolničkim i vanbolničkim uslovima, hospitalizacija od 2 ili više dana u proteklih 90 dana, infuziona terapija i previjanje rana u kućnim uslovima, dijaliza u prethodnih 30 dana, imunosupresivna bolest i/ili ter-

apija i član porodice koji ima infekciju multirezistentnim patogenom.(8)

Ukoliko postoje faktori rizika za prisustvo multirezistentnih sojeva bakterija ili je pneumonija nastala nakon 4 dana od intubacije i započinjanje mehaničke ventilacije pluća mogući uzročnici pneumonije su pored gore pomenutih sojeva osetljivih na antibiotike i neki od rezistentnih sojeva

bakterija: *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella-ESBL*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas maltophilia*, meticillin-resistentni *S. aureus*. U tom slučaju se preporučuje de-eskalaciona strategija primene antibiotika. Ona podrazumeva inicijalnu empirijsku antibiotsku terapiju širokog spektra kako bi se pokrio što veći broj potencijalnih patogena (tabela 2) uz kasnije sužavanje i isključivanje antibiotika. Inicijalna empirijska terapija treba da uključi kombinaciju antibiotika. Najpre neki antipseudomonalni cefalosporin (cefepim ili ceftazidim), ili antipseudomonalni karbapenem (imipenem ili meropenem) ili kombinaciju beta laktamskog antibiotika i inhibitora beta laktamaze (piperacilin/tazobactam). Jednom od njih se dodaje drugi antibiotik - neki od antipseudomonalnih hinolona (ciprofloksacin ili levofloksacin) ili neki od aminoglikozida (amikacin, gentamicin, tobramicin). Ako postoji verovatnoća nastanka infekcije meticillin rezistentnim *S. aureus*-om njima se dodaje i treći antibiotik Vankomycin ili Linezolid. Ovakva trojna antibiotska terapija se nastavlja dok mikrobiološka analiza ne bude dostupna (obično 48 časova). Kada rezultat mikrobiološke analize postane dostupan inicijalna empirijska antibiotska terapija može biti sužena, promenjena ili čak ukinuta. Ukoliko je rezultat mikrobiološke analize negativan, a došlo je do poboljšanja u kliničkoj slici (rezolucija radiografskih promena, smanjenje broja leukocita, smanjenje sekreta iz disajnih puteva) antibiotici se mogu bezbedno ukinuti. Ukoliko je nalaz negativan, a nema poboljšanja u kliničkoj slici treba tra-

gati za drugim mestom i uzročnicima infekcije ili drugom dijagnozom. Ako je mikrobiološki nalaz pozitivan, a ima poboljšanja u kliničkoj slici antibiotike treba suziti ako je uzročnik neka od bakterija osetljivih na antibiotike i nastaviti do ukupno 7-8 dana antibiotske terapije. Ako je uzročnik neka od multirezistentnih bakterija (npr *Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* – sojevi koji luče beta laktamaze proširenog spektra...) kombinaciju antibiotika prema antibiogramu treba nastaviti do ukupno 15 dana. Ukoliko je mikrobiološki nalaz pozitivan a nema poboljšanja nakon 48 sati od primene terapije onda treba razmisliti o nekoj drugoj dijagnozi ili o promeni klase antibiotika. U izboru inicijalne empirijske terapije trebalo bi uzeti u obzir i zastupljenost određenih inra-hospitalnih sojeva u jedinici intenzivnog lečenja gde se bolesnik nalazi, neželjena dejstva antibiotika u prisustvu drugog komorbiditeta (npr aminoglikozidi i bubrežna insuficijencija) kao i vrstu antibiotske terapije u prethodne dve nedelje (ako je moguće ne ponavljati antibiotik iz iste klase). Da bi se postigao adekvatan terapijski efekat nije dovoljno izabrati samo optimalan antibiotik ili kombinaciju već i primeniti antibiotik/e u odgovarajućoj dozi (tabela 3). Put administracije antibiotika inicijalno uvek treba da bude intravenski sa mogućnošću prelaska na peroralnu formu kod bolesnika koji dobro reaguju na terapiju. Ovde se pre svega misli na hinolone i Linezolid koji imaju oralne formulacije nakon čijih primena se postiže ista bioraspoloživost leka kao i nakon primene intravenske forme.(9)

Tabela 2. Inicijalna empirijska antibiotska terapija za VAP kod bolesnika sa rizikom za prisustvo multirezistentnih sojeva bakterija.

Potencijalni patogeni	Kombinovana antibiotska terapija
Patogeni iz tabele 1 i	Antipseudomonalni cefalosporin (cefepim, ceftazidim)
Multirezistentni patogeni:	ili
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Antipseudomonalni karbapenem (imipenem or meropenem)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ESBL)	ili
<i>Acinetobacter species</i>	β Lactam/ β lactamaza inhibitor (piperacillin-tazobactam)
	plus
	Antipseudomonalni fluorohinolon (ciprofloxacin or levofloxacin)
	ili
	Aminoglikozid (amikacin, gentamicin, ili tobramycin)
	plus
Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	Linezolid ili Vancomycin

Tabela 3. Preporučene doze antibiotika u terapiji pneumonija udruženih sa ventilatornom potporom

Antibiotik	Doziranje
Ceftriaxon	1–2 g svaka 24 h
Cefepim	1–2 g na 8–12 h
Ceftazidim	2 g na 8 h
Ertapenem	1 g na 24 h
Imipenem	500 mg na 6 h, ili 1 g na 8 h
Meropenem	1 g na 8 h
Ampicillin-Sulbactam	3 g na 6 h
Piperacillin-Tazobactam	4.5 g na 6 h
Gentamycin	7 mg/kg na 24 h
Tobramycin	7 mg/kg na 24 h
Amikacin	20 mg/kg na 24 h
Ciprofloxacin	400 mg na 8 h
Levofloxacin	750 mg na 24 h
Vancomycin	15 mg/kg na 12 h
Linezolid	600 mg na 12 h

Kontroverze u terapiji VAP

Jedna od kontroverzi u lečenju pneumonija udruženih sa ventilatornom potporom je da li primeniti jedan ili odmah kombinaciju antibiotika? Monoterapiju treba primeniti kad god je to moguće zato što je kombinovana terapija skupa i izlaže bolesnika eventualno nepotrebnim antibioticima. Kod bolesnika koji su bez rizika za prisustvo multirezistentnih sojeva bakterija, kao i kod bolesnika gde je dokazani uzročnik meticilin rezistentni *Stafilococcus aureus* (MRSA) preporučuje se primena samo jednog antibiotika. Kombinaciju antibiotika u terapiji VAP-a treba primeniti uvek kada postoji rizik od infekcije multirezistentnim sojevima bakterija. Kombinacijom antibiotika se omogućuje sinergističko dejstvo antibiotika, poboljšava se ishod lečenja i izbegava se nastanak bakterijske rezistencije. Kombinovana terapija treba da uključi antibiotike različitih klasa tako da se izbegne njihovo antagonističko dejstvo. U terapiji ventilator udružene pneumonije izazvane gram negativnim multirezistentnim sojevima najčešće se kombinuju beta laktamski antibiotik i hinoloni ili aminoglikozidi. Iako je bioraspoloživost hinolona u plućima mnogo veća od bioraspoloživosti aminoglikozida bolji rezultati u

lečenju se ipak postižu ako se beta laktamski antibiotik kombinuje sa aminoglikozidima nego ako se kombinuje sa hinolonima. (10) Ukoliko ima kliničkog poboljšanja aminoglikozide treba isključiti iz terapije nakon 5 dana da bi se smanjio rizik nastanka bubrežnih komplikacija.

Drugo pitanje je koliko dugo terapija treba da traje? Rezultati randomizovane, kontrolisane multicentrične studije su pokazali da bolesnici koji su antibiotsku terapiju primali 8 dana imaju sličan ishod lečenja kao i bolesnici koji su antibiotsku terapiju primali 15 dana. Rezultati ove studije su pokazali i češći relaps infekcije ako je uzročnik bio *Pseudomonas aeruginosa* kod bolesnika koji su antibiotik dobijali 8 dana nego kod onih koji su antibiotik dobijali 15 dana. Tako da se sugeriše trajanje terapije od najmanje 15 dana za pneumonije uzrokovane multirezistentnim sojevima bakterija. (11) Rezultati jedne druge studije sugerišu da prokalcitoninom (PCT) vodjena antibiotska terapija kod bolesnika sa VAP-om može značajno da redukuje trajanje antibiotske terapije (za 27%). (12) Kao bezbedna granica uzima se nivo prokalcitonina od 0,25 µg/L. Ako je PCT < 0,25 µg/L, treba razmotriti ukidanje antibiotika. Ukoliko su početne vrednosti prokalcitonina bile izuzetno visoke, antibiotik se može bezbedno ukinuti ako je vrednost prokalcitonina pala za 80-90% od početne vrednosti (npr početna vrednost prokalcitonina je 10,0 µg/L a posle nekoliko dana terapije ona padne na 1,0 µg/L – tada se može bezbedno isključiti antibiotik iako je ova vrednost značajno veća od granične vrednosti od 0,25 µg/L). Ako su vrednosti PCT > 0,5 µg/L treba nastaviti antibiotik, a ako su veće od 1,0 µg/L neophodno je nastaviti antibiotsku terapiju. Po isključivanju antibiotika potrebna je brižna evaluacija bolesnika i vrednosti prokalcitonina za 6 i 24 sata.

Zaključak: Osnovni principi antibiotske terapije pneumonija udruženih sa ventilatornom potporom počivaju na ranom započinjanju terapije adekvatnim antibioticima, odabranim na osnovu prisustva ili odsustva rizika za nastanak infekcije multirezistentnim sojevima bakterija. Prema kliničkoj slici (ako ima poboljšanja) i mikrobiološkom nalazu antibiotski spektar treba suziti i terapiju prekinuti osmog dana ako je uzročnik bakterijski soj osetljiv na antibiotike. Ukoliko je uzročnik neka od multirezistentnih bakterija kombinaciju antibiotika treba nastaviti 15 dana.

Literatura:

1. Chastre J, Fagon JY. Ventilator-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165(7):867–903.
2. Craven DE, Steger KA. Epidemiology of nosocomial pneumonia: new perspectives on an old disease. *Chest* 1995;108(2 Suppl):1S–16S.
3. Craven DE. Epidemiology of ventilator-associated pneumonia. *Chest*. 2000;117 (4 suppl 2):186S–187S
4. Kollef MH. The prevention of ventilator-associated pneumonia. *N Engl J Med*. 1999;340(8):627–634.
5. American Thoracic Society. Hospital-acquired pneumonia in adults: diagnosis, assessment of severity, initial antimicrobial therapy, and preventive strategies [consensus statement]. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1711–1725.
6. Pugin J, Auckenthaler R, Mili N, Janssens JP, Lew PD, Suter PM. Diagnosis of ventilator-associated pneumonia by bacteriologic analysis of bronchoscopic and nonbronchoscopic “blind” bronchoalveolar lavage fluid. *Rev Respir Dis*. 1991 ;143:1121–1129.
7. Iregui M, Ward S, Sherman G, Fraser VJ, Kollef MH. Clinical importance of delays in the initiation of appropriate antibiotic treatment for ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2002;122:262–268.
8. American Thoracic Society: Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:388–416.
9. Paladino JA. Pharmacoeconomic comparison of sequential IV/oral ciprofloxacin versus cef-tazidime in the treatment of nosocomial pneumonia. *Can J Hosp Pharm* 1995;48:276–283.
10. Fowler RA, Flavin KE, Barr J, Weinacker AB, Parsonnet J, Gould MK. Variability in antibiotic prescribing patterns and outcomes inpatients with clinically suspected ventilator-associated pneumonia. *Chest* 2003;123:835–844.
11. Chastre J, Wolff M, Fagon JY et al. Comparison of 8 vs 15 days of antibiotic therapy for ventilator-associated pneumonia in adults: a randomized trial. *JAMA* 2003; 290: 2588–2598
12. Stolz D, Smyrniotis N, Eggimann P, et al. Procalcitonin for reduced antibiotic exposure in VAP: A randomized study. *Eur Respir J*. 2009;34(6):1364–75.

Institut za kardiovaskularne bolesti Dedinje, Klinika za vaskularnu hirurgiju, Beograd ()
KBC Bežanijska kosa, Beograd (**)*

TRETMAN AKUTNOG TROMBOFLEBITISA POVRŠINSKIH VENA DONJIH EKSTREMITETA

ACUTE SUPERFICIAL VENOUS THROMBOPHLEBITIS IN THE LOWER EXTREMITIES

Dorđe Radak (), Bogdan Crnokrak (**)*

Sažetak: Akutni tromboflebitis površinskih vena (ATPV) donjih ekstremiteta se često smatra benignim i trivijalnim oboljenjem, sa malo posledica i niskim rizikom. Dubljom analizom i praćenjem ovog patološkog stanja utvrđeno je da je ono povezano sa značajnim komplikacijama, te kao takvo zahteva kako hiruršku tako i opštu medicinsku pažnju. U stručnoj javnosti traje debata o adekvatnom terapijskom pristupu ovom stanju. Terapijske opcije se uslovno mogu podeliti na neoperativne i operativne.

Glavni nedostaci neoperativnog lečenja su dužina trajanja, neprihvatljivo dugo perzistiranje tegoba, visoki troškovi, visok procenat recidiva i komplikacija. Sa druge strane, operativno lečenje podrazumeva invazivnost u većoj ili manjoj meri, postoji mogućnost komplikacija operativne rane, ali traje kraće, tegobe u vezi sa ATPV nestaju već nakon nekoliko dana, mogućnost recidiva i komplikacija je značajno manja.

Najracionalnija terapijska opcija za pacijente sa ATPV donjih ekstremiteta je ligatura vene safene magne (VSM) ili vene safene parve (VSP), uklanjanje tromba na ušću ovih vena u duboki venski sistem i ekscizija varikozitetima zahvaćenih grana. Zahvaćene VSM ili VSP nakon toga trebaju biti uklonjene korišćenjem tradicionalne stripping tehnike ili endoluminalnom venskom ablacijom. Antikoagulantna terapija je indikovana kod većine pacijenata u toku najmanje mesec dana, a kod rizičnih pacijenata i duže.

Ključne reči: *Akutni tromboflebitis površinih vena donjih ekstremiteta, ligatura vene safene, stripping vene safene, endovenski laserski tretman*

Abstract: Acute superficial venous thrombophlebitis (ASVT) in the lower extremities is often considered benign and trivial disease, with little consequence and low risk. Deeper analysis and monitoring of this pathological condition has found that it is associated with significant complications and as such requires both, surgical and general medical attention. In the professional community the debate about the appropriate therapeutic approach to this condition is still present. Therapeutic options could be divided into nonoperative and surgical.

The main disadvantages of the nonoperative option is the treatment duration, unacceptably long persistence of pain, high costs, a high percentage of recurrences and complications. On the other hand surgical treatment is invasive, incurs a possibility of operative wound complications, but takes less time, problems related to ASVT disappear after a few days, the possibility of recurrence and complications is significantly lower.

Most rational therapeutic option for patients with ASVT is high saphenous vein ligation, removal of thrombus at the confluence of these veins into the deep venous system, and excision of affected tributaries. Saphenous vein must be removed using traditional stripping techniques or endovenous ablation. Anticoagulant therapy is indicated in most patients during at least a month, and in high risk patients even longer.

Key words: *acute superficial venous thrombophlebitis, anticoagulant treatment, saphenous vein ligation, stripping of the saphenous vein, endovenous ablation.*

Etiologija

Termin akutni tromboflebitis površinskih vena donjih ekstremiteta podrazumeva kliničko stanje koje se karakteriše trombozom i obično, aseptičnom inflamatornom reakcijom u površinskim venama donjih ekstremiteta, pre svega u veni safeni magni (VSM) i veni safeni parvi (VSP), sa tendencijom širenja procesa do ušća u venu femoralis (VF), odnosno u venu popliteu (VP).

Postoji izvesna konfuzija u terminologiji ovog patološkog stanja. Neki autori razlikuju akutni tromboflebitis, stanje kod kojeg je zapaljenska reakcija izražena i trombozu površnih vena, kod koje je zapaljenska reakcija minimalna a tromboza je dominantan patološki nalaz. Obzirom da je akutna zapaljenska reakcija u određenom stepenu uvek prisutna, što je potvrđeno brojnim patološkim analizama, ispravniji je naziv akutni tromboflebitis površinskih vena donjih ekstremiteta.

Akutni tromboflebitis površinskih vena (ATPV) donjih ekstremiteta je, u poslednje vreme, predmet povećanog interesovanja medicinske javnosti, zbog potencijalnog morbiditeta i mortaliteta udruženog sa ovim patološkim stanjem. Iako se radi o oboljenju sa kojim se lekari često susreću, njegova incidenca i prevalenca nikada nije adekvatno ispitana.

U SAD je 1973. rađena *Tecumeseh Community Health Study*, koja navodi da incidenca ATPV donjih ekstremiteta raste sa godinama, od 0,05 na 1000 godišnje kod muškaraca do kraja njihove treće decenije života, do 1,8 na 1000 godišnje od kraja treće do kraja njihove osme decenije života. Kod žena incidence raste od 0,31 na 1000 godišnje do kraja treće decenije života, do 2,2 na 1000 godišnje od kraja treće do kraja osme decenije života. I brojne druge studije pokazuju da je rast incidence ATPV donjih ekstremiteta sa godinama kod žena izraženiji nego kod muškaraca^{2,3}. Najveći broj studija navodi da je incidenca ATPV donjih ekstremiteta između 3% i 11% opšte populacije. Godišnje se u SAD prijavi oko 125.000 novih slučajeva ATPV donjih ekstremiteta⁴. Radi se verovatno o mnogo većem broju, obzirom da mnogi bolesnici sa minimalnim tegobama i ne dođu do lekara, te da bolesnike od te bolesti leče lekari različitih specijalnosti (lekari opšte prakse, dermatolozi, hematolozi i opšti hirurzi), koji ne

prepoznaju ATPV, a određeni broj pacijenata i ne upute na dalju evaluaciju.

ATPV donjih ekstremiteta se najčešće javlja u VSM i njenim granama. Između 60% i 80% slučajeva odnosi se upravo na ovu venu. VSP i njene grane su obolele u oko 10% do 20% slučajeva, dok se obostrano na donjim ekstremitetima ATPV javlja u 5% do 10% slučajeva⁵. Pacijenti koji imaju varikozne vene mnogo češće oboljevaju nego opšta populacija tako da prevalenca ATPV donjih ekstremiteta kod pacijenata koji imaju proširene vene iznosi čak 62%^{1,3,5}.

Tradicionalno se ATPV donjih ekstremiteta od strane mnogih doktora smatra benignim i trivijalnim oboljenjem, sa malo posledica i niskim rizikom, te sa tendencijom samoograničenja. Ipak, ono je povezano sa više ozbiljnih kliničkih stanja:

- udruženom trombozom dubokih vena u 15-36% slučajeva^{3,6,7}
- simptomatskom plućnom embolijom u 0,5-4%^{3,8}
- asimptomatskom plućnom embolijom u 20-33%^{3,9}
- recidivom ATPV u 35-50%¹⁰
- Prethodno navedena stanja upućuju na zaključak da akutni tromboflebitis površinskih vena donjih ekstremiteta nije benigno stanje, zapravo sasvim suprotno. Uzroci ATPV mogu se klasifikovati prema Virhovljevom trijasu :
 - povreda endotela (nakon traume ili plasiranja venskog katetera),
 - venska staza (kod bolesnika obolelih od varikoznih vena, tumori ili ciste u maloj karlici, trudnoća),
 - hiperkoagulabilno stanje (kao što su protein C i protein S deficijencija, antitrombin III abnormalnosti i malignitet)¹.

Pacijenti kod kojih se ATPV razvije bez prisustva nekog spoljnog uzroka ili prisustva varikoznih vena obavezno se moraju ispitati radi otkrivanja poremećaja koji je ATPV izazvao.

Duga je lista faktora i stanja koji su udruženi sa predispozicijom za razvoj ATPV: korišćenje oralnih kontraceptiva, supstituciona hormonska terapija, trudnoća, gojaznost, dugotrajna imobilizacija, prethodne hirurške intervencije, trauma, skleroterapija, ranije epizode tromboflebitisa, tromboze dubokih vena ili plućne embolije, neki lekovi (dijazepam, amiodaron, vankomicin, heroin), plasiranje venskih katetera sa ili bez bakterijske infekcije mesta punkcije^{1,3,5,11}. Bolesnici obole-

li od autoimunih poremećaja i vaskulitisa kao što su Behcetova i Birgerova bolest, predisponirani su da razviju ATPV (14,3 % bolesnika obolelih od Behcetove bolesti razvije trombozu kao komplikaciju, od toga oko 55,3 % dobije ATPV, a 29,8 % dobije trombozu dubokih vena)¹². Bolesnici sa Birgerovom bolešću imaju povećanu incidencu ATPV, što je logično, obzirom da je u osnovi ovog patološkog stanja inflamacija, koja zahvata male arterije i vene ekstremiteta¹³.

Jedan od najvažnijih etioloških faktora za nastajanje ATPV je svakako trombofilija. To je naročito izraženo kod bolesnika koji imaju ATPV a nemaju varikozne vene^{3,7}. Ukupno između 15% i 36 % bolesnika sa ATPV imaju propagaciju trombotskog procesa u duboki venski sistem^{3,7}. Kod bolesnika koji imaju ATPV sa širenjem u duboki venski sistem a nemaju varikse, udružena trombofilija postoji u oko 60% slučajeva³. Među bolesnicima koji imaju ATPV bez širenja u duboki venski sistem, i imaju proširene vene, samo oko 7% ima trombofiliju³. Među bolesnicima koji imaju ATPV bez širenja u duboki venski sistem, i nemaju proširene vene, čak 26 % ima trombofiliju³.

Ispitivanje koagulacionog statusa je veoma važno za dijagnozu trombofilije, što uključuje:

- Vrednosti protein C antigena i njegovu aktivnost,
- Aktivisani protein C rezistencija,
- Vrednosti protein S antigena i njegovu aktivnost,
- Antitrombin III,
- Lupus antikoagulant,
- Mutacija gena za faktor V Leiden,
- Mutacija gena za protrombin(G20210A),
- Heparin kofaktor 2,
- Antikardiolipinska antitela,
- Abnormalna fibrinolitička aktivnost.

Iako ATPV može zahvatiti bilo koji deo površnog venskog sistema, najozbiljnije komplikacije se najčešće javljaju kod onih kod kojih je zahvaćeno glavno stablo VSM ili VSP.

Sušтина patološkog procesa ATPV je zapaljenska reakcija. Odavno su opisane patološke promene koje nastaju pri ATPV, a proizilaze iz složene interakcije između leukocita i zida vene posredovane citokinima/hemokinima, te angažovanjem čitavog niza drugih faktora, uglavnom proteina i ćelijskih elemenata krvi, zida krvnog suda i okolnog vezivnog tkiva. Uprkos tome, mnoga pitan-

ja ostaju nerazjašnjena kao npr. zašto postoji tolika raznolikost u kliničkom ispoljavanju i stepenu zapaljenske reakcije, kao i koji su ključni faktori ograničavanja ili širenja procesa. Isto tako, iako neki autori sugerišu da i u osnovi akutnog tromboflebitisa površinskih vena i tromboze dubokih vena (TDV) leže isti patološki faktori, još uvek nema naučnih radova koji bi to potvrdili.

Klinička slika

Dijagnoza ATPV se zasniva na kliničkom pregledu bolesnika i dodatnim ispitivanjima. Kliničkim pregledom može se utvrditi postojanje eritema i induracije duž pravca pružanja površnih vena, gde se ATPV može palpirati kao tvrda traka. Bol i temperatura lokalno su gotovo uvek prisutni, a ponekad može postojati i otok, čak i ako nema propagacije u duboki venski sistem. Treba imati na umu da kod nekih bolesnika može postojati crvenilo, induracija, temperatura i bol duž ekstremiteta, što klinički liči na ATPV, ali CDS ne potvrdi postojanje tromboze u površnom ili dubokom venskom sistemu, već se radi o celulitisu ili limfangitisu.

Potencijalno prisustvo asimptomatske ili simptomatske tromboze dubokih vena i plućne embolije (PE) sinhrono sa ATPV, zahteva dalju dijagnostičku evaluaciju. Mora se imati na umu da čak i ako inicijalni CDS učinjen na samom početku razvoja ATPV ne pokaže da postoji tromboza dubokih vena, ista se može razviti nekoliko dana kasnije.

Chengelis i saradnici¹⁴ prikazuju 263 bolesnika koji imaju ATPV donjih ekstremiteta, bez znakovna tromboze dubokih vena pri inicijalnom pregledu. Ponovljenim CDS pregledima nađeno je da se kod 30 bolesnika (11,4%) razvila tromboza dubokih vena u narednih 2 do 10 dana (u proseku 6,3 dana). Najčešće mesto zahvatanja dubokog venskog sistema, čak kod 21 pacijenta (70%), je progresija bolesti iz VSM kroz safenofemoralni spoj u zajedničku femoralnu venu. U 18 slučajeva (86%), od 21 ukupno, radilo se o propagaciji tromba bez okluzije zajedničke femoralne vene, dok je kod 12 bolesnika (57%) od 21 ukupno, postojao slobodno flotirajući deo tromba. Kod 3 bolesnika (10%) je postojala kompletna okluzija zajedničke femoralne vene. Kod 3 bolesnika (10%), postojala je propagacija iz natkolenog segmenta VSM, kroz natkolene perforatore u femoralnu venu.

Kod 3 bolesnika (10%), postojala je propagacija iz potkolenog segmenta VSM, kroz perforatore u poplitealnu venu. Kod 3 bolesnika (10%), postojala je propagacija iz potkolenog segmenta VSM, kroz perforatore u tibioperonealne vene. Tokom perioda praćenja bolesnici nisu tretirani antikoagulantnom terapijom.

Ovakvo iskustvo nalaže obavezno ponavljanje CDS kod svih bolesnika koji imaju ATPV VSM ili VSP, nakon 48 časova od inicijalnog, da bi se isključila ili potvrdila propagacija u sistem dubokih vena.

Slično tome Blumberg⁶ je pronašao da je od ukupno 213 bolesnika sa ATPV njih 20 (9,4%) dobio trombozu dubokih vena. Od 20 bolesnika sa trombozom dubokih vena, njih 14 (70 %) imalo je trombozu dubokih vena na inicijalnom CDS, dok se kod njih 6 (30%) tromboza razvila tokom perioda praćenja.

Upravo je CDS dijagnostička procedura izbora u dijagnozi i praćenju ATPV, kao i eventualne propagacije tromboze u duboki venski sistem. Razlozi za to su pre svega zbog dostupnosti, niske cene koštanja, neinvazivnosti i mogućnosti ponavljanja tokom perioda praćenja.

Tretman pacijenata sa akutnim tromboflebitisom površinskih vena donjih ekstremiteta

Cilj terapije ATPV je suzbijanje simptoma bolesti, pre svega bola i akutnog zapaljenja, te prevencija potencijalno ozbiljnih komplikacija kakve su TDV i PE, kao i sprečavanje ponovnog nastanka ATPV.

Postoji raznolik terapijski pristup u lečenju bolesnika obolelih od ATPV koji se, doduše ne striktno, može podeliti na konzervativni i hirurški.

Klasično, većina bolesnika sa ATPV, naročito ako je proces lokalizovan u granama VSM ili u distalnom delu stabla VSM, tretira se konzervativno:

- Mirovanje u krevetu sa elevacijom noge,
- Lokalno se aplikuju hladne obloge,
- Kompresivna čarapa ili zavoj,
- Nesteroidni antiinflamatorni lekovi,
- Antikoagulansi u profilaktičkim ili terapijskim dozama.

Tegobe vezane za ATPV upravo su proporcionalne stepenu inflamatorne reakcije vene i okolnog tkiva. Ukoliko je zapaljenje izraženije i tegobe koje bolesnici imaju su jače. U slučaju da se ATPV

tretira konzervativno, potrebno je obično nekoliko nedelja da se akutno zapaljenje u potpunosti smiri. Sve to vreme tegobe perzistiraju. Dodatno, lokalna induracija na mestu zapaljenja može se održavati mesecima¹⁵.

Hirurški tretman ATPV može podrazumevati samo ligaturu VSM na ušću u VF, nakon prethodno učinjene krosektomije, čime se smanjuje rizik od ekstenzije tromboze u duboki venski sistem i mogućnost tromboembolijskih komplikacija. Ovim tretmanom ne uklanja se tromboflebitisom zahvaćena vena, tako da tegobe koje bolesnici imaju perzistiraju. Isto tako, ostaje mogućnost ekstenzije ATPV u duboki venski sistem preko perforantnih vena, i naravno, ostaje rizik recidiva ATPV. Ekstenzivniji hirurški pristup podrazumeva uklanjanje stabla VSM/VSP kao i uklanjanje varikoznih i tromboflebitisom zahvaćenih grana. Na ovaj način uklanja se izvor tegoba, otklanja mogućnost tromboembolijskih komplikacija i sprečava pojava recidiva.

Neoperativno lečenje

Prospektivnu, nerandomiziranu studiju efekta antikoagulantne terapije u slučaju tromboflebitisa safenofemoralnog ušća izvela je Ascer sa saradnicima¹⁶. Dvadeset bolesnika sa tromboflebitisom safenofemoralnog ušća lečeno je samo antikoagulantima. Njih 8 (40%) imalo je istovremeno trombozu dubokih vena. Tokom praćenja od pet meseci još dva bolesnika (10%) razvijaju trombozu dubokih vena. Pet bolesnika je imalo potpunu rezoluciju verifikovanu CDS, do koje je došlo 2-8 meseci od početka terapije. Nije bilo plućne embolije, akutnih događaja ni komplikacija antikoagulantne terapije.

Marchiori i saradnici¹⁷ poredili su efekat visoke doze u odnosu na efekat niske doze nefrakcionisanog Heparina kod 60 bolesnika sa trombozom proksimalnog segmenta VSM. Svi bolesnici su primali 12.500 i.j. dnevno, u toku 7 dana, a zatim su bili podeljeni u dve jednake grupe koje su primale različite doze nefrakcionisanog heparina, grupa koja je primala 10.000 i.j. i grupa koja je primala 5.000 i.j. dnevno. Svi bolesnici su lečeni četiri nedelje sa periodom praćenja od šest meseci. Bolesnici su rutinski praćeni venskom ultrasonografijom na svaka tri meseca. Sveukupno, simptomatske i asimptomatske tromboembolije dogodile su se u 12% slučajeva u toku šest meseci.

Postojala je značajna razlika u rezultatima lečenja u korist grupe u kojoj je korišćena visoka doza Heparina. Kod bolesnika kod kojih je korišćena niska doza Heparina, tromboembolija se dogodila u oko 20 % slučajeva (6/30), prema 3% (1/30) u grupi koja je primala visoke doze nefrakcionisanog Heparina.

Multicentričnom, randomiziranom studijom sprovedeno je istraživanje STENOX grupe¹⁸. Ocenjivana su četiri različita neoperativna tretmana AAT. Grupe po različitim vrstama tretmana su :

1. s.c. ordiniranje enoksaparina 40 mg dnevno,
2. s.c. ordiniranje enoksaparina 1,5 mg / kg / dan,
3. oralna primena tenoksikama (nesteroidni antiinflamatorni lek NSAIDs)
4. samo elastična kompresivna čarapa.

Elastične kompresivne čarape su korišćene i za lečenje svih drugih grupa. Primarni efekat terapije je praćen pojavom tromboze dubokih vena i pojavom simptomatske ili asimptomatske plućne embolije do dvanaestog dana terapije. Sekundarna delotvornost terapije je praćena pojavom napredovanja tromboze i pojavom recidiva nakon prekida terapije dvanaestog dana. Nažalost, ova studija je prekinuta prerano, nakon regrutovane samo jedne trećine bolesnika. Rezultati pokazuju da, iako je postojao trend u smanjenju duboke venske tromboze pri aktivnom lečenju, nije bilo značajne razlike između tretiranih grupa. Incidencija duboke venske tromboze i tromboembolije do dvanaestog dana je značajno smanjena u svim aktivno lečenim grupama.

Tako je u grupi koja je lečena samo nošenjem elastičnih čarapa, 31% bolesnika imao neku komplikaciju ATPV (ekstenzija u sistem dubokih vena, plućna embolija do dvanaestog dana praćenja ili u kasnijem praćenju, recidiv ATPV).

U grupi koja je lečena primenom NSAIDs, 15% bolesnika imalo je do dvanaestog dana ekstenziju tromboze u sistem dubokih vena ili plućnu emboliju.

U grupi koja je lečena s.c. ordiniranjem 40mg endoksaparina dnevno, 8% bolesnika je do dvanaestog dana imalo ekstenziju tromboze u sistem dubokih vena ili plućnu emboliju.

U grupi koja je lečena s.c. ordiniranjem 1,5 mg endoksaparina/ kg/ dan, 7% bolesnika je do dvanaestog dana imalo ekstenziju tromboze u sistem dubokih vena ili plućnu emboliju.

Posle dvanaestog dana , terapija je prekinuta i bolesnici su praćeni naredna tri meseca, te je nađeno da je incidenca ekstenzije u duboki venski sistem i/ili plućne embolije gotovo identična. U grupi lečevoj NSAID bilo je 17%, u grupi lečevoj s.c. ordiniranjem 40mg endoksiparina dnevno bilo je 18%, a u grupi lečevoj 1,5 mg/ kg/ dan bilo je 17% bolesnika sa takvim događajem.

U tri meseca praćenja, trend u korist aktivno lečenih grupa, u vezi pojave tromboembolije je nestao, dok je incidencija duboke venske tromboze i površnog tromboflebitisa ostala značajno smanjena. Nije bilo značajnih razlika u nuspojavama između grupa.

Istraživačka grupa Vesalio¹⁸ sa Univerziteta u Padovi sprovedla je multicentričnu kliničku studiju u kojoj su bolesnici sa tromboflebitisom VSM nasumično raspoređeni u grupe koje su različito tretirane:

I grupa je primala fiksne, niske doze niskomolekularnog Heparina (Nadroparin 2850 anti 10a i.j. dnevno) u toku trideset dana,

II grupa je primala terapijske doze (po kg telesne težine) niskomolekularnog Heparina tokom 10 dana a zatim smanjeno na pola doze u toku narednih 20 dana.

Slično kao u slučaju STENOX studije, ispitivanje je prekinuto nakon unesenih samo 40% bolesnika. Praćena je progresija ATPV i/ ili venske tromboembolijske komplikacije u toku 3 meseca. Venske tromboembolijske komplikacije su se pojavile kod 7% bolesnika koji su primali visoke doze niskomolekularnog Heparina, prema 9% bolesnika u grupi koja je primala profilaktičke doze ($p = 0,74$). Ni jedan bolesnik nije dobio komplikacije u smislu velikih krvarenja.

Bolesnici lečeni antikoagulantnom terapijom u randomiziranim studijama imali su u 7-10% slučajeva progresiju ili recidiv tokom kratkotrajnog praćenja (2-5 meseci). Kao što će se pokazati u nastavku, ako su trombi i obolele vene uklonjene, nema mogućnosti razvoja recidiva u odstranjenim venama a značajno je smanjena mogućnost razvoja ATPV u prethodno nezahvaćenim venama. Kod bolesnika kod kojih obolele vene nisu uklonjene, stopa recidiva sa ili bez progresije tromboze u duboki venski sistem može očekivati u mnogo većem postotku bolesnika.

Posebna pažnja posvećena je akutnom tromboflebitisu na samom safenofemoralnom spoju (SFJT).

Prospektina nerandomizirana studija ispitivala je efikasnost neoperativnog tretmana u lečenju tromboflebitisa safenofemoralne junkcije (SFJT)¹⁴. Tokom dvogodišnjeg perioda, praćeno je 20 bolesnika sa SFJT. Svi bolesnici su, po postavljanju dijagnoze, hospitalizovani i dobili su terapijske doze nefrakcionisanog heparina. CDS je svim bolesnicima urađen pre započinjanja terapije, kako bi se postavila dijagnoza i da bi se ispitao sistem dubokih vena. Dva do četiri dana nakon započinjanja terapije, rađen je kontrolni CDS da bi se utvrdilo eventualno povlaćenje tromboze sa SFJ i ponovo ispitao sistem dubokih vena. Bolesnici kod kojih je utvrđena samo tromboza SFJ bez širenja u sistem dubokih vena su prevođeni na OAKT (Varfarin), kojim su lećeni tokom šest nedelja. Bolesnici koji su imali i SFJT i trombozu dubokih vena lećeni su Varfarinom tokom šest meseci. Efikasnost antikoagulantne terapije ispitivana je merenjem rezolucije SFJT, pojavom ponovnih epizoda SFJT i pojavom plućne embolije.

Kod osam od dvadeset bolesnika (40%) nađeno je istovremeno i SFJT i DVT. Od ovih osam bolesnika, četvoro je imalo unilateralnu DVT, dvoje je imalo bilateralnu DVT, a kod dvoje se DVT razvila tokom antikoagulantne terapije. Kod pet bolesnika se DVT kontinuirano nadovezala na SFJT, dok kod troje nije bilo kontinuiteta između DVT i SFJT. Kod sedam od trinaest bolesnika kontrolni CDS je u periodu praćenja od drugog do osmog meseca pokazao parcijalnu rezoluciju SFJT, kod pet bolesnika došlo je do kompletne rezolucije SFJT, a kod jednog nije bilo rezolucije. Nije bilo epizoda PE, recidiva, ni komplikacija antikoagulantne terapije tokom perioda praćenja od 14 meseci. Iz ovoga se može zaključiti da je antikoagulantna terapija efikasna u tretmanu SFJT, prevenciji recidiva i prevenciji PE tokom perioda praćenja. Međutim, visoka incidenca DVT udružena sa SFJT govori nam da je potrebno pažljivo praćenje sistema dubokih vena tokom terapije SFJT¹⁶. Treba istaći da kratkoroćni efekti antikoagulantne terapije na progresiju SFJT u DVT, kao ni dugoroćni efekti recidiva ATPV nisu bili predmet ispitivanja.

Operativno lećenje

Odavno je prepoznata mogućnost propagacije tromboze iz VSM i VSP u duboki venski sistem, te se operativna procedura kojom bi ovo bilo sprećeno nametnula kao logićno rešenje.

Jedan od najranijih izveštaja o operativnom tretmanu AAT objavio je Gjores²⁰. Operisano je ćetrdeset bolesnika sa akutnim tromboflebitisom površinskih vena donjih ekstremiteta. Autor je pravdao taj, za to vreme radikalani pristup, jer od pet prethodno neoperativno lećenih bolesnika, dva su umrla od plućne embolije a tri su pretrpele plućne embolije koje na sreću nisu završile fatalno. U poćetku su bolesnici podvrgavani samo podvezivanju VSM na safenofemoralnom ušću, no postupak je ubrzo proširen na podvezivanje i striping VSM i uklanjanje vena zahvaćenih tromboflebitisom. Autor je primetio da su duboke vene zahvaćene u 32% bolesnika. Postoperativno, dva bolesnika (5%) razvila su manje plućne embolije. Nisu primećene komplikacije rana. Period praćenja nije naveden, ali ćini se da je bio kratak. Autor je pokazao da su bolesnici podvrgnuti flebektomiji imali brži oporavak od onih koji se podvrgnu samo ligaturi safenofemoralnog ušća. Bolesnici nisu bili preoperativno ispitivani na postojanje PE, već su tek nakon razvoja simptoma u smislu bola u grudima dijagnostićki obraćivani u smislu iste. Međutim, zbog ovoga se taćno vreme nastanka PE nije moglo utvrditi (embolijski događaj mogao se dogoditi i pre operacije), obzirom da se u 33% slućajeva dogodilo da je tromb uklonjen iz dubokih vena tokom operacije. U ovu grupu bolesnika tretiranih operativno, ukljućeni su i opšte visoko rizićni bolesnici ukljućujući i one s malignim bolestima i drugim ozbiljnim komorbiditetima.

Doktori Eric i Karl Lofgren¹⁰ su prikazali najveću seriju operativno tretiranih bolesnika, koja je ukljućivala 163 bolesnika s ATPV donjih ekstremiteta. Pedeset posto njihovih bolesnika su već ranije imali episode ATPV, a 10% imalo je prethodno duboke venske tromboze ili plućne embolije. U njihovoj grupi bolesnika, 50% bolesnika imalo je simptome duće od 30 dana, dok je samo 13% imalo simptome kraće od 10 dana. Ova serija ima najdući period praćenja bilo kada saopšten u literaturi (prosećno je period praćenja bio 5 godina). Njihova hirurška tehnika je podrazumevala podvezivanje VSM a zatim striping zahvaćenih ve-

na. Antikoagulansi su korišćeni profilaktički kod 76% bolesnika. Recidiv ATPV je zabeležen kod 7 slučajeva (4,3%). Ono što je važnije, samo 14% recidiva (1/7, odnosno 0,6% ukupno) dogodilo se u prvih 6 meseci, i taj bolesnik je imao traumom-indukovanu upalu vena. Sedamdeset dva posto recidiva su se dogodila nakon dve ili više godina praćenja.

Dodatne informacije dobijene su iz izveštaja koji je napravio Plate i saradnici²¹. Operisano je 28 bolesnika sa ATPV, nakon relativno detaljne analize postojanja tromboze u dubokom venskom sistemu. Preoperativno, asimptomatska tromboza dubokih vena nađena je u 19% slučajeva. Kod 9 bolesnika učinjena je samo visoka ligatura VSM na safenofemoralnom ušću i 44% ovih bolesnika imalo je prolongiran period flebitičke boli. 19 bolesnika podvrgnuto je visokoj ligaturi i stripingu zahvaćene VSM, a svi su imali brz period oporavka i iščezavanje boli u kratkom period. Recidiv ATPV imala su 3 od ukupno 9 bolesnika podvrgnutih visokom podvezivanju VSM, dok nijedan od 19 bolesnika kod kojih je učinjena ligatura i striping vene, nije imao recidiv. Deset asimptomatskih bolesnika je postoperativno ispitivano (CT) nakon operacije, plućna embolija je pronađena je kod dva bolesnika. Ostaje pitanje da li je plućna embolija bila prisutna preoperativno.

Krause i saradnici²² prikazuju operativni tretman kod 56 visokorizičnih bolesnika s trombozom površnih vena. Svi bolesnici su imali tromb na safenofemoralnom ušću, a dobar deo i flotirajući tromb u zajedničkoj femoralnoj veni. Svi bolesnici su u početku neoperativno tretirani i imali su napredovanje tromboze na neoperativno lečenje. 18% bolesnika su istovremeno imali malignitet, a drugih 18% imalo je prethodne tromboflebitise. Postoperativno, 9% bolesnika imalo je komplikaciju vezanu za operativnu ranu, 5% dobilo je trombozu dubokih vena, a 2% bolesnika dobilo je plućnu emboliju. Od tri bolesnika kod kojih se razvila tromboza dubokih vena, jedan je bio morbidno debeo a jedan je imao metastazu karcinoma. Obzirom na prisutan komorbiditet i nedostatak rutinske upotrebe antikoagulantne terapije, ligatura safenofemoralnog ušća je neophodna kako bi se sprečila pojava veće stope tromboze dubokih vena i plućne embolije.

Lohr i saradnici²³ su objavili rezultate operativnog lečenja 41 bolesnika zbog ATPV VSM sa propagacijom tromba do safenofemoralnog ušća, od

kojih su 23 bolesnika imala tromb koji prelazi u zajedničku femoralnu venu. Svi bolesnici s trombom koji prelazi u zajedničku femoralnu venu dobili su trombektomiju zajedničke femoralne vene. Kod 13 bolesnika je učinjena ligatura i striping VSM, dok je kod 28 bolesnika učinjena ligatura safenofemoralnog ušća sa segmentnom ekscizijom. Deset bolesnika je razvilo manje probleme sa operativnom ranom a jedan bolesnik je razvio trombozu dubokih vena sa mogućom plućnom embolijom 3,5 nedelje nakon operacije. Ovaj bolesnik je prethodno imao rekurentne venske tromboembolije.

Može se zaključiti da se planirana i pravilno indikovana operacija može izvesti sigurno. Uklanjanjem zahvaćenih venskih sudova smanjuje se mogućnost nastanka recidiva i ubrzava se oporavak. Mali broj komplikacija operativne rane treba smanjiti ili eliminisati preoperativnim ordiniranjem profilaktičkih doza antibiotika i pravilnim tretmanom operativne rane.

Komparativna studija

Dve randomizirane studije su poredile operativno i neoperativno lečenje akutnog tromboflebitisa površinskih vena donjih ekstremiteta.

Prvu randomiziranu komparativnu studiju uradio je Belcaro G. i saradnici²⁴. Njihov protokol je poredio šest različitih tretmana: tri grupe bolesnika s različitim režimima antitrombotičke terapije (profilaktičke doze nefrakcionisanog Heparina, profilaktičke doze niskomolekularnog Heparina, i antagonisti vitamina K), dve hirurške grupe (grupa kod koje je rađena samo ligatura safenofemoralnog ušća i druga grupa gde je pored ligature rađen i striping vena), i kontrolna grupa u kojoj je jedini tretman bio nošenje elastične čarape sa igraduisanom kompresijom. Elastične čarape su nosili i pacijenti iz svih ostalih grupa. U studiju su uključeni samo bolesnici sa varikoznim venama i ATPV, i to samo oni koji nisu imali neko drugo oboljenje ili poremećaj (isključeni su bolesnici sa kardiovaskularnim, bubrežnim, reumatskim oboljenjima, gojazni bolesnici, bolesnici oboleli od maligne bolesti, stariji od 70 godina i oni koji imaju tromboflebitis a nemaju varikozne vene). Pet stotina šezdeset i dva bolesnika su ušla u studiju, a 444 su praćeni u periodu od 6 meseci. Praćena je pojava ekstenzije tromboze u duboki venski sistem, pojava PE kao i ekstenzija ili redu-

kcija ATPV. Kontrolni CDS je rađen nakon 3 i 6 meseci od započinjanja terapije. Nakon tri meseca praćenja nije bilo razlike u incidence pojave TDV između posmatranih grupa. Incidenca ekstenzije ATPV je bila najveća u grupi bolesnika lečenih samo kompresivnom terapijom a na drugom mestu po incidenci ekstenzije tromboflebitisa bili su pacijenti lečeni samo ligaturom VSM. Najbolji rezultati su postignuti kod bolesnika kojima je pored ligature ušća VSM učinjen i striping vene. Najveći su troškovi lečenja u grupi bolesnika lečenih niskomolekularnim Heparinom.

Drugu komparativnu studiju sproveo je Lozano sa saradnicima²⁵. Kod bolesnika sa tromboflebitisom VSM, poređen je efekat ligature safenofemoralnog ušća u lokalnoj anesteziji u odnosu na terapiju niskomolekularnim Heparinom (Enoksaparin 1 mg/ kg na 12 sati u toku jedne nedelje a zatim se doza smanji na 1 mg/ kg na 24 sata u toku tri nedelje). Svi bolesnici su nosili čarape sa graduisanom kompresijom. Sedam posto bolesnika imalo je manje komplikacije operativne rane. U hirurški lečenoj grupi jedan bolesnik (3%) imao je recidiv tromboflebitisa površinskih vena, a dva bolesnika (7%) su dobila simptomatsku plućnu emboliju. U grupi lečenoj antikoagulantima, 10% bolesnika je razvilo recidiv. Dva bolesnika su imala manja krvarenja.

U gore opisanim studijama, komplikacije operativne rane se pojavljuju nešto češće nego što bi se to očekivalo da su bolesnici primili profilaktičke doze antibiotika. Dalje, postoperativna incidenca tromboze dubokih vena bi se smanjila ako bi antikoagulansi rutinski ordinirani, bilo u profilaktičkim ili terapijskim dozama, kao što pokazuje rezultati Lofgren studije¹⁰. U Lozano studiji²⁵, 20% bolesnika u hirurški tretiranoj grupi imalo je trombozu površnih vena u normalnim venama (venama bez variksa). Može se očekivati da 60% bolesnika iz ove grupe razvije progresiju tromboze u duboki venski sistem. Isto tako u ovoj grupi je znatna stopa bolesnika sa trombofilijom. Iako ovi bolesnici nisu bili tretirani antikoagulantima, terapiju ovih bolesnika bi bilo najbolje dopuniti sa antikoagulantima (bar profilaktičke doze) u sklopu operativnog lečenja.

Zaključak: savremeni tretman akutnog tromboflebitisa površnih vena donjih ekstremiteta

Savremeni tretman akutnog tromboflebitisa površnih vena donjih ekstremiteta treba uključiti uklanjanje tromba, uklanjanje ili obliteraciju bolesnih vena i pružanje odgovarajuće antikoagulantne zaštite. Pravilna antikoagulantna terapija uključuje profilaksu u periodu visokog rizika za trombozu, adekvatno lečenje tromboze dubokih vena i eventualne embolijske bolesti, i pravilan tretman trombofilije i njenih komplikacija.

Sve bolesnike sa akutnim tromboflebitisom površnih vena u inače normalnim venama (venama bez variksa), i sve bolesnike sa akutnim tromboflebitisom površnih vena koji napreduje u duboki venski sistem ili su povezani sa trombozom dubokih vena ili plućnom embolijom, treba ispitati na eventualno prisutnu trombofiliju. Bolesnicima koji dobiju trombozu dubokih vena ili plućnu emboliju treba ordinirati terapijske doze antikoagulantnih lekova. Oni bolesnici koji imaju samo trombozu površnih vena treba da dobiju odgovarajuće profilaktičke doze antikoagulantna tokom perioda visokog rizika od nastajanja komplikacija.

Ako bolesnik ima isključivo akutni tromboflebitis površnih vena lokalizovan samo na proksimalne segmente vene, predloženi tretman bi se sastojao od visoke ligature safenofemoralnog (odnosno safenopoplitealnog) ušća, sa odvajanjem VSM/VSP od dubokog venskog sistema. Ovo se može učiniti ili klasičnim stripingom VSM/VSP ili pomoću savremenih tehnika površinske venske ablacija nakon uklanjanja akutnog tromba. Obzirom da klasična striping tehnika obično dovodi do avulzije bočnih grana i nastajanja velikih postoperativnih hematoma, prednost treba dati endoluminalnoj venskoj ablaciji. Pod kontrolom ultrazvuka, treba pristupiti distalnom segmentu VSM (kaudalno od tromba) i žicu provesti do proksimalnog kraja vene u ingvinumu. Distalni balon se naduva i uradi se trombektomija preko katetera. Nakon uklanjanja tromba, u tumescentnoj anesteziji uradi se rutinska endoluminalna ablacija vene koristeći ili radiofrekventnu ablaciju ili endoluminalnu lasersku ablaciju vene. Ovo je efikasno lečenje obolelih vena nakon uklanjanja tromba, čime se eliminiše problem recidiva ili progresije bolesti. Ako su uključene varikozne

grane, kroz male punkcione incizije ukloni se i tromb i vena, osim ako okolno tkivo nije jako indurirano i upaljeno, u kom slučaju, ekscizija mora biti odgođena dok se upalna reakcija ne smiri. Tretman treba završiti sa kompresijom od prstiju do prepona. Bolesniku treba dati odgovarajuću farmakološku profilaksu antikoagulantnim leko-

vima u toku najmanje mesec dana, a kod rizičnih bolesnika i duže.

Ovom strategijom eliminiše se visok procenat recidiva koji se događa kod bolesnika kod kojih obolela (trombozirana) vena nije uklonjena i izbegava se većina tromboembolijskih komplikacija (tromboza dubokih vena, plućna embolija).

Literatura

1. Coon WW, Willis 3rd PW, Keller JB: *Venous thromboembolism and other venous disease in the Tecumseh community health study*. *Circulation* 1973; 48:839-846.
2. Marchiori A, Mosena L, Prandoni P: *Superficial vein thrombosis: risk factors, diagnosis, and treatment*. *Semin Thromb Hemost* 2006; 32:737-743.
3. Leon L, Giannoukas AD, Dodd D, et al: *Clinical significance of superficial vein thrombosis*. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005; 29:10-17.
4. DeWeese M: *Nonoperative treatment of acute superficial thrombophlebitis and deep femoral venous thrombosis*. In: Ernst CB, Stanley JS, ed. *Current Therapy in Vascular Surgery*, 2nd ed. Philadelphia, PA: Mosby; 1996.
5. Meissner MH, Wakefield TW, Ascher E, et al: *Acute venous disease: venous thrombosis and venous trauma*. *J Vasc Surg* 2007; 46(Suppl S):25S-53S.
6. Blumenberg RM, Barton E, Gelfand ML, et al: *Occult deep venous thrombosis complicating superficial thrombophlebitis*. *J Vasc Surg* 1998; 27:338-343.
7. Milio G, Siragusa S, Malato A et al: *Superficial venous thrombosis: role of inherited deficiency of natural anticoagulants in extension to deep veins*. *Int Angiol* 2009; 28: 298-302.
8. Lutter KS, Kerr TM, Roedersheimer LR, et al: *Superficial thrombophlebitis diagnosed by duplex scanning*. *Surgery* 1991; 110:42-46.
9. Verlato F, Zucchetta P, Prandoni P et al: *An unexpectedly high rate of pulmonary embolism in patients with superficial thrombophlebitis of the thigh*. *J Vase Surg* 1999; 30: 1113-1115.
10. Lofgren EP, Lofgren KA. *The surgical treatment of superficial thrombophlebitis*. *Surgery* 1981; 90: 49-54.
11. Quenet S, Laporte S, Décousus H, et al: *Factors predictive of venous thrombotic complications in patients with isolated superficial vein thrombosis*. *J Vasc Surg* 2003; 38:944-949.
12. Sarica-Kucukoglu R, Akdag Kose A, Kayabal IM, et al: *Vascular involvement in Behçet's disease: a retrospective analysis of 2319 cases*. *Int J Dermatol* 2006; 45:919-921.
13. Olin JW, Shih A: *Thromboangiitis obliterans (Buerger's disease)*. *Curr Opin Rheumatol* 2006; 18:18-24.
14. Chengelis DL, Bendick PJ, Glover JL, et al: *Progression of superficial venous thrombosis to deep vein thrombosis*. *J Vasc Surg* 1996; 24:745-749.
15. Sullivan V, Denk PM, Sonnad SS et al: *Ligation versus anticoagulation: treatment of above-knee superficial thrombophlebitis not involving the deep venous system*. *J Am Coll Surg* 2001; 193: 556-562.
16. Ascer E, Lorensen E, Pollina RM, et al: *Preliminary results of a nonoperative approach to saphenofemoral junction thrombophlebitis*. *J Vasc Surg* 1995; 22:616-621.
17. Marchiori A, Verlato F, Sabbion P et al: *High versus low doses of unfractionated heparin for the treatment of superficial thrombophlebitis of the leg. A prospective, controlled, randomized study*. *Haematologia* 2002, 87: 523-527.
18. Decousus H. *The Superficial Thrombophlebitis treated by Enoxaparin Study Group. A pilot randomized double-blind comparison of a low-molecular-weight heparin, a nonsteroidal anti-inflammatory agent, and placebo in the treatment of superficial vein thrombosis*. *Arch Intern Med* 2003; 163: 1657-1663.

19. Prandoni P, Tormene D, Pesavento R. High versus low doses of low-molecular-weight heparin for the treatment of superficial vein thrombosis of the legs: a double-blind, randomized trial. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1152-1157.
20. Gjores JE. Gjores JE. Surgical therapy of ascending thrombophlebitis in the saphenous system. *Angiology* 1962; 13: 241-243.
21. Plate G, Eklöf B, Jensen R, et al: Deep venous thrombosis, pulmonary embolism and acute surgery in thrombophlebitis of the long saphenous vein. *Acta Chir Scand* 1985; 151:241-244.
22. Krause U, Kock HJ, Kroger K et al: Prevention of deep venous thrombosis associated with superficial thrombophlebitis of the leg by early saphenous vein ligation. *Vasa* 1998; 27: 34-38.
23. Lohr JM, McDevitt DT, Lutter KS et al: Operative management of greater saphenous thrombophlebitis involving the saphenofemoral junction. *Am J Surg* 1992; 164: 269-275.
24. Belcaro G, Nicolaidis AN, Errichi BM et al: Superficial thrombophlebitis of the legs: a randomized, controlled, follow-up study. *Angiology* 1999; 50: 523-529.
25. Lozano FS, Almazán A.: Low-molecular-weight heparin versus saphenofemoral disconnection for the treatment of above-knee greater saphenous thrombophlebitis: a prospective study. *Vase Endovaseular Surg* 2003; 37: 415-420.

INDEX AUTORA

<u>A</u>		<u>M</u>	
Aleksić Ema	10	Marković Dejan	72
<u>B</u>		Mileusnić Ivan	10
Babić N.	30, 38	Milovanović Ivan	56
Bandić J.	30, 38	Mladenović Dušan	56
Boljević Miljana	66	Mušicki Biljana	66
Borotić Nenad	10	<u>N</u>	
<u>C</u>		Nikolić Dragana	15, 66
Crnokrak Bogdan	77	<u>O</u>	
<u>Ć</u>		Obradović Milan	15, 66
Ćuković Anika	10	<u>R</u>	
<u>D</u>		Radak Đorđe	15, 51, 56, 66, 77
Damnjanović Žaklina	51	Radosavljević Tatjana	56
Dolovac Nikola	46	Rondović Dragica	51
Dobutović Branislava	15, 66	<u>S</u>	
<u>Đ</u>		Schindler Ehrenfried	5
Đorđev Srđan	46	Stanković Zoran	10
<u>G</u>		Stokić Edita	15
Gajić Mihajlo	10	Sibinčić S.	30, 38
Gajin Predrag	56	Stojanović Zorana	56
<u>I</u>		Sudar Emina	15, 66
Ilić Miodrag	46	<u>Š</u>	
Isenović R. Esma	15, 66	Šoškić Sanja	15, 66
<u>J</u>		<u>T</u>	
Jović D.	30, 38	Tanasković Slobodan	15, 46, 66
<u>K</u>		<u>V</u>	
Kalezić Nevena	72	Vučević Danijela	56
Karabeg R.	30, 38	<u>Z</u>	
Kostić Rade	51	Zec Milena	56
<u>L</u>			
Lalić Maja	10		
Lazić P.	30, 38		
Lukić D.	30, 38		

Uputstvo našim saradnicima

“Medicinska istraživanja” je naučni časopis Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Časopis se u obliku sveske publikuje tri puta godišnje. U sveskama se štampaju originalni radovi i opšti pregledi, po pozivu Redakcije i originalni radovi koji su predhodno referisani na redovnim godišnjim simpozijumima Medicinskog fakulteta “Stremljenja i novine u medicini” u okviru “DANA ŠKOLE”, a koje odabere Uređivački odbor.

Budući da prvenstveno odražava naučnu aktivnost članova Medicinskog fakulteta i širokog kruga njihovih saradnika i drugih naučnih radnika časopis “Medicinska istraživanja” štampa eksperimentalne radove fundamentalnih naučnih disciplina medicine i biologije, kao i radove kliničke i preventivne medicine.

Za recenziranje radova Uređivački odbor angažuje kompetentne recenzente (koji su anonimni). Časopis ima svoj Izdavački savet i odgovoran je Veću za naučno-istraživački rad Medicinskog fakulteta u Beogradu.

Uređivački odbor prima samo one radove koji do sada nisu objavljeni i zadržava pravo određivanja redosleda njihovog štampanja. Redosled kojim se radovi objavljuju ne odražava naučnu vrednost rada. Rad treba da bude uredno pisan u nekom od tekst procesora (Word for Windows, Word perfect for Windows i sl.) Margine treba da budu 2cm (gornja i donja) odnosno 2,5cm (leva i desna), dok je format papira A4. Prored između redova treba da bude uobičajen (single-spaced). Predaje se original rada, koji ne treba da pređe 10 stranica (odnosno 36.000 slovnih mesta).

Rad mora da bude stilski doteran i pisan ili na engleskom ili na srpskom književnom jeziku, u duhu pravopisa i uz upotrebu pravilnih medicinskih termina. Treba izbegavati upotrebu stranih reči i skraćenica. Imena pisana u tekstu rada moraju biti pisana izvorno.

Uvodni deo treba da sadrži ukratko izložene samo najvažnije istorijske podatke. Iz rada treba izostaviti opšte poznate činjenice, izneti samo one podatke koji su od bitnog značaja, a najveći deo rada treba posvetiti ličnim zapažanjima i zaključcima.

Rad treba da ima sažetak (summary) na engleskom jeziku, ako je pisan na srpskom jeziku. Sažetak treba da sadrži naslov, cilj rada (1-2 rečenice), bitne elemente metodologije, koncizno iznete rezultate sa detaljima iz kojih proizilazi zaključak.

Radovi pisani na engleskom jeziku treba da imaju sažetak na srpskom jeziku.

U vrhu rada treba ispitati tačan naziv ustanove, zatim naslov rada, a ispod njega puno ime i prezime autora i saradnika (bez akademskih i drugih zvanja).

Tekst rada (posebno citate i imena autora) treba povezati sa literaturom odgovarajućim brojevima (10, (10), 10, [1 0]). Na posebnom listu na kraju rada treba ispisati literaturu na izvornom jeziku po abecednom redu.

Podaci o knjigama i monografijama treba da sadrže: prezime i početno slovo imena autora, naziv knjige, izdanje, izdavača, mesto izdavanja i godinu izdavanja. Ukoliko nije korišćen originalni izvor, u literaturi se navodi izvorno delo.

U podatke o radovima iz časopisa i zbornika treba uneti i prezime i početno slovo imena autora, skraćen (internacionalni) naziv časopisa, godinu, godište ili volumen - broj sveske i stranu (od - do).

Treba nastojati da se što više podataka prikaže shemama, krivuljama i tabelama. Slike, ako je moguće, treba da budu “skenirane” (scanned) i priložene na disketi u nekom od poznatih formata (bmp, jpg, gif i sl.) ili na sjajnom papiru i treba da su jasne i pogodne za izradu klišeja, a tabele da su pregledne. Broj im treba svesti na neophodnu meru. Na njihovoj poledini treba ispisati prezime i ime autora, naslov rada i njihov redni broj. U tekstu rada treba označiti mesto slike, crteža i tabele (bez ostavljanja praznog prostora), a na posebnom listu treba ispisati i tekstove koji dolaze iznad ili ispod njih, na srpskom i na engleskom jeziku.

Rad treba dostaviti odštampan na papiru i snimljen na CD-u.

Uz svaki rad ili dopis treba dostaviti tačnu adresu autora (kućna i ustanove sa brojem telefona) i e-mail adresu.

Rukopisi se ne vraćaju.

GLAVNI I ODGOVORNI UREDNIK
Prof. dr Đorđe Radak

Instructions for our contributors

Medical Investigations ("Medicinska istraživanja") is the scientific journal of the School of Medicine, University of Belgrade. The journal is published in volumes (numbers) three times a year. The volumes contain original articles and general surveys submitted upon the demand of the Editorial staff, as well as the original articles selected by the Editorial board that have previously appeared at regular annual symposiums of the School of Medicine, "Aims and innovations in Medicine", organized for the Day of the School.

Due to the fact that Medical Investigations mainly reflect scientific activity of the members of the School of Medicine and of a great number of their associates and other scientists the journal publishes articles on experimental work in fundamental scientific disciplines of medicine and biology, as well as the articles pertaining to clinical and preventive medicine.

Since all articles have to be reviewed, the Editorial board engages competent reviewers who have to remain anonymous. The journal has its Publishing Council obliged to answer for its work to the Council for Scientific Research Activity of the School of Medicine, University of Belgrade.

The Editorial Board will only accept the articles that have not been published previously and retain the right to determine when they will be published. The order in which they are published has no reference as to the scientific value of the article.

The article should not have more than 10 pages (about 36000 characters). It should be neatly typed in one of the text processors (Word or Windows, Word Perfect for Windows, or similar). Margins should be 2cm (upper and lower), 2.5cm (left and right) on paper size A4. Please use single-spacing when typing.

The article has to be written in the accepted style either in Standard English or Standard Serbian and correct medical terms should be used. Authors should avoid the use of foreign words and abbreviations. Names mentioned in the text have to be written in original.

Introductory part should contain only the most important historical data. The article should not contain the well-known facts; only those data, which are of the essential importance, and the main part of the article, should be devoted to personal observations and conclusions.

The article should have a summary in English if written in Serbian. The summary should contain the

title, the aim of the article (1 or 2 sentences) and basic elements of methodology, concisely presented results with details from which the conclusion is drawn.

Articles written in English should have a summary in Serbian.

On the top of the first page there should be the name of the institution, then the title of the article, under the title the author's full name and surname, as well as the names of the associates, (without academic or other titles).

The text of the article (especially captions and names of the authors) should be connected to the references by corresponding superscript numerals (10, (10), 10, [10]).

On a separate page at the end of the article please write references in original language and in the alphabetical order.

The data on books and monographs should contain: surname and initial letter the author's name, the title of the book, edition, editor, the place and year of publishing.

If an original source has not been used then in reference the original work should be cited.

Data on articles from journals and collections should have: surname, and the initial letter of the author's name, abbreviated (international) title of the journal, year, volume number, issue number and page (from - to).

The authors should try to show more data on graphs, curves, (done in black ink) and tables (typed). Photos (on glossy paper and drawings on drawing paper) should be clear and suitable for the clichés to be made and the tables easy to scan. Their number should be reasonable. On the back of the photos there should be written surname and name of the author, the title of the article and their ordinal numeral. The space for the photo, drawing or table should be marked in the text (however do not leave empty spaces), and on a separate page there should be given texts that precede or follow the original text, in Serbian and in English.

Please send the article both printed on paper and on a diskette.

Each article or letter should have exact address of the author (home and institution address with telephone numbers), as well as the e-mail address.

The manuscripts will not be returned.

EDITOR IN CHIEF
Prof. dr Đorđe Radak

Glavni i odgovorni urednik:
Prof. dr ĐORĐE RADAK

Urednik - editor:
Doc. dr ALEKSANDAR LJUBIĆ

Sekretar - Secretary:
Prof. dr ZVEZDANA KOJIĆ

Tehnički sekretar:
MILANKA ĆIRIĆ

Izdavač i vlasnik:
MEDICINSKI FAKULTET UNIVERZITETA U BEOGRADU

Uredništvo i administracija:
11105 Beograd, Dr Subotića br. 8, soba 313

Realizacija:
“Gemp”, Beograd

Tiraž:
1000 primeraka