

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
Александар 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**

Dosadašnja izdanja:

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.

MEDICINSKA ISTRAŽIVANJA

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 ŽENSKE 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, Emin 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 difficultly 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 led 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 provide 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 Brasil. 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 (< 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 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 who is doing things very often is more experienced and is producing a better quality than someone who is rarely doing the same thing. On 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 +/- 24.8 per 1000 anaesthetics) and 100 to 200 paediatric anaesthetics (2.8 +/- 10.1 per 1000 anaesthetics) than in the group that administered more than 200 paediatric anaesthetics/year (1.3 +/- 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 ± 24,8
100-200	2,8 ± 10,1
> 200	1,3 ± 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 staff 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 tuff 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 anaesthesia 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 anesthetics. *Anesth.Analg.* 1997; 84: 234-5
8. Becke K, Eich C, Kretz F-J: Spezielle Kinderanästhesie. *Anästh 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 preuvečavaju intenzitet neprijatnih osećanja kao što su strah i bol. Cilj ovog istraživanja bio je da se ispita povezanost izmedju 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 opštег 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 pomoći stomatologa traže samo kada se javi 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 pacijenta[12].

Skraćena forma Korahove skale dentalne anksioznosti (SDA)[13] sastoji se iz 4 pitanja a odgovori se buduju 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, vadijanje 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 obradjeni 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.

Posećan skor za strah od bola pri stomatološkim intervencijama koje su ispitanici lično iskusili iznosio je $2,43 \pm 3,52$ 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 ($3,08 \pm 4,01$ 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. Posećan 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 ($F=9,60$; $p<0,005$).

Koreaciona 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 koreacione analize, postoji povezanost između varijable SDA i varijabli:

- Strah odbola ($R=0,358$; 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 objektivan 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 signifikantna 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 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.

Kod visoko anksioznih pacijenata savetuje se primena različitih bihevioralnih 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 bihevioralna 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, ³Dorđe Radak i ¹Esma R. Isenović

Sažetak: Sekretagozi hormona rasta (GHS) su sintetička jedinjenja koja su potentni stimulatori oslobođanja 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. Grelin 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. Grelin 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.

Grelin stimuliše oslobođanje 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 oslobođanje GH, za koji je ranije pokazano da ima kardioprotективне 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: Grelin, 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.

Ghrelin 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 ghrelin's activity. Ghrelin is produced mainly in the stomach and GHS-R is mainly expressed in hypothalamus and in the pituitary.

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

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

The tissue distribution of ghrelin is widespread, and it is also present in cardiomyocytes. In addition, expression of mRNA encoding both ghrelin 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-

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*

Uvod

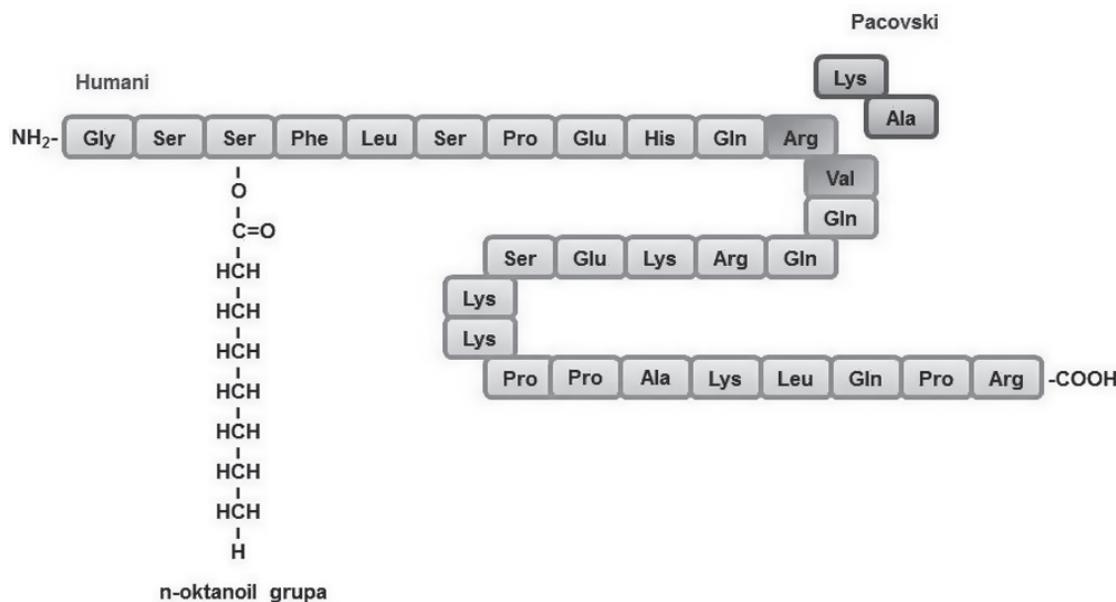
Hormon rasta (GH; engl. growth hormone) je peptidni hormon koga luče somatotropne ćelije prednjeg režnja hipofize (adenohipofiza) i spada u hormone sa više funkcija u organizmu: reguliše rast, kako ćelija, tako i organizma u celini, reguliše metabolizam ugljenih hidrata, proteina i lipida, a takođe reguliše i balans elektrolita i vode u organizmu [5; 16]. Za lučenje GH najznačajnija su dva neuropeptida iz hipotalamus, a to su somatostatin, koji inhibira oslobođanje GH i GH-oslobađajući hormon (GHRH; engl. GH-releasing hormone), koji stimuliše oslobođanje GH [3]. Nedavno [28] u studijama o GH-sekretagozima (GHS; engl. GH-secretagogues), otkriven je i treći veoma bitan način regulacije oslobođanja GH koji se ostvaruje uz pomoć GHS. GHS su sintetička jedinjenja koja su veoma potentni stimulatori oslobođanja 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 ciljni 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

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 performansi (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 identificovali i okarakterisali endogeni ligand za GHS-R tipa 1a (GHS-R1a) koji je nazvan grelin (engl. ghrelin), od proto-indo-europske reči „ghre“, koja znači rast i pošto ima GH oslobađajuće efekte (eng. GH releasing) nastavka „relin“ [62; 63].

Građa i opšte osobine grelina

Grelin je, neočekivano, prvo izolovan iz želuca pacova iako su receptori GHS-R eksprimirani većinom u hipotalamusu i hipofizi [62]. Grelin je peptidni hormon u čiji sastav ulazi 28 aminokiselina, u kome je aminokiselina Serin-3 (Ser³) n-oktanoilovana, odnosno ima modifikaciju u vidu lanca masnih kiselina koja je esencijalna za aktivnost ovog hormona (Slika 1.). Grelin 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 gredina je arginin (Arg¹¹), a na poziciji 12 valin (Val¹²), a kod pacovskog gredina su na pozicijama 11 i 12, lizin (Lis¹¹) i alanin (Ala¹²), 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-Pro-Pro-Ala-Lys-Leu-Gln-Pro-Arg

Daljim izučavanjima, u želucu pacova, identifikovan je i des-Gln¹⁴-grelin (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-grelin, takođe, ima n-octanoil modifikaciju na Ser³ koja mu je neophodna za aktivnost, a i stimuliše oslobođanje GH nakon injeciranja kod pacova. Dakle, oslobođanje GH je regulisano sa dva peptida želuca: grelinom i des-Gln¹⁴-grelinom, ali je des-Gln¹⁴-grelin 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 esteraze, 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, pretpostavljalno 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-grelin) izgrađen je od 117 aminokiselina, ima N terminalnu signalnu sekvencu i C terminalni rep koji se odstranjuje proteolitičkom degradacijom. Prepro-grelin sadrži signalni peptid koga čine 23 aminokiseline, 94 aminokiseline pro-grelina koji uključuje i 28 aminokiseline 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-grelina, 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, translacijske iRNK za grelin, post-translačione 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 (grelin 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 glodovanja, 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 senzitivan 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 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].

Grelin je identifikovan u mnogim tkivima, kako na nivou iRNK, tako i na nivou proteina ili obje. 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-histohemiskim 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 duodenu, 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].

Iznenađujuće 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 hipotalamus [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 oslobođanje GH [66; 69]. Ostala tkiva i organi u kojima je eksprimiran grelin su: ćelije imunog sistema (limfociti) [46], pluća [111], placentu [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 obesatin [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 strukturalnih, tako i funkcionalnih, smatra se da grelin i motilin formiraju superfamiliju peptida i pretpostavlja se da su evoluirali od zajedničkog gena prenika [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 kardiomiocite) koje nemaju eksprimiran GHS-R1a niti GHS-R1b [9].

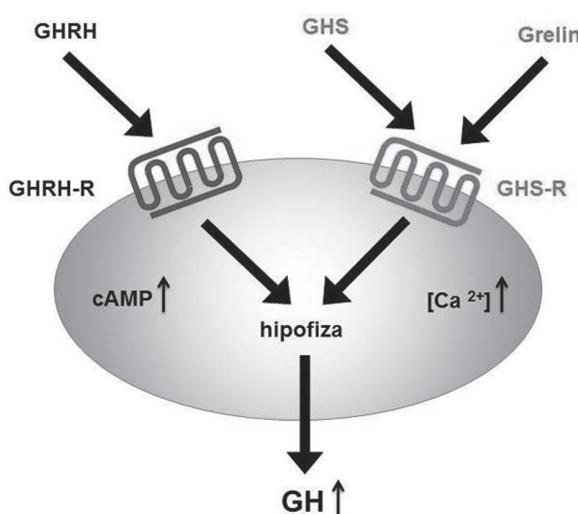
GHS-R1a je veoma dobro konzerviran među vrstama kičmenjaka kod kojih je do sada analiziran, što ukazuje na njegovu veoma bitnu fiziološku ulogu [88; 96]. GHS-R1a je identifikovan, pored hipotalamus (u arkuatusu i ventromedijalnom jedru) i hipofize, i u hipokampusu (CA2 i CA3 regioni i gyrus dentatus), u crnoj masi ventralne tegmentalne zone srednjeg mozga i u dorzalnom i medijalnom 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 oslobođanje GH, adrenokortikotropnog hormona (ACTH) i prolaktina, zatim na regulaciju apetita, sekreciju želudačne kiseline, pokretljivost želuca i proliferaciju ćelija u организma [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 oslobođanja GH, kako kod pacova, tako i kod ljudi [7]. Intracerebroventrikularno (ICV) injeciranje grelina pacovima takođe dovodi do stimulacije oslobođanja GH [98], pri čemu mnogo manje doze grelina dovode do signifikantnijeg efekta na sekreciju GH [23]. Grelin stimuliše oslobođanje GH in vitro i in vivo na dozno zavisan način. Osim na sekreciju GH, visoke doze grelina kod ljudi dovode do povećanja ACTH, prolaktina i kortizola [64; 68].

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

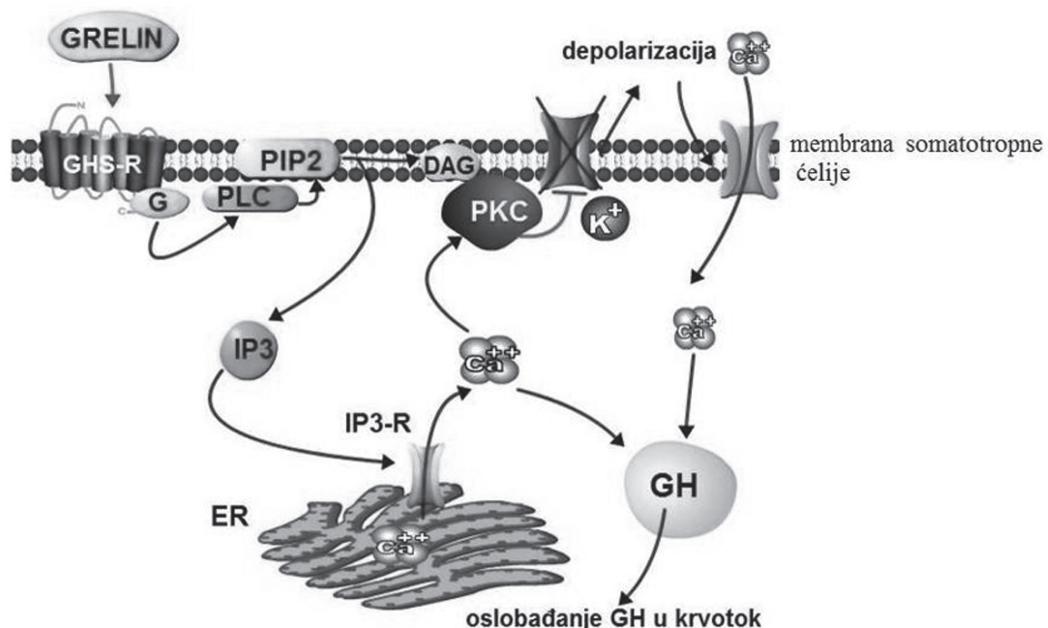


Slika 2. Šematski prikaz različite regulacije oslobođanja GH iz hipofize pod uticajem GHRH ili grelina

GH - hormon rasta; **GHRH** - GH-oslobađajući hormon;
GHS - GH sekretagozi; **GHRH-R** - GHRH receptor;
GHS-R - GHS receptor; **cAMP** - ciklični adenozin monofosfat; **Ca²⁺** - joni kalcijuma; **[Ca²⁺]** - koncentracija Ca²⁺

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 celiji, 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 (PIP₂), koji se nalazi u membrani, i nastaju inozitol 1,4,5-trifosfat (IP₃) i diacil-glicerol (DAG). IP₃ se vezuje za IP₃ receptor (IP₃-R) na endoplazmatičnom retikulumu što dovodi do oslobođanja Ca²⁺ iz depoa i time povećanja koncentracije Ca²⁺ u celiji, 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 IP₃ omogućava oslobođanje 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 Ca²⁺ u celiji. Aktivirana PKC fosforilacijom inhibira kanale za jone kalijuma (K⁺), što dovodi do depolarizacije membrane usled koje se otvaraju voltažno zavisni Ca²⁺ kanali tipa L što, takođe, dovodi do povećanja koncentracije Ca²⁺ u celiji i do sekrecije GH (Slika 3.) [68; 97].



Slika 3. Šematski prikaz oslobođanja GH iz hipofize regulisanog grelinom

GH - hormon rasta; **GHS-R** - GHS receptor; **Ca²⁺** - joni kalcijuma; **K⁺** - joni kalijuma; **G** - guanin nukleotid-vezujući protein; **PLC** - fosfolipaza C; **PIP2** - fosfatidil-inositol 4,5- bifosfat; **IP3** - inozitol 1,4,5-trifosfat; **DAG** - diacil-glicerol; **PKC** - protein kinaza C; **IP3-R** - IP3 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 smatrana 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 gluconeogeneze) sugerisu da je grelin "ultimativni anabolični hormon" koji deluje delimično iz perifernih organa, a delimično iz mozga [68]. Grelin se primarno sintetiše 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 regije hipotalamus, na indirektni 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 zavisan 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 čelijskoj kulturi primarnih adultnih i H9c2 kardiomiocita, kao i endotelnih ćelija [9; 90]. Grelin 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 ($[^{125}\text{I}-\text{His}^9]\text{grelin}$), 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 dP/dt [max] leve komore (LV; engl. left ventricle), u poređenju sa obolelim, ali placebo tretiranim kontrolama [78]. Grelin je kod ovih životinja, osim povećanja telesne mase, indukovao i povećanje debljine posteriornog zida koji nije zahvaćen infarktom, u toku dijastole, 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 adenozin 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 glukožnog transportera izoforme 4 (GLUT 4) i fosforilacije različitih proteina kao što je za srce specifična 6-fosfofrukto-2-kinaza, koja u fosforilisanoj 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 nezavisан od eNOS, a takođe doveđi 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 eksprimirani 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. Vazodilatatori 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 kardioprotективним 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, sugeriše se da bi grelin mogao biti jedan od bitnih terapeutskih 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 (D.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) 50 (12): 3211-3216.
- [21] Dass, N. B., Hill, J., Muir, A., et al. "The rabbit motilin receptor: its distribution and sensitivity to ghrelin." *Regul Pept* (2002) 100 (1-3): 111-118.

- 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., Sølenberg, 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., Barlind, 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 trophectoderm 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., Bistrian, 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] Tesauro, M., Schinzari, F., Caramanti, M., et al. “*Metabolic and cardiovascular effects of ghrelin.”* *Int J Pept* (2010) 2010.
- [104] Tesauro, M., Schinzari, F., Iantorno, M., et al. “*Ghrelin improves endothelial function in patients with metabolic syndrome.”* *Circulation* (2005) 112 (19): 2986-2992.
- [105] Tesauro, 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 DUPYTREN-OVE KONTRAKTURE

THE TREATMENT OF DUPUYTREN'S CONTRACTURE

Bandić J.¹, Lukić D.¹, Karabeg R², Jović D.³, Babić N.⁴, Sibinčić S.⁵, Lazić P.⁶

Sažetak: Prospektivnom studijom u periodu od juna 2006. do avgusta 2011. godine, upoređivani su rezultati lečenja Dupuytren-ove kontrakture 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 oslobođanju prstiju od kontrakture, 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 pomenućih operativnih tehnika ima prednost u lečenju Dupuytren-ove kontrakture.

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 kontrakture 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 kontrakture.

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 znimanje.

Dupuytren-ova kontraktura je zabeležena i kod više članova jedne porodice, zatim prema nekim podacima češće kod osoba sa obolenjima jetre (cirroza), 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 kontrakteure očituje se dalnjim zahvatanjem pretendinoznih tračaka i vertikalnih septa što rezultuje ograničenim pokretima prstiju u vidu fleksionone kontrakteure.

Kontrakteure su karakteristične za metakarpofalangealne 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 osloboodi iz položaja ukočenosti (kontrakteure). Upotreba ove tehnike ima svoja ograničenja. Naime, nije izvodiva u slučajevima težeg oblika kontrakteure, moguća su oštećenja nerava i krvnih sudova te ponovno javljanje znakova kontrakteure (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 kontrakteura kao i u svim slučajevima kada prethodne dve tehnike nisu efikasne.

Ograničena ili parcijalna fasciotomija 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 fasciotomija 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 fasciotomija 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 kontrakteure 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 kontrakteure 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. Anatomska 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%)

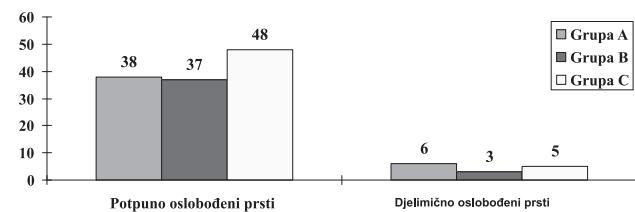
Rezultati

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:Oslobodeni 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:Oslobodeni prsti po grupama ispitanika



Hi-Kvadrat Test

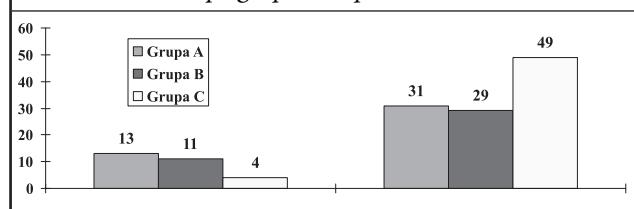
	Vrednost	Broj stepeni slobode	Značajnost (p<0,01 značajno)
Pearson Hi-Kvadrat	.918	2	.632

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: Nusefekat 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

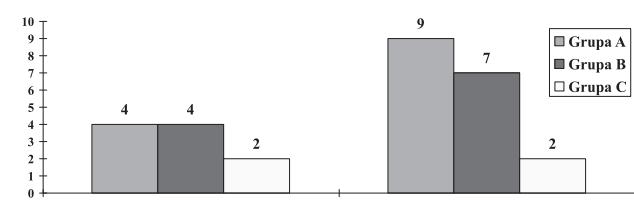
Nema statistički znacajnih razlika kod pojave recidiva kod grupe A i Grupa B (p>0.01).

Pojava recidiva između grupe 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

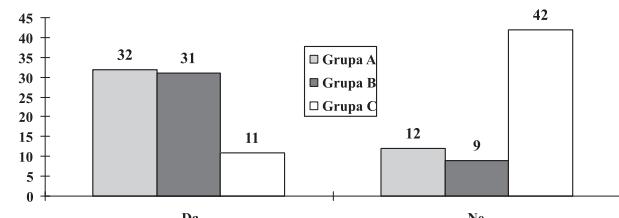
	Vrednost	Broj stepeni slobode	Značajnost (p<0.01 značajno)
Pearson Hi-Kvadrat	.496	2	.780
Likelihood Ratio	.484	2	.785

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

Tabela 9. Nusefekat 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

Nusefekat operacije-Hipoestezija se statistički visoko značajno razlikuje ako se posmatraju sve tri gripe zajedno (p<0.01)

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

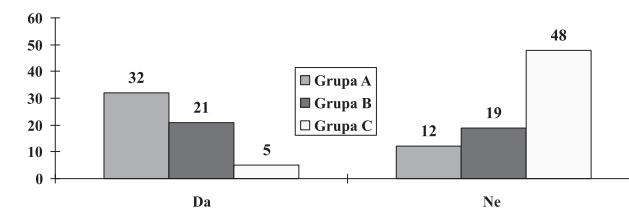
Nusefekat operacije-Hipoestezija se statisticki značajno ne razlikuje ako se posmatraju Grupa A i Grupa B (p>0.01)

Nusefekat operacije-Hipoestezija je statisticki 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 grupe A i B. Hipoestezija se statistički najmanje javlja kod Grupe C.

Tabela 10. Nusefekat 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: Nusefekat 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 ispitača 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 pleksusa³».

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 prolezne. 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 grupe 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 kontrakte. O operaciji koja bi podrazumevala uklanjanje Dupuytren-ove kontrakte 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 2do 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 kontrakte. 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 dlani ali ova tehnika podrazumeva «cik-cak» suturu incizije na prstima, odnosno primenu «Z» plastike na istim⁵.

Neki smatraju⁶ da je najbolje rešenje ove kontrakte 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. Fasciectomija je rađena uz maksimalnu protekciju neurovaskularne mreže. Uklanjana su zadebljanja unutar palmarne strane dlana i uklonjene adhezije kože u zoni pretendinovnih tračaka fascije. Operativne incizije su zatim primarno šivane.

Kod ispitanika u grupi B, (tehnika po Isulin-u) najduža inciziona linija rađena je od zgloba distalne falange do sredine dlana i bila je pravolinijska uz 5-6 poprečnih kosih incizija na prstima i dlanu. Uklanjana su čvornovata zadebljanja palmarne fascije i vertikale septe koje rezultuju flegsionom 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 poštendna 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 kontrakte.

Suština operacije je u pažljivoj preparaciji kontrurnih vlakana kroz mali rez na koži i njihova sekacija uz maksimalnu protekciju okolnih struktura. Minimalno invazivna fasciotomije (MIF) je ograničena i otvorena poštendna hirurgija šake pri uklanjanju Dupuytren-ove kontrakte. 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 egzaktne u krajnjem efektu, jer Dupuytren-ova kontraktura bude uklonjena i omogući se normalna funkcija šake.^{1,2,6,7}

Kod naših ispitanika u sve tri grupe efekat operacije bio je egzaktan. 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.

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

Recidiv Dupuytren-ove kontrakte 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 imedu grupa A i B ne postoje statistički značajna razlika. Naprotiv statistički visoka razlika postoji u usporedbi 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 kontrakte 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 hematom karakterističan za radikalnije fasciectomije 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 Dupuytrenove 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 poštovana 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

Dupuitren-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. oslobođanja prstiju šake u Dupuytren-ovoj kontrakturni, 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 Sarajevo
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 vlasti znatno češće kod ispitanica koje su lečene minoksidilom 5%, ali je i broj nusefekata 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: Alopecia, žene, minoksidil

Uvod

Razni preparati za koje se tvrdi da mogu vratiti izgubljenu 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 čelavosti» 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. Hipertrihzoza 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} slepočnice, 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. Upotreboom laserske Doppler tehnike, dokazano je da dolazi do povećanog protoka krvi posle lokalne primene minoksidila na čelavu poglavini 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 istraživnja 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 hipertrihoze 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 hipertrihoze.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 militara, 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 čelavosti. 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 vlasista merena je brojem vlasti 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 hirzutizam, 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 vlasista u dozama od po 2 ml./2 puta dnevno (u jutro i u veče), 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 vlasti 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 dostavljeni lično ili poštom. Zatim je izvršeno skorovanje upitnika i uvedeno u analizu.

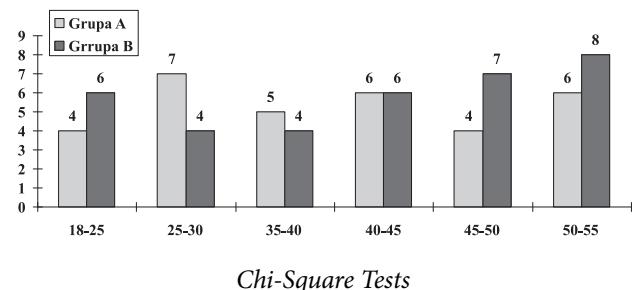
Rezultati

Rezultati lečenja alopecije kod žena u ispitivanim grupama prikazani su u tabelama i grafikonom od 1-7. Parametri za poređenje bili su: Uticaj starosti ispitanica po grupama i tipa alopecije na efekat lečenja. Efekti lečenja (zaustavljanje alopecije, smanjenje čelave 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 znači 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 čelavosti	Grupa A	Grupa B
Tipična čelavost (androgena)	6(18,7)	22 (5,7%)
Difuzna čelavost	25(78,1%)	30(85,7%)
Regionalna čelavost (areata)	11 (3,1%)	3(8,5%)
Ukupno	32 (100%)	35(100%)

Grafikon 2: Tip alopecije po grupama ispitanika



Chi-Square Tests

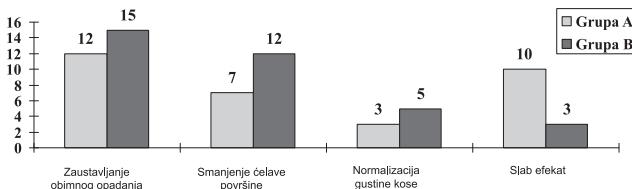
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3.327(a)	2	.189

Ne postoji statistički značajna razlika Grupa A i Grupa B po tipu čelavosti ($p>0.01$). 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 čelave 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

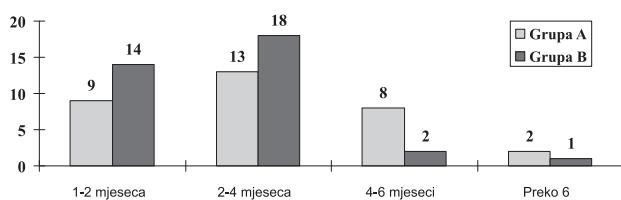
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	5.796(a)	3	.122

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 mjeseca	9 (28,1%)	14(40%)
2-4 mjeseca	13(40,4%)	18(51,5%)
4-6 mjeseci	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

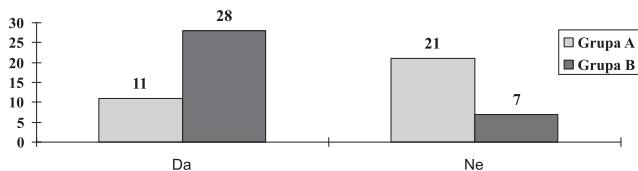
	Vrednost	Broj stepeni slobode	Značajnost ($p<0.01$ značajno)
Pearson Hi-Kvadrat	5.539	2	.063

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 lećene od 4 meseca veći kod grupe B, a preko tog vremena kod Grupe A.

Tabela 4. Nus efekti liječenja-svrabež vlašišta

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

Grafikon 4:Nus efekti lečenja-Svrabež vlašišta 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

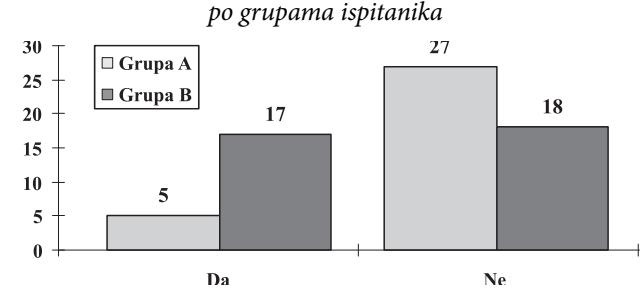
Postoji visoka statistički značajna razlika kod obeležja svrabež vlašišta ($p<0.01$). Naime, ispitanice Grupe B imale su značajno više svrabeža

vlašišta zbog terapije minoksidilom nego ispitanice lećene 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				

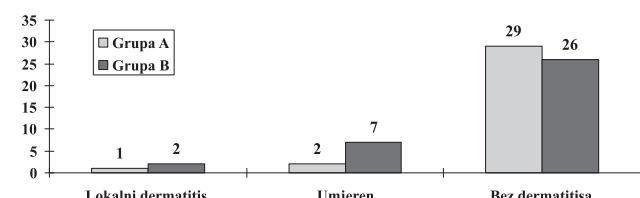
a Computed only for a 2x2 table

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%)
Zaustavljeni 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				

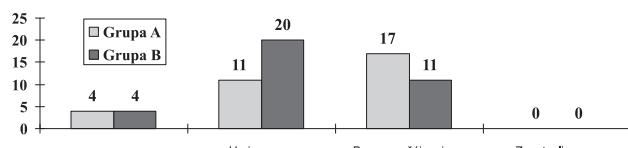
a Computed only for a 2x2 table

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

Tabela 7. Nus efekti liječenja-zamašćivanje ili perutanje vlašišta

Rezultat/zamašćivanje ili perutanje vlašišta	Grupa A	Grupa B
Obimno zamašćivanje i perut	4(12,5%)	4 (11,4%)
Umereno	11(34%)	20(57,1%)
Bez zamašćivanja vlašišta 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 vlašišta 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 oboležja zamašćivanje ili perutanje vlašišta ($p>0.01$).

Diskusija

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

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

U muškoj populaciji čelavost 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 pogda celo vlašište, zatim od difuzne alopecije koja je kombinovana sa diskretnim ili opsežnjim ograničenim zonama gubitka kose, i u vidu tipične muške alopecije koja češće pogda zone uz slepočnice. Regionalna alopecija (areata) je poseban oblik alopecije, oštro ograničene od ostalog vlašišta 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 minoksidil 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 kose¹. Naprotiv, minoksidil 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 povoljnijih 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 značajaniji 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 čelavljenja 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 pacijenta. 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 nere-dovna 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, boljšak 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 reda u grupi 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 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 vlasista što vremenom potiče sve intenzivnije novo zamašćivanje vlasista.^{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 vlastišta 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 vlašte, 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 vlasti, 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 čelave 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 vlastišta, 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., Friedman e.A.: *Reversal of male pattern baldness by minoxidil. Cutis*, 28:551-553, 1981.
9. Pennisis A.J., Takahashi M., Bernstein B.H.: *Minoxidil therapy in children with severe hypertension. Paediatr. Pharmacol. Their.*, 90:813, 1977.
10. Wilkin J.K., Kirkendall W.: *Porphyria mimicked during minoxidil therapy. Cutic*, 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 hipertrichosis 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 alfa -reductase in mammalian skin. J.Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 44:121-31, 1993.
17. Burton J.L. Schutt W.H., Caldwell I.W.: *Hipertrichosis due to diazoxide. Br.J.Dermatol.*, 93:707, 1975.
18. Morris A.I. Montusch E.: *Growth of head hair during treatment with diazoxide. Lancet*, 2:1384, 1975.
19. Ebling F.J., Rook A.: *In textbook of Dermatology Vol.2,3 rd ed., A.J. Rook D.S. Wilkinson, F.J. Ebling, eds. Blackwel Scientific Oxford*, p.757, 1979.
20. Baden H.P., Kubilus J.: *Effect of minoxidil on culture ceratinocytes. 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 Villez 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 prepostavke su da do rascepa dijafragme dolazi usled avulzije pripojila dijafragme, razvlačenja elastične membrane i usled sile koja se prenosi kroz visceralne organe.

Prednjači ruptura leve hemidijsfragme 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: Ukažati na problematiku pri postavljanju dijagnoze i isticanje značaja traumatske rupturi dijafragme u ukupnom traumatskom morbitetu 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: Obrađena 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 pretstavljaju 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.

Ključne 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.

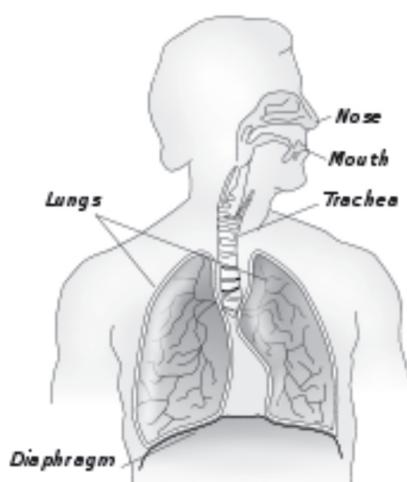
Conclusion: The recognition of trauma the diaphragm is difficult but very important because the treatment is exclusively surgical.

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.



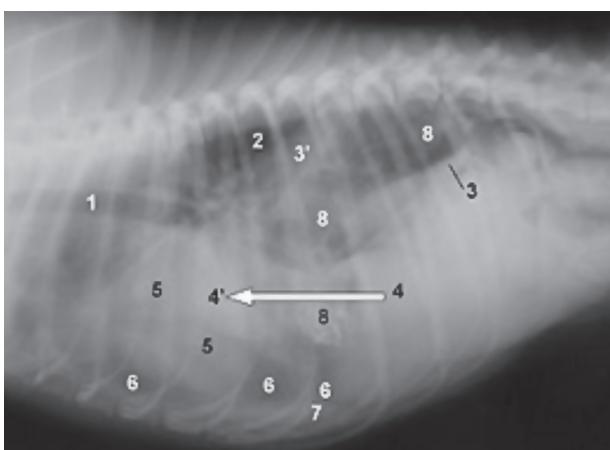
Slika 1.



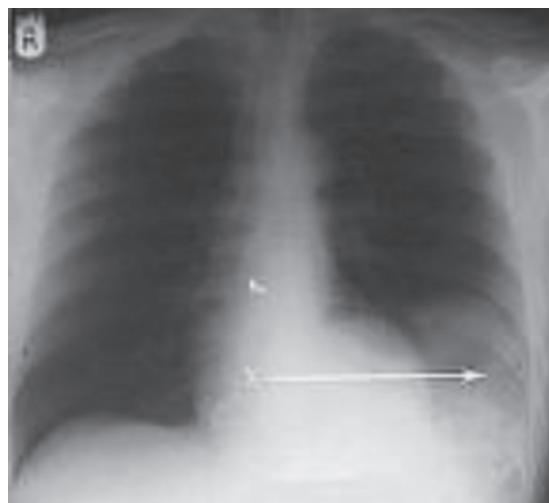
Slika 2.

Traumatska povreda dijafragme je retka povreda i zastupljena je u oko 1,5% kod hospitalizovanih pacijenata. Može biti rezultat delovanja tuge sile (75%) ili penetrantne (15%). Najveći broj povređenih u okviru tuge 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)



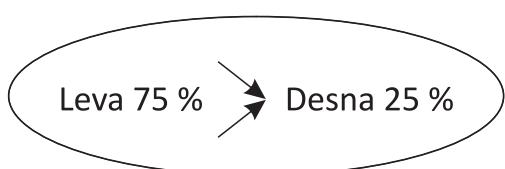
Slika 3.



Slika 4.

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

Prednjači ruptura leve hemidiafragme 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.

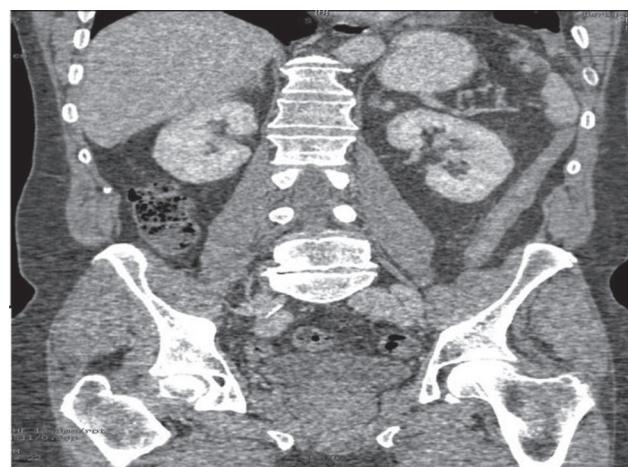


U manje od 45 % dijagnoza traume dijafragme se postavlja preoperativno. Najčešće se postavlja intraoperativno ili na autopsiji. Povreda dijafragme obično je u senci ozbiljnih povreda u abdomenu, povreda glave ili grudnog koša, tako da izostaje pravovremena dijagnoza.

Grimes je klasifikovao dijagnozalne povrede u tri faze:

- Akutna faza
- Latentna faza
- Opstruktivna faza

Dijagnoza se postavlja na osnovu anamnističkih 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 anamnističkih 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 rupturi 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 Opštne bolnice „Vršac“, zbog trau-matskih 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:

Obrađena je medicinska dokumentacija tri pacijenta, prosečne starosti 55,7 godina, operisanih na odeljenju hirurgije Opštne bolnice „Vršac“. Bilo je dva pacijenta ženskog pola (66,7%) i jedan muškog (33,3%). Svi pacijenti hospitalizovani su zbog bolova u trbušu 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 potkoljenice. 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 hernijaciom 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)

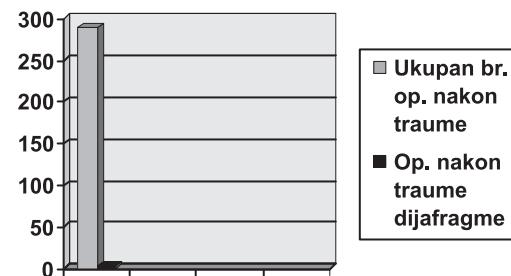


Tabela 2

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 laparatomiom otvorena trbušna duplja pa direktna sutura dijafragme. Ista pacijentkinja imala je frakturu leve potkoljenice. Kod svih pacijenata plasiran je torakalni dren.

Uporednom analizom rezultata koje je objavio Farhan Rashid sa saradnicima sa Univerzitetom u Notingemu, Velika Britanija, primećuje se da je broj operisanih 1,5% u odnosu na druge operisane što odgovara i našima 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, Poultysi 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: Traum diaphragmatic rupture: look to see. Eur J Cardiothorac Surg 2008,*
- Traumatic rupture of the left hemidiaphragm**
- dr Srdjan Djordjev (*), dr Slobodan Tanaskovic (**), dr Miodrag Ilic (**), dr Nikola Dolovac (*)
(*) General Hospital "Vrsac";-Department of Surgery
(**) Institute of Cardiovascular Diseases KBC Dedinje-Belgrade*

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 frakturna, dugotrajne imobilizacije ili operativnog lecenja (ugradnja endoproteze kuka i kolena ili osteosintetskog materijala). Predstavlja istovremeno i stanje koje je povezano sa životnom ugroženoscu 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, želeti 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 urađen ultrasonografski pregled vena.

Rezultati: U periodu od janura 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, sto je od velikog značaja za dalje lečenje i sprečavanje komplikacija (plućna embolija, posttrombotske sekvele). TDV je takođe kontraindikacija za primenu fizikalnih procedura koje mogu dovesti do retromboze i fragmentacije tromba.

Ključne reči: *edem ekstremiteta, tromboza dubokih vena, ortopedске 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: frakturna, 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 edmom 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 teticive, ruptura Bekerove ciste, superficijalni tromboflebitis, varikozne vene, asimetrični periferni edem kod bolesti srca, jetre ili bubrega.

Cilj rada:

Cilj rada našeg rada bio da prikažemo da je TDV čest uzrok edema nakon ortopedskih intervencija. Imajući u vidu da klinička slika nije specifična za postavljanje dijagnoze TDV, želeli smo da podsestim 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 scor (Tabela br. 1) za TDV i s obzirom da je scor kod svih pacijenata bio jednak ili veći od 2, urađen im je i ultrasonografski pregled vena. Kod pacijenta kod kojih je UZ isključena TDV, izmerene su i vrednosti i D- dimera.

Shema br.1- Dijagnostičke smernice za TDV

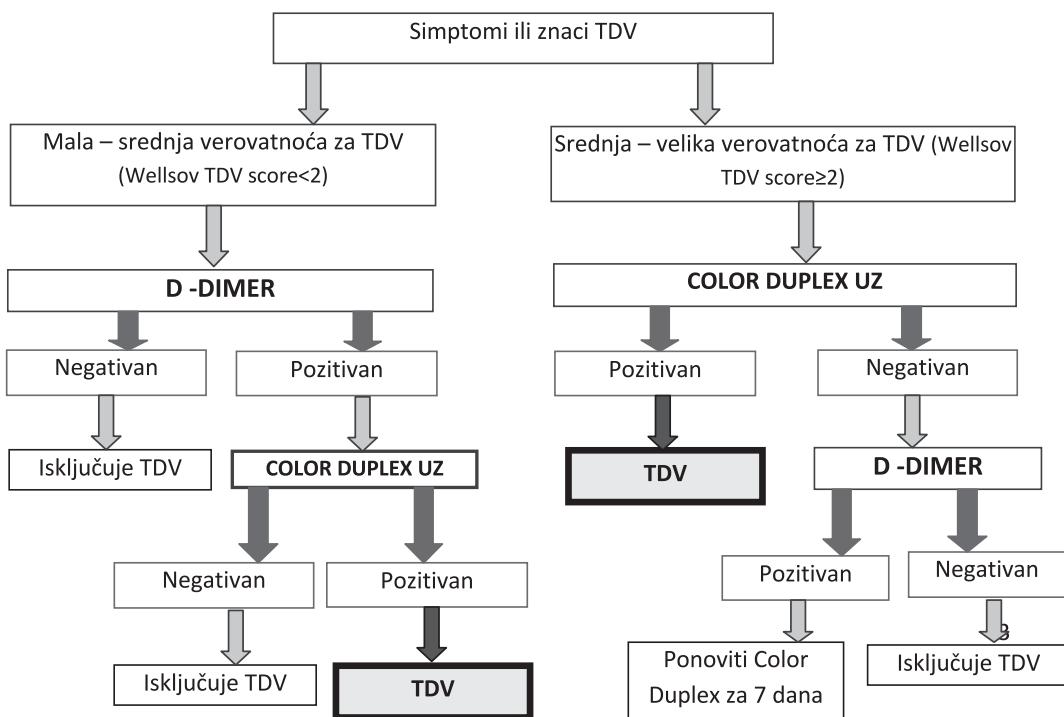


Tabela br.1- Najnoviji Wells-ov klinicki model za procenu "pretest" probabiliteta TDV

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 poslednjih 3 meseca	+1
Lokalizovana bolna osetljivost u distribuciji sistema dubokih vena	+1
Otok noge u celini	+1
Otok lista potkoljenice >3 cm u odnosu na asimptomatski ekstremitet	+1
Testasti edem (veći na simptomatskoj nozi)	+1
Ranije potvrđena TDV	+1
Dilatirane kolerteralne superficialne 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:

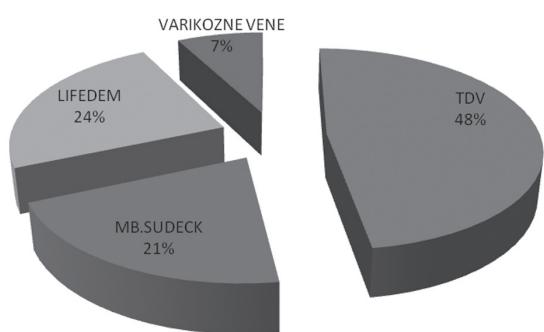
U periodu od janura 2007.g. do aprila 2010.godine pregledano je 130 pacijenata sa edemom ekstremiteta. Vreme proteklo od ortopedске intervencije do dolaska na rehabilitaciju bilo je od jed-

nog do četiri meseca. Kod 130 pacijenata Wellsov scor je bio jednak ili veći od dva .Kod 62 pacijenta (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, Clohisy, 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. Rajaganeshan, 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 deepvein 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 DIFFERENT 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 esteraze, s obzirom na ulogu koju imaju u širokom spektru bolesti, uključujući i aterosklerozu. U našoj studiji vršena je analiza citohemijske aktivnosti α -naftil butirat esteraze (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 skoring 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 esteraznog skora u karotidnim arterijama/plakovima između ispitivanih grupa pacijenata. Ovi rezultati mogli bi da ukažu na značaj BUT u procesu aterogeneze.

Ključne reči: α -naftil butirat esteraza (BUT), aterosklerоза, karotidni plak, kinking, coiling

Summary: Inspite 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. at-erom (grčki atheroma) (4-6).

Centralnu ulogu u razvoju ateroskleroznog plaka, posebno u ranim fazama njegovog stvaranja, imaju potencijalno reverzibilni činiovi (poremećena sinteza azot monoksida /NO/), odgovor na vazodilatacione 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 aterosklerozu.

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. Stepen aktivnosti esteraza je u mononuklearima u korelaciji sa ćelijskim vijabilitetom i mitotskim kapacitetom. U određenim uslovima makrofagi snažno podstiču imunsku reakciju, oslobođajući citokine i faktore rasta, koji zatim aktiviraju limfocite. Razni lokalni stimulusi (imunski kompleksi, antigeni, limfokini, delovi bakterija, itd.) mogu da pokrenu oslobođanje hidrolitičkih lizozomskih enzima u vanćelijski prostor sa autodestruktivnim posledicama (14). S tim u vezi, citohemijskim metodama je utvrđeno da je aktivnost nespecifičnih esteraza u makrofagima arterijskog zida povišena u toku aterogeneze indukovane hipoholesteroliskom dijetom, a takođe i prilikom povreda endotela balon kateterom. Uočeno je, takođe, da je količina esteraza direktno proporcionalna stepenu zasićenosti intime lipoproteini ma 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 obuhvatilo 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 aterosklerozu 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 everzione 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 stenoze karotidnih arterija.

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 karotidnem plaku (KALC-kalcifikovani plak).

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

Citohemijsko ispitivanje BUT metodom imprinta

Ćelijske nespecifične esteraze 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 imprimati (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 modifikovli 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 x 10⁻⁴ mol/L u 0.5 mL acetona koji se brzo dodaje i Fast Garnet GBC soli (Sigma diagnostics)-3 mg (9 x 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 pojmom braon do ljubičasto prebojenih granula.

Citohemijska analiza preparata karotidnih arterija i plakova vršena je pomoću svetlosnog mikroskopa BIO-OPTICA (uvećanje 100x i imjerzija). Zatim su specifična polja fotografisana korišćenjem digitalnog fotoaparata na mikroskopu OLYMPUS DP70 (uvećanje 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 procenjivana 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 esteraze, 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, Kruskall-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

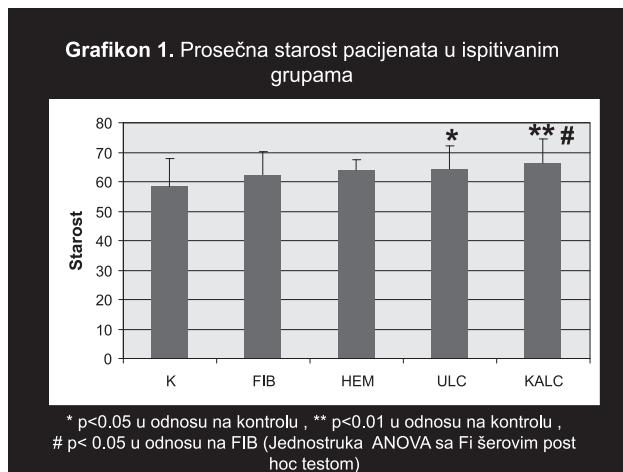
Rezultati

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 ($X \pm$ 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 muškaraca 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 muškaraca 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 intraplakalnom hemoragijom (HEM) bilo je 3 bolesnika (/7.5% ispitanika/ 2 muškaraca 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

