

ČASOPIS MEDICINSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU



MEDICINSKA ISTRAŽIVANJA

UREĐIVAČKI ODBOR – EDITORIAL BOARD

GLAVNI I ODGOVORNI UREDNIK – EDITOR-IN-CHIEF

Prof. dr Đorđe Radak, dopisni član SANU

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
Akademik Predrag Peško
Akademik Nebojša Lalić
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
Prof.dr Ivanka Marković
Prof.dr Vladimir Trajković
Doc.dr Petar Otašević
Doc.dr Vojislav Parezanović

Članovi odbora iz inostranstva:

Members of the board from foreign countries:

Евгений Иванович Чазов – Rusija, Russia
Николај Романович Палеев – 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, Brazil
Ralf Ferdinand Basting – Nemačka, Germany
Albert Hofman – Holandija, Nederland
Guido Macchiarelli – Italija, Italy

TEHNIČKI SEKRETAR

Viktorija Joksimović

¹Klinički Centar Srbije, Klinika za hematologiju

²Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

DA LI JE DANAS MOGUĆA INDIVIDUALIZACIJA TERAPIJE KOD BOLESNIKA SA HRONIČNOM LIMFOCITNOM LEUKEMIJOM?

IS IT POSSIBLE TO APPLY INDIVIDUAL TREATMENTS IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA?

Bljana Mihaljević^{1,2}, Milena Todorović^{1,2}, Jelena Bila^{1,2}, Darko Antić^{1,2}

Sažetak

Hronična limfocitna leukemija (HLL) predstavlja najčešću hematološku malignu bolest čija incidenca dostiže 13 obolelih na 100 000 osoba starosne dobi iznad 65 godina. Imajući u vidu da se čak dve trećine bolesnika najpre samo kontroliše po postavljanju dijagnoze sa neizvesnim vremenom do progresije bolesti, najvažnija pitanja koja se postavljaju pred hematologa su vreme kada treba da se započne lečenje i izbor prve terapijske linije. Savremeni imunohemioterapijski pristup (fludarabin, ciklofosamid, rituximab) koji kombinuje purinske analoge i alikilišuće agense sa monoklonskim antitelima dovodi do terapijskog odgovora kod oko 90% bolesnika. Kod visokorizičnih bolesnika kod kojih postoji značajno veća šansa za brzi relaps bolesti odgovor je poboljšan primenom alogene transplantacije. Precizna stratifikacija bolesnika u odnosu na individualni rizik predstavlja presudan moment pre izbora nekog od navedenih terapijskih pristupa. Shodno tome, u toku je niz istraživanja koja za cilj imaju da definišu i razgraniče prognostičke (one koji će predvideti preživljavanje) i prediktivne (one koji će pomoći u izboru terapijskog modaliteta koji će ciljano uticati na biologiju bolesti) faktore koji bi bili uključeni u jedinstveni prognostički model sa ciljem da se obezbede tri najvažnije informacije: verovatnoća postizanja remisije, vreme do progresije bolesti i ukupno preživljavanje. Smatra se da takav model mora da sadrži standardne prognostičke faktore kao što je klinički stadijum bolesti, citogenetski status, mutacioni status, vrednost pojedinih serumskih markera uz planirano uključivanje novih parametara sa potvrđenim uticajem na tok bolesti što bi bilo testirano kroz multivarijantnu analizu.

Svi aktuelni terapijski modaliteti testiraju se kroz kliničke studije u kojima participiraju pacijenti koji zadovoljavaju stroge, uključujuće kriterijume, zasnovane između ostalog i na proceni performans statusa i prisustva komorbiditeta. S obzirom da je HLL

uglavnom bolest starijih osoba identifikuju se i komorbiditetni skorovi čija bi upotreba bila jednostavna u svakodnevnoj kliničkoj praksi a koji bi istovremeno adekvatno procenili ukupno stanje bolesnika čime bi se smanjio rizik od primene neodgovarajuće intenzivne terapije.

Ključne reči: hronična limfocitna leukemija, terapija

Summary

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most common form of leukemia in adults. This disease can be defined as a clonal disease of unknown etiology characterized by progressive accumulation of functionally incompetent B lymphocytes in the blood, lymph nodes, spleen and bone marrow. In clinical practice, substantial variability can be noticed in the course of CLL. Some patients are asymptomatic at the time of the diagnosis and do not need to be treated for a long time. On the other hand, there are subgroups with rapid disease progression and early resistance to therapy. Identifying the optimal timing and the type of first - line treatment is a major issue in CLL.

This paper discusses treatment approaches according to individual risk profiles. While it is important to have prognostic markers, it is also critical to account for the difference between prognostic and predictive markers. A prognostic factor is a situation, condition or characteristic of a patient that can be used to estimate the outcome of the disease irrespective of the treatment given. Treatment response variable is an important difference when it comes to a predictive factor. A predictive factor is a condition or finding that predicts the differential efficacy of a particular therapy based on marker status (i.e. patients with presence or absence of a specific marker will respond differently to a specific treatment). Most factors associated with giving prognosis in CLL have not been proven yet to be a predictive impact.

The current therapeutic approach reflects clinical trial reality although many CLL patients

present with comorbidities and advanced age. Therefore we need to mark the significance of patients' tailored therapy aimed at avoiding treatment complications.

Key words: chronic lymphocytic leukemia, therapy.

Uvod

Hronična limfocitna leukemija (HLL) predstavlja hronično limfoproliferativno oboljenje koje se karakteriše patološkom proliferacijom monoklonskih B limfocita koji se morfološki diskretno razlikuju od normalnih i odlikuju se specifičnim imunofenotipom koji podrazumeva koekspresiju CD5 i CD23. Monoklonski imfociti se detektuju u perifernoj krvi, a sa prolimfocitima i paraimunoblastima formiraju infiltrate u koštanoj srži, slezini i limfnim žlezdama (1). Uprkos postojanju različitih podataka, smatra se da istorijat HLL započinje 1845. godine kada su Bennet i Virchow u nezavisnim radovima opisali bolesnike sa leukocitozom i uvećanjem limfnih žlezda, jetre i slezine. Od tada do danas, spoznaja HLL je podeljena u tri faze: prepoznavanje bolesti kao posebnog entiteta, započinjanje intenzivnih kliničkih ispitivanja i modernu eru. Svaki od navedenih perioda razlikuje se prema terapijskom pristupu (2).

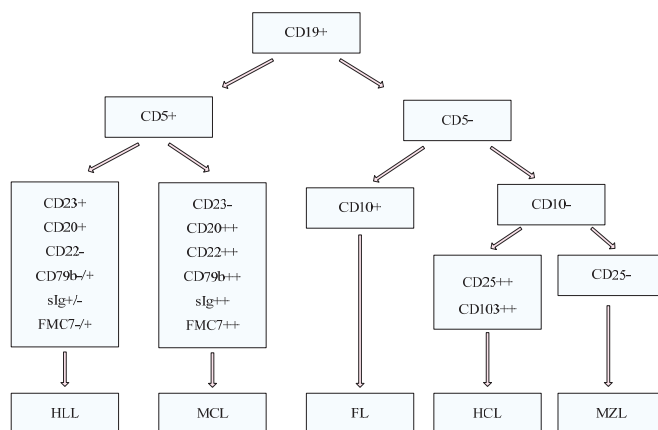
Prva faza karakteriše se diferencijalnom dijagnozom HLL u odnosu na akutne leukemije i početak razlikovanja HLL od limfoma. U drugoj eri izdvajaju se radovi Galtona i Damesheka koji su istakli da je osnovni patogenetski mehanizam u HLL nakupljanje, a ne proliferacija imunološki nekompetentnih limfocita. U terapijskom smislu ovaj period su obeležili Chlorambucil i primena steroida. Dok je primena Chlorambucila i dalje ostala terapija izbora kod bolesnika sa komorbiditetima, već sredinom XX veka je utvrđeno da steroidi neće biti adekvatno rešenje za lečenje HLL zbog veće učestalosti teških i komplikovanih infekcija kod bolesnika koji su na taj način tretirani (2).

U trećoj eri HLL, dva glavna pravca istraživanja su usmerena na pitanja kada započeti lečenje bolesnika, koji su najvažniji prognozni faktori i kako prilagoditi terapiju celokupnom zdravstvenom stanju bolesnika koje nije uslovljeno samo tegobama uslovljenim hroničnom limfocitnom leukemijom. Usvojene su dve fundamentalne kliničke klasifikacije Rai i Binet krajem XX veka, a težište istraživanja je bilo prebačeno na molekularnu genetiku. Primena Chlorambucila ustupa mesto purinskim analogima, monoklonskim antitelima i inhibitorima angiogeneze (2).

Dijagnostički kriterijumi

Prema kriterijumima Internacionalne grupe za HLL (IWCLL) i američkog Nacionalnog Kancer Instituta (NCI), za postavljanje dijagnoze HLL potrebno je da se u perifernoj krvi detektuje više od

$5 \times 10^9/l$ monoklonskih limfocita ali isto tako, prema kriterijumima IWCLL dijagnoza HLL može da bude postavljena i kod bolesnika sa nižim brojem limfocita ako postoji citopenija ili je prisutna B simptomatologija (3,4). Imunofenotipske karakteristike se određuju floucitometrijskom analizom limfocitne populacije što omogućava diferencijalnu dijagnozu u odnosu na druge limfoproliferativne entitete koji se mogu prezentovati sa limfocitozom u krvnoj slici.



Shema 1: Diferencijalna dijagnoza CD19+ limfocitoza

Legenda	
B-HLL	B hronična limfocitna leukemija
HCL	hairy cell leukemija
MCL	mantle cell limfom
FL	folikularni limfom
MZL	limfom marginalne zone

Kod jedne grupe bolesnika tumorska masa je predominantno skoncentrisana u limfnim žlezdama ili drugim organima bez infiltracije koštane srži. Maligne ćelije imaju iste imunofenotipske karakteristike kao u HLL i taj entitet je poznat kao limfom malih limfocita (SLL) (5,6,7).

Epidemiološki podaci

HLL je najčešća leukemija odraslih i incidenca je 2-6 slučajeva na 100 000 odraslih stanovnika godišnje. Retko se javlja kod osoba mladih od 50 godina dok incidenca raste na 12.8/100000 kod osoba starijih od 65 godina (1). Važno je napomenuti da rođaci prvog stepena obolelih od HLL imaju tri puta veću verovatnoću da obole od HLL ili druge limfoproliferativne bolesti u odnosu na opštu populaciju (približno 5% bolesnika sa HLL imaju pozitivnu porodičnu anamnezu za HLL). Već postojanje dve osobe sa HLL u jednoj porodici definiše termin „familijarne“ HLL. Imunofenotipska ispitivanja su pokazala da 3-5% zdravih osoba starijih od 40 godina imaju monoklonsku limfocitozu (broj leukocita ispod $3.5 \times 10^9/l$). Kod rođaka prvog stepena obolelih od HLL, ta učestalost je 13.5-18% (5). Do sada nije

utvrđeno postojanje specifične mutacije koja dovodi do pojave „familijarne“ HLL, što ukazuje da verovatno veći broj gena učestvuje u razvoju ovog entiteta. Klinički značaj u smislu drugačijeg toka ili lošije prognoze kod bolesnika sa „familijarnom“ HLL nije dokazan (5).

Patofiziološki mehanizmi

Patofiziološki mehanizmi u HLL nisu u potpunosti definisani. Smatra se da se HLL karakteriše promenama u B-ćelijskom receptoru, specifičnim genetskim abnormalnostima (o čemu će biti više reči u daljem tekstu) i poremećajem apoptoze.

Nakupljanje zrelih B ćelija koje ne podležu apoptozi već ostaju u G0/G1 fazi ćelijskog ciklusa je karakteristika HLL. Pokazano je da u ćelijama HLL postoji povećana količina BCL2 proteina koja nije uzrokovana translokacijom u BCL2 genu. I ostali članovi BCL2 familije gena kao što su BCL-XL, BAG1 i MCL1 se pojačano ekspimiraju u HLL za razliku od BAX i BCL-XS proapoptotskih gena. Osim poremećene regulacije gena koji učestvuju u apoptozi dokazan je i poremećaj regulacije gena koji kontrolišu ćelijski ciklus. Tako u HLL postoji povećana količina negativnog regulatora ciklina odnosno CDKN1B - proteina koji zaustavlja ćelije u ranoj fazi ćelijskog ciklusa (5).

U HLL ćelijskim kulturama dolazi do apoptoze, što sugeriše i na razmatranje uticaja mikrosredine na preživljavanje ćelija HLL-a *in vivo*. Smatra se da taj uticaj mikrosredine potiče od CD4 T ćelija koje ekspimiraju CD40 ligand i koje su aktivirane od strane malignih B ćelija lučenjem hemokina CCL17 i CCL22 koji privlače i aktiviraju T ćelije (5).

Izotopskim ispitivanjem je pokazano da osim poremećaja apoptoze postoji i uticaj proliferacije na formiranje B ćelijskog klona. Smatra se da se proliferativna aktivnost pojačava kada dođe do smanjivanja tumorske mase u perifernoj krvi gde procesi apoptoze nisu kompromitovani. U limfnim žlezdama, koštanoj srži i slezini, stimulacija B HLL ćelija putem CD31 sa endotelnih ćelija i CD154 sa T ćelija, utiče na pojačanu ekspresiju CD38 i ZAP-70 (zeta povezan protein) dovodeći do ćelijske deobe i pojačavanja rezistencije na apoptozu. Iz proliferativnih centara maligne ćelije prelaze u cirkulaciju gde se njihova aktivnost smanjuje, a zatim ih ponovo citokini ponovo privlače u proliferativne centre i ponavljaju ceo ciklus. CD38 se smatra pokazateljom boravka B HLL ćelije u u proliferativnom centru (5).

Definisanje pojma aktivne bolesti

Indikacija za lečenje HLL i prema NCI i prema IWCLL (3,4) je postojanje aktivne bolesti koja podrazumeva:

1. Kompromitovanu funkciju koštane srži što znači razvoj ili pogoršanje anemije i/ili trombocitopenije.
2. Simptomatsku ili progresivnu ili masivnu splenomegaliju (slezina se palpira najmanje 6cm ispod levog rebarnog luka).
3. Simptomatsku ili progresivnu ili masivnu limfadenopatiju (najmanje 10cm u prečniku).
4. Progresivnu limfocitozu koja se definiše kao povećanje broja limfocita za 50% tokom 2 meseca ili udvostručenje broja limfocita tokom 6 meseci.
5. Razvoj autoimune anemije i/ili trombocitopenije rezistentne na primenu kortikosteroida ili drugih standardnih metoda lečenja.
6. Postojanje B simptomatologije
 - ✓ Gubitak $\geq 10\%$ telesne težine unutar 6 meseci
 - ✓ Zamor (performans status ≥ 2).
 - ✓ Febrilnost $> 38^{\circ}\text{C}$ u trajanju od ≥ 2 nedelje bez potvrđene infekcije
 - ✓ Noćno znojenje koje traje duže od mesec dana bez potvrđene infekcije

Terapija

Oko 80% bolesnika sa HLL se dijagnostikuje u ranim stadijumima bolesti (npr Binet stadijum A ili B ili Rai stadijum O-II). Kod tih pacijenata nije neophodno odmah uvesti terapiju jer će kod većine bolesnika bolest imati indolentan tok. Dokazano je da pacijenti starosne dobi iznad 75 godina imaju dužinu životnog veka kao i pacijenti iste starosne dobi koji nemaju HLL što ukazuje da su uzroci smrti komorbiditeti a ne sama HLL. Nezavisno od starosne dobi potrebno je što pre proceniti koliki je rizik progresije bolesti odmah po postavljanju dijagnoze. Klinički tok HLL varira od bolesnika do bolesnika, tako da postoji grupa bolesnika koja nema simptome ili komplikacije bolesti i nikad ne zahteva lečenje, dok sa druge strane postoji grupa bolesnika sa agresivnom formom bolesti koja se karakteriše brзом progresijom i lošim terapijskim odgovorom. U tu svrhu koriste se različiti prognostički faktori ali su se do sada u kliničkoj praksi kao najznačajniji pokazali: nivo $\beta_2\text{M}$, ekspresija CD38, mutacija varijabilnog lanca IgVH kao I citogenetski nalaz. Imajući u vidu tehničke mogućnosti, troškove analiza kao I do sada objavljene rezultate istraživanja najznačajnija je korelacija sa citogenetskim nalazom (2,3).

Klinički	Molekularno-biološki
Starosna dob i pol bolesnika	IgV _H
Rai/Binet klasifikacija	CD38
LDH	Hromozomske abnormalnosti
Vreme udvostručavanja broja limfocita	ZAP-70
β ₂ M	Timidin kinaza
	CD23
	Angiogeneza
	LPL

Tabela 1. Prognostički faktori kod bolesnika sa HLL

Legenda	
LDH	nivo serumske laktat dehidrogenaze
β ₂ M	beta2 – mikroglobulin
ZAP-70	zeta povezan protein
LPL	ekspresija gena za lipoproteinsku lipazu

Obrazac hromozomskih aberacija u HLL-u je dosta različit u odnosu na druge leukemije i limfome. U najvećem broju hematoloških tumora, balansirane hromozomske abnormalnosti se javljaju kao najčešće promene, dok su u HLL-u najčešće aberacije nebalansirane delecije sa varijabilnim tačkama prekida na hromozomima: 13q, 11q, 17p i 6q, kao i trizomija hromozoma 12. Dokazano je da su pacijenti sa delecijom 17p terapijski najzahtevnija grupa bolesnika imajući u vidu da ne reaguju adekvatno na standardni terapijski pristup (2.3,6).

Dva osnovna problema koji se javljaju kod izbora terapijskog pristupa su značaj komorbiditeta i citogenetski nalaz i o njima će biti nešto više reči. Gotovo sve studije na kojima su zasnovani terapijski vodiči i preporuke su sprovedene na ispitanicima prosečne starosti od 55-60 godina koji nisu imali komorbiditete (20,21).

Imunohemioterapija koja podrazumeva primenu anti CD20 antitela i purinskih analoga se smatra standardnim terapijskim pristupom kod mlađih bolesnika sa HLL koji nemaju komorbiditete. Smatra se da se isti pristup može primeniti i kod starijih osoba bez komorbiditeta. Nezavisno od starosne dobi prva linija terapija kod bolesnika visokog rizika (del 17p) je tema mnogih istraživanja. Predlaže se primena anti CD52 antitela i alogena transplantacija (20,21).

Što se tiče bolesnika sa komorbiditetima ne postoje dokazi da oni dobro tolerišu standardnu imunohemioterapiju. Nedavni podaci pokazuju da monoterapija Chlorambucilom ima istu efikasnost ali bolju toleranciju nego primena Fludarabina. U tom smislu je primena Chlorambucila terapija izbora kod tih bolesnika. Takođe ne isključuje se u potpunosti primena Fludarabina ali svakako u nižim dozama. Terapija visoko rizičnih bolesnika može da

podrazumeva primenu anti CD 52 antitela ili Lenalidomida ali nije indikovana alogena transplantacija (3,20,21).

Nezavisno od godina bolesnici koji su u teškom stanju nemaju benefit od antileukemijske terapije već se povećava rizik daljeg pogoršanja. U tim slučajevima bitnije je da se radi na simptomatskoj terapiji nego na eradikaciji leukemijskog klon.

Shodno svemu navedenom odluka o terapijskom pristupu kod bolesnika sa HLL zavisi od:

1. Stadijuma bolesti
2. Stanja bolesnika
3. Postojanja genetskih promena utvrđenih FISH metodom
4. Odgovora na prethodni terapijski modalitet ako je primenjivan.

Nakon procene bolesnika na osnovu prethodne 4 preporuke preporučuje se sledeće:

1. Bolesnici u ranoj fazi bolesti Binet A, Binet B, Rai 0-II bez simptoma bolesti ne zahtevaju primenu terapije.
2. Kod bolesnika sa uznapredovalom bolesti Binet C, Rai O-II ili sa prisutnim simptomima treba započeti terapiju. (20,21)
3. Preporuke za lečenje prikazane su u tabelama 2 i 3..

Stadijum	Komorbiditeti	Del 17p, p53mut	Terapija
Binet A, B Rai O-II	nebitno		ne
Aktivna bolest Rai III-IV Binet C	+	-	Chlorambucil, Bendamustin
	+	+	Alemtuzumab, Rituximab
	-	-	FCR
	-	+	FCR , Alemtuzumab (loš odgovor) Alogena transplantacija (studije)

FCR – Fludarabin, Cyclophosphamide, Rituximab

Tabela 2: Preporuke za lečenje nelečenih bolesnika sa HLL

Trajanje remisije	Komorbiditeti	Del 17p, p53mut	Terapija
> 2 godine	nebitno		Ponoviti prvu liniju
≤ 2 godine	+	-	studije
	+	+	Alemtuzumab, Rituximab, Lenalidomid studije
	-	nebitno	Alogena SCT (studije)

Tabela 3. Preporuke za lečenje bolesnika sa HLL u relapsu

Zaključak

Pretpostavlja se da će u narednom periodu broj obolelih od HLL starijih od 75 godina biti sve veći. Manji deo tih pacijenata će biti kandidat za primenu da imunohemioterapije dok će drugi deo bolesnika morati da primi drugačiju terapiju zbog komorbiditeta ili drugih zdravstvenih problema koji otežavaju saradnju bolesnika (nepokretnost, demencija). Trenutni terapijski modaliteti ne nude adekvatan benefit i u tom smislu trenutno je u toku veliki broj kliničkih studija koji ispituju terapijske modalitete kod osoba starije životne dobi sa komorbiditetima.

Napomena

Rad je usmeno izložen na mini-simpozijumu Kontroverze u hematologiji, na 41. simpozijumu Stremljenja i novine u medicini, Medicinski fakultet u Beogradu, 4.12.2012. godine.

Literatura

- Muller-Hermelink H, Montserrat E, Catovsky D, Campo E, Harris N, Stein H. Chronic lymphocytic leukaemia/small lymphocytic lymphoma. In: Swerdlow S, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri S, Stein H, Thiele J, Vardiman JW eds. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC; 2008. str. 180-2.
- Bosch F, Montserrat E. The Natural History of CLL: *Historical Perspective* In: Faguet G eds: Chronic lymphocytic leukemia Molecular Genetics, Biology, Diagnosis, and Management. New Jersey: Humana Press; 2004. str. 3-56.
- Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood*. 2008;111(12):5446-56.
- Cheson BD, Bennett JM, Grever M, Kay N, Keating MJ, O'Brien S, et al: National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood*. 1996;87(12):4990-7.
- Dighiero G, Hamblin TJ. Chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet*. 2008;37:1017-29.
- Zenz T, Döhner H, Stilgenbauer H. Differential Diagnosis, Staging, and Prognostic Factors. In O'Brien S and Gribben J eds Chronic Lymphocytic Leukemia. New York: Informa Healthcare; 2008. str. 103-120.
- Bosch F, Montserrat E. Prognostic indicators of CLL. In: Faguet G, eds: Chronic lymphocytic leukemia Molecular Genetics, Biology, Diagnosis, and Management. New Jersey: Humana Press; 2004. str. 201-18.
- Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, et al. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1975;46:219-234.
- Binet JL, Auduier A, Dighiero G, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*. 1981;48:198-206.
- Montserrat E. Classical and new prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia: where to now? *Hematol J*. 2002;3:7-9.
- Montserrat E, Gomis F, Vallespi T, et al. Presenting features and prognosis of chronic lymphocytic leukemia in younger adults. *Blood* 1991;78:1545-1551.
- Mauro FR, Foa R, Giannarelli D, et al. Clinical characteristics and outcome of young chronic lymphocytic leukemia patients: a single institution study of 204 cases. *Blood* 1999;94:448-454.
- Diehl LF, Karnell LH, Menck HR. The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society. The National Cancer Data Base report on age, gender, treatment, and outcomes of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 1999;86:2684-2692.
- Catovsky D, Fooks J, Richards S. Prognostic factors in chronic lymphocytic leukaemia: the importance of age, sex and response to treatment in survival. A report from the MRC CLL 1 trial. MRC Working Party on Leukaemia in Adults. *Br J Haematol*. 1989;72:141-149.
- Rozman C, Montserrat E, Rodríguez-Fernández JM, et al. Bone marrow histologic pattern—the best single prognostic

- parameter in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate survival analysis of 329 cases. *Blood*. 1984;64(3):642–648.
16. Bergmann MA, Eichhorst B, Busch R, et al. Prospective evaluation of prognostic parameters in early stage Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): results of the CLL1-Protocol of the German CLL Study Group (GCLLSG). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2007;110:625.
 17. Montserrat E, Sanchez-Bisono J, Vinolas N, et al. Lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukaemia: analysis of its prognostic significance. *Br J Haematol*. 1986;62:567–575
 18. Han T, Barcos M, Emrich L, et al. Bone marrow infiltration patterns and their prognostic significance in chronic lymphocytic leukemia: correlations with clinical, immunologic, phenotypic, and cytogenetic data. *J Clin Oncol*. 1984;2:562–570.
 19. Gentile M, Cutrona G, Neri A, Molica S, Ferrarini M, Morabito F. Predictive value of beta2-microglobulin (beta2-m) levels in chronic lymphocytic leukemia since Binet A stages. *Haematologica*. 2009;94(6):887-8.
 20. Hallek M, Pflug N. State of the art treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Blood rev* 2011;25.1-9.
 21. Hallek M. State of the art treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Hematology am soc educ program* 2009: 440-449.

¹ Institut „Vinča”, Laboratorija za radiobiologiju i molekularnu genetiku, Univerzitet u Beogradu, P.fax 522, 11001 Beograd, Srbija

² Institut za kardiovaskularne bolesti Dedinje, Beograd, Srbija

³ Klinički centar Zemun, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

BIOMARKERI U KARDIOVASKULARNIM BOLESTIMA

BIOMARKERS OF CARDIOVASCULAR DISEASES

¹ Kristina Savic, ¹Sonja Zafirovic, ¹Ivana Resanovic, ¹Emina Sudar, ²Vera Maravic-Stojkovic, ³Biljana Putnikovic i ¹Esma R. Isenovic

Sažetak

Biomarkeri predstavljaju indikatore normalnih bioloških procesa, patogenih procesa ili farmakoloških odgovora na terapijske intervencije. Interleukin-6 (IL-6, engl. Interleukin-6) je biomarker, čija sinteza može biti aktivirana različitim stimulusima, kao što su: interferon- γ (IFN- γ , engl. Interferon- γ), faktor tumorske nekroze (TNF, engl. Tumor Necrosis Factor) i/ili interleukin-1 (IL-1, engl. Interleukin-1). IL-6 svoje efekte ostvaruje preko IL-6 receptora (IL-6R, engl. IL-6 Receptor). Pokazano je da kod transgenih miševa, kod kojih je indukovana ekspresija IL-6 i IL-6R, dolazi do hipertrofije miokarda. U mehanizmu hipertrofije miokarda bitnu ulogu ima i novootkriveni kardirotrofin-1 (CT-1, engl. Cardiotrophin-1) koji je jedan od članova IL-6 familije. Aktivnost IL-6 vezuje se za razvoj aneurizme abdominalne aorte (AAA, engl. Abdominal Aortic Aneurysm), zapravo, pokazano je da su aneurizme mesta odakle cirkuliše IL-6, a takođe se smatra da je koncentracija IL-6 u pozitivnoj korelaciji sa dijametrim AAA. C-reaktivni protein (CRP, engl. C-Reactive Protein) je jedan od mnogobrojnih biomarkera kardiovaskularnih bolesti. Uloga CRP-a je u nastanku i progresiji kardiovaskularnih bolesti. Lokalna produkcija CRP-a od strane glatkih mišićnih i endotelnih ćelija krvnog suda, u velikoj meri utiče na razvoj procesa ateroskleroze. Važnu ulogu u nastanku ateroskleroze, osim CRP-a, ima i oksidovani lipoprotein male gustine (ox-LDL, engl. Oxidized Low Density Lipoprotein). Oksidaciju LDL-a vrše različiti enzimi. Ox-LDL nakon što prođe u intimu krvnog suda indukuje sakupljanje monocita, tj. monociti se prevode u makrofage koji vezuju ox-LDL. Kada se makrofagi napune ox-LDL-om, dolazi do pokretanja signala ćelijske smrti i stvaraju se forme penušavih ćelija koje čine početni deo aterosklerotičnog plaka.

Nova saznanja o mehanizmu delovanja kao i uloge biomarkera u nastanku kardiovaskularnih bolesti, svakako će pružiti jednu od mogućnosti prevencije nastanka ovih poremećaja, a takođe i adekvatnu terapiju u lečenju kardiovaskularnih

oboljenja, što i jeste jedan od glavnih ciljeva intezivnih istraživanja u oblasti biomarkera.

U ovom preglednom članku, opisana su tri biomarkera kardiovaskularnih bolesti: IL-6, CRP i LDL.

Ključne reči: interleukin-6, C-reaktivni protein, lipoprotein male gustine, hipertrofija miokarda, aneurizma abdominalne aorte, ateroskleroza.

Summary

Biomarkers are indicators of normal biological processes, pathogenic processes or pharmacologic responses to therapeutic interventions. Interleukin-6 (IL - 6) is a biomarker whose synthesis could be activated by various stimuli, such as interferon- γ (IFN - γ), tumor necrosis factor (TNF) and/or interleukin - 1 (IL - 1). IL - 6 achieves its effects through the IL-6 receptor (IL - 6R). It has been shown that transgenic mice, which have induced expression of IL - 6 and IL - 6R develop myocardial hypertrophy. In myocardial hypertrophy, an important role is played by a newly discovered cardiotrophin-1, a member of the IL - 6 family. The activity of IL - 6 is associated with the development of abdominal aortic aneurysm (AAA); in fact, it has been shown that the concentration of IL - 6 positively correlates with AAA diameters. C-reactive protein (CRP) is one of the biomarkers of cardiovascular diseases. Local production of CRP by the smooth muscular and endothelial cells of the vessel leads to the development of atherosclerosis to a large extent. Oxidized low-density lipoprotein (ox - LDL) also has an important role in the development of atherosclerosis. After penetrating the intima of the vessel, ox - LDL induces monocyte collection, i.e. monocytes are translated into macrophages that bind ox - LDL. Having filled the macrophages with ox - LDL, the signals of cell death are activated, which leads to the creation of foamy cells that make up the initial part of the atherosclerotic plaque.

New knowledge about the mechanism of action and the role of biomarkers in the development of cardiovascular diseases will certainly provide an opportunity to prevent the onset of these disorders, as well as an adequate therapy in the treatment of cardiovascular diseases, which is one of the main goals of intensive research in the field of biomarkers.

Key words: interleukin-6, C-reactive protein, low density lipoprotein, myocardial hypertrophy, abdominal aortic aneurysm, atherosclerosis.

Uvod

Termin biomarker (biološki marker) uveden je 1989. godine i definisan je kao merljiv i kvantifikovan biološki parametar (npr. koncentracija specifičnog enzima, koncentracija specifičnog hormona, specifičan gen i genotip distribuiran u populaciji, itd.) koji predstavlja pokazatelj stanja fizioloških procesa, a takođe je i pokazatelj rizika za nastanak određene bolesti. Shodno tome, biomarkeri mogu biti klasifikovani kao: a) biomarkeri koji ukazuju na predispoziciju nastanka bolesti; b) skrining biomarker-omogućava skrining za subkliničke bolesti; c) dijagnostički biomarker- omogućavaju dijagnostiku bolesti; d) biomarkeri koji karakterišu ozbiljnost bolesti; e) prognostički biomarkeri- predviđaju tok bolesti, uključujući ponovno oboljevanje, praćenje odgovora na terapiju i efikasnost terapije [1]. 2001. godine, radna grupa Nacionalnog instituta za zdravlje SAD-a (NIH, engl. National Institutes of Health) definisala je sam biomarker kao karakteristiku organizma koja može biti objektivno izmerena, procenjena i predstavljena kao indikator normalnih bioloških procesa, patogenih procesa ili odgovora na terapijske intervencije farmakološkim supstancama [1, 2].

Da bi biomarker bio klinički „koristan”, moraju postojati analitičke metode koje omogućavaju pouzdano merenje biomarkera, kao i da same metode istovremeno budu brze i isplative. Svaki biomarker i njegov test moraju proći detaljnu analizu, dakle izučavaju se uslovi merenja, tip uzorka, rukovanje uzorkom kao i osobine analitičke metode. Tako na primer, nakon eksperimentalnih i epidemioloških podataka, uočena je veza između liganda klastera diferencijacije 40 (CD40L, engl. Cluster of Differentiation 40 Ligand) i ateroskleroze, međutim detaljnije analize su pokazale da samo rukovanje/obrada uzorka, iz kojeg se određuje ovaj biomarker, značajno utiče na biomarker CD40L [3].

Biomarkeri kardiovaskularnih bolesti olakšavaju dijagnostiku i omogućavaju predviđanje toka kardiovaskularnih bolesti, a samim tim poboljšavaju i optimizuju tretman obolelog pacijenta. Na primer, kod osoba sa hroničnim i atipičnim bolom u grudima, biomarkeri dobijeni različitim testovima (npr.

dobutamin stres ehokardiogramom ili ergometar stres testom) mogu da olakšaju identifikovanje angine pektoris kod ovih pacijenata. Biomarkeri mogu ukazati na razliku između dva patološka stanja organizma tako, na primer, kod nekih pacijenata sa akutnim bolom u grudima sumnja se na akutni koronarni sindrom, ali biomarkeri mogu pokazati da se ipak radi o akutnom infarktu miokarda [4].

U ovom preglednom članku opisana su tri biomarkera kardiovaskularnih bolesti: interleukin-6 (IL-6, engl. Interleukin-6), C-reaktivni protein (CRP, engl. C-Reactive Protein) i lipoprotein male gustine (LDL, engl. Low Density Lipoprotein).

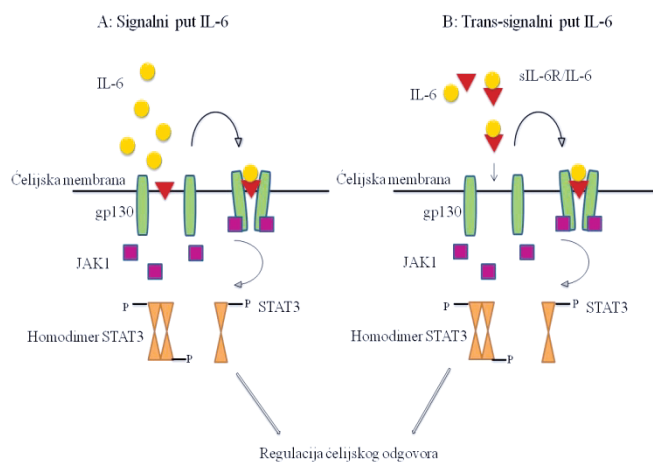
Interleukin-6 (IL-6) kao biomarker kardiovaskularnih bolesti

Interleukini (IL) su signalni molekuli koji su uključeni u komunikaciju između mnogih ćelija, proizvodi su različitih tipova ćelija, a posebno ćelija imunskog sistema. IL-6 je jedan od mnogobrojnih interleukina koji utiče na patofiziološke procese [5]. Sinteza IL-6 može biti aktivirana različitim stimulusima, uključujući interferon- γ (IFN- γ , engl. Interferon- γ), faktor tumorske nekroze (TNF, engl. Tumor Necrosis Factor) i/ili interleukin-1 (IL-1, engl. Interleukin-1). Na stvaranje IL-6, takođe, mogu uticati kako virusi, tako i bakterijski endotoksini. IL-6 se sintetiše kao molekul sa dugim signalnim peptidom od 28 aminokiselina. Nativni molekul IL-6 nema signalni peptid, često je N- i O- glikozilovan, a IL-6 može biti i fosforilisan. Gen za IL-6 lokalizovan je na hromozomu 7 (7p21). Polipeptid IL-6 nakon posttranslacione modifikacije, sastoji se od 184 aminokiselina [6] i sintetišu ga prvenstveno monociti i makrofagi na mestima akutne upale, kao i T-limfociti na mestima hronične upale [7].

Produkcija IL-6 kako od strane monocita, tako i od strane drugih ćelija, zavisi od nekoliko nuklearnih transkripcionih faktora, prvenstveno od nuklearnog faktora kapa B (NF κ B, engl. Nuclear Factor Kappa B), CCAAT/enhenser vezujućeg protein beta (C/EBP β , engl. CCAAT/Enhancer Binding Protein β) i od aktivatorskog proteina-1 (AP-1, engl. Activator Protein) [8]. IL-6 ima mnogobrojne uloge u organizmu, ali njegova centralna uloga je u odbrani domaćina usled svog širokog spektra imune i hematopoetične aktivnosti. IL-6 ima ulogu i u proliferacionim, diferencijacionim i maturacionim procesima, zavisno od tip ćelije u kojoj IL-6 ispoljava svoje dejstvo [9].

IL-6 svoje efekte ostvaruje preko IL-6 receptora (IL-6R, engl. IL-6 Receptor) koji se sastoji iz dve komponente, komponente od 80 kDa koja vezuje ligand, tj. IL-6, i druge komponente od 130 kDa, koja se naziva gp130 i ima ulogu u transdukciji signala. IL-6R je eksprimiran na mnogim ćelijama, među kojima su i endotelne ćelije i na svim ovim ćelijama može da se formira IL-6/IL-6R kompleks [10]. Nakon vezivanja IL-6 za svoj receptor, aktivira se signalni put, prvo se

regrutuje gp130, zatim dolazi do aktiviranja Janus kinaze tipa 1 (JAK1, engl. **Janus Kinase 1**) koja se vezuju za intracelularni deo gp130. JAK1 kinaza svojom aktivnošću (fosforilacijom) aktivira transkripcioni faktor tzv. signalni transduktor i aktivator transkripcije 3 (STAT3, engl. **Signal Transducer and Activator of Transcription 3**), koji se dimerizuje, transportuje u nukleus i nakon toga pokreće transkripcionu mašineriju (*Slika 1.*). Primarni rezultat ovog transkripcionog programa je aktiviranje rasta, diferencijacije, kao i isključivanje gena koji kodiraju proteine čije je uloga u regulaciji apoptoze ćelije, neki od tih proteina su: anti-apoptotski protoonkogeni Bcl-2 (Bcl-2, engl. **B-Cell Leukemia/Lymphoma 2**) i Bcl-xL (Bcl-xL, engl. **B-Cell Lymphoma-Extra Large**), kao i transkripcioni faktori JunB (JunB, engl. **Jun B** proto-oncogene) i cFos (cFos, engl. **C Fos** proto-oncogene) [11, 12]. Od velikog interesa je trans-signalni put, u kome se IL-6 vezuje za solubilne IL-6R (sIL-6R, engl. **Soluble IL-6 Receptor**). Pri kontaktu slobodnih IL-6 molekula u serumu i sIL-6R, dolazi do uspostavljanja kompleksa i nakon toga ovaj kompleks može aktivirati bilo koju ćeliju koja na svojoj membrani ima gp130 (*Slika 1.*). IL-6 trans-signalni put je najverovatnije odgovoran za većinu bolesti kod kojih je zastupljen proces inflamacije [13].



Slika 1. Shematski prikaz signalnog i trans-signalnog puta interleukina-6 (IL-6). A) Signalni put IL-6. IL-6 vezuje se za ligand vezujuću subjedinicu koja se nalazi na ćelijskoj membrani, nakon čega dolazi do aktiviranja i dimerizacije gp130. Sledi fosforilacija STAT3 i stvaranje aktivnog homodimera STAT3. B) Trans-signalni put IL-6. IL-6 i solubilna ligand vezujuća subjedinica stvaraju kompleks, koji se regrutuje na membranu, i nakon toga se aktivira i dimerizaciju gp130, nakon koje sledi fosforilacija STAT3 i stvaranje aktivnog homodimera STAT3. Rezultat aktiviranja ova puta je regulacija ćelijskog odgovora.

(Preuzeto i modifikovano sa sajta: <http://www.ijbs.com/v08/p1237/ijbsv08p1237g01.jpg>)

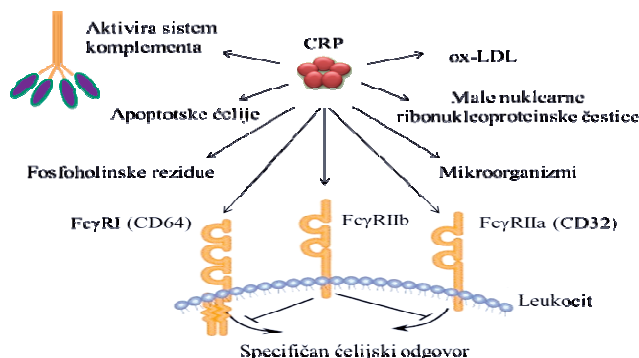
IL-6 i koronarna bolest srca. Biasucci i saradnici su pokazali da se povećan nivo IL-6, zajedno sa drugim citokinima, detektuje kod pacijenata sa nestabilnom anginom pektorisa, zapravo pokazano je da učestvuju, kako u formiranju aterosklerotičnih naslaga u koronarnim arterijama, [14] tako i u aktiviranju metaloproteina za koje se zna da učestvuju u remodeliranju ekstracelularnog matriksa [15]. IL-6 ima proinflamatorna svojstva sa stimulatornim efektom na T- i B-limfocite koji se smatraju važnim faktorom u patogenezi nestabilne angine pektorisa [16]. Pokazano je da se nivo IL-6 povećava u stanjima akutne faze nestabilne angine pektorisa. IL-6 stimuliše ekspresiju adhezivnih molekula na površini endotelnih ćelija, što dovodi do adhezije leukocita, kao što su monociti, a rezultat ovog procesa je rani imunski odgovor. U jednoj od studija uočen je upravo porast ovih adhezivnih molekula kao i nivo IL-6 u serumu pacijenata sa nestabilnom anginom pektorisa [17, 18].

IL-6 i srčana hipertrofija. Pokazano je da transgeni miševi koji su bez ekspresije gena za IL-6 i/ili IL-6R nemaju uočljive abnormalnosti miokarda [19]. Nasuprot njima, neonatalne ćelije srca izolovane iz normalnih miševa, pokazivale su specifičan odgovor na kombinaciju IL-6 i sIL-6R, ove ćelije su se uvećavale, što ukazuje na to da usled povećane aktivacije signalnog puta gp130 dolazi do hipertrofije komora srca. Kod transgenih miševa kod kojih je aktivirana prekomerna ekspresija IL-6 i gp130, takođe se uočava hipertrofija miokarda [19]. Pokazano je da u mehanizmu nastanka hipertrofije miokarda bitnu ulogu ima i novootkriveni molekul kardirotrofin-1 (CT-1, engl. **Cardiotrophin-1**) koji je kloniran kao indukcionni faktor hipertrofije miocita [20]. Sam CT-1 je član IL-6 familije i na različite načine učestvuje u nastanku hipertrofije, uključujući različite poremećaje, od poremećaja u organizaciji sarkomere, pa do uticaja na embrionalnu ekspresiju gena za receptor gp130 za koji se inače vezuje [21].

Takođe, pokazano je da je IL-6 u korelaciji sa razvojem aneurizme abdominalne aorte (AAA, engl. **Abdominal Aortic Aneurysm**). Pokazano je da je koncentracija cirkulišućeg IL-6 povišena kod pacijenata sa AAA u poređenju sa kontrolnom grupom [22]. S obzirom da je sama aneurizma izvor cirkulišućeg IL-6, koncentracija IL-6 može imati prognostički značaj jer se smatra da je koncentracija IL-6 u korelaciji sa dijametrom AAA. Takođe, imajući u vidu da ćelije, koje su u sastavu aneurizme, luče IL-6, zaključuje se da veća aneurizma ima veću površinu ćelija koje luče IL-6, a odatle i veću koncentraciju IL-6 u serumu pacijenata.

C- reaktivni protein (CRP) kao biomarker kardiovaskularnih bolesti

CRP je dobio svoje ime po osobini da može da istaloži C-polisaharid iz bakterije *Streptococcus pneumoniae*. CRP je protein akutne faze inflamacije i veoma je senzitivni marker inflamacije i tkivnog oštećenja. S obzirom da je inflamatorni molekul, smatra se da je medijator imunskog odgovora i veoma je sličan antitelima jer prepoznaje i vezuje različite ligande, uključujući monocite, makrofage, a osim toga aktivira sistem komplementa, opsonizuje biološke čestice, i ima mnoge druge uloge [23]. Humani CRP sastoji se od pet identičnih neglikozilovanih polipeptidnih subjedinica, i svaka subjedinica sastoji se od 206 aminokiselina koje su međusobno povezane nekovalentnim vezama i zajedno čine pentamer [24]. CRP subjedinice imaju karakterističan lektinski nabor, sastavljen od dva sloja β ploča, i u ovu strukturu, takođe, ulaze i dva jona kalcijuma, a sa konkavne strane ove subjedinice, gde se nalaze α lanci, vezuju se ligandi [24]. Humani CRP je kalcijum-zavisni ligand vezujući protein sa visokim afinitetom vezivanja kako za fosfatidilholinske ostatke tako i za mnoge biološke molekule, agregate, oštećene ćelije, male nuklearne ribonukleoproteinske čestice i apoptotske ćelije. Ligandi koji se vezuju za CRP mogu biti glicin, fosfolipidi, razne komponente mikroorganizama, kao i kapsula bakterija, gljivice i mnogi drugi paraziti. U momentu kada CRP prepozna i veže svoj ligand, aktivira sistem komplementa, pri čemu dolazi do razlaganja ćelijske membrane ili razgradnje molekula, pod uticajem C5-C9 kompleksa sistema komplementa [25]. CRP može da se veže za Fc receptore (FcR) specifične za Fc region imunoglobulina G (FcR) koji se nalaze na površini leukocita pri čemu, kada se veže se za Fc γ R tipa I (Fc γ RI; CD64), kao i za Fc γ R tipa IIa (Fc γ R IIa; CD32), ostvaruje stimulatorne efekte u ćeliji. Ukoliko se CRP veže za Fc γ R tipa IIb (Fc γ R IIb) inhibitorski receptor, dovodi do blokiranja stimulatornih signala koji su pokrenuti preko Fc γ RI i Fc γ RIIa [26]. Specifični ligandi koji mogu da se vežu za CRP su oksidovani lipoprotein male gustine (ox-LDL, engl. **O**xidized LDL) i oksidovani lipoprotein veoma male gustine (ox-VLDL, engl. **O**xidized **V**ery **L**ow **D**ensity **L**ipoprotein), međutim, novija istraživanja su pokazala da nativni CRP ne vezuje neoksidovani LDL i VLDL [27].



Slika 2. Ligandi C- reaktivnog proteina (CRP). Ox-LDL, oksidovani lipoprotein male gustine; Fc γ RI i Fc γ RIIa su stimulatorni receptori eksprimirani na površini leukocita. Fc γ RIIb je inhibitorski receptor preko kojeg CRP ostvaruje svoje inhibitorne efekte.

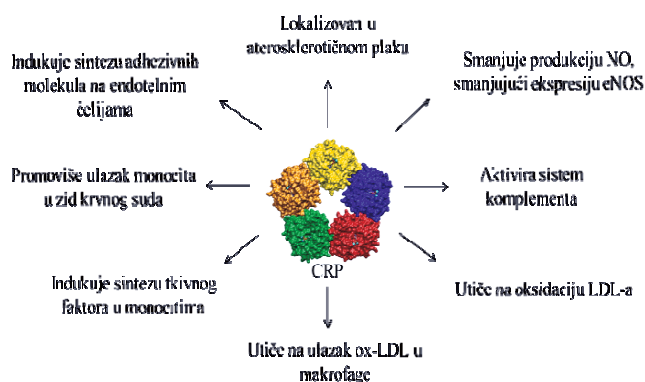
(Preuzeto i modifikovano sa sajta:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1521661605002809>)

U poslednjih nekoliko godina mnogobrojne studije ukazuju da je CRP važan biomarker kardiovaskularnih bolesti [28, 29]. Pokazana je uloga CRP-a u nastanku i progresiji kardiovaskularnih bolesti [30]. Studije primarne prevencije ukazuju da CRP ima vrlo važan prognostički značaj nastanka kardiovaskularnih poremećaja [31]. Osobe sa visokim nivoom izmerenog CRP-a, imaju dvostruko veći rizik od infarkta u poređenju sa pojedincima kod kojih povećanje CRP nije zapaženo, i dvostruko veći rizik od cerebrovaskularnog moždanog udara, bez obzira što kod takvih osoba nisu ustanovljeni drugi faktori rizika za nastanak kardiovaskularnih poremećaja [32]. Nedavno je pokazano da merenje CRP-a zajedno sa merenjem LDL-a ima znatno bolji prognostički značaj u nastanku kardiovaskularnih bolesti, nego merenje novoa samog LDL-a [33]. Studije sekundarne prevencije, pokazuju da osobe koje su imale infarkt miokarda imaju i povećan nivo CRP-a, dok osobe koje nisu pretrpele nikakav kardiovaskularni poremećaj imaju znatno niži nivo CRP-a [34]. Trenutno je važeće mišljenje da vaskularna inflamacija predstavlja ključ u nastanku ateroskleroze, pri čemu je upravo nivo izmerenog CRP-a marker tog inflamatornog procesa [35]. CRP se sintetiše kako u jetri, tako i u drugim tkivima, kao što su neuroni, bubrezi, respiratorni trakt, ali postoji sve više dokaza da CRP luče, kako glatke mišićne, tako i endotelne ćelije krvnih sudova. Lokalna produkcija CRP-a od strane glatkih mišićnih i endotelnih ćelija može u velikoj meri da doprinese razvoju kardiovaskularnih komplikacija, kao što je to ateroskleroza [36].

Ateroskleroza je multifaktorijalna bolest [37] koja se prvenstveno manifestuje disfunkcijom endotela koji počinje da luči veliku količinu citokina, na prvom

mestu IL-6, koji potom pokreće produkciju CRP-a i fibrinogena u jetri [38]. Disfunkcija endotela nastaje usled aktivacije sistema komplementa, što za rezultat ima nastanak inflamacionog procesa [39]. CRP indukuje sintezu adhezivnih molekula na samom endotelu, tj. intercelularni adhezivni molekul-1 (ICAM-1, engl. InterCellular Adhesion Molecule-1), E-selektin i vaskularni adhezivni molekul-1 (VCAM-1, engl. Vascular Cell Adhesion Molecule-1) koji su specifični za privlačenje monocita [40]. Pokazano je da postoji povezanost između mehanizma aktivacije trombocita i konformacione promene nativnog pentamernog CRP-a [41]. Pretpostavlja se da se cirkulišući trombociti vezuju za oštećen endotel, a nakon toga pentamerna forma CRP-a preko svog fosfatidilholin vezujućeg mesta vezuje se za fosfatidilholine na trombocitima, pri čemu CRP prelazi u monomernu formu i u monomernoj formi CRP više nije u mogućnosti da opsonizuje ox-LDL, što dovodi do nesmetanog razvoja procesa ateroskleroze. Predpostavlja se da monomerne forme CRP-a iniciraju ekspresiju integrina i adhezivnih molekula na površini endotelnih ćelija i na taj način svojim delovanjem omogućavaju vezivanje aktiviranih monocita [42]. Nakon prodiranja monocita do intime oni se diferenciraju u poseban tip makrofaga koji vrše ingestiju ox-LDL što dovodi do njihovog raspadanja i do formiranja penušavih ćelija (engl. foam cell) [43, 44]. Pored toga što utiče na ingestiju ox-LDL čestica, CRP ima i ulogu u sprečavanju ulaska azot-monoksida (NO), kao vazodilatatora, u endotel, tako što utiče na regulaciju endotelne NO sintaze (eNOS, engl. Endothelial Nitric Oxide Synthase) [45].



Slika 3. Mehanizmi u kojima učestvuje C- reaktivni protein (CRP). NO azot- monoksid, eNOS endotelna NO sintaza;; LDL lipoprotein male gustine; ox-LDL oksidovani LDL.

(Pruzeto i modifikovano sa sajtova: <http://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S014628060400074X-gr2.jpg> i <http://web.expasy.org/spotlight/images/spltlt030.jpg>)

Takođe, visok nivo CRP-a može da dovede do povećanja krvnog pritiska, tako što deluje na endotelne ćelije, što za posledicu ima vazokonstrikciju i lučenje endotelina-1.

Lipoprotein male gustine (LDL) kao biomarker kardiovaskularnih bolesti

LDL su heterogene čestice koje su klasifikovane u više različitih podklasa koje se međusobno razlikuju po veličini, gustini, fizičko-hemijskom sastavu, metabolizmu i oksidativnoj osetljivosti, kao i faktoru rizika za nasatanak ateroskleroze [46]. LDL čestice se mogu podeliti u [47]. LDL čestice su građene od holesterola i lipida okruženih apolipoproteinom B-100 (Apo B-100). Uloga LDL je da transportuje lipide kroz krvotok do perifernih tkiva gde se pomoću LDL receptora, koji se nalaze na membrani ćelija, endocitozom ubacuju u citoplazmu i na taj način snabdevaju holesterolom periferne ćelije koje nemaju sposobnost da same sintetišu holesterol [48]. Pokazano je da oksidativni stres i oksidacija LDL igraju važnu ulogu u nastanku procesa ateroskleroze [49]. Sama oksidacija LDL je složen proces tokom kojeg i lipidi i proteini koji ga čine, prolaze kroz oksidativne promene pri čemu nastaju veoma složene strukture, kao što je lizofosfatidilholin (LPC, engl. Lysophosphatidylcholine) [50]. Po dolasku u kontakt LDL čestica sa proteoglikanima na površini ćelija, LDL čestice postaju veoma osetljive i podložne procesima oksidacije kao i drugim hemijskim modifikacijama. Oksidativnu modifikaciju LDL-a mogu izazvati različiti oksidansi, različitim mehanizmima. LDL može biti izložen uticaju oksidanasa poreklom iz ćelija u subendotelnom prostoru arterija ili može biti oksidovan neenzimski od strane metalnih jona prisutnih u proteinima, heminima i drugim katalizatorima [51]. Ox-LDL nakon što prodre u intimu krvnog suda indukuje sakupljanje monocita, tako što stimuliše sintezu monocit hemotaktičnog proteina-1 (MHP-1, engl. Monocyte Chemoattractant Protein-1), koji je eksprimiran u endotelnim ćelijama. Sam endotel, takođe, sintetiše kako VCAM-1, ICAM-1 tako kao i P-selektin, adhezivne molekule koji posreduju u interakciji endotela i monocita [52]. Sama uloga VCAM-1 u formiranju aterosklerotičnih lezija pokazana je i eksperimentalno kod genetski modifikovanih miševa, kod kojih VCAM-1 nije ekspreimiran kao ni formiranja plakova i lezija koje su karakteristične za aterosklozu [53]. Takođe, pokazano je i učešće MHP-1 u formiranju aterosklerotičnih plakova. Kod miševa mutanata, kod kojih je „ugašena“ ekspresija gena za MHP-1 uočeno je kašnjenje ili odsustvo formiranja aterosklerotičnih lezija [54]. Nakon što monociti prodru u zid arterija dolazi do sinteze monocit/makgorofagnog faktora stimulacije kolonije (M-CSF, engl. Macrophage Colony-Stimulating Factor) koji omogućava konverziju

monocita u makrofage. M-CSF omogućava ekspresiju receptora na novonastalim makrofagima, a takođe potpomaže proizvodnju inflamatornih molekula, IFN- γ , TNF- β [55]. Nakon ulaska u endotel i oksidacije, novonastali ox-LDL bivaju prepoznati od strane makrofaga, koji vezuju ox-LDL preko svojih receptora hvatača tipa 1 (SR-A1, engl. Scavenger Receptors type 1), preko antigena CD36 i preko makrofagnog antigena CD68 [49]. U proces nastanka ateroskleroze uključuju se i T-limfociti kao i dendritske ćelije, koje mogu interagovati sa VCAM-1 i tako ući u endote gde odgovaraju na signale inflamatornih procesa, kao što su IFN- γ , TNF- β , a kao rezultat odgovora je aktivacija makrofaga, endotelnih ćelija i stalno održavanje inflamatornog procesa [52].

Oksidaciju LDL-a vrše enzimi lipooksigenaze i mijeloperoksidaze u prisustvu jona metala bakra i gvožđa. Minimalno oksidovani LDL ima mali afinitet vezivanja za svoje receptore i zadržava se u u krvi i može da se detektuje u serumu, dok intenzivno oksidovan LDL ima veliki afinitet vezivanja za receptore [56]. Oksidacijom lipida LDL-a stvara se nekoliko manje ili više stabilnih produkata, uključujući LPC, koji je proizvod esterifikacije holesterola, a takođe nastaju i aldehidni proizvodi peroksidacije lipida [57]. Pokazano je da LPC povećava produkciju superoksidnog anjona O_2^- u endotelnim i u glatkim mišićnim ćelijama vaskulature [58]. Smatra se da je LPC jak stimulator nikotinamid adenin dinukleotid fosfatne [NAD(P)H, engl. Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate] oksidaze što ukazuje da je LPC jedan od proizvoda oksidacije LDL-a koja izaziva oksidativni stres [59]. Pokazano je da aorta hiperholesterolemičnih zečeva proizvodi mnogo više O_2^- nego aorte kontrolnih grupa zečeva koje nisu hranjene holesterolom [60]. Takođe, jedna studija pokazala je da tretiranjem endotelnih ćelija sa ox-LDLom, dolazi do smanjene fosforilacije treoninskih ostataka u signalnom putu eNOS, što izaziva produkciju O_2^- [61]. U generisanju O_2^- učestvuju i lektinu slični receptori (LOX-1, engl. Lectin-like Oxidized Low-Density Lipoprotein Receptor-1) za koje je ox-LDL ligand [62]. Ox-LDL utiče, na ćelije kardiovaskularnog sistema, preko LOX-1 receptora, produkujući asimetrični dimetil L-arginina (ADMA, engl. Asymmetric Dimethylarginine), koji je endogeni inhibitor eNOS-a i faktor kardiovaskularnog rizika [50, 63]. Ox-LDL može akutno povećati ekspresiju ADMA, aktiviranjem ekspresije N- metiltransferaza koje sintetišu ADMA [50, 64]. ADMA u endotelnim ćelijama izaziva oksidativni stres, dok u makrofazima učestvuje u povećanju ekspresije LOX-1 receptora što ponovo ima za posledicu nastanak oksidativnog stresa [65, 66].

Zaključak

Kardiovaskularne bolesti predstavljaju jedan od najvećih uzroka smrtnosti, kako kod nas, tako i u svetu. Nedostatak jasno definisanih kriterijuma za dijagnostiku i procenu rizika za nastanak ovih bolesti, dodatno doprinosi stopi smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti. Poslednjih decenija istraživanja su fokusirana na identifikovanje biomarkera koji će ukazivati na rizik od razvoja kardiovaskularnih bolesti i koji će takođe omogućiti ranu i tačnu dijagnostiku. Biomarkeri, IL-6, CRP i ox-LDL, kao predstavnici inflamatornog i oksidativnog procesa, mogu ukazivati na mogući razvoj kardiovaskularnih bolesti. Veoma je važno detaljno poznavanje uloge IL-6, CRP i ox-LDL, u nastanku kardiovaskularnih bolesti kako bi se unapredila prevencije nastanka kardiovaskularnih bolesti.

Zahvalnica

Ovaj rad je podržan projektom broj 173033 (dr Esma R. Isenović) finansiranim od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Literatura

1. Atkinson, A.J., W. A. Colburn, V. G. DeGruttola, D. L. DeMets, G. J. Downing, D. F. Hoth, J. A. Oates, C. C. Peck, R. T. Schooley, B. A. Spilker, J. Woodcock and S. L. Zeger, *Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework*. Clin Pharmacol Ther, 2001. **69** (3): p. 89-95.
2. Vasan, R.S., *Biomarkers of cardiovascular disease: molecular basis and practical considerations*. Circulation, 2006. **113** (19): p. 2335-62.
3. Santilli, F., S. Basili, P. Ferroni, and G. Davi, *CD40/CD40L system and vascular disease*. Intern Emerg Med, 2007. **2** (4): p. 256-68.
4. Morrow, D.A., J.A. de Lemos, M.S. Sabatine, and E.M. Antman, *The search for a biomarker of cardiac ischemia*: Clin Chem. 2003 Apr;49 (4):537-9.
5. Heinrich, P.C., J.V. Castell, and T. Andus, *Interleukin-6 and the acute phase response*. Biochem J, 1990. **265** (3): p. 621-36.
6. Savino, R., A. Lahm, M. Giorgio, A. Cabibbo, A. Tramontano, and G. Ciliberto, *Saturation mutagenesis of the human interleukin 6 receptor-binding site: implications for its three-dimensional structure*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993. **90** (9): p. 4067-71.
7. Kishimoto, T., S. Akira, M. Narazaki, and T. Taga, *Interleukin-6 family of cytokines and gp130*. Blood, 1995. **86** (4): p. 1243-54.
8. Dendorfer, U., P. Oettgen, and T.A. Libermann, *Multiple regulatory elements in the*

- interleukin-6 gene mediate induction by prostaglandins, cyclic AMP, and lipopolysaccharide.* Mol Cell Biol, 1994. **14** (7): p. 4443-54.
9. Gabay, C., *Interleukin-6 and chronic inflammation.* Arthritis Res Ther, 2006. **8** (2): p. 28.
 10. Hirano, T., *Interleukin 6 and its receptor: ten years later.* Int Rev Immunol, 1998. **16** (3-4): p. 249-84.
 11. Lindeman, J.H., H. Abdul-Hussien, A.F. Schaapherder, J.H. Van Bockel, J.H. Von der Thusen, D.L. Roelen, and R. Kleemann, *Enhanced expression and activation of pro-inflammatory transcription factors distinguish aneurysmal from atherosclerotic aorta: IL-6- and IL-8-dominated inflammatory responses prevail in the human aneurysm.* Clin Sci, 2008. **114** (11): p. 687-97.
 12. Hibi, M., M. Murakami, M. Saito, T. Hirano, T. Taga, and T. Kishimoto, *Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp130.* Cell, 1990. **63** (6): p. 1149-57.
 13. Novick, D., H. Engelmann, D. Wallach, and M. Rubinstein, *Soluble cytokine receptors are present in normal human urine.* J Exp Med, 1989. **170** (4): p. 1409-14.
 14. Biasucci, L.M., G. Liuzzo, G. Fantuzzi, G. Caligiuri, A.G. Rebuzzi, F. Ginnetti, C.A. Dinarello, and A. Maseri, *Increasing levels of interleukin (IL)-1Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events.* Circulation, 1999. **99** (16): p. 2079-84.
 15. Rajavashisth, T.B., J.K. Liao, Z.S. Galis, S. Tripathi, U. Laufs, J. Tripathi, N.N. Chai, X.P. Xu, S. Jovinge, P.K. Shah, and P. Libby, *Inflammatory cytokines and oxidized low density lipoproteins increase endothelial cell expression of membrane type 1-matrix metalloproteinase.* J Biol Chem, 1999. **274** (17): p. 11924-9.
 16. Le, J.M., G. Fredrickson, L.F. Reis, T. Diamantstein, T. Hirano, T. Kishimoto, and J. Vilcek, *Interleukin 2-dependent and interleukin 2-independent pathways of regulation of thymocyte function by interleukin 6.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1988. **85** (22): p. 8643-7.
 17. Doo, Y.C., S.J. Han, J.H. Lee, G.Y. Cho, K.S. Hong, K.R. Han, N.H. Lee, D.J. Oh, K.H. Ryu, C.Y. Rhim, K.H. Lee, and Y. Lee, *Associations among oxidized low-density lipoprotein antibody, C-reactive protein, interleukin-6, and circulating cell adhesion molecules in patients with unstable angina pectoris.* Am J Cardiol, 2004. **93** (5): p. 554-8.
 18. Braun, M., P. Pietsch, S.B. Felix, and G. Baumann, *Modulation of intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 on human coronary smooth muscle cells by cytokines.* J Mol Cell Cardiol, 1995. **27** (12): p. 2571-9.
 19. Hirota, H., K. Yoshida, T. Kishimoto, and T. Taga, *Continuous activation of gp130, a signal-transducing receptor component for interleukin 6-related cytokines, causes myocardial hypertrophy in mice.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1995. **92** (11): p. 4862-6.
 20. Railson, J.E., Z. Liao, B.K. Brar, J.C. Buddle, D. Pennica, A. Stephanou, and D.S. Latchman, *Cardiotrophin-1 and urocortin cause protection by the same pathway and hypertrophy via distinct pathways in cardiac myocytes.* Cytokine, 2002. **17** (5): p. 243-53.
 21. Wollert, K.C. and K.R. Chien, *Cardiotrophin-1 and the role of gp130-dependent signaling pathways in cardiac growth and development.* J Mol Med, 1997. **75** (7): p. 492-501.
 22. Brady, A.R., S.G. Thompson, F.G. Fowkes, R.M. Greenhalgh, and J.T. Powell, *Abdominal aortic aneurysm expansion: risk factors and time intervals for surveillance.* Circulation, 2004. **110** (1): p. 16-21.
 23. Blake, G.J., N. Rifai, J.E. Buring, and P.M. Ridker, *Blood pressure, C-reactive protein, and risk of future cardiovascular events.* Circulation, 2003. **108** (24): p. 2993-9.
 24. Volanakis, J.E., *Human C-reactive protein: expression, structure, and function.* Mol Immunol, 2001. **38** (2-3): p. 189-97.
 25. Wolbink, G.J., M.C. Brouwer, S. Buysmann, I.J. ten Berge, and C.E. Hack, *CRP-mediated activation of complement in vivo: assessment by measuring circulating complement-C-reactive protein complexes.* J Immunol, 1996. **157** (1): p. 473-9.
 26. Lu, J., K.D. Marjon, L.L. Marnell, R. Wang, C. Mold, T.W. Du Clos, and P. Sun, *Recognition and functional activation of the human IgA receptor (FcalphaRI) by C-reactive protein.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2011. **108** (12): p. 4974-9.
 27. Shih, H.H., S. Zhang, W. Cao, A. Hahn, J. Wang, J.E. Paulsen, and D.C. Harnish, *CRP is a novel ligand for the oxidized LDL receptor LOX-1.* Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009. **296** (5): p. 27.
 28. Young, D., S. Camhi, T. Wu, J. Hagberg, and M. Stefanick, *Relationships among changes in C-reactive protein and cardiovascular disease risk factors with lifestyle interventions.* Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2012. **24**: p. 24.

29. Out, D., R.J. Hall, D.A. Granger, G.G. Page, and S.J. Woods, *Assessing salivary C-reactive protein: longitudinal associations with systemic inflammation and cardiovascular disease risk in women exposed to intimate partner violence*. *Brain Behav Immun*, 2012. **26** (4): p. 543-51.
30. Ridker, P.M., *Connecting the role of C-reactive protein and statins in cardiovascular disease*. *Clin Cardiol*, 2003. **26** (4 Suppl 3): p. III39-44.
31. Rietzschel, E. and M. De Buyzere, *High-sensitive C-reactive protein: universal prognostic and causative biomarker in heart disease?* *Biomark Med*, 2012. **6** (1): p. 19-34.
32. Tracy, R.P., R.N. Lemaitre, B.M. Psaty, D.G. Ives, R.W. Evans, M. Cushman, E.N. Meilahn, and L.H. Kuller, *Relationship of C-reactive protein to risk of cardiovascular disease in the elderly. Results from the Cardiovascular Health Study and the Rural Health Promotion Project*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997. **17** (6): p. 1121-7.
33. de Beer, F.C., A.K. Soutar, M.L. Baltz, I.M. Trayner, A. Feinstein, and M.B. Pepys, *Low density lipoprotein and very low density lipoprotein are selectively bound by aggregated C-reactive protein*. *J Exp Med*, 1982. **156** (1): p. 230-42.
34. Ridker, P.M., N. Rifai, M.A. Pfeffer, F.M. Sacks, L.A. Moye, S. Goldman, G.C. Flaker, and E. Braunwald, *Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators*. *Circulation*, 1998. **98** (9): p. 839-44.
35. Legein, B., L. Temmerman, E.A. Biessen, and E. Lutgens, *Inflammation and immune system interactions in atherosclerosis*. *Cell Mol Life Sci*, 2013. **21**: p. 21.
36. Yeh, E.T., H.V. Anderson, V. Pasceri, and J.T. Willerson, *C-reactive protein: linking inflammation to cardiovascular complications*. *Circulation*. 2001 Aug 28;104(9):974-5.
37. Ross, R., *Atherosclerosis is an inflammatory disease*. *Am Heart J*, 1999. **138** (5 Pt 2): p. S419-20.
38. Cesari, M., B.W. Penninx, A.B. Newman, S.B. Kritchevsky, B.J. Nicklas, K. Sutton-Tyrrell, S.M. Rubin, J. Ding, E.M. Simonsick, T.B. Harris, and M. Pahor, *Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study*. *Circulation*, 2003. **108** (19): p. 2317-22.
39. Manolov, D.E., W. Koenig, V. Hombach, and J. Torzewski, *C-reactive protein and atherosclerosis. Is there a causal link?* *Histol Histopathol*, 2003. **18** (4): p. 1189-93.
40. Pasceri, V., J.S. Cheng, J.T. Willerson, and E.T. Yeh, *Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs*. *Circulation*, 2001. **103** (21): p. 2531-4.
41. Eisenhardt, S.U., J. Habersberger, A. Murphy, Y.C. Chen, K.J. Woollard, N. Bassler, H. Qian, C. von Zur Muhlen, C.E. Hagemeyer, I. Ahrens, J. Chin-Dusting, A. Bobik, and K. Peter, *Dissociation of pentameric to monomeric C-reactive protein on activated platelets localizes inflammation to atherosclerotic plaques*. *Circ Res*, 2009. **105** (2): p. 128-37.
42. Eisenhardt, S.U., J. Habersberger, and K. Peter, *Monomeric C-reactive protein generation on activated platelets: the missing link between inflammation and atherothrombotic risk*. *Trends Cardiovasc Med*, 2009. **19** (7): p. 232-7.
43. Chang, M.K., C.J. Binder, M. Torzewski, and J.L. Witztum, *C-reactive protein binds to both oxidized LDL and apoptotic cells through recognition of a common ligand: Phosphorylcholine of oxidized phospholipids*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002. **99** (20): p. 13043-8.
44. Zwaka, T.P., V. Hombach, and J. Torzewski, *C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis*. *Circulation*, 2001. **103** (9): p. 1194-7.
45. Mineo, C. and P.W. Shaul, *Regulation of eNOS in caveolae*. *Adv Exp Med Biol*, 2012. **729**: p. 51-62.
46. Deckelbaum, R.J. and N.F. Galeano, *Small dense low density lipoprotein: formation and potential mechanisms for atherogenicity*. *Isr J Med Sci*, 1996. **32** (6): p. 464-8.
47. Berneis, K., D.M. Shames, P.J. Blanche, M. La Belle, M. Rizzo, and R.M. Krauss, *Plasma clearance of human low-density lipoprotein in human apolipoprotein B transgenic mice is related to particle diameter*. *Metabolism*, 2004. **53** (4): p. 483-7.
48. Segrest, J.P., M.K. Jones, H. De Loof, and N. Dashti, *Structure of apolipoprotein B-100 in low density lipoproteins*. *J Lipid Res*, 2001. **42** (9): p. 1346-67.
49. Kita, T., [*Hyperlipidemia and atherosclerosis*]. *Nihon Rinsho*, 2002. **60** (5): p. 851-9.
50. Jia, S.J., D.J. Jiang, C.P. Hu, X.H. Zhang, H.W. Deng, and Y.J. Li, *Lysophosphatidylcholine-induced elevation of asymmetric dimethylarginine level by the NADPH oxidase*

- pathway in endothelial cells. *Vascul Pharmacol*, 2006. **44** (3): p. 143-8.
51. Jeney, V., E. Komodi, E. Nagy, A. Zarjou, G.M. Vercellotti, J.W. Eaton, G. Balla, and J. Balla, *Suppression of hemin-mediated oxidation of low-density lipoprotein and subsequent endothelial reactions by hydrogen sulfide (H₂S)*. *Free Radic Biol Med*, 2009. **46** (5): p. 616-23.
52. Libby, P., *Inflammation in atherosclerosis*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012. **32** (9): p. 2045-51.
53. Nakashima, Y., E.W. Raines, A.S. Plump, J.L. Breslow, and R. Ross, *Upregulation of VCAM-1 and ICAM-1 at atherosclerosis-prone sites on the endothelium in the ApoE-deficient mouse*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998. **18** (5): p. 842-51.
54. Gu, L., Y. Okada, S.K. Clinton, C. Gerard, G.K. Sukhova, P. Libby, and B.J. Rollins, *Absence of monocyte chemoattractant protein-1 reduces atherosclerosis in low density lipoprotein receptor-deficient mice*. *Mol Cell*, 1998. **2** (2): p. 275-81.
55. Barthwal, M.K., J.J. Anzinger, Q. Xu, T. Bohnacker, M.P. Wymann, and H.S. Kruth, *Fluid-Phase Pinocytosis of Native Low Density Lipoprotein Promotes Murine M-CSF Differentiated Macrophage Foam Cell Formation*. *PLoS One*, 2013. **8** (3): p. 11.
56. Galle, J., T. Hansen-Hagge, C. Wanner, and S. Seibold, *Impact of oxidized low density lipoprotein on vascular cells*. *Atherosclerosis*, 2006. **185** (2): p. 219-26.
57. Schmitz, G. and K. Ruebsaamen, *Metabolism and atherogenic disease association of lysophosphatidylcholine*. *Atherosclerosis*, 2010. **208** (1): p. 10-8.
58. Ohara, Y., T.E. Peterson, B. Zheng, J.F. Kuo, and D.G. Harrison, *Lysophosphatidylcholine increases vascular superoxide anion production via protein kinase C activation*. *Arterioscler Thromb*, 1994. **14** (6): p. 1007-13.
59. Heinloth, A., K. Heermeier, U. Raff, C. Wanner, and J. Galle, *Stimulation of NADPH oxidase by oxidized low-density lipoprotein induces proliferation of human vascular endothelial cells*. *J Am Soc Nephrol*, 2000. **11** (10): p. 1819-25.
60. Ohara, Y., T.E. Peterson, H.S. Sayegh, R.R. Subramanian, J.N. Wilcox, and D.G. Harrison, *Dietary correction of hypercholesterolemia in the rabbit normalizes endothelial superoxide anion production*. *Circulation*, 1995. **92** (4): p. 898-903.
61. Chen, C.A., L.J. Druhan, S. Varadharaj, Y.R. Chen, and J.L. Zweier, *Phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase regulates superoxide generation from the enzyme*. *J Biol Chem*, 2008. **283** (40): p. 27038-47.
62. Cominacini, L., A. Fratta Pasini, U. Garbin, A. Pastorino, A. Rigoni, C. Nava, A. Davoli, V. Lo Cascio, and T. Sawamura, *The platelet-endothelium interaction mediated by lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 reduces the intracellular concentration of nitric oxide in endothelial cells*. *J Am Coll Cardiol*, 2003. **41** (3): p. 499-507.
63. Xu, S., S. Ogura, J. Chen, P.J. Little, J. Moss, and P. Liu, *LOX-1 in atherosclerosis: biological functions and pharmacological modifiers*. *Cell Mol Life Sci*, 2012. **3**: p. 3.
64. Scalera, F., J. Borlak, B. Beckmann, J. Martens-Lobenhoffer, T. Thum, M. Tager, and S.M. Bode-Boger, *Endogenous nitric oxide synthesis inhibitor asymmetric dimethyl L-arginine accelerates endothelial cell senescence*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004. **24** (10): p. 1816-22.
65. Smirnova, I.V., M. Kajstura, T. Sawamura, and M.S. Goligorsky, *Asymmetric dimethylarginine upregulates LOX-1 in activated macrophages: role in foam cell formation*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004. **287** (2): p. 11.
66. Smirnova, I.V., T. Sawamura, and M.S. Goligorsky, *Upregulation of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) in endothelial cells by nitric oxide deficiency*. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2004. **287** (1): p. 9.

¹Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

²Klinika za pulmologiju Kliničkog centra Srbije, Beograd

³Klinika za infektivne i tropske bolesti Kliničkog centra Srbije, Beograd

TUBERKULOZA - 60 GODINA SISTEMATSKE PRIMENE VAKCINE BACILLE CALMETTE GUERIN U SRBIJI

TUBERCULOSIS - 60 YEARS OF SYSTEMATIC APPLICATION OF THE VACCINE BACILLE CALMETTE GUERIN IN SERBIA

Dragica Pešut^{1,2}, Eleonora Gvozdenović^{1,3}

Sažetak

Vakcina *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin (BCG) je prvi put uspešno primenjena 1921. godine. Otkako je Svetska zdravstvena organizacija (SZO) 1993. godine progasila tuberkulozu globalnom opasnošću, rad na proizvodnji novih vakcina za vrhunsku zaštitu od ove bolesti doživeo je brzi napredak. Stotine potencijalnih antigena vakcina prošle su kroz različite faze prekliničkog ispitivanja, a prva od novih vakcina je 2008. godine ušla u fazu ispitivanja na ljudima. Danas je vakcina BCG stara 90 godina, a svet još uvek nema vakcinu protiv tuberkuloze koja bi bila bolja ili sa manje neželjenih reakcija od nje. Smatra se da će vakcina BCG biti primenjivana u zaštiti od tuberkuloze bar još 5-10 godina. Poznata kao moćni imunomodulator, ona se koristi na različite načine i u lečenju drugih bolesti i stanja.

Cilj ovog prikaza je da objasni sadašnji status vakcine BCG u svetu i u Srbiji, uključujući opšti pregled politike imunizacije koji se razlikuje među zemljama a u odnosu na preporuke SZO i nacionalne mere, razloge za različitu efikasnost vakcine, dužinu trajanja zaštite od tuberkuloze i navede rezultate nekih istraživanja cene u odnosu na efekat. Biće dat osvrt na istraživanje savremenog problema vakcinacije BCG kod HIV-seropozitivnih osoba, imunizacije grupa pod visokim rizikom od tuberkuloze i vremenski trend dečje tuberkuloze u Srbiji u kojoj je vakcinacija BCG obavezna po rođenju. Rezultati istraživanja koristi od ove vakcine među izloženim zdravstvenim radnicima zemalja u kojima vakcina BCG nije obavezna, doveli su do osnaženja politike selektivne primene vakcine BCG među zdravstvenim radnicima u tim zemljama.

Međunarodna unija protiv tuberkuloze i plućnih bolesti (IUATLD – The UNION) 1994. godine donela je kriterijume za pomoć u donošenju odluke o politici vakcinacije BCG u zemljama koje bi prešle sa sistematske na selektivnu primenu vakcine ili potpuno prekinule vakcinaciju stanovništva protiv tuberkuloze.

Oni su zasnovani na ispunjavanju određenih epidemioloških zahteva među kojima je najznačajniji uzrast i broj obolele dece od specifičnog meningoencefalitisa u petogodišnjem periodu.

Ključne reči: tuberkuloza, prevencija, epidemiologija, vakcina, BCG, Srbija

Summary

Bacille Calmette-Guérin (BCG) vaccine is one of the most widely used vaccines in the world and is currently given to children at birth or soon after birth in over 100 countries, including Serbia, to minimize the risk of developing serious forms of tuberculosis (TB). Despite different data about its efficacy, it is evident that BCG protects infants from disseminated and meningeal TB (there is a decreasing trend of such cases over the past six decades in Serbia) and TB - related death. Serbia is an intermediate-to-low TB incidence country in socio-economic transition. Its current epidemiologic situation when it comes to TB shows a slightly decreasing overall trend of TB, a constant decreasing time trend of childhood TB as well as a dramatically increasing trend of TB in the elderly. Some forms of extra - pulmonary TB are on the increase as well. At the beginning of the 21st century, BCG is a useful resource for individual protection in particular situations where the spread of TB infection and disease and the limited application of preventive measures cannot provide an objective control of TB.

Key words: tuberculosis, prevention, epidemiology, vaccine, Bacille Calmette-Guérin (BCG), Serbia

Uvod

Umesto očekivane eradikacije tuberkuloze, sto trideset godina od otkrića *Mycobacterium tuberculosis* i 90 godina od pojave vakcine protiv tuberkuloze, godišnje se u svetu razboli skoro 10 miliona ljudi i 1,4 miliona umre od ove bolesti (5,8). Dramatično pogoršanje epidemiološke situacije tuberkuloze krajem 20. veka dovelo je do toga da Svetska zdravstvena

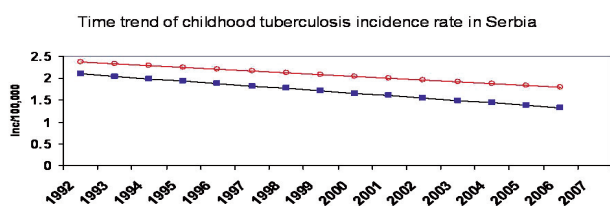
organizacija (SZO) prvi put proglasi jednu bolest za globalnu opasnost (8,21). Ovo je izazvano povećanjem broja osoba u stanju imunodeficijencije, pre svega, usled infekcije virusom stečene ljudske imunodeficijencije (HIV) i pojavom soja *Mycobacterium tuberculosis* rezistentnog na lekove. Danas je tuberkuloza vodeći uzrok morbiditeta i mortaliteta u mnogim delovima sveta i najveći pojedinačni uzrok smrti među zaraznim bolestima. Donesene su brojne preporuke međunarodnih organizacija i mere za suzbijanje bolesti (21). U poslednjih 10 godina ubrzano se radi i na razvoju novih vakcina protiv tuberkuloze sa najmanje 16 kandidata koji počinju da se proveravaju. Paralelno sa pojačanom potrebom za ulaganjem u istraživanja i pronalazak novih vakcina protiv tuberkuloze, raste interesovanje i za jednu staru vakcinu.

Vakcina Bacille Calmette-Guérin (BCG) je jedna od najčešće upotrebljivanih vakcina u svetu. Daje se deci po rođenju u preko 100 zemalja kako bi smanjila broj ozbiljnih formi tuberkuloze (23). Cilj ovog rada je da utvrdi sadašnje mesto vakcine BCG u svetu i u Srbiji u kojoj se ona sistematski primenjuje 60 godina, i da odgovori na neka aktuelna pitanja vezana za ovu vakcinu kontroverzne efikasnosti i njen uticaj na epidemiološku i kliničku sliku tuberkuloze.

Tuberkuloza u Srbiji

Zahvaljujući sprovođenju kompleksnih mera na suzbijanju tuberkuloze, u našoj zemlji je u drugoj polovini dvadesetog veka dolazilo do smanjivanja broja obolelih i umrlih od tuberkuloze (7). Decenija 1990-ih donela je burna socio-ekonomska zbivanja, masovnu migraciju stanovništva iz ratom zahvaćenih područja Bosne i Hercegovine, porast nezaposlenosti, bedu, produženi emotivni stres i pothranjenost stanovništva, kao i formiranje novih grupa pod rizikom za obolevanje od tuberkuloze. Sve to je zaustavilo prethodni trend opadanja broja obolelih (17). Daljim pojačanjem napora na suzbijanju bolesti, u drugu deceniju 21. veka ulazimo sa blagim ukupnim opadanjem broja obolelih i porastom broja obolelih od vanplućne tuberkuloze (12,18), dramatičnim porastom broja obolelih među starima oba pola, dok trend obolevanja dece oba pola ima kontinuirani trend opadanja (17).

Figure 1

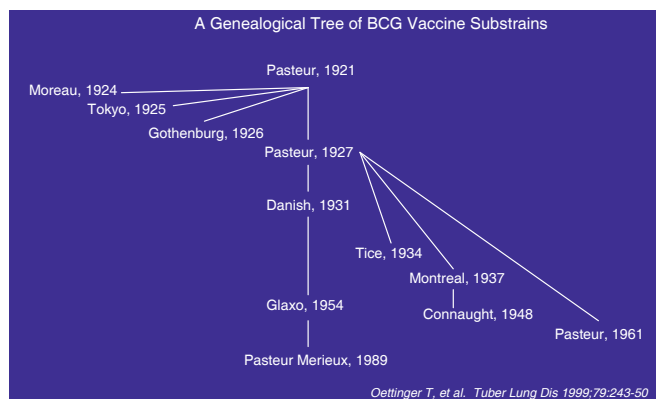


Grafikon 1 – Kretanje dečje tuberkuloze u Srbiji od 1992-2007. godine prema polu. Postoji trend opadanja stope incidencije kod oba pola (kvadrati – dečaci, krugovi – devojčice).

Iz istorijata vakcine BCG

Prošlo je 90 godina od kada su Calmette (Albert, 1863-1933) i njegov učenik i saradnik Guerin (Camille) posle proučavanja, pripremanja i trinaestogodišnjeg eksperimentisanja ponudili svetu vakcinu protiv tuberkuloze BCG, nazvanu skraćenicama njihovih imena datih vakcinalnom soju mikobakterija. Od otkrivanja soja BCG i stvaranja vakcine, pomno su praćeni njena delotvornost i neželjena dejstva. Najznačajnija prekretnica u ovoj proceni bila je, svakako, 1921. godina, kada je vakcina prvi put uspešno primenjena u Francuskoj – data oralno novorođenčetu čija majka je umrla od tuberkuloze i koje je odgajala baka, takođe obolela od tuberkuloze a ono se nije razbolelo. Tragedija u Libeku, Nemačka, 1929/30. godine izazvala je sumnju u delotvornost vakcine. Naime, iza vakcinisanja 121 deteta, 72 dece je umrlo. Iako je detaljnom istragom utvrđeno da deca nisu primila vakcinalni soj (BCG) već, fatalnom greškom, *M. tuberculosis*, senka nad vakcinom BCG nastavila je još dugo da lebdi.

U periodu 1943-1949. godine vakcinalni soj je distribuisan mnogim laboratorijama, koje su koristile različite tehnike za održavanje njegove viabilnosti, pa je to dovelo do velikih razlika u familiji BCG. Na osnovu savremenog znanja o genetici i antigenima mikobakterija, kao i ranim izveštajima u literaturi o primeni ove vakcine, Oettinger i sar. su krajem 20. veka bili u stanju da urade fino genealoško stablo vakcine BCG i ukažu na poreklo pojedinih podtipova vakcinalnog soja *M. bovis*. Na ovim saznanjima bazirane su brojne diskusije koje se odnose na razlike u efikasnosti vakcine BCG širom sveta. (14).



Grafikon 2 - Genealoško stablo vakcine BCG

Originalni vakcinalni soj *Mycobacterium bovis* *Bacillus Calmette Guérin* se razvio u nekoliko različitih podtipova, koji su se koristili u proizvodnji vakcine BCG širom sveta od 1921. godine. Analiza pokazuje dva odvojena pravca sa naglim promenama koje se sastoje u gubitku nekoliko gena i izmenjenim biohemijskim karakteristikama sojeva koji potiču iz Pasterovog instituta posle 1927. godine. Dalji dokazi iz literature su potvrdili da se dogodila promena u

virulenciji roditeljskog soja BCG u Institutu Pasteur krajem 1920-ih (14).

Vakcina je prihvaćena u program SZO 1974. godine. Danas se obavezno primenjuje u preko 100 zemalja a u još stotinak je preporučena. Prema podacima SZO, godišnje u svetu 100 miliona dece primi vakcinu BCG (obuhvat dece 85%)(20,22). Kontrola kvaliteta se daje poseban značaj, a odgovornost pojedinih kompanija proizvođača vakcine je pod nadzorom vlada zemalja proizvođača.

Primena vakcine BCG u našoj zemlji

U Jugoslaviji i Srbiji vakcina BCG primenjena je prvi put 1927. godine, a od 1928. godine sistematski se primenjuje kod novorođenčadi na Akušerskoj klinici u Beogradu (11,19). Posle Drugog svetskog rata, a posebno od osnivanja Instituta za tuberkulozu Republike Srbije 1952. godine kao referentne ustanove, u sklopu mnogih mera, primena vakcine BCG je intenzivirana, dobila široke razmere i zakonsku regulativu. Ove mere su planirane i sprovedene u potpunom skladu sa preporukama SZO i preuzetog iskustva skandinavskih zemalja, koje su za ovu organizovanu borbu sa tuberkulozom već imale utemeljene planove. Redovno usavršavanje kadra i usaglašavanje sa preporukama SZO postala je tradicija u radu Epidemiološkog odeljenja Instituta za tuberkulozu i plućne bolesti i u narednom periodu. U skladu sa tim, nacionalnim programom, politika primene vakcine BCG se promenila 2002. godine, kada je ukinuta revakcinacija u 10. godini. Sistematska vakcinacija novorođenčadi je nastavljena do danas. Početkom 21. veka obuhvat novorođenčadi vakcinacijom BCG u Srbiji kreće se oko 96%, u proseku, za analizirani desetogodišnji period, a ima tendenciju porasta zahvaljujući aktivnom pristupu stanovništvu vulnerabilnih grupa pod rizikom za tuberkulozu (1,15,16).

Efikasnost vakcine BCG

Danas je efikasnost vakcine BCG opet predmet ispitivanja širom sveta. U njima se, pored delotvornosti, uzima u obzir i cena njene primene u odnosu na cenu lečenja jednog obolelog od tuberkuloze. Ovaj odnos određuju efikasnost vakcine, trajanje zaštite koju ona pruža, incidencija tuberkuloze u jednoj sredini i stepen obuhvata vakcinom.

Efikasnost vakcine BCG ocenjena je na osnovu meta-analize zasnovane na 14 prospektivnih trial-a i, nezavisno od njih, 12 kontrolisanih studija (9). Zaključeno je da se zaštitna efikasnost kreće od tako niske kao što je 2% do 90% sa prosečnom vrednošću 50%, za šta postoje brojna objašnjenja (9). Vakcina BCG značajno smanjuje rizik od aktivne tuberkuloze i smrtnog ishoda i ima ukupni zaštitni efekat od infekcije 50%. BCG vakcina štiti od plućne tuberkuloze kao i od diseminovane tuberkuloze (zaštitni efekat 78%),

meningitisa (64%) i smrtnog ishoda od ove bolesti (71%). Zaštita od meningitisa u detinjstvu je 63% u studiji koja se bavila analizom cene u odnosu na delotvornost vakcine BCG u oblasti Ivanovo, Ruska federacija. Uzrast u kojem je vakcinacija obavljena nije značajno uslovio efikasnost.

Činioci razlika u zaštitnoj moći vakcine BCG

Brojni su razlozi za nađeni različit efekat vakcine BCG u zaštiti od tuberkuloze, počevši od greške u postupku rastvaranja i davanja vakcine do razlike među vakcinama. Razlike u vakcinama BCG mogu da nastanu tokom pripreme vakcine, kada dolazi do promene njenih genetičkih i fizičkih svojstava (14). Ustanovljeno je da u manjim geografskim širinama vakcina BCG manje deluje. Na primer, vakcina istog proizvođača dobro deluje u Velikoj Britaniji ali ne i na Malavima. Vakcinalni soj ne određuje značajno ukupnu efikasnost.

Izloženost netuberkuloznim mikobakterijama - NTM(*eng.* non tuberculous mycobacteria) može da dovede do izvesnog stepena zaštite od *M. tuberculosis* kod životinja. Kod ljudi, izloženost *M. avium* intracellulare može da da istu zaštitu protiv tuberkuloze (3). Izgleda da vakcina BCG manje štiti stanovništvo koje živi u ruralnim područjima smeštenim u toplom i vlažnom podneblju (6). Ovim mogu da se objasne teškoće u realnoj proceni zaštite koju vakcina BCG pruža u ovim krajevima.

Dokazi da bi genetički činioci imali udela u različitoj efikasnosti vakcine BCG za sada nisu jaki. U Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) je nađena nešto veća zaštitna moć od tuberkuloze među pripadnicima crne u poređenju sa pripadnicima bele rase. Neophodne su nove i dobro vođene studije, koje bi ovo ispitale. Razlika u virulenciji bacila tuberkuloze može da dovede do različitog odgovora. Neophodne su dodatne studije i u ovom polju.

Ostala poznata objašnjenja različite efikasnosti vakcine BCG uzimaju izlaganje ultra-violetnim zracima kao značajan faktor u prekidanju ranih aktivnosti BCG u dermu u tropskim krajevima. Smatra se da bi viši nivo zaštite bio moguć od primoinfekcije i endogene reaktivacije nego od egzogene superinfekcije. Razlike u nutritivskom statusu su važne, jer on utiče na funkciju ćelijskog imuniteta. Loš nutritivski status može negativno da utiče na efekat vakcine BCG (6)

Trajanje zaštitnog efekta vakcine BCG

Malo je relevantnih podataka o periodu trajanja zaštite. Ipak, na osnovu većine studija bi moglo da se zaključi da, prosečno, zaštita od tuberkuloze koju vakcina BCG pruža traje oko 15 godina. Posle ovog perioda, zaštita i dalje postoji ali je manja. Petnaestogodišnje praćenje efekta vakcine BCG u Indiji, za razliku od onih u drugim delovima sveta, pokazuje izvesnu zaštitu i kod starije dece, dok kod

odraslih ima suprotan efekat – štetno dejstvo u smislu većeg razbolevanja od tuberkuloze vakcinisanih (14).

Vakcina BCG i HIV

Smatralo se da primena vakcine BCG kod HIV-seropozitivnih ne treba posebno da se modifikuje. Naime, u pogledu neželjenih dejstava, kod HIV-pozitivnih nije bilo razlike u njenoj primeni u odnosu na osobe koje su HIV-negativne sve dok se klinički ne ispolji sindrom stečenog gubitka imuniteta (AIDS, *eng.* acquired immune deficiency syndrome). Do pre nekoliko godina nije bilo dokaza o porastu neželjenih dejstava vakcinacije BCG dece koja su infekciju HIV dobila od majki. Uočeno je da infekcija HIV smanjuje zaštitni efekat od vanplućne tuberkuloze, pa bi zato vakcina bila značajna kod ovih osoba. Jedino u onim zemljama gde su incidencija i prevalencija tuberkuloze niske, vakcina BCG se ne preporučuje u slučaju ko-infekcije HIV. Neophodno je dodatno istraživanje kojim bi se, u eri infekcije HIV, obezbedili sigurniji programi imunizacije protiv tuberkuloze za HIV-pozitivne osobe (4,13).

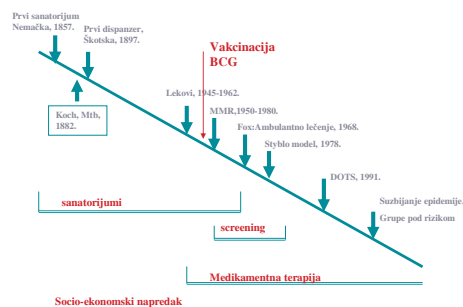
Delotvornost vakcine BCG u odnosu na cenu

Dobit u odnosu na cenu programa BCG vakcinacije posebno se razmatra u zemljama koje imaju nisku incidenciju tuberkuloze (stopa incidencije <20/100000 stanovnika) a koje vakcinu još uvek primenjuju. Da je vakcina BCG nedelotvorna, ne bi bilo razloga da se nastavi sa programom vakcinacije. Čak i sa raznolikom efikasnošću (40-80%), cena sprečavanja jednog slučaja tuberkuloze u SAD izgleda veoma visoka i prevazilazi cenu lečenja jednog bolesnika sa tuberkulozom, ne uzimajući u obzir moguća neželjena dejstva vakcinacije i njihovo lečenje (20). To je jedan od razloga što se u prevenciji tuberkuloze u SAD veći značaj pridaje hemioprofilaksi a vakcinacija razmatra kao mogućnost za osobe pod posebnim rizikom od zaraze kao što su zdravstveni radnici (10).

Vakcina BCG u odnosu na kretanje TB u našoj zemlji

Srbija je zemlja umerene-do-niske stope incidencije tuberkuloze sa značajnim razlikama u stopi među okruzima. Tokom niza decenija, došlo je do izrazitog opadanja broja obolelih od tuberkuloze centralnog nervnog sistema (CNS) kao najteže forme bolesti sa pretećim letalnim ishodom. Početak ovog perioda se poklapa sa sistematskim uvođenjem vakcine BCG i sve većim obuhvatom novorođenčadi vakcinacijom.

TUBERKULOZA Intervencije kroz vreme



Grafikon 3 – Tuberkuloza – intervencije kroz vreme
Uvođenje vakcinacije BCG je jedna od mera u programima suzbijanja tuberkuloze a u Srbiji se sistematski primenjuje 60 godina.

Rede se pojavljuju ne samo ove već i druge forme dečje tuberkuloze. Koštano-zglobna tuberkuloza kod dece danas je postala retka u Srbiji (12). Rezultati analize godišnjih izveštaja referentne ustanove u odnosu na pol, starost i lokalizaciju bolesti dosledno ukazuju na najveću zaštitu najmlađih od najtežih formi i smrti od tuberkuloze (12,15,18).

Niska stopa incidencije tuberkuloze kod dece i najveća stopa incidencije među starijima od 65 godina mogla bi da bude rezultat dobro vođenog nacionalnog programa na suzbijanju bolesti u jednoj zemlji tokom više decenija. Međutim, činjenica da obolevanje starih u Srbiji ima dramatičan trend porasta (17) i specifični uslovi stanovanja gde i po tri generacije katkad žive u skućenim stambenim uslovima, čine poseban milje u kojem su najmlađi i dalje pod rizikom od zaraze i razbolevanja. Pri tome su mnogi faktori rizika za tuberkulozu kao što su stres i pothranjenost i dalje prisutni (2,20).

Zaključak

Do danas nema bolje ni efikasnije vakcine protiv tuberkuloze od vakcine BCG. Stara 90 godina, ona je koristan vid individualne zaštite. Uz sve kontroverze o njenoj efikasnosti, nesumnjiva je uloga vakcine BCG u zaštiti najmlađeg i najosetljivijeg dela stanovništva od najtežih kliničkih formi tuberkuloze i smrti od tuberkuloze. I pored ostvarenog opadajućeg ukupnog trenda obolevanja od tuberkuloze u Srbiji, specifičnost epidemiološke i socijalne situacije čini dalju primenu vakcine BCG po rođenju i dalje opravdanom. Očekuje se da napredak istraživanja i kliničke studije tokom narednih pet godina otklone mnoge od postojećih dilema i dovedu do boljeg razumevanja patogenih svojstava Mycobacterium tuberculosis i suštine imuniteta u različitim fazama infekcije i bolesti.

Napomena

Rad je podržan od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije ugovorom br. 175095, 2011-2014.

Rad je usmeno izložen na mini-simpozijumu Uticaj vakcinacije na karakteristike preventibilnih bolesti, 41. simpozijuma Stremljenja i novine u medicini, Medicinski fakultet u Beogradu, 6.12.2012. godine

Literatura

- Bothamley, G.H., Ditiu, L., Migliori, G.B., Lange, C., and TBNET contributors. (2008) Active case-finding of tuberculosis in Europe: a Tuberculosis Network European Trials Group (TBNET) survey. *Eur Respir J*; 32(4):1023-30.
- Davies, P.D. Risk factors for tuberculosis. (2005) *Monaldi Arch Chest Dis*, 63:37-46.
- Edwards, M.L., Goodrich, J.M., Muller, D., Pollack, A., Ziegler, J.E., Smith, D.W. (1982) Infection with Mycobacterium avium-intracellulare and the protective effects of Bacille Calmette-Guérin. *J Infect Dis*;145(5):733-41.
- Enserink, M. (2007) Public health. In the HIV era, an old TB vaccine causes new problems. *Science*, 318(5853):1059
- Evans, T.G., Brennan, M.J., Barker, L., Thole, J.(2013) Preventive vaccines for tuberculosis. *Vaccine*;31 Suppl 2:B223-6.
- Fine, P.E., Bruce, J., Ponnighaus, J.M., Nkhosa, P., Harawa, A., Vynnycky, E. (1999) Tuberculin sensitivity: conversions and reversions in a rural African population. *Int J Tuberc Lung Dis*; 3(11):962-75.
- Gledovic, Z., Vlajinac, H., Pekmezovic, T., Sipetic-Grujicic, S., Grgurevic, A., Pesut, D. (2006) Burden of tuberculosis in Serbia. *Am J Infect Control*; 34 (10): 676-9.
- Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. WHO report 2008. Geneva: World Health Organization; 2009.
- Graham, A., Colditz, M.D., Thimoty, F., et al. (1994) Efficacy of BCG vaccine in the prevention of tuberculosis: meta-analysis of the published literature. *JAMA*; 271(9): 698-702.
- Graham, M., Howley, T.M., Pierce, R.J., Johnson, P.D. (2006) Should medical students be routinely offered BCG vaccination? *Med J Aust*;185(6):324-6.
- Grujić, M. Tuberkuloza pluća. Naučna knjiga, Beograd, 1967:16.
- Lesic, A., Pesut, D., Markovic-Denic, Lj., Maksimovic, J., Cobeljic, G., Milosevic, I., Atkinson, H.D., Bumbasirevic, M. (2010) Challenge of osseo-articular tuberculosis in the 21st century – a 15-year population based study. *Int J Tuberc Lung Dis*; 14(9): 1181-86.
- Mak, T.K, Hesselning, A.C., Hussey, G.D., Cotton, M.F. (2008) Making BCG vaccination programmes safer in the HIV era. *Lancet*, 372(9641):786-7.
- Oettinger, T., Jørgensen, M., Ladefoged, A., Hasløv, K., Andersen, P. (1999) Development of the Mycobacterium bovis BCG vaccine: review of the historical and biochemical evidence for a genealogical tree. *Tuber Lung Dis*,79(4):243-50.
- Pešut, D. Kretanje tuberkuloze u Srbiji u poslednjih 10 godina. Zbornik radova 45. savetovanja pulmologa Srbije u Beogradu 2001. Institut za plućne bolesti KCS, Beograd, 2002, 63-70.
- Pešut, D. Sadašnje mesto vakcine BCG u svetu i kod nas (2004) *Med Pregl*; 57(Supl 1):37-40.
- Pešut, D., Gledović, Z., Grgurević, A., Nagorni-Obradović, Lj., Adžić, T. (2008) Tuberculosis Incidence in Elderly in Serbia: Key Trends in Socioeconomic Transition. *Croat Med J*, 49(6):807-12.
- Pesut, D.P., Bulajic, M.V., Lesic, A.R. (2012) Time trend and clinical pattern of extrapulmonary tuberculosis in Serbia, 1993-2007. *Vojnosanit Pregl*; 69 (3):227-230.
- Radosavljević, A. i sar. Kalemljenje protiv tuberkuloze po Calmetteu. Medicinski fakultet, Beograd, 1931.
- Reider, H. Interventions for tuberculosis control. IUATLD, Paris, 2002:98.
- StopTB Partnership and World Health Organization. The global plan to stop TB, 2006-2015. Dostupno na web site adresi: <http://www.stoptb.org/globalplan/assets/documents/GlobalPlanFinal.pdf>. Poslednji ulaz 30. aprila 2013.
- Tala, E., Romanus, V., Tala-Heikkila, M. (1997) Bacille Calmette Guérin vaccination in the 21st century. *Eur Respir Monograph*; 4:327-53.
- WHO. Issues relating to the use of BCG in immunization programmes. A discussion document (unpublished document WHO/V&B/99.23; available from Vaccines and Biologicals, World Health Organization, 1211 Geneva 27, Switzerland.

¹Medicinski fakultet, Univerziteta u Beogradu, Srbija

²Klinika za ortopedsku hirurgiju i traumatologiju KC Srbije, Beograd, Srbija

³Klinika za farmakologiju i toksikologiju, Medicinskog Fakulteta u Beogradu, Srbija

HIRURŠKE PROCEDURE U LEČENJU DIJABETESNOG STOPALA

SURGICAL PROCEDURES IN TREATING DIABETIC FOOT

Vučetić Čedomir^{1,2}, Vučković Sonja^{1,3}, Tulić Goran^{1,2}, Manojlović Radovan^{1,2}, Ille Mihailo^{1,2}, Ilić Marko¹, Bumbaširević Marko^{1,2}

Sažetak

Komplikacije diabetes melitusa danas su često ključni uzrok mnogih najtežih oboljenja i invaliditeta. Tako, najčešći razlog amputacija na donjim ekstremitetima odraslih su promene nastale zbog dijabetesa. Hirurško lečenje komplikacija je, najčešće, radikalno lečenje u komplikovanoj situaciji kada su iscrpljene druge mogućnosti. Poznavanje etiopatogeneze dijabetičnog stopala, hirurgiju stavlja u sve faze razvoja promena kod dijabetičnog stopala. U prevenciji i sprečavanju razvoja komplikacija, primenjuju se hirurške tehnike lečenja deformiteta na stopalu kod dijabetesa, koje vode nastanku ulceracija ili su uzrok nekih trofičnih promena. Lečenje akutnih stanja obuhvata hirurške procedure kao što su incizije, drenaže, nekrectomije, debridmani. U fazi remisije akutnih stanja ili postojanja hroničnih ulceracija primenjuju se rekonstruktivne procedure: hirurške rekonstruktivne tehnike zatvaranja ili pokrivanja perzistirajućih defekta kože i dela stopala. Amputacije kod dijabetičnog stopala, iako često primenjuvane, danas nisu prvi izbor.

Cilj rada je prikaz različitih hirurških procedura u prevenciji i lečenju komplikacija dijabetičnog stopala.

Korišćeni metod je prikaz kliničkih slučajeva, tehnika i rezultata hirurškog lečenja u: 1. preulceroznim stanjima, 2. stanjima akutne inflamacije, 3. stanjima hronične ulceracije i infekcije sa i bez zadovoljavajuće cirkulacije i 4. posebnosti amputacione hirurgije kod smanjene vitalnosti tkiva, značajnog komorbiditeta i ograničenih regenerativnih potencijala.

Rezultati pokazuju da selektivan hirurški pristup i diferenciran terapijski odnos prema različitim stanjima dijabetičnog stopala je od uticaja na prevenciju, smanjenje i odlaganje pojave ulceracija; smanjenje invaliditeta, popravljavanje kvaliteta života, smanjenje broja amputacija. Blagovremeno primenjen odgovarajući hirurški postupak u različitim stepenima

promena na dijabetičnom stopalu skraćuje lečenje, smanjuje dalje komplikacije i omogućava očuvanje funkcije kod amputacija u nivou stopala, a očuvanje života kod amputacija potkolenice i proksimalno.

Hirurško lečenje dijabetičnog stopala ima svoje mesto u svim fazama postojanja dijabetičnog stopala. Prema uočenom problemu se bira hirurška procedura, u cilju lečenja i sprečavanja razvoja daljih komplikacija.

Ključne reči: dijabetes, dijabetično stopalo, hirurško lečenje

Summary

Nowadays complications of diabetes mellitus are very often the main cause of the most serious diseases and disabilities. Changes caused by diabetes are the most common cause of lower limb amputations in adults. Surgical treatment of complications is usually a radical treatment chosen in complicated situations when there is no other possibility. Taking etiopathogenesis of diabetic foot into consideration, it is clear that surgery is present in every stage of the changes that appear on diabetic foot. Surgical techniques for treating the foot deformities which lead to ulceration or cause trophic changes are applied in order to prevent complications. The treatment of acute stages includes surgical procedures such as incision, drainage, necrectomy and debridement. Reconstructive procedures are applied in the case of remission in acute phases or in the case of chronic ulcers: surgical reconstructive techniques for closing or covering the persistent defect of the skin and foot parts. Today, amputations are not the first choice in the case of diabetic foot, although they are still very common.

The aim of this study is to review different surgical procedures which are used for prevention and treatment of diabetic foot complications.

The method used in this study is the review of clinical cases and outcomes of surgical treatment in: 1. pre-ulcerative phases, 2. phases of acute inflammation,

3. phases of chronic ulceration and infection, with or without satisfactory circulation and 4. specificities of amputation surgery in the case of reduced tissue vitality, significant comorbidity and limited regenerative potential.

The results indicate that selective surgical approach and differentiated therapy in relation to various stages of diabetic foot have an impact on prevention, in the way that they reduce and delay the development of ulcers, reduce disability, improve the quality of life and reduce the number of amputations. A well - timed, appropriate surgical procedure in different phases of the changes that appear on diabetic foot, shortens the healing process, reduces further complications, enables function saving in the case of amputations on the foot level and enables saving patients' life in the case of amputations under and above the knee.

Surgical treatment has its place in every phase of diabetic foot. Surgical procedure is chosen according to the noticed problem with an aim of treating and preventing further complications.

Key words: diabetes, diabetic foot, surgical treatment.

Uvod

Komplikacije diabetes melitusa danas su često ključni uzrok mnogih najtežih oboljenja i invaliditeta. Tako, najčešći razlog produženog hospitalnog lečenja i amputacija na donjim ekstremitetima odraslih su promene nastale zbog dijabetesa. Poznavanje etiopatogeneze dijabetičnog stopala, hirurgiju stavlja u sve faze razvoja promena kod dijabetičnog stopala. U prevenciji i sprečavanju razvoja komplikacija, primenjuju se hirurške tehnike lečenja deformiteta na stopalu kod dijabetesa, koje vode nastanku ulceracija ili su uzrok nekih trofičnih promena. Lečenje akutnih stanja obuhvata hirurške procedure kao što su incizije, drenaže, nekrektomije, debridmani. U fazi remisije akutnih stanja ili postojanja hroničnih ulceracija primenjuju se rekonstruktivne procedure: hirurške rekonstruktivne tehnike zatvaranja ili pokrivanja perzistirajućih defekta kože i dela stopala¹⁻³. Amputacije kod dijabetičnog stopala, iako često primenjivane, danas nisu prvi izbor. U lečenju dijabetesnog stopala hirurško lečenje ima široku primenu. Različite situacije, stanja ili faze tretmana i lečenja zahtevaju primenu odgovarajućih hirurških tehnika. U tom smislu hirurške tehnike se grupišu u četiri tipa procedura:

1. Korektivno hirurško lečenje deluje preventivno, jer sprečava razvoj komplikacija, primenjuju se hirurške tehnike lečenja deformiteta na stopalu kod dijabetesa, koje vode nastanku ulceracija ili su uzrok nekih trofičnih promena⁴⁻⁷. Preduzimaju se osteotomije, artrodeze, resekcije kostiju, tenotomije (Slika 1 a-d).



Slika 1a Deformacija četvrtog prsta stopala sa hroničnom ulceracijom. Žena 49 g. Dijabetična ulceracija posledica pritiska na meka tkiva zbog isčašjenja PIP zgloba



Slika 1b Radiografija stopala sa isčašjenjem PIP zgloba IV prsta



Slika 1c Operativno lečenje, debridman resectio art. PIP, šivenje rane



Slika 1d Stanje 3 meseca posle operacije, sanacija rane

2. Dijagnostika infekcije kosti i zglobova. Uzimanje biopsije promenjene kosti za bakteriološki pregled smatra se najpouzdanijim načinom dijagnostike osteomijelitisa (Slika 2a).



Slika 2a Incizija kroz nekrozu, evakuacija pussa i bris za bakteriološki poregled

3. Lečenje akutnih stanja infekcije. Uklanja se devitalizovano tkivo i ulceracija. Preduzimaju se incizije, drenaža apscesa, debridmani rana na stopalu, nekrektomije, resekcije kostiju i amputacije (Slike 2b, 3a, 3b, 3c).



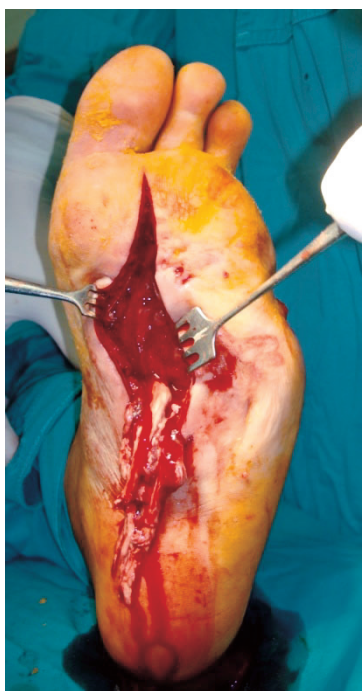
Slika 2b Gangrena sa apcesom. Muškarac 50 g. Infekcija sa apscenom kolekcijom i nekrozom



Slika 3a Vlažna gangrena. Muškarac 56 g. 17godina Diabetes tip 2, ulceracija 6 cm. Infekcija i nekroza lateralne strane prednjeg dela stopala



Slika 3b Stanje 4 nedelje po prijemu, posle resekcije IV i V metatarzalne kosti, debridmana i pokrivanja defekta kože transplantatom po Thierch-u



Slika 3c Intraoperativno Ekscizija plantarne aponeuroze, zbog plantarnog nekrotičnog fasciata

4. U fazi remisije akutnih stanja ili postojanja hroničnih ulceracija primenjuju se rekonstruktivne procedure: hirurške rekonstruktivne tehnike zatvaranja ili pokrivanja perzistirajućih defekta kože i dela stopala i

uklanjanja infekcijom oštećenog i izmenjenog tkiva. Primenjuju se rekonstruktivne tehnike pokrivanja defekata, nadoknade kože, slobodni kožni transplantati (Slike 4 a - e).



Slike 4 a-e Mikrohrurške procedure u rekonstruktivnoj hirurgiji dijabetičnog stopala. A) Slobodni mikrovaskularni režanj latissimus dorsi postavljen na stopalo. Stanje pet dana postoperativno. B) Završni rezultat posle nekoliko meseci od transplantacije mišićno-kožnog reznja. C) Hronična ulceracija na dorzumu stopala sa okolinom rane ožiljno promenjenom i oskudno vaskularizovanom. C) Intraoperativno stanje neposredno posle pokrivanja defekta kože peteljkastim Hasegava reznjem art. suralis. E) Završni rezultat posle par meseci od transplantacije reznja.

Pacijenti koji imaju dijabetes, u više od 40% imaju izvesne promene na stopalima, koje su početak ozbiljnijih smetnji ili samo preduslov za nastanak ulceracija. Najprisutnija promena je polineuropatija, koja stopala čini hipoestetičnim u nekoj meri. Gubitak osećaja za dodir i smanjena osetljivost na bol može biti vrlo izražena. Često pacijenti sa velikim ranama na stopalima hodaju oslanjajući se, a da ne osećaju bol. U 25% pacijenata sa dijabetes melitusom tipa 2 oboljenje se dijagnostikuje kada se pojave ulceracije na stopalu⁸⁻¹⁰. Evaluacija ulceracija na dijabetičnom stopalu treba da bude prema pet kriterijuma: prokrvljenosti, širini ulceracija, njihovoj dubini, infekciji i senzibilitetu¹¹⁻¹⁴. Zapažena je signifikantna relacija između periferne arterijske bolesti (PAB), infekcije i lošeg ishoda.

Kliničkim pregledom se orijentišemo o postojanju ulceracija ili odsustvu, odnosno očuvanom integritetu kože stopala. Sledi klinička procena cirkulatornog statusa. Posmatramo boju kože, orijentišemo se o temperaturi kože stopala, očuvanosti

pulseva, tkivnom protoku. Postojanje infekcije procenjujemo klinički i na osnovu laboratorijskih nalaza i radiografija^{15,17}. Radiografija stopala je uvek potrebna da bismo utvrdili stanje koštano-zglobnog sistema stopala. Postojanje ulceracije ili fistule sa osteolizom i sekvestracijom kosti ukazuje na koštanu infekciju.

Cilj

Prikaz različitih hirurških procedura u prevenciji, dijagnostici i lečenju komplikacija dijabetičnog stopala.

Evaluacija stanja na stopalu

Za procenu stanja promena na dijabetesnom stopalu potrebno je razmotriti postojanje ulceracije, stanje cirkulacije, postojanje infekcije. Posmatranjem ustanovićemo postojanje ulceracije ili odsustvo. Od značaja je procena zahvaćenosti tkiva po slojevima od površine prema kosti i ekstenzivnost promene: jedna strana prsta, stopala ili više strana. Cirkulacija može biti zadovoljavajuća, insuficijentna i odsutna¹⁸⁻²¹. Infekcija može biti prisutna kao akutna, hronična i odsutna (Tabela 1).

Kriterijum evaluacije	Vaskularizacija			Infekcija			Zahvaćene strukture				Zahv. Strane
	Očuvana	Insuficijentna	Odsutna	Hronična	Akutna	Bez	Koža	potkoža	fascije, tetive	zglob, kost	
Promene na stopalu											1-4
Klavus	+-	+		+-		+	+	+-			1
Unguis incarnatus	+					+	+				1
Paronihia	+				+		+	+			1
Trofični ulkus		+		+		+	+	+	+-		1+
Celulit	+-	+-			+		+	+			1-4
Flegmona	+-	+-			+		+	+	+-	+-	1-4
Apsces	+-	+-			+		+	+	+	+	1
Osteomielit	+-	+-		+	+					+	1
Artritis	+-	+-		+	+					+	1+
Gangrena		+	+	+	+	+	+	+	+	+	1-4

Tabela 1. Kriterijumi za procenu infekcijskih hirurških stanja kod dijabetičnog stopala

Metod

Hirurško lečenje dijabetičnog stopala, da bi bilo uspešno, mora biti podržano opštim merama u lečenju ove grupe pacijenata kao što su glikoregulacija, antibiotska terapija i rasterećenje dela stopala gde je ulceracija ili celog stopala.

Kod dijabetičnog stopala, hirurgija treba da odgovori posebnim zahtevima kakvi su prisutni u: 1. preulceroznim stanjima, 2. stanjima akutne inflamacije, 3. stanjima hronične ulceracije i infekcije sa i bez zadovoljavajuće cirkulacije i 4. posebnosti amputacione hirurgije kod smanjene vitalnosti tkiva, značajnog komorbiditeta i ograničenih regenerativnih potencijala.

1. Preulcerozna stanja predstavljaju različite deformitete na stopalu koji dovode do poremećenog biomehaničkog odnosa što ima za posledicu izloženost pojedinih delova stopala velikom pritisku i pojavi ulceracija. Pritisak na meka tkiva može biti spolja ili iznutra i kombinovan. Poremećaji su spuštено stopalo, halux valgus, digitus flexus, digitus supraductus, klavus, unguis incarnatus. Hirurške tehnike su osteotomije, resekcije kosti i zglobova fiksacije kostiju posle korektivnih osteotomija, ekscizije pomena.

2. Stanja akutne inflamacije, koja uključuju hirurško lečenje, karakteriše infekcija sa gnojnom kolekcijom, nekrozom tkiva. U takvim stanjima postoji potreba za incizijama, debridmanima, nekrektomijom, drenažom mesta infekcije.

3. Stanja sa hroničnom ulceracijom i infekcijom, sa i bez zadovoljavajuće cirkulacije, su ulceracije koje ne pokazuju tendenciju zarastanja i posle više nedelja previjanja. Infekcija može biti prisutna sa lokalnim inflamatornim odgovorom kao što je crvenilo otok, secernacija i pozitivan nalaz brisa. Infekcija može biti odsutna kada ne postoji lokalni inflamatorni odgovor a bris može biti pozitivan i negativan. Pozitivan bris bez lokalnog inflamatornog odgovora označava se kao naseljavanje ili kolonizacija ulceracije. Kada postoji izostanak lokalnih znakova zapaljenja a prisustvo secernacije potrebno je razmotriti postojanje koštane infekcije. Za procenu hronične infekcije kosti potrebno je uraditi i radiografiju. Infekcija kosti manifestuje se kao osteoliza i sekvestracija i secernacija ulceracije ili fistule.

4. Posebnosti amputacione hirurgije kod smanjene vitalnosti tkiva, značajnog komorbiditeta i ograničenih regenerativnih potencijala se ogleda u pošteditosti pri manipulaciji sa tkivom, plasiranju rezova u cilju čuvanja cirkulacije, ne raslojavanju tkiva, ako je potrebno formiranje reznjeva prave se sa širokom bazom, Rana se zatvara bez tenzije i ivice rane samo aproksimatizuju.

Danas je prisutan stav da se primenjuju poštedni hirurški zahvati sa ciljem prezervacije vitalnog dela stopala i očuvanja osnovne funkcije. Principijelno odstranjuju se fokusi infekcije i devitalizovano tkivo a defekti mekih tkiva pokrivaju se formiranim lokalnim reznjevima, slobodnim transplantatima. U retkim slučajevima, prema individualnim indikacijama postoji mogućnost rekonstruktivnog restorativnog lečenja primenom mikrohirurgije i pokrivanja defekata slobodnim mikrovaskularnim reznjevima i peteljkastim reznjevima.

Zaključak

Selektivan hirurški pristup i diferenciran terapijski odnos prema različitim stanjima dijabetičnog stopala je od uticaja na prevenciju, smanjenje i odlaganje pojave ulceracija; smanjenje invaliditeta, popravlanje kvaliteta života, smanjenje broja

amputacija. Blagovremeno primenjen odgovarajući hirurški postupak u različitim stepenima promena na dijabetičnom stopalu skraćuje lečenje, smanjuje dalje komplikacije i omogućava očuvanje funkcije kod amputacija u nivou stopala, a očuvanje života kod amputacija potkolenice i proksimalno. Hirurško lečenje dijabetičnog stopala ima svoje mesto u svim fazama postojanja dijabetičnog stopala. Prema uočenom problemu se bira hirurška procedura, u cilju lečenja i sprečavanja razvoja daljih komplikacija.

Napomena

Rad je usmeno izložen na mini-simpozijumu Dijabetično stopalo – narastajući problem, na 41. simpozijumu Streljenja i novine u medicini, Medicinski fakultet u Beogradu, 5.12.2012. godine

Literatura

- Igbinovia E. Diabetic foot ulcers: current trends in management Journal of Postgraduate Medicine. 2009 (11). 1 130-38
- Cavanagh PR, Lipsky BA, Bradbury AW, Botek GLancet. Treatment for diabetic foot ulcers. 2005; 12;366(9498):1725-35
- Boyko EJ, Ahroni JH, Stensel V, Forsberg RC, Davignon DR, Smith DG. A prospective study of risk factors for diabetic foot ulcer. The Seattle Diabetic Foot Study. Diabetes Care. 1999;22(7):1036-42.
- C. Keith Bowering. Diabetic foot ulcers Pathophysiology, assessment, and therapy Can Fam Physician 2001;47:1007-1016.
- Iversen MM, Midthjell K, Østbye T, Tell GS, Clipp E, Sloane R, Nortvedt MW, Uhlving S, Hanestad BR. History of and factors associated with diabetic foot ulcers in Norway: the Nord-Trøndelag Health Study. Scand J Public Health. 2008;36(1):62-8.
- Nelson EA, O'Meara S, Golder S, Dalton J, Craig D, Iglesias C. DASIDU Steering Group Systematic review of antimicrobial treatments for diabetic foot ulcers. Diabet Med. 2006;23(4):348-59
- Vuorisalo S, Venermo M, Lepäntalo M. Treatment of diabetic foot ulcers. J Cardiovasc Surg (Torino). 2009;50(3):275-91.
- Jeffcoate WJ, Price P, Harding KG. International Working Group on Wound Healing and Treatments for People with Diabetic Foot Ulcers. Diabetes Metab Res Rev. Wound healing and treatments for people with diabetic foot ulcers. 2004;20 Suppl 1:S78-89.
- Vučetić Č. Dijabetično stopalo - kako da problem bude manji? Medicinska Istraživanja 2012;46(4) 43
- Filipović M, Ličanin S, Hajder I, Milutinović D, Cvetković D, Violeta S, Vučetić Č. Previjanje rana sa izraženom secernacijom. Prvi Kongres Srpskog udruženja za lečenje rana sa međunarodnim učešćem. Zbornik sažetaka, CD, Beograd 2012.
- Vučetić Č. Rasteretna ortoza u lečenju Scharcot-ovog zgloba kod dijabetičkog stopala. Prvi Kongres Srpskog udruženja za lečenje rana sa međunarodnim učešćem. Zbornik sažetaka, CD, Beograd 2012.
- Ličanin S, Drobniak V, Cvetković D, Milutinović D, Tomić M, Keranović S, Vučetić Č. Toaleta stopala kod pacijenata sa dijabetesnim stopalom. Prvi Kongres Srpskog udruženja za lečenje rana sa međunarodnim učešćem. Zbornik sažetaka, CD, Beograd 2012.eP
- Drobniak V, Cvetković D, Balać B, Hajder I, Keranović S, Šelmić A, Vučetić Č. Održavanje funkcije protočne drenaže. Prvi Kongres Srpskog udruženja za lečenje rana sa međunarodnim učešćem. Zbornik sažetaka, CD, Beograd 2012
- Vucetic SC, Delic BJ, Vukasinovic SZ, Tulic DzG, Dimitrijevic KI, Vuckovic DjC, Kalezic KN. A Structured Approach to Surgical Treatment in Deep Infection in Diabetic Foots. EWMA Journal 2012.12(2): 7-12
- Vučetić Č, Jeremić J. Rekonstruktivno lečenje kod dijabetičnog stopala. Prvi Kongres Srpskog udruženja za lečenje rana sa međunarodnim učešćem. Zbornik sažetaka, CD, Beograd 2012.
- Vučetić Č. Hirurške procedure u lečenju dijabetičnog stopala. Medicinska Istraživanja 2012;46(4) 42-3
- Mitić N, Drobniak V, Milutinović D, Šemlić A, Hajder I, Vučetić Č. Hirurški debridman kod dijabetičnog stopala u ambulantnim uslovima. Prvi Kongres Srpskog udruženja za lečenje rana sa međunarodnim učešćem. Zbornik sažetaka, CD, Beograd 2012.
- Vučetić Č. Koštano-zglobna infekcija kod dijabetičnog stopala. Prvi Kongres Srpskog udruženja za lečenje rana sa međunarodnim učešćem. Zbornik sažetaka, CD, Beograd 2012.
- Jeremić J, Vučetić Č. Reconstructive treatment of diabetic foot. Prvi Kongres Srpskog udruženja za lečenje rana sa međunarodnim učešćem. Wounds Journal Suppl.1 2012;1,15
- Vučetić C, Dulic B, Dimitrijevic I, Kalezic N, Bumbasirevic M, Mazic N, Jeremic J. Hirurško lečenje dijabetičnog stopala. Rane 2007.1(2) 8-13.
- Drobniak V, Filipović M, Tomić M, Šelmić A, Balać B, Smilis V, Vučetić Č. Previjanje rana posle aplikacije slobodnog transplantata kože po Thiersch-u. Prvi Kongres Srpskog udruženja za lečenje rana sa međunarodnim učešćem. Zbornik sažetaka, CD, Beograd 2012.

¹Klinika za grudnu hirurgiju, Klinički centar Sarajevo, Bosna i Hercegovina

²Klinika za ortopediju i traumatologiju, Klinički centar Banjaluka, Bosna i Hercegovina

UČESTALOST N1 I N2 METASTAZA U ZAVISNOSTI OD STEPENA DIFERENCIRANOSTI NEMIKROCELULARNOG PLUĆNOG KARCINOMA

N1 AND N2 METASTASES FREQUENCY DEPENDING ON THE DEGREE OF DIFFERENTIATION OF NON-MICROCELULAR LUNG CANCER

Kemal Grbić¹, Predrag Grubor², Emir Grbić¹

Sažetak

Najbitniji pojedinačni prognostički faktor oboljelih od NSCLC-a, jeste karcinomska invazija regionalnih limfnih čvorova, a koja zavisi od patomorfoloških osobina primarne bolesti. Čelijska i tkivna atipija maligno izmjenjenog tkiva daje dobre predispozicije rane limfne invazije i limfonodularnog metastaziranja.

Cilj rada: Standardna statistička analiza koja uključuje učestalost stepena diferenciranosti maligne promjene, metastaza u N1 i N2 nivo i statistička zavisnost navedenih varijabli.

Pacijenti i metode: Retrospektivna analiza obuhvata 331 pacijenta, koji je podvrgnut nekom od hirurških procedura nakon dijagnosticiranog NSCLC-a, te na osnovu definitivnih patohistoloških postresekcionih nalaza koji opisno sadržavaju navedene karakteristike.

Rezultati: Prosječna starost ukupnog broja pacijenata je bila 62.69 ± 7.47 godine. Zasupljenost u odnosu na spol je 4.7:1 u korist muškaraca. Postoji značajna statistička povezanost pojave oboljenja u odnosu na dob (χ^2 test = 493.65; $p < 0.05$), kao i značajna razlika starosne dobi u odnosu na spol ($p < 0.05$). Najčešća je učestalost G2 stadija bolesti sa udjelom od 58.00%, i postoji signifikantna statistička povezanost oboljevanja u odnosu na stepen diferenciranosti (χ^2 test = 248.13; $p < 0.05$). Invazija N1 nodusa je 44.61%, a N2 nivoa 4.53%. Postoji statistički signifikantna povezanost između N1 i N2 metastaza i stepena diferenciranosti tumora (χ^2 test = 24.74; $p = 0.00$ vs. χ^2 test = 16.37; $p = 0.01$).

Zaključak: Dominacija G2 stadija, i statistički značajna povezanost stepene diferenciranosti i regionalne limfonodularne invazije.

Ključne riječi: NSCLC, stepen diferenciranosti, N-metastaze.

Summary

The most significant individual prognostic factor for those suffering from NSCLC is cancer invasion of regional lymph nodes, which depends on pathomorphological characteristics of the primary disease. Cellular and histological atopy of the changed

tissue means good predispositions for an early lymph invasion and lymphonodular metastasizing.

The aim of the paper: a standard statistical analysis which includes frequency of the degree of malignant change differentiation, metastasizing in stages N1 and N2 and the statistical dependence of the mentioned variables.

Patients and methods: a retrospective analysis covered 331 patients who underwent a surgical procedure after they had been diagnosed with NSCLC and it was also based on the definite pathohistological postresectional results which included the above mentioned characteristics in a descriptive manner.

Results: the average age of the total number of patients was 62.69 ± 7.47 . Males were more numerous than females (4.7:1). There was a significant statistic correlation between the development of the disease and the age (χ^2 test = 493.65; $p < 0.05$), as well as a significant difference of age in relation to gender ($p < 0.05$). G2 stage of the disease was the most frequent, with participation of 58.00%, and there was a significant statistical correlation between developing the disease and the level of differentiation (χ^2 test = 248.13; $p < 0.05$). The invasion of the node N1 was 44.61% and of N2 4.53%. There was a statistically significant correlation between N1 and N2 metastases and the level of differentiation of cancer (χ^2 test = 24.74; $p = 0.00$ vs. χ^2 test = 16.37; $p = 0.01$).

Conclusion: the domination of G2 stage and statistically significant correlation between the levels of differentiation and regional lymphonodular invasion.

Key words: NSCLC, level of differentiation, N-metastases.

Uvod

Nemikrocelularni plućni karcinom (NSCLC) predstavlja epitelno maligno oboljenje plućnog porijekla, za koje se zbog anatomske lokalizacije koriste sinonimi plućni karcinom ili karcinom bronha (1). Prema svim dostupnim statističkim podacima incidenca morbiditeta i mortaliteta je u stalnom porastu, sa pomjeranjem granice starosti na mlađu životnu dob i sve češćim pojavljivanjem kod ženskog spola, naročito u nerazvijenijim zemljama (2). Prema najnovijim podacima Američkog udruženja za karcinome (The

American Cancer Society) zauzima oko 12% među malignim oboljenjima, dok je smrtnost od istog oko 29%. Stopa petogodišnjeg preživljavanja u SAD-u je 14%, dok je u Evropskoj Uniji 8% (2,3). Bazna karakteristika epitelnih malignoma je rana limfovaskularna peritumoralna infiltracija i limfonodularna invazija regionalnih drenažnih limfatika, koji predstavljaju glavni pojedinačni prognostički faktor preživljavanja oboljelih, a koji se preoperativno detektuju CT skeniranjem grudnog koša, odnosno patohistološkim postresekcionim nalazima (4,5).

Pored Narkove modificirane numeričke mape, prema zadnjoj revidiranoj TNM klasifikaciji, koja vrijedi od januara 2010 godine, „N“-deskriptor je podijeljen u više grupa i glavni je parametar procjene mogućeg hiruškog tretmana i postresekcijskog preživljavanja oboljelih (6,7,8). N1 invazija predstavlja metastaze prisutne u ipsilateralnim peribronhalnim i/ili ipsilateralnim hilarnim limfonodima, te intrapulmonalnim nodusima uključujući zahvaćenost direktnim širenjem primarnog tumora, dok N2 pozitivnost podrazumjeva metastaze prisutne u ipsilateralnim medijastinalnim i/ili subakarinalnim nodusima (7,8). Zbog nekontrolisane proliferacije, nedovoljnog sazrijevanja i ubrzane smrti, maligne ćelije plućnog karcinoma se od normalne razlikuje po morfološkim, biohemiskim, fiziološkim, imunološkim i citološkim karakteristikama, odnosno ćelija postaje atipična u odnosu na patološki neizmjenjenu (6,7). Kao posljedica ćelijske atipije, i tkivo koje one formiraju postaje atipično, i u njemu prevladava pleomorfizam ćelija, a koji se ogleda u sve većem prisustvu ćelija nižeg embrionalnog nivoa (4,5,6,9). Za razliku od normalnih, ćelije plućnog karcinoma gube svojstvo međusobnog organiziranja i odnosa prema membranama, pa stoga stvaraju nepravilne tkivne tvorevine. U odnosu na navedene fenotipske karakteristike, one se prema stepenu diferenciranosti nalaze u dijapazonu od onih koje su slične ishodišnim (dobro diferencirane), do onih kada nije moguće odrediti vrstu tkiva iz koje potiču (6,9,10).

Cilj rada

Uraditi statističku analizu oboljelih prema spolnoj i starosnoj strukturi. Evidentirati učestalost karcinoma pluća u zavisnosti od stepena diferenciranosti, zahvaćenost N1 i N2 nivoa limfnih čvorova, analizirati međusobnu korelaciju navedenih varijabli, te njihovu statističku značajnost. Navedena analiza će dati indirektno podatke procjene postresekcijskog preživljavanja u odnosu na lokalizaciju malignoma, a komparativno sa savremenim podacima iz navedene problematike.

Pacijenti i metode

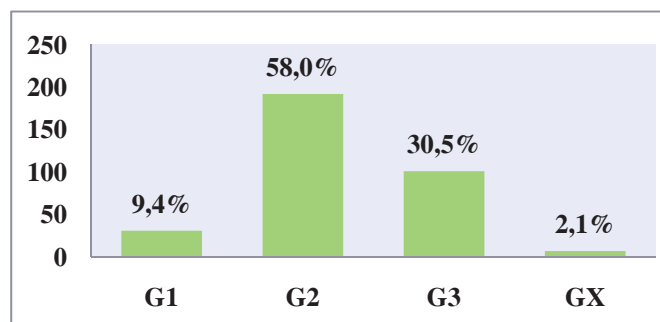
Retrospektivnom metodom u analizu je uključen 331 pacijent koji je u periodu od januara 2010 do decembra 2012 podvrgnut jednom od resekcionih

zahvata na Klinici za torakalnu hirurgiju KCU u Sarajevu, zbog dijagnosticiranog NSCLC-a. Podaci su prikupljeni iz postojećih istorija bolesti i definitivnih patohistoloških nalaza koji u opisu sadržavaju stepen diferenciranosti i N1, odnosno N2 infiltraciju malignim ćelijama. Prema stepenu diferenciranosti, ćelije NSCLC-a su podjeljene od dobro diferenciranih (G1), srednje diferenciranih (G2), slabo diferenciranih (G3), pa do onih kada se stepen diferencijacije ne može utvrditi-anaplastične (GX). „N“-parametar je analiziran na osnovu važeće, revidirane, VII-e, TNM-klasifikacije iz januara 2010 godine. Rezultati su prikazani deskriptivno, numerički, tabelarno i grafički, sa legendama i tekstualnim objašnjenjem pojedinih dobijenih vrijednosti i varijabli. Podaci su obrađeni prikazom apsolutnih i procentualnih vrijednosti, izračunavanjem aritmetičkih sredina uz izračunavanje standardne devijacije. Neparametrijski podaci su obrađeni hi-kvadrat testom. Zadani nivo statističke značajnosti (α) je 0.05.

Rezultati

Analizom je obuhvaćen 331 pacijent koji je u periodu od januara 2010 godine do decembra 2012 godine podvrgnut jednom od resekcionih zahvata zbog dijagnosticiranog NSCLC-a. Od ukupnog broja operiranih pacijenata, 77.64% (257/331) su muškarci, a 22.34% (74/331) su žene, pri čemu je utvrđen odnos 4.47:1 u korist osoba muškog spola (257:74). Prosječna starost svih pacijenata je 62.69 ± 7.47 (od 21 do 84) godine. Prosječna starost osoba muškog spola je 63.52 ± 6.63 (od 42 do 84) godine, a ženskih 59.81 ± 9.32 (od 21 do 80) godine. Statistički postoji značajna razlika starosne dobi u odnosu na spol ($p=0.00$). U odnosu na starosnu dob najviše je oboljelih u dobnoj skupini 61-70 godina starosti (58.31%), a najmanje zastupljena je starosna grupa do 40, odnosno iznad 80 godina starosti (0.6%). Statistički postoji signifikantna veza oboljevanja u odnosu na dob (χ^2 test= 493.65; $p<0.05$).

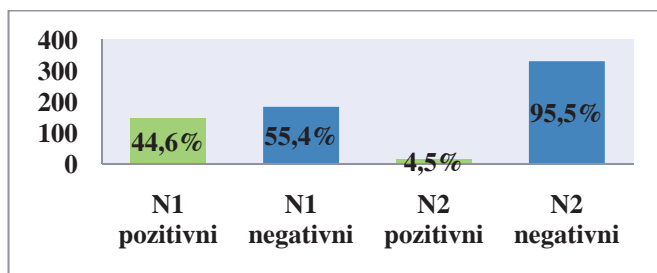
Grafikon 1. prikazuju procentualnu zastupljenost stepena diferenciranosti nemikrocelularnog karcinoma pluća, kod pacijenata koji su obuhvaćeni ovom analizom.



Grafikon 1. Učestalost tumora prema stepenu diferenciranosti

Udio patohistološki dobro diferenciranih tumora je 9.37% (31/331), a srednje diferenciranih 58.00% (192/331). Slabo diferencirani se pojavljuju u 30.51% (101/331) slučajeva, a nediferencirani 2.12% (7/331). Postoji signifikantna statistička povezanost oboljevanja u odnosu na stepen diferenciranosti (χ^2 test= 248.13; $p < 0.05$).

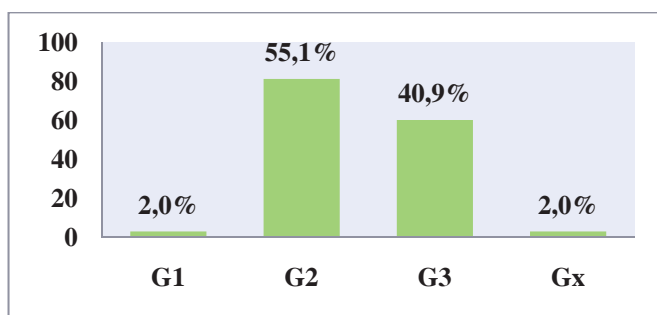
Grafikon 2. slikovito procentualno i numerički prikazuje zahvaćenost metastazama N1 i N2 nivoa limfnih čvorova.



Grafikon 2. Zahvaćenost N1 i N2 nivoa metastazama primarnog oboljenja

Zahvaćenost N1 nivoa limfnih čvorova metastatskim deponitima kod karcinoma pluća je 44.61% (147/331), dok su isti negativni kod 55.39% (184/331) pacijenata. N2 nivo limfnih nodusa je pozitivan kod 4.53% (15/331) pacijenata oboljelih od karcinoma pluća, dok su isti negativni u 95.47% (316/331) slučajeva.

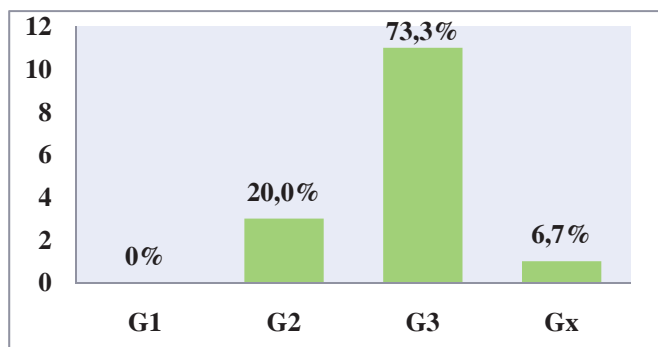
Na grafikonu 3. je prikazan učestalost N1 metastaza u odnosu na stepen diferenciranostu plućnog karcinoma.



Grafikon 3. Učestalost N1 metastaza u odnosu na diferenciranost tumora

Od ukupnog broja N1 pozitivnih limfnih čvorova (44.6%), najviše je srednje diferenciranih – 55.1% (81/147), zatim slabo diferenciranih – 40.9% (60/147), te dobro diferenciranih i anaplastičnih 2.0% (3/147). Postoji statistički signifikantna povezanost između učestalosti N1 metastaza i stepena diferenciranosti tumora. ($\chi^2 = 24.74$; $p = 0.00$)

Na grafikonu 4. je prikazana učestalost N2 metastaza u odnosu na stepen diferenciranosti plućnog karcinoma.



Grafikon 4. Učestalost N2 metastaza u odnosu na diferenciranost tumora

Na N2 nivou imamo 4.5% metastaza primarnog oboljenja, od čega je najviše slabo diferenciranih – 73.3% (11/15), zatim srednje diferenciranih – 20.0% (3/15) i najmanje anaplastičnih – 6.7% (1/15). Dobro diferenciranih nodusa u N2 nivou nije bilo. Postoji statistički signifikantna povezanost između učestalosti N2 metastaza i stepena diferenciranosti tumora ($\chi^2 = 16.37$; $p = 0.01$).

Diskusija

U našu analizu je uključen 331 pacijent koji je u periodu od januara 2010 godine do decembra 2012 godine hiruški tretiran na Klinici za grudnu hirurgiju KCU u Sarajevu zbog dijagnosticiranog nemikrocelularnog plućnog karcinoma. Zbog najveće učestalosti bolesti kod starije životne dobi gdje je prosječna starost 62.69 ± 7.47 godina, očekivati je lošije terapijske rezultate s obzirom na prisutni komorbiditet, prevashodno oštećenje kardiovaskularnog sistema, tražeći uzročnost u konzumaciji nikotina kao dokazanog etiološkog faktora obje bolesti (1,2,9). Naši podaci ne odgovaraju onima iz SAD-a, gdje se NSCLC detektuje iznad 70 godina starosti, što treba tražiti u dužoj životnoj dobi stanovništva, i smanjenoj konzumaciji nikotina shodno tamošnjim zakonskim propisima (2,3,9). U našoj analizi odnos oboljevanja prema spolu je 4.5:1 u korist muškaraca, i odgovara savremenim statistikama, dok je pojavljivanje bolesti sve češće kod žena i mladih osoba, naročito u nerazvijenijim zemljama, gdje je upotreba duhana sve veća među navedenom populacijom (8). Postoji značajna statistička povezanost pojave oboljenja u odnosu na dob (χ^2 test= 493.65; $p < 0.05$), kao i značajna razlika starosne dobi u odnosu na spol ($p < 0.00$). Učestalost srednje diferenciranih tumora od 58.00% (192/331), govori o detekciji najvećeg broja oboljelih u relativno zadovoljavajućem stadiju i očekivanim boljim postresekcijim preživljavanjem (9,10). Najmanja zastupljenost anaplastičnih tumora u procentu od 2.12% (87/331), potvrđuje da bolest u

uznapredovalo fazi bivi limitirana hiruškom resektabilnosti, te je stoga i najmanja zastupljenost navedenog stadija u našoj analizi, odnosno da detektovani malignom ovog stepena diferenciranostu kada se otkrije već ima lokalnu invaziju i udaljene metastaze, te se ne pristupa hiruškom liječenju. Znatno veća invazija N1 u odnosu na N2 nivo (44.61% vs. 4.53%) se podudara sa patofiziološkom mehanizmom razvoja bolesti gdje je uloga limatičkog sistema jako bitna u sprečavanju dalje propagaciji bolesti i metastazama u udaljenim organima (1,4,6,9,10). Veća mogućnost metastaziranja slabije diferenciranih tumora, se ogleda i u podatku iz naše analize, gdje se vidi veće metastaziranje u N2 nivo slabije diferenciranih karcinoma u procentu od 73.3%, dok je zahvaćenost nivoa N1 veća sa tumorima srednjeg stepena diferenciranosti (55.1%). Značajna statistička zavisnost stepena diferenciranosti sa metastazama u N1, ($\chi^2 = 24.74$; $p=0.00$), odnosno N2 nivo ($\chi^2 = 16.37$; $p=0.01$), takođe govori o velikoj metastatskoj potentnosti fenotipski izmjenjene maligne ćelije, a što odgovara oskudnoj dostupnoj literaturi iz navedene problematike (9,10).

Zaključak

U našoj analizi evidentno veća učestalost oboljevanja od NSCLC-a, kod osoba muškog spola, starije životne dobi, sa prevagom malignoma srednje diferenciranosti i znatno većim brojem metastaza u N1 nivo regionalnih limfnih nodusa. Takođe je vidna procentualno veća učestalost N1 invazije kod srednje diferenciranih, dok je kod N2 nivoa procentualno veći udio metastaza slabije diferenciranog karcinoma. Navadenom analizom dokazana statistička zavisnost stepena diferenciranosti i regionalne limfonodularne invazije.

Literatura

1. Shields TW. Pathology of Carcinoma of the Lung. In: General Thoracic Surgery. Lippincott Williams and Wilkins. 2005; 6(2): 455-480.
2. European mortality database - MDB, WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark, 2010; <http://data.euro.who.int/hfadbpri> pristupljeno feb.2013.
3. American Cancer Society. Cancer Facts and Figures 2009. Dostupno na: <http://www.cancer.org/downloads/STT/500809web.pdf>. Pristupljeno: januar 2013.
4. Kopitović I, Kosjerina Z, Matijašević J. Metastaze različitih patohistoloških tipova karcinoma bronha u regionalnim i udaljenim limfnim žlijezdama. *Pneumon* 2002/2003; 40: 53-56.
5. Heerma van Voss MR, van der Groep P, Bart J, van der Wall E, van Diest. Lymphovascular invasion in BRCA related breast cancer compared to sporadic controls. *PJ. BMC Cancer*. 2010; 16(10): 145-147.
6. Grbić S, Gajanin R, Stojšić J, Zrnić B. Distribucija metastaza u regionalnim limfnim čvorovima prema histološkom tipu karcinoma. *Časopis udruženja pulmologa RS-2011*; 11(1): 257-279.
7. Rami-Porta R, Crowley JJ, Goldstraw P. The Revised TNM Staging System for Lung Cancer. 2009; (1): 14-19.
8. Saeed Mirsadraee, Dilip Oswal, Yalda Alizadeh, Andrea Caulo, and Erwin JR van Beek. 7th lung cancer TNM classification and staging system: Review of the changes and implications. *World J radiol*. 2012 April; 28; 4(4): 128-134.
9. Radzikowska E, Glaz P, Roszkowski K. Lung cancer in women: age, smoking, histology, performance status, stage, initial treatment and survival. Population-based study of 20 561 cases. *Ann Oncol* 2002; 13(7): 187-193.
10. Gurleyik G, Aker F, Aktekin A, Sağlam A. Tumor characteristics influencing non - sentinel lymph node involvement in clinically node negative patients with breast cancer. *J Breast Cancer*. 2011 Jun; 14(2): 124-128.

¹Institut za kardiovaskularne bolesti "Dedinje", Klinika za anesteziju i intenzivno lečenje, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

²Institut za kardiovaskularne bolesti "Dedinje", Klinika za vaskularnu hirurgiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

PATOLOŠKE ELONGACIJE KAROTIDNIH ARTERIJA: ETIOPATOGENEZA I KLINIČKE MANIFESTACIJE

PATHOLOGICAL ELONGATIONS OF THE CAROTID ARTERIES: ETIOPATHOGENESIS AND CLINICAL MANIFESTATIONS

Sanja Stanić¹, Vuk Sotirović², Slobodan Tanasković², Nikola Aleksić², Đorđe Radak²

Sažetak

Kinking (kolenasto presavinuće) i coiling (petlja) unutrašnje karotidne arterije (ACI) predstavljaju poseban patomorfološki i patofiziološki entitet u okviru cerebrovaskularne patologije. Coiling-u se pripisuje kongenitalno poreklo i generalno je asimptomatski, za razliku od kinking-a koji je uglavnom udružen sa aterosklerozom i manifestuje se tranzitornim ishemičnim atacima. Hemodinamska merenja pokazuju značajnu redukciju ili čak potpuni, tranzitorni prekid protoka u određenim položajima glave usled prisustva kinking-a/coiling-a ACI. Iako, nije dokazana značajna povezanost kinking-a sa velikim neurološkim događajima, postoji visoko statistički značajna korelacija između kinking-a i pojave tranzitornih vaskularnih poremećaja. Ekstenzija glave sa ipsi/kontralateralnom rotacijom akcentuje značaj karotidnih malformacija i olakšava pojavu simptoma.

Ključne reči: unutrašnja karotidna arterija, cerebrovaskularna patologija, kinking/coiling, tranzitorni ishemični atak.

Summary

Kinking and coiling of the internal carotid artery (ICA) is a special pathomorphological and pathophysiological entity within the cerebrovascular pathology. Coiling is attributed to a congenital origin and it is generally asymptomatic, in contrast to kinking, which is mainly associated with atherosclerosis and causes transitory ischemic attacks. Hemodynamic measurements show a significant reduction or even complete transient interruption of the flow due to kinking/coiling ICA in certain positions of the head. There is no statistically significant connection between kinking ICA and large neurological events, but there is a statistically significant correlation between the occurrence of kinking and transient vascular disorders.

Extension of the head with ipsi - contralateral rotation emphasizes the importance of kinking and provokes the appearance of the symptoms.

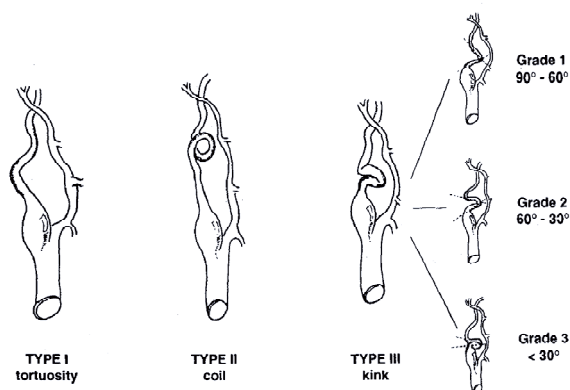
Key words: internal carotid artery, cerebrovascular pathology, kinking/coiling, transitory ischemic attack.

Uvod

Dolihoarteriopatija ili patološka elongacija karotidne arterije podrazumeva prisustvo preterano dugačke karotidne arterije koja u fiksiranom prostoru vrata, formira petlju (*coiling*) i/ili kolenasto presavinuće (*kinking*). Dolihoarteriopatije se javljaju na svim supraortnim granama (brahiocefalički trunkus, karotidna, subklavijalna, vertebralna arterija), mada se obično misli na unutrašnju karotidnu arteriju (ACI), gde su najčešće i daju najjasniju simptomatologiju¹⁻⁵.

Klasifikacija dolihoarteriopatija ACI na tortuozitet, *kinking* i *coiling* prvi put je izvršena 1965. godine od strane *Weibel-a* i *Fields-a*. Prema ovoj klasifikaciji, koja je i danas validna,

- **tortuozitet** predstavlja izvijuganost elongirane ACI u obliku slova C ili S;
- **coiling** podrazumeva prisustvo jedne ili više petlji na elongiranoj ACI;
- **kinking**, kao najčešći tip karotidne abnormalnosti, definisan je kao angulacija jednog ili više segmenata elongirane ACI, često udružen sa funkcionalnom ili organskom stenozom⁶⁻¹⁵.



Slika 1. Klasifikacija prekomerno dugačke unutrašnje karotidne arterije

Picture 1. Classification of internal carotid artery redundancy

Klasifikacija *kinking*-a je izvršena na osnovu oštine ugla na mestu preloma:

- **tip 1**- između 60 i 90 stepeni,
- **tip 2**- između 30 i 60 stepeni i
- **tip 3**- manje od 30 stepeni ^{2,14,16,17}.

Za tip 3 se u literaturi koristi i naziv oštri *kinking* ^{14,18}.

Istorijat

O morfologiji cervikalnih krvnih sudova malo se znalo do sredine XIX veka. Informacije su mogle biti obezbeđene jedino u salama za autopsiju, mada je disekcija vrata retko rađena. Otorinolaringolozi su bili prvi kliničari koji su izrazili zabrinutost zbog izvijugane karotidne arterije, još krajem devetnaestog veka. Posebno su bili zainteresovani za anatomske odnos tonzile i krvnog suda, za koji su u početku mislili da se radi o ascendentnoj faringealnoj arteriji ^{13,19}. Komplikacije tipa fatalne hemoragije, kao rezultat povrede izvijuganog segmenta arterije, koji je u prisnom odnosu sa lateralnim ili posteriornim zidom farinksa, pratile su operacije kao što su tonzilektomija ili adenoidektomija ^{6,15,19-24}.

Sredinom dvadesetog veka prepoznat je značaj ovih lezija zajedno sa njihovim uticajem na cerebralnu hemodinamiku ²⁰. Povezanost elongacija ACI i simptoma cerebralne ishemije prvi put se pominje od strane *Risera i sar* 1951.godine ^{13,22,25}. Prepoznavši njihov neurološki značaj, iste godine su ispravili tortuoznu karotidnu arteriju fiksiranjem za unutrašnju stranu sternokleidomastoidnog mišića ^{16,21,22,24,25}.

Pored brojnih studija koje su objavljene pedesetih i šezdesetih godina prošlog veka, mnogi

aspekti bolesti ostali su nerazjašnjeni. Uprkos toj činjenici, sedamdesete i osamdesete nisu donele ništa više do sporadično objavljenih radova i revijalnih članaka. Moderna era u razvoju vaskularne dijagnostike i terapije koja je nastupila devedesetih godina, omogućila je dolihoarteriopatijama da se ponovo nađu u centru pažnje, posebno vaskularnih hirurga. Počelo se sa primenom različitih hirurških tehnika, kao što je npr. premoščavanje anguliranog segmenta arterije autovenskim ili sintetskim graftom (by pass), koje su zbog komplikovanosti i loših rezultata našpuštene. Resekcija elongiranog segmenta sa reanastomoziranjem dala je odlične rezultate i postala metoda izbora ³⁻⁵.

Prvu hiruršku rekonstrukciju *kinkinga* ACI u našoj zemlji izveo je *Radak* 1988. godine.

Epidemiologija

Tortuozitet, *coiling* i *kinking* javljaju se u 10-25% populacije ¹. *Metz i sar.* su, na osnovu 1000 urađenih angiograma, izneli podatak da incidenca *kinking*-a ACI u opštoj populaciji iznosi 16% ^{8,13,16,21}. Ove anatomske varijacije predstavljaju čest nalaz tokom skrininga cerebrovaskularnih bolesti. Procenat među simptomatskim pacijentima se povećava i incidenca raste na 24% ¹². U studijama u kojima je angiografija bila dijagnostički metod, karotidne abnormalnosti su zastupljene od 10% do 43% ^{6,16,20,26}. Na osnovu istraživanja u kojima je dijagnoza postavljena ultrazvučnim pregledom, prevalenca karotidnih abnormalnosti se kretala od 26% do 58% ^{7,11,18,27,28}. *Macchi* je ultrazvučnim pregledom našao *kinking* kod 26,5% zdravih volontera, bez udružene ateroskleroze i pripadajućih faktora rizika, sa statistički značajnom razlikom u učestalosti javljanja kod žena, u odnosu na muškarce ^{12,29}.

Najčešće životno doba u kom promene bivaju dijagnostikovane je između 50-e i 60-e godine ^{14,30}. Žene starije od 60 godina znatno su češće pogođene karotidnim abnormalnostima, dok je kod pacijenata mlađih od 60 godina prevalenca ista kod oba pola ^{27,28}. Postoje autori koji tvrde, da je frekvencija abnormalnosti kod žena veća, bez obzira na godine i objašnjavaju to hipotezom da se ozbiljnije degenerativne promene i redukcija elastičnosti zidova krvnih sudova upravo dešavaju sa starenjem kod ženskog pola, a u skladu sa hormonskim promenama ^{7,27,28}. Zanimljivo je zapažanje da je kod muškaraca češći oštar *kinking*, kao i udruženost sa hemodinamski značajnim plakovima i hipertenzijom ^{14,18}. Veća prevalenca karotidnih

abnormalnosti kod muškaraca prikazana je u radovima *Weibel-a*, *Metz-a*, *Pancera-e* i *Koskas-a*^{6,20,26,27}.

Etiologija

Etiologija karotidnih abnormalnosti može biti kongenitalna i stečena^{3-5,7,15,17,20,26,31}.

U toku embrionalnog razvoja, proksimalni deo unutrašnje karotidne arterije razvija se od trećeg aortnog luka, a distalni od kranijalnih delova dorzalne aorte. Na mestu spoja ove dve komponente formira se naglašena krivina, koju preseca deveti nerv. Ovo stanje se uočava kod embriona od pet gestacijskih nedelja. Srce se tada nalazi u predelu vrata. Oko trećeg meseca, srce se spušta u grudni koš i medijastinum (*descensus cordis*), krvni sudovi se ispravljaju i krivina se eliminiše. Ukoliko neki faktor blokira spuštanje srca u grudni koš, može sprečiti potpuno ispravljanje embrionalno izuvijanih karotidnih arterija, što će se u adultnom dobu manifestovati kao različite vrste tortuoziteta, često bilateralno^{3-7,12,13,15-17,21,29}.

Uprkos elongacijama koje se viđaju kod dece i kongenitalne su, *coiling* i *kinking* odraslih uglavnom su udruženi sa starenjem, aterosklerozom, hipertenzijom, kao i fibromuskularnom displazijom^{1,7,12,16-18,20,26,31}. Ateroskleroza uzrokuje gubitak elastičnosti, ali i elongaciju krvnog suda koji je fiksiran na oba svoja kraja. Vaskularna degeneracija, koja se u manjem ili većem stepenu javlja sa starenjem, značajan je patogenetski faktor. Hipertenzija kao pridruženo stanje, dovodi do istezanja aortnog luka i dislokacije ishodišta epiaortalnih krvnih sudova, ubrzava sam proces i utiče na dalju elongaciju. Pojedini autori smatraju da su *kinking* i fibromuskularna displazija (FMD) dva različita aspekta iste bolesti^{2,32}. Prevalenca FMD karotidnih arterija je oko 0,7%^{14,33,34}. Iako retka u poređenju sa visokom frekvencom *kinking*-a ACI, FMD se pominje kao mogući etiološki faktor^{28,29}.

Patofiziologija

Svaka nepravilnost arterija, primarno u pogledu dužine, a sekundarno i oblika, ima svoje patofiziološke posledice. Poznato je da je priroda ovog kliničkog sindroma ishemijska, samo je pitanje na koji način *kinking* i *coiling* dovode do vaskularne insuficijencije²². Mnogi autori smatraju da su tortuozitet i *coiling* hemodinamski benigne lezije, za razliku od *kinking*-a, koji uzrokuje značajan poremećaj protoka u segmentu krvnog suda distalno od lezije^{14,17,24,35}. Hemisferni, vertebrobazilarni i okularni ishemični simptomi, ukoliko se jave, mogu nastati hemodinamskim i

tromboembolijskim mehanizmom²⁶. Hemodinamski mehanizam podrazumeva epizodno ili trajno sniženje perfuzije kroz anomalni segment arterije, usled redukcije dijametra krvnog suda^{4,5,20,26,31}. Tromboembolizacija je drugi mogući mehanizam, s obzirom na činjenicu da su hemodinamski uslovi u konkavitetu petlje takvi da dovode do ogoljavanja endotela i formiranja emboligenog materijala^{20,26,31}. Uprkos tome, nije nađena statistički značajna korelacija između *kinking*-a i velikih neuroloških događaja. *Kinking* bez ateromatoznog plaka, iako dosta čest, retko može biti razmatran kao direktan uzrok ishemijskog moždanog udara^{18,27}.

Derrick i sar. su na životinjskim modelima, hirurški kreirajući malformaciju, pokazali da u predelu *kinking*-a dolazi do pada pritiska jedan i po put i redukcije protoka skoro tri puta²⁴. Protok može biti redukovan za više od 40% ako je ugao *kinking*-a 60 stepeni, ili za više od 60% ako je ugao 30 stepeni⁸. Prema tome, što manji ugao, veća redukcija protoka i veći hemodinamski značaj *kinking*-a.

Hemodinamski značajnim se smatra *kinking* čiji je ugao oštriji od 60 stepeni. Kod *coiling*-a, hemodinamski efekat se javlja ako je petlja toliko izražena da dovodi do "fenomena baštenskog šmrka" i skoro kompletne okluzije inače prohodne arterije³⁻⁵.

Kliničke manifestacije

Od svih pacijenata sa elongacijama ACI, 36-54% doživi simptome cerebrovaskularne insuficijencije²⁴. Pacijenti sa *kinking*-om ACI koji su pretrpeli šlog, češće su imali pridružene, hemodinamski značajne, aterosklerotske plakove (stenoza>50%), nego oni kod kojih se *kinking* manifestovao tranzitornim ishemičnim atacima¹⁴. Izolovan *kinking*, bez aterosklerotske lezije na karotidnoj bifurkaciji, ostaje uglavnom asimptomatski i incidentalan nalaz, i kao takav je vrlo retko odgovoran za nastanak šloga^{14,17,20}. Nije dokazana statistički značajna povezanost *kinking*-a sa velikim neurološkim događajima, ali zato postoji visoko statistički značajna korelacija između *kinking*-a i pojave tranzitornih vaskularnih poremećaja¹⁴. S tim u vezi, najčešći oblik manifestacije cerebrovaskularne ishemijske usled *kinking*-a/*coiling*-a ACI je, upravo, tranzitorni ishemični atak (TIA)^{3-5,14,17,20,26}.

Uzrok nastanka TIA-a može biti hipoperfuzija, embolizacija ili tromboza. Neurološka simptomatologija koja se javlja kod TIA je veoma raznovrsna i zavisi od lokalizacije prolazne ishemijske (prednji - karotidni ili zadnji - vertebrobazilarni sliv).

Simptomi su najčešće „negativni“, tj. manifestuju se smanjenjem ili gubitkom funkcije.

Rekurentne epizode cerebrovaskularne insuficijencije su mnogo tipičnija manifestacija *kinking*-a nego pojedinačne. Sa ponavljanjem ataka, simptomi mogu varirati ili su i oni identični iz epizode u epizodu. Monokularni gubitak vida (*amaurosis fugax*) traje svega nekoliko minuta, i može se javiti potpuno samostalno, bez drugih simptoma, kao jedna epizoda. Pojedini pacijenti imaju samo epizode afazije. Ukoliko tokom napada ne dolazi do motorne disfunkcije, gubitka vida ili afazije, treba razmisliti da li je TIA u pitanju. Većina pacijenata razvije motorni deficit. Senzorni simptomi koji zahvataju samo deo određenog ekstremiteta ili jednu stranu lica, a nisu praćeni drugim simptomima tokom ataka, ne mogu se tumačiti sa sigurnošću kao TIA³⁶.

Patognomonično je da se ishemični simptomi mogu indukovati fleksijom, ekstenzijom ili rotacijom glave i vrata, posebno ako su pokreti nagli^{4,5,17,24,37,38}. Rotaciona ishemija će lakše da se javi ako je rotacija glave usmerena ka strani *kinking*-a²¹. Redukcija protoka u tom momentu iznosi od 30 do 80% i direktno je povezana sa veličinom angulacije krvnog suda^{2,16}. Prisustvo ateroskleroze, kompresije vertebralne arterije, anomalija Willis-ovog šestougla, varijacije krvnog pritiska kao kod hipovolemije ili primene antihipertenzivnih lekova, mogu redukciju protoka učiniti još kritičnijom i dovesti do tranzitnog ishemičnog ataka^{4,5,21,39}.

Kod dece je *coiling* često razlog smanjenog kognitivnog kapaciteta, usporenog psihomotornog razvoja i epileptičkih napada^{4,5}.

Zaključak

Tek u dvadesetom veku prepoznati su i definisani uloga i značaj *kinking*-a/*coiling*-a ACI za cerebralnu hemodinamiku i neurološki status. Što se *coiling*-a tiče, prevladuje stav da se radi o asimptomatskoj anomaliji, dok je za *kinking* dokazana statistički značajna povezanost sa tranzitnim ishemičnim atacima. Kompletnom ishemičnom inzultu prethodi jedna ili više TIA u 10-20% slučajeva, a gotovo polovina bolesnika moždani udar doživi unutar 48 sati od pretrpljenog TIA-a⁴⁰. Ekstenzija glave sa ipsi/kontralateralnom rotacijom akcentuje značaj karotidnih malformacija i olakšava pojavu simptoma. Na osnovu kliničke slike i dostupnih, savremenih dijagnostičkih procedura, neophodno je utvrditi njihov

hemodinamski značaj i sprovesti adekvatan terapijski tretman.

Literatura

1. Mumoli N, Cei M. Asymptomatic carotid kinking. *Circ J*. 2008; 72: 682-683.
2. Grego F, Lepidi S, Cognolato D, Frigatti P, Morelli I, Deriu GP. Rationale of the surgical treatment of carotid kinking. *J Cardiovasc Surg*. 2003; 44:79-85.
3. Zapažanje o poremećajima spavanja u bolesnika sa *kinking*-om karotidne arterije / Đ.Radak, V.Kostić // Glas / Srpska akademija nauka i umetnosti, Odeljenje medicinskih nauka. ISSN 0371-4039. 412: 50 (2009) 125-137.
4. Radak Đ, Ilijevski N, Medić S, Radunović S. Dolihoarteriopatije – *kinking* i *coiling* karotidnih arterija. *Vojnosanit Pregl*. 2002; 59(1): 67-73.
5. Radak Đ. Hirurška korekcija *kinking*-a i *coiling*-a. U: Maksimović Ž (urednik). *Osnove vaskularne hirurgije i angiologije*. Beograd: Medicinski fakultet; 2004. str. 234-241.
6. Weibel J, Fields WS. Tortuosity, coiling and kinking of internal carotid artery. I. Etiology and radiographic anatomy. *Neurology*. 1965; 15: 7-18.
7. Del Corso L, Moruzzo D, Conte B, Agelli M, Romanelli AM, Pastine F, et al. Tortuosity, kinking, and coiling of the carotid artery: Expression of atherosclerosis or aging? *Angiology*. 1998; 49: 361-371.
8. Ballotta E, Thiene G, Baracchini C, Ermani M, Militello C, Da Giau G, et al. Surgical vs medical treatment for isolated internal carotid artery elongation with coiling or kinking in symptomatic patients: A prospective randomized clinical study. *J Vasc Surg*. 2005; 42: 838-846.
9. Ballotta E, Abbruzzese E, Thiene G, Bottio T, Dagiau G, Angelini A, Saladini M. The elongation of the internal carotid artery: early and long-term results of patients having surgery compared with unoperated controls. *Ann Vasc Surg*. 1997; 11:120-128.
10. Borioni R, Garofalo M, Actis Dato GM, Pierri MD, Caprara E, Albano P, Chiariello L. Kinking of internal carotid artery: is it a risk factor for cerebro-vascular damage in patients undergoing cardiac surgery? *J Cardiovasc Surg*. 1994; 35(4):325-6.

11. Pellegrino L, Prencipe G, Vairo F. Dolichoarteriopathies (kinking, coiling, tortuosity) of the carotid arteries: study by color Doppler ultrasonography. *Minerva Cardioangiol.* 1998; 46: 69-76.
12. Aleksic M, Schütz G, Gerth S, Mulch J. Surgical approach to kinking and coiling of the internal carotid artery. *J Cardiovasc Surg.* 2004; 45: 43-8.
13. Desai B, Toole JF. Kinks, coils and carotids: a review. *Stroke.* 1975; 6:649-53.
14. Pancera P, Ribul M, De Marchi S, Arosio E, Lechi A. Prevalence of morphological alterations in cervical vessels: A colour duplex ultrasonographic study in a series of 3300 subjects. *Int Angiol.* 1998;17:22-7.
15. Paulsen F, Tillmann B, Christofides C, Richter W, Koebke J. Curving and looping of the internal carotid artery in relation to the pharynx: Frequency, embryology and clinical implications. *J Anat.* 2000;197:373-81.
16. Metz H, Murray-Leslie RM, Bannister RG, Bull JD, Marshall J. Kinking of the internal carotid artery in relation to cerebrovascular disease. *Lancet.* 1961; 1: 424 -426.
17. Van Damme H, Gillain D, Desiron Q, Detry O, Albert A, Limet R. Kinking of the internal carotid artery: clinical significance and surgical management. *Acta Chir Belg.* 1996; 96(1): 15-22.
18. Pancera P, Ribul M, Presciuttini B, Lechi A. Prevalence of carotid artery kinking in 590 consecutive subjects evaluated by Echocolor Doppler: Is there a correlation with arterial hypertension? *J Intern Med.* 2000; 248: 7-12.
19. Connolly, J. H. Large pulsating vessels in the right portion of the posterior pharyngeal wall, partly concealed behind the right tonsil in a boy of five. *Proc R Soc Med.* 1913; 7: 25-26.
20. Koskas F, Bahnini A, Walden R, Kieffer E. Stenotic coiling and kinking of the internal carotid artery. *Ann Vasc Surg.* 1993; 7(6): 530-540.
21. Vannix RS, Joergenson EJ, Carter R. Kinking of the internal carotid artery: clinical significance and surgical management. *Am J Surg.* 1977; 134:82-9.
22. Sarkari NB, Holmes JM, Bickerstaff ER. Neurological manifestations associated with internal carotid loops and kinks in children. *J Neurol Neurosurg Psychiatr.* 1970; 33:194-200.
23. Fisher AGT. Sigmoid tortuosity of the internal carotid artery and its relation to tonsil and pharynx. *Lancet.* 1915; 2: 128-9.
24. Leipzig TJ, Dohrmann GJ. The tortuous or kinked carotid artery: pathogenesis and clinical considerations. A historical review. *Surg Neurol.* 1986;25:478-86.
25. Riser MM, Geraud J, Ducoudray, Ribaut L. Dolicho-internal carotid with vertiginous syndrome. *Neurology (Paris).* 1951; 85:145-7.
26. Koskas F, Kieffer E, Kieffer A, Bahnini A. Loops and folds of the carotid and vertebral arteries: indications for surgery. *J Mal Vasc.* 1994; 19 Suppl A: 51-54.
27. Togay-Isikay C, Kim J, Betterman K, Andrews C, Meads D, Tesh P, et al. Carotid artery tortuosity, kinking, coiling: stroke risk factor, marker, or curiosity? *Acta Neurol Belg.* 2005; 105(2): 68-77.
28. Sacco S, Totaro R, Baldassarre M, Carolei A. Morphological variations of the internal carotid artery: Prevalence, characteristics and association with cerebrovascular disease. *Int J Angiol.* 2007; 16(2): 59-61.
29. Macchi C, Gulisano M, Giannelli F, Catini C, Pratesi C, Pacini P. Kinking of the human internal carotid artery: A statistical study in 100 healthy subjects by echocolor Doppler. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 1997;38:629-37.
30. Vollmar J, Nadjafi S, Stalker GC. Surgical treatment of internal carotid arteries. *Br J surg.* 1976; 63:847-50.
31. Illuminati G, Calio FG, Papaspyropoulos V, Montesano G, D'Urso A. Revascularization of the internal carotid artery for isolated, stenotic and symptomatic kinking. *Arch Surg.* 2003; 138(2):192-7.
32. Danza R, Baldizan J, Navarro T. Surgery of carotid kinking and fibromuscular dysplasia. *J Cardiovasc Surg.* 1983; 24: 628-33.
33. Abdul-Rahman AM, Abu-salih HS, Brun et al. Fibromuscular dysplasia of the cervico-cephalic arteries. *Surg Neurol.* 1978; 9:217-22.
34. Collins GJ Jr, Rich NM, Claget GP, Spebar MJ, Salander JM. Fibromuscular dysplasia of the internal carotid arteries. *Ann Surg.* 1981; 194:89-96.

35. Andziak P. Studies of internal carotid artery anomalies. *Pol Tyg Lek.* 1994; 49: 384-7.
36. Whisnant JP, Basford IR, Bernstein EF, Cooper E, Dyken ML, Donald Easton J, et al. Special report from the National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Classification of cerebrovascular diseases III. *Stroke.* 1990; 21: 637-676.
37. Quattlebaum JK Jr, Wade JS, Whiddon CM. Stroke associated with elongation and kinking of the carotid artery: long term follow-up. *Ann Surg.* 1973; 177:572-9.
38. Poulías GE, Skoutas B, Doundoulakis N et al. Kinking and coiling of the internal carotid artery with and without associated stenosis. Surgical considerations and long-term follow-up. *Panminerva Med.* 1996; 38(1):22-7.
39. Roberts B, Hardesty WH, Holling HE, et al. Studies on extracranial cerebral blood flow. *Surgery.* 1964; 56:826-33.
40. Kostić V. Cerebrovaskularne bolesti. U: Kostić V (urednik). *Neurologija za studente medicine.* Beograd: Medicinski fakultet; 2007. str. 241-268.

¹Institut za kardiovaskularne bolesti "Dedinje", Klinika za anesteziju i intenzivno lečenje, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

²Institut za kardiovaskularne bolesti "Dedinje", Klinika za vaskularnu hirurgiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

PATOLOŠKE ELONGACIJE KAROTIDNIH ARTERIJA: DIJAGNOSTIKA I HIRURŠKO LEČENJE

PATHOLOGICAL ELONGATIONS OF THE CAROTID ARTERIES: DIAGNOSTICS AND SURGICAL TREATMENT

Sanja Stanić¹, Vuk Sotirović², Slobodan Tanasković², Nikola Aleksić², Đorđe Radak²

Sažetak

Dolichoarteriopatije (patološke elongacije) krvnih sudova vrata relativno su česte anomalije, ali njihova tačna incidenca u opštoj populaciji još uvek je nepoznata. Pojava simptoma intermitentne cerebrovaskularne insuficijencije, koji se mogu isprovocirati tipičnim rotatornim pokretima glave i vrata, treba da pobudi sumnju na prisustvo neke od dolichoarteriopatija unutrašnje karotidne arterije. Na osnovu kliničke slike i savremenih dijagnostičkih procedura, može se odrediti hemodinamska značajnost kinking-a/coiling-a. Maksimalna sistolna brzina u nivou kinking-a, merena color duplex ultrasonografijom, predstavlja bitan parametar za postavljanje dijagnoze, dok su klasična arteriografija, ili kompjuterizovana tomografija, rezervisane samo za simptomatske slučajeve kinking-a i coiling-a. Iako najviše morfoloških informacija pruža intraarterijska digitalna subtraktivna arteriografija, indikacione odluke sve češće bivaju donete na osnovu neinvazivnog ispitivanja. Hirurška rekonstrukcija kod pacijenata sa hemodinamski značajnim promenama je sigurna i efektivna metoda oslobađanja simptoma cerebralne ishemijske, poboljšanja cerebralne perfuzije i prevencije ishemijskog moždanog udara.

Cljučne reči: unutrašnja karotidna arterija, kinking/coiling, hemodinamska značajnost, hirurška rekonstrukcija.

Summary

Pathological elongations of cervical blood vessels are relatively common, but their exact incidence in general population is still unknown. The history of intermittent symptoms of cerebrovascular insufficiency, which may be provoked by rotatory movements of the

head and the neck, should raise suspicion of the presence of carotid artery redundancy. On the basis of the clinical features and modern diagnostic procedures, we can determine the hemodynamic significance of kinking and coiling. Maximal systolic velocity, measured by color duplex ultrasonography, is an important parameter for reaching the diagnosis. Arteriography, CT or classic, is reserved only for symptomatic cases of kinking and coiling. Although the largest amount of morphological information is provided by intra-arterial digital subtraction arteriography, the number of surgical decisions made on the basis of non-invasive tests has increased. Surgical reconstruction in patients with hemodynamically significant kinking/coiling ICA is a safe and effective method of ischemic stroke prevention, which relieves the symptoms of cerebral ischemia and improves cerebral perfusion.

Key words: internal carotid artery, kinking/coiling, hemodynamic significance, surgical reconstruction.

Uvod

Kinking (kolenasto presavinuće) i coiling (petlja) unutrašnje karotidne arterije (ACI) predstavljaju poseban patomorfološki i patofiziološki entitet u okviru cerebrovaskularne patologije. Za razliku od elongacija koje se viđaju kod dece i kongenitalne su, coiling i kinking odraslih uglavnom su udruženi sa starenjem, aterosklerozom, hipertenzijom, kao i fibromuskularnom displazijom¹⁻⁶.

Postavlja se pitanje da li kinking, ukoliko je hemodinamski značajan, može prouzrokovati cerebrovaskularne ishemijske događaje i biti smatran ekvivalentom kritične stenoze. Hemodinamska merenja pokazuju značajnu redukciju ili čak potpuni, tranzitorni

prekid protoka u određenim položajima glave⁷. Ekstenzija glave sa ipsi/kontralateralnom rotacijom akcentuje značaj *kinking*-a i dovodi do pojave simptoma⁸. Međutim, izolovan *kinking*, bez aterosklerotske lezije na karotidnoj bifurkaciji, ostaje uglavnom asimptomatski i incidentalan nalaz^{9,10}. Nije dokazana značajna povezanost *kinking*-a sa velikim neurološkim događajima, ali zato postoji visoko značajna korelacija između *kinking*-a i pojave tranzitornih ishemičnih ataka (TIA)⁹.

Uzrok nastanka TIA-a može biti hipoperfuzija, embolizacija ili tromboza. Neurološka simptomatologija koja se javlja kod TIA je veoma raznovrsna i zavisi od lokalizacije prolazne ishemije (prednji - karotidni ili zadnji - vertebrobazilarni sliv). Simptomi su najčešće „negativni“, tj. manifestuju se smanjenjem ili gubitkom funkcije¹¹.

Dijagnoza i diferencijalna dijagnoza

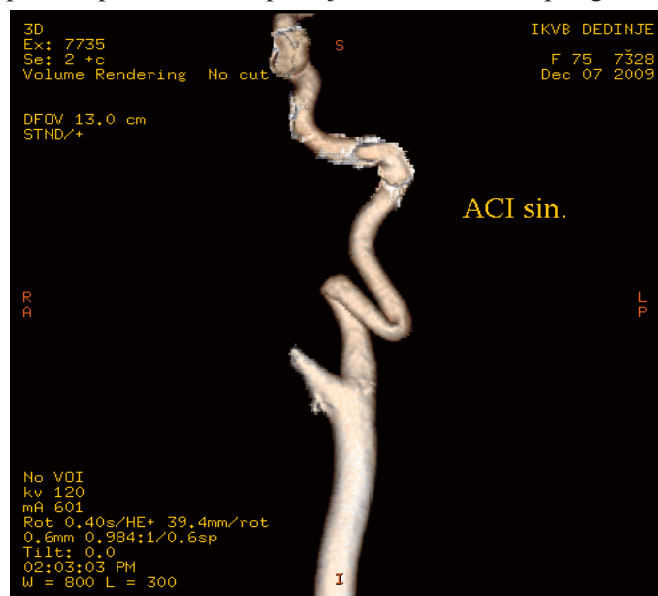
Anamneza sa simptomima intermitentne cerebrovaskularne insuficijencije, koji se mogu isprovocirati rotatornim pokretima glave i vrata, treba da pobudi sumnju na prisustvo neke od dolihoarteriopatija ACI. Klinički pregled ne pruža mnogo informacija, jer je nalaz uglavnom uredan. Najčešće nad karotidnom arterijom nema trila niti šuma. Tril i/ili šum nad karotidnom arterijom može da se javi u forsiranim položajima glave i vrata. Ponekad se kod *coiling*-a može inspekcijom uočiti ili palpirati pulsirajući tumefakt (klupko izuvijane arterije), koji asocira na aneurizmu. Kod simptomatskih oblika, nekada se neurološkim pregledom može registrovati odgovarajući neurološki ispad, kao znak ishemije u oblasti vaskularizacije elongirane arterije¹²⁻¹⁴.

Patološka izduženost ACI ima karakterističan ultrazvučni nalaz. *Macchi i sar.* naglašavaju važnost maksimalne sistolne brzine (MSV), merene color duplex ultrasonografijom (CDS) na nivou *kinking*-a, kao bitnog parametra za postavljanje dijagnoze¹⁵. Hemodinamski značajnim se smatra *kinking* koji uzrokuje stenozu veću od 60% lumena, sa PSV>150 cm/s i spektralnim širenjenjem^{7,16}. *Coiling* može da bude različite hemodinamske značajnosti, u zavisnosti od ugla koji konvoluta zauzima u odnosu na uzdužnu osovinu arterije¹⁴.

Arteriografija, klasična ili kompjuterizovana tomografija (CT), rezervisana je samo za simptomatske slučajeve *kinking*-a i *coiling*-a. Arteriografski značajnim se smatra *kinking* koji formira angulaciju oštriju od 60 stepeni, ili je njime uzrokovana stenozna

veća od 70% lumena. *Coiling* je hemodinamski značajan ukoliko je arterija toliko izdužena i sklupčana da formira petlju od 360 stepeni¹²⁻¹⁴. Arteriografija sa glavom u neutralnom položaju može prevideti *kinking* ACI, te su dodatna snimanja uz rotaciju glave neophodna za procenu hemodinamskog statusa *kinking*-a. *Kinking* vizualizovan u neutralnom položaju uvek bude značajniji tokom rotacije glave^{8,10}.

Najviše morfoloških informacija pruža intraarterijska digitalna subtraktivna arteriografija (DSA). Ipak, u vremenu minimalno invazivnih hirurških procedura i dijagnostika treba da bude manje invazivna. Indikacione odluke sve češće bivaju donete na osnovu neinvazivnog ispitivanja, kao što su CDS, MSCT (*Multislice Computed Tomography*) i NMR (Nuklearna magnetna rezonanca) angiografija. MSCT tehnikom se prikazuju morfološke promene karotidnih arterija u vidu tortuoziteta, *kinking*-a i *coiling*-a, njihov odnos sa ostalim strukturama vrata, stepen stenozne i priroda plaka ukoliko postoji, kao i Willis-ov poligon.



Slika 1. MSCT: Kinking leve unutrašnje karotidne arterije

Picture 1. MSCT: Left internal carotid artery kinking

NMR supraortnih grana je moderna i neinvazivna metoda, koja kod bolesnika sa bubrežnom insuficijencijom eliminiše potrebu za potencijalno nefrotoksičnim kontrastnim sredstvom¹⁷. CT i NMR mozga neophodni su da bi se identifikovale eventualne ishemijske lezije, koje se mogu videti i kod asimptomatskih pacijenata (klinički „nemi“ infarkti). Još je važnije diferencijalno-dijagnostički isključiti druga oboljenja koja daju slične simptome¹²⁻¹⁴.

Kada se radi o nefokalnoj simptomatologiji, svi drugi uzroci koji daju istu/sličnu kliničku sliku, treba da budu isključeni: aritmije i druga srčana oboljenja, ateroskleroza cerebralnih krvnih sudova, hematološki poremećaji, kolagenopatije i metaboličke bolesti, cerebralni tumori, labirintitis i ostala ORL oboljenja, epileptički napadi, hipertenzija i ortostatska hipotenzija, dijabetes, intoksikacija, oftalmološka oboljenja. Cervikalna spondiloza, koja često koegzistira, takođe mora biti isključena kao uzrok simptoma^{5,7-9,16,18-20}.

Indikacije za hirurško lečenje

Korekcija *kinking*-a ACI, u većini serija pacijenata, čini 3-7% svih intervencija u karotidnoj hirurgiji^{5,10}. Hirurško lečenje najčešće nije indikovano kod asimptomatskih pacijenata^{13,14}. S druge strane, bitno je da indikacije za hiruršku rekonstrukciju elongacija ACI budu uniformne, kako se ne bi dešavalo da pojedini pacijenti budu bespotrebno izloženi operativnim rizicima, a drugi, pak, zbog stavova koji podržavaju benignu prirodu elongacija, prepušteni riziku od ishemijskog moždanog udara, koji je bilo moguće otkloniti⁸. Hirurško lečenje je indikovano kod:

1. pacijenata sa fokalnom (hemisfernom) simptomatologijom
2. asimptomatskih pacijenata sa *kinking*-om čiji je ugao $< 30^\circ$ i kontralateralnom karotidnom okluzijom
3. pacijenata sa nehemisfernim simptomima i *kinking*-om čiji je ugao $< 30^\circ$, a
 - doplerom se registruje značajno povećanje brzine protoka u distalnoj ACI i /ili
 - CT odn. NMR mozga pokazuju prisustvo ishemijskih lezija u ipsilateralnoj hemisferi, i/ili
 - postoji, TCD-om verifikovana, inverzija protoka u a.cerebri anterior ili redukcija protoka u a.cerebri media-i nakon pozicionih manevara (rotacija, fleksija ili ekstenzija glave i vrata)¹⁸.

Diskutabilne su indikacije kod pacijenata sa globalnom (nehemisfernom) simptomatologijom, pa je neophodno dodatno diferencijalno-dijagnostičko ispitivanje^{2,5,13,14,21,22}. Da bi hirurška indikacija bila korektno postavljena, potrebno je da postoji više od jednog nehemisfernog simptoma koji, iako prolazno, ometaju svakodnevne aktivnosti i rezistentni su na adekvatnu, medikamentnu terapiju u trajanju od najmanje tri meseca, ili da je ipsilateralna vertebralna

arterija hipoplastična, a kompresijom dominantne ne dolazi do pojave simptoma^{7,16}.

U slučaju elongacije ACI i okluzije kontralateralne strane, može se pretpostaviti da je okluzija i nastala na terenu morfološke i prostorne konfiguracije slične aktuelnoj elongaciji. Stoga se hirurško lečenje preporučuje svim pacijentima sa izolovanim *kinking*-om ACI na jednoj i opstrukcijom ACI na drugoj strani, bez obzira da li su simptomatski ili ne⁷.

Pridružena ateroskleroza potencira neophodnost hirurške korekcije. Kada je *kinking* udružen sa značajnom aterosklerozom karotidne bifurkacije kod simptomatskih pacijenata, generalno je prihvaćena činjenica da hirurški treba tretirati oba stanja simultano, kako bi se izvela potpuna revaskularizacija i dobili zadovoljavajući rezultati, ne ostavljajući ni jednu od potencijalno škodljivih lezija in situ^{5,16}.

Kod pacijenata sa bilateralnom elongacijom, stav je sledeći: hirurški rekonstruisati stranu koja dovodi do simptoma, ukoliko su simptomi hemisferni ili hemodinamski značajniju stranu, ukoliko se radi o nehemisfernim simptomima. Ako je pacijent posle prve operacije mesec dana bez tegoba, operacija druge arterije se odlaže uz dalje neurološko praćenje. U međuvremenu treba ordinirati antitrombotične lekove, lečiti hipertenziju i otklanjati ostale faktore rizika. Suprotna strana se koriguje samo ako simptomi ne menjavaju^{13,14,19}.

Resekcija elongiranog segmenta arterije sa reanastomoziranjem dala je odlične rezultate i postala metoda izbora^{5,7,12-14,23,24}.

Rezultati hirurškog lečenja

Korekcija *kinking*-a i *coiling*-a izvodi se sa perioperativnim mortalitetom ispod 1% i neznatnim postoperativnim morbiditetom. Rezultati studija, koji se pominju u literaturi, prilično su homogeni i ohrabrujući. Neurološka simptomatologija moždane ishemijske povlači se kod oko 85% operisanih pacijenata. U preostalih 15% pacijenata perzistira ranija simptomatologija^{13,14}. Poljski naučnici referišu da je, u njihovoj studiji, korist od operacije imalo 82,6% hirurški tretiranih pacijenata, sa isto tako ohrabrujućim kasnim rezultatima kod 82,9% pacijenata koji su se javljali na kontrolne preglede²⁵. Najbolji rezultati postižu se kod bolesnika sa epizodama fokalnih TIA i pozitivnim testom izazivanja simptoma forsiranim pokretima glave i vrata^{5,7,13-16,19}. *Quattlebaum i sar.*¹²

su došli do zaključka da 82% pacijenata koji su imali tranzitorne ishemične atake, nakon operacije nisu više imali tegobe, što nije slučaj sa pacijentima koji su preoperativno naveli simptome više difuzne prirode. U studiji u kojoj je indikacija za hirurgiju bila izolovani, stenotični, simptomatski *kinking*, 91% pacijenata postoperativno nije imalo tegobe, uključujući sve pacijente sa nehemisfernom simptomatologijom¹⁶. *Aleksić*³ referiše da su 70% njegove studijske populacije činili simptomatski pacijenti (od kojih je 70% doživelo fokalni neurološki deficit) i svi su nakon hirurškog lečenja bili oslobođeni tegoba. *Grego i sar.*¹⁸ su na osnovu svog iskustva, objavili da svi pacijenti sa hemisfernom simptomatologijom nakon operacije budu u kompletnoj remisiji, kao i 50% pacijenata sa kliničkom slikom globalne cerebralne ishemije. Uzevši u obzir samo pacijente koji i postoperativno imaju nehemisferne simptome, ipak je duplo više onih kod kojih simptomi perzistiraju u znatno blažem obliku, u odnosu na pacijente koji uopšte nisu osetili olakšanje⁵.

Zaključak

Potpuno i trajno odsustvo simptoma kod operisanih pacijenata, prisustvo istih i progresija stanja do okluzije kod medikamentno tretiranih, potvrđuju činjenicu da morfološke abnormalnosti ACI mogu biti uzrok simptoma cerebralne ishemije, sa visokim stepenom rizika za razvoj šloga. Prema tome, *kinking* i *coiling* ACI predstavljaju ne samo anatomski kuriozitet, već potencijalno onesposobljavajuće, čak i fatalno stanje, a hirurška korekcija simptomatske, izolovane karotidne elongacije bolji je način prevencije šloga, nego konzervativni tretman.

Literatura

- Mumoli N, Cei M. Asymptomatic carotid kinking. *Circ J.* 2008; 72: 682-68.
- Del Corso L, Moruzzo D, Conte B, Agelli M, Romanelli AM, Pastine F, et al. Tortuosity, kinking, and coiling of the carotid artery: Expression of atherosclerosis or aging? *Angiology.* 1998; 49: 361-371.
- Aleksić M, Schütz G, Gerth S, Mulch J. Surgical approach to kinking and coiling of the internal carotid artery. *J Cardiovasc Surg.* 2004; 45: 43-8.
- Metz H, Murray-Leslie RM, Bannister RG, Bull JD, Marshall J. Kinking of the internal carotid artery in relation to cerebrovascular disease. *Lancet.* 1961; 1: 424 -426.
- Van Damme H, Gillain D, Desiron Q, Detry O, Albert A, Limet R. Kinking of the internal carotid artery: clinical significance and surgical management. *Acta Chir Belg.* 1996; 96(1): 15-22.
- Pancera P, Ribul M, Presciuttini B, Lechi A. Prevalence of carotid artery kinking in 590 consecutive subjects evaluated by Echocolor Doppler: Is there a correlation with arterial hypertension? *J Intern Med.* 2000; 248: 7-12.
- Ballotta E, Thiene G, Baracchini C, Ermani M, Militello C, Da Giau G, et al. Surgical vs medical treatment for isolated internal carotid artery elongation with coiling or kinking in symptomatic patients: A prospective randomized clinical study. *J Vasc Surg.* 2005; 42: 838-846.
- Leipzig TJ, Dohrmann GJ. The tortuous or kinked carotid artery: pathogenesis and clinical considerations. A historical review. *Surg Neurol.* 1986; 25: 478-86.
- Pancera P, Ribul M, De Marchi S, Arosio E, Lechi A. Prevalence of morphological alterations in cervical vessels: A colour duplex ultrasonographic study in a series of 3300 subjects. *Int Angiol.* 1998; 17: 22-7.
- Koskas F, Bahnini A, Walden R, Kieffer E. Stenotic coiling and kinking of the internal carotid artery. *Ann Vasc Surg.* 1993; 7(6): 530-540.
- Whisnant JP, Basford IR, Bernstein EF, Cooper E, Dyken ML, Donald Easton J, et al. Special report from the National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Classification of cerebrovascular diseases III. *Stroke.* 1990; 21: 637-676.
- Zapažanje o poremećajima spavanja u bolesnika sa kinking-om karotidne arterije / Đ.Radak, V.Kostić // Glas / Srpska akademija nauka i umetnosti, Odeljenje medicinskih nauka. ISSN 0371-4039. 412: 50 (2009) 125-137.
- Radak Đ, Ilijevski N, Medić S, Radunović S. Dolihoarteriopatije – kinking i coiling karotidnih arterija. *Vojnosanit Pregl.* 2002; 59(1): 67-73.
- Radak Đ. Hirurška korekcija kinking-a i coiling-a. U: Maksimović Ž (urednik). *Osnove vaskularne hirurgije i angiologije.* Beograd: Medicinski fakultet; 2004. str. 234-241.
- Macchi C, Gulisano M, Giannelli F, Catini C, Pratesi C, Pacini P. Kinking of the human

- internal carotid artery: A statistical study in 100 healthy subjects by echocolor Doppler. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 1997;38:629-37.
16. Illuminati G, Calio FG, Papaspyropoulos V, Montesano G, D'Urso A. Revascularization of the internal carotid artery for isolated, stenotic and symptomatic kinking. *Arch Surg*. 2003; 138(2):192-7.
 17. Radak Đ. Arteriografija supraaortalnih grana. U: Radak Đ. Karotidna hirurgija. Beograd: Medicinski fakultet; 2012. str. 63-79.
 18. Grego F, Lepidi S, Cognolato D, Frigatti P, Morelli I, Deriu GP. Rationale of the surgical treatment of carotid kinking. *J Cardiovasc Surg*. 2003; 44:79-85.
 19. Ballota E, Abbruzzese E, Thiene G, Bottio T, Dagiau G, Angelini A, Saladini M. The elongation of the internal carotid artery: early and long-term results of patients having surgery compared with unoperated controls. *Ann Vasc Surg*. 1997; 11:120-128.
 20. Ktenidis K, Claeys L, Konstantis Ch, Horsch S. Kinkings and coilings of the carotid artery. New aspects. *Intern Angiol*. 1994; 13(Suppl. 1): 2-22.
 21. Desai B, Toole JF. Kinks, coils and carotids: a review. *Stroke*. 1975; 6:649-53.
 22. Weibel J, Fields WS. Tortuosity, coiling and kinking of the internal carotid artery. II. Relationship of morphological variation to cerebrovascular insufficiency. *Neurology*. 1965; 15: 462-8.
 23. Hamann H. Carotid endarterectomy: prevention of stroke in asymptomatic (stage I) and symptomatic (stage II) patients? *Thorac cardiovasc surg*. 1988; 36(5): 272-275.
 24. Ghilardi G, Longhi F, De Monti M, Bortolani E. Carotid kinking surgery. *Minerva Chir*. 1994; 49: 659-63.
 25. Andziak P. Studies of internal carotid artery anomalies. *PolTyg Lek*. 1994; 49: 384-7.

¹ Kliničko bolnički centar Zemun, Služba za endokrinologiju i dijabetes, Zemun, Srbija

² Institut "Vinča", Univerzitet u Beogradu, Laboratorija za radiobiologiju i molekularnu genetiku, Beograd, Srbija

MALIGNOMOM UZROKOVANA HIPONATRIJEMIJA - PRIKAZ SLUČAJA

MALIGNANCY-RELATED HYPONATREMIA – CASE REPORT

Zoran Gluvić¹, Jelena Tica¹, Marina Vujović¹, Zorica Rašić-Milutinović¹, Vesna Popović-Radinović¹, Milena Lačković¹, Milan Obradović² i Esmā R. Isenović²

Sažetak

Hiponatrijemija je čest elektrolitski poremećaj kod hospitalizovanih bolesnika. Nakon potvrđivanja laboratorijskog nalaza, potrebno je pojavu hiponatrijemiju etiološki razjasniti.

Prikaz bolesnika: Bolesnica stara 56 godina, hospitalizovana je zbog evaluacije grčeva nogu i malaksalosti. U biohemijskim nalazima se registruje hipotona hiponatrijemija, te je posumnjano na SIADH (engl. Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion). Evaluacijom SIADH-a, nije nađen uzrok hiponatrijemije. Primenom simptomatske terapije i korekcijom hiponatrijemije, pacijentkinja je otpuštena lako poboljšana. Četiri meseca nakon hospitalizacije, javlja se konfuzna, sa gušenjem, sindromom hiperglikemije i teškim opštem stanjem. Pored toga, kod pacijentkinjw su laboratorijski potvrđene hipotone hiponatrijemije, ultrasonografijom abdomena su viđene metastatske promene na jetri. Ubrzo nakon prijema, dolazi do smrtnog ishoda. Rodbina je odbila obdukciju, te primarno ishodište malignoma nije utvrđeno.

Hipotona hiponatrijemija zahteva ozbiljnu kliničku evaluaciju. SIADH je najčešći uzrok hipotone hiponatrijemije, a najvažniji uzrok SIADH-a je maligna bolest. Pažljiva korekcija hiponatrijemije i lečenje osnovne bolesti je osnova lečenja SIADH-a.

Ključne reči: hiponatrijemija, neoplazije, SIADH

Summary

Hypnatremia is a common electrolyte disorder in hospitalized patients. In the case of repetitive biochemically confirmed hypnatremia, it is necessary to find its cause.

Case report: a 56-year-old woman was admitted to hospital due to leg cramps and malaise. Routine biochemical analysis revealed hypotonic hypnatremia and Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion (SIADH) was suspected. The cause of hypnatremia was not discovered by means of evaluating SIADH. The patient was symptomatically treated, and discharged in better general condition, with partially corrected hypnatremia. She was advised to restrict water intake

and to repeat serum electrolytes and BUN regularly. Four months later, she presented with dyspnea and hyperglycemic syndrome, she was confused and her life was threatened. Beside severe hypnatremia and hyperglycemia, an urgent abdominal ultrasonography showed liver secondaries. Shortly after admission, the patient passed away. Unfortunately, the patient's family refused an autopsy, so the origin of neoplasia has remained unknown.

It is necessary to do a thorough clinical evaluation of hypotonic hypnatremia. SIADH, as the most frequent cause of hypotonic hypnatremia, is often a paraneoplastic syndrome. Careful correction of hypotonic hypnatremia and management of the underlying disease is the mainstay of SIADH treatment.

Key words: hypnatremia, neoplasia, SIADH.

Uvod

Hiponatrijemija je veoma čest elektrolitski poremećaj koji se često sreće kod hospitalizovanih bolesnika. U nekim stanjima, ona je ominožan laboratorijski znak i pokazatelj lošeg ishoda za bolesnika. Obzirom na učestalost javljanja, ponekad je prisutna mogućnost previda njenog značaja od strane kliničara. Ako se po ponavljanju nalaza zaista potvrdi da se radi o hiponatrijemiji, da bi se adekvatno lečila potrebno ju je etiološki razjasniti. Prvi korak u lečenju je pažljiva supstitucionā terapija natrijuma, a drugi korak u lečenju je tretman osnovne bolesti [10; 11; 15; 16; 17].

Hiponatrijemija može biti uzrokovana sindromom neadekvatne sekrecije antidiuretskog hormona (ADH) - SIADH (engl. Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion) [5; 19]. SIADH je poremećaj balansa vode i natrijuma kojeg karakteriše hipotonična hiponatrijemija i smanjeno izlučivanje mokraće u odsustvu bolesti bubrega ili nekog drugog neosmotskog stimulusa za koga se zna da stimuliše oslobađanje ADH [5]. SIADH su prvi opisali Schwartz i saradnici [15] kod pacijenata koji su imali karcinomom pluća, a kod kojih je usled nedostatka fiziološkog stimulusa za oslobađanje ADH, dolazilo do njegovog nekontrolisanog oslobađanja. Različiti su uzročnici nastanka SIADH, a među najčešćim su

maligne bolesti, infekcije i različiti lekovi (Tabela br. 4) [5; 8; 12; 13; 15; 19].

Prikaz slučaja

Bolesnica stara 56 godina, hospitalizovana je u cilju evaluacije grčeva u nogama, vrtoglavica i malaksalosti trajanja oko 2 meseca, nakon što je neurolog isključio akutno neurološko dešavanje. Pacijentkinja nije imala grčeve tela niti je gubila svest. Unos tečnosti je bio do 2 l dnevno i nije navodila promene u količini urina, kao i dizurične smetnje. Boljenica je višegodišnji hipertoničar, pod terapijom betablokatorom, i nije koristila diuretike. Pušač, negira konzumiranje alkoholnih pića.

Pri prijemu svesna, orijentisana u svim pravcima, afebrilna, gojazna po opštem tipu (indeks telesne mase 27.5kg/m²), sa pojačanom maljavošću lica, nausnica, brade i podlaktica, FGL skor hirzutizma <16, bez stigmata za Kušingov sindrom, ne registruju se klinički sindromi hipo- ili hipervolemije. U fizikalnom nalazu po sistemima, osim diskretno difuzno oslabljenog disajnog zvuka, nije bilo drugog patološkog nalaza. TA 130/80mmHg, P=76/min. Elektrokardiogram (EKG) ukazuje na sinusni ritam, bez promena u finalnoj oscilaciji.

U laboratorijskim nalazima nije bilo odstupanja u hematološkim parametrima, kao ni u gasnim analizama. U biohemijskim nalazima se registruje hiponatrijemija, hipokalijemija, hipohloremija, kao i snižen nivo mokraćne kiseline. Izračunata osmolarnost plazme bila je snižena. U urinu se registruje hipostenurija, uz signifikantan nalaz *Escherichia-e coli* u kulturi urina. Obzirom na značajno niske vrednosti elektrolita seruma, sprovedeno je 24-časovno skupljanje urina sa određivanjem elektrolita u urinu; registruje se značajno povišena natriureza i manje povišena kalciureza, kao i smanjena kaliureza. Rezultati su prikazani u tabeli br. 1. Na radiogramu srca i pluća (RTG p/c), osim naglašene bronhovaskularne šare, nisu viđene promene u plućima niti u karakteristikama srčane senke. Ultrasonografijom (US) abdomena je verifikovana hiperplazija oba nadbubrega, levog 20 mm, desnog 18 mm, bez drugih promena na posmatranim sistemima. Kompjuterizovana tomografija (CT) abdomena potvrđuje eho nalaz na nadbubrežima, bez promena na jetri, slezini, holecisti, pankreasu. Sprovodi se hormonsko testiranje (tabela br. 2), koje ukazuje na sniženu vrednost ACTH uz neupadljiv ispad u profilu kortizola, menopauzalne vrednosti gonadotropina, normalan nivo prolaktina, kao i očuvan integritet hipotalamo-hipofizno-tiroidne (HHT) osovine. Nivo DHEA, kao i nivo aldosterona u ležećem stavu, pri normalnoj kalijemiji, urednih vrednosti. Laboratorijski izmerena osmolalnost seruma ukazuje na hipoosmolalnost. Prekonoćni supresioni test deskametazonom (1mg) ukazuje na postojanje supresije jutarnjeg kortizola (93.8 nmol/L). Rezultati opštih i

digestivnih tumorskih markera (CEA, AFP, CA 19-9, CA 72-4) su bez patološkog odstupanja. oGTT ukazuje na poremećaj glukoze tolerancije (0 min= 5.7 mmol/L, 120 min= 9.9 mmol/L). CT-om endokranijuma se ne detektuje patološki supstrat, dok nuklearna magnetna rezonanca (NMR) hipofizne regije ukazuju na „empty sella“ sindrom. Pregled fundusa je bez patološkog nalaza; evaluacijom vizuelnih evociranih potencijala nisu detektovane disfunkcije optikusa, uključujući i hijazmu. US štitaste žlezde urednog nalaza.

Hematološki nalazi	Biohemija	Analiza urina	Gasne analize
SE 34	Glikemija 5,5	Specifična težina 1002...1005 pH 7.3...7.02	prijem:
Er 4.1x10 ¹²	Ukupni proteini 55	Urinokultura: Escherichia coli	pH 7.49
Hgb 132	Albumini 39	Na-Urin: 294 ... 1292 (186-216)	pCO ₂ 36
Ht 0.38	Gvožđe 12.9	K-Urin: 29.2... 29.8 (65-78)	pO ₂ 70
Le 13.6x10 ⁹	SGOT 21	Osmolalnost urina 344 (<1200) mOsm/kg	Bazni ekscres 5.0
segm. 0.62	SGPT 18		HCO ₃ 27
Tr 188x10 ⁹	Alkalna fosfataza 154		sat O ₂ 95%
ESR 34	Mokraćna kiselina 106		otput:
RBC 4.1x10 ¹²	Kalijum 2.1		pH 7.48
Hgb 132	Natrijum 101...110		pCO ₂ 35
Hct 0.38	Kalcijum ²⁺ 1.03		pO ₂ 78
WBC 13.6x10 ⁹	Hlor 66		Bazni ekscres 3.2
segm. 0.62	Ureja 1.4		HCO ₃ 25
Plt 188x10 ⁹	Kreatinin 46		sat O ₂ 97%
	Osmolalnost seruma (računski) - 243 mmol/L		

Tabela 1. Laboratorijski nalazi tokom prve hospitalizacije

Table 1. Laboratory findings during the first hospitalization

Hormonske analize
ACTH < 4 (9-46) pg/ml
Kortizol 08h- 401 (193-690), 16h- 348 (55-248)
jutarnji kortizol nakon prekonoćne Deksametazonske supresije (1mg) - 94 nmol/L
TSH 0.44 (0.27-4.20) Miu/ml
Ft4 20.2 (10-22) pmol/L
FSH 56.8 (menopauzalne vrednosti 25.8-134.8) Miu/ml
LH 8.09 (menopauzalne vrednosti 7.7-58.6) Miu/ml
DHEA-SO4 0.41 (1.2-9.1) micmol/L

Tabela 2. Vrednosti hormonskih analiza

Table 2. Hormone analysis

Kod bolesnice je posumnjano na sindrom SIADH, te je savetovana restrikcija unosa vode, redukcija telesne težine, kao i primena furosevida sa supstitucijom kalijuma 2-3 puta nedeljno. Pri otpustu pacijentkinja je dobrog opšteg stanja, sa natrijemijom 125 mmol/L (tretirana parenteralnom supstitucijom elektrolita). Četiri meseca nakon prve hospitalizacije, bolesnica se javlja na kontrolni pregled, prevashodno zbog lošeg opšteg stanja, gušenja, suvoće usta, žeđanja i ekstremne malaksalosti. Pri prijemu je bila svesna, orijentisana, ortopnoična, subfebrilna (37.5C), izrazito adinamična, bez hemoragijskog sindroma i adenopatije, nepromenjenog FGL skora hirzutizma. Nad srcem se registruju tihi srčani tonovi i tahikadija, TA 150/70mmHg, P=116/min. Nad plućima se, osim oslabljenog disanja difuzno, registruje i polifono zviždanje u srednjim i donjim plućnim poljima, dok se pregledom abdomena detektuje uvećana jetra za 1-2 cm, bez prisutne slobodne tečnosti. Nalaz na donjim ekstremitetima je bio uredan. Na EKG-u se registruje sinusna tahikadija, kao i U talas u prekordijalnoj seriji, bez promena u finalnoj oscilaciji.

U laboratorijskim nalazima (tabela br. 3) se registruje trocifrena SE, pancitopenija, hiperglikemija sa glikozurijom, ketonurijom uz poremećaje gasne razmene po tipu hipoksemije i hiperkapnije, niske saturacije hemoglobina kiseonikom i kompenzatornom metaboličkom alkalozom u gasnim analizama. U biohemijskim analizama prisutna hipoalbuminemija sa lako povišenom alkalnom fosfatazom, uz hiponatrijemiju i hipokalijemiju; nalazi lipidograma, ostalog hepatograma i mineralograma, kao i azotnih materija bez patološkog odstupanja. Kulturom urina izolovana *Escherichia coli*. RTG p/c ukazuje na naglašenu bronhovaskularnu šaru obostrano, dok je srčana senka uredne morfologije i veličine. US-om abdomena se registruju hipoehogene promene po tipu sekundarnih depozita jetre promera do 14mm, kao i obostrano uvećanje nadbubrega - oko 30mm u promeru, bez drugih promena na ostalim posmatranim sistemima. Drugog dana hospitalizacije dolazi do smrtnog ishoda. Rodbina nije dozvolila kliničku obdukciju.

Hematologija	Biohemija	Analiza urina	Gasne analize
SE 135	Glikemija 20,8	Specifična težina i pH-mali uzorak	pH 7.45
Er 3.5x10 ¹²	Ukupni proteini 59	Urinokultura: Escherichia coli	pCO ₂ 46
Hgb 106	Albumini 24		pO ₂ 36
Ht 0.31	Globulini 35		Bazni ekscs 8,1
Le 3.1..3.3	SGOT 19		HCO ₃ 31
segm. 0.68	SGPT 13		sat O ₂ 73%
Tr 62..77	Alkalna fosfataza 293 (100-290)		
	Kalijum 2.4		
	Natrijum 124		
	Kalcijum jonizujući 1.23		
	Hloridi 102		
	Ureja 7.5		
	Kreatinin 71		
	Osmolarnost seruma (računski) 280 mmol/L		

Tabela 3. Laboratorijski nalazi tokom druge hospitalizacije

Table 3. Laboratory findings during the second hospitalization

Diskusija

Hiponatrijemija u sklopu malignih bolesti prvi put je opisana 1957. godine, kada su Schwarz i aut. [10; 15] opisali hiponatrijemiju sa kontinuiranim gubitkom natrijuma putem urina kod dva bolesnika obolela od bronhogenog karcinoma. Kod oba bolesnika je detektovan povišen nivo ADH u plazmi. Malignomi pluća, koji najčešće ektopički proizvode ADH, su mikrocelularni karcinomi (MCKP), a značajno ređe nemikrocelularni karcinomi [11; 16]. Klinički značajna hiponatrijemija je prisutna kod oko 15% bolenika sa MCKP u momentu prezentacije bolesnika. Povišen nivo ADH ima tendenciju normalizacije kod oko ¾ obolelih nakon primene hemioterapije [9; 10; 17]. Kod 1/3 bolesnika sa MCKP se ne registruje povišen nivo ADH, ali je često prisutan porast nivoa atrijalnog natriuretskog peptida [4; 7]. SIADH se registruje kod oko 3% obolelih od malignoma glave i vrata, prevashodno lokalizovanih u usnoj duplji, a daleko ređe u ostalim ORL regijama [6]. Sa onkološkog aspekta, primena nekih antineoplastičnih agenasa, prevashodno derivata Vinca roseae (vinkristin i vinblastin), kao i ciklofosfamida, može dovesti do ispoljavanja njihovog citotoksičnog delovanja na eutopične izvore ADH i tako indukovati hiponatrijemiju [2; 21]. Tabelom br. 4 i

br. 5 prikazani su uzroci i kriterijumi za postavljanje dijagnoze SIADH-a.

Uzroci SIADH-a				
A. Malignomi	B. Plućne bolesti	C. Bolesti CNS	D. Lekovi	E. Ostali
a. Karcinomi (pluća, ORL regije, digestivni trakt, genitourinarni trakt, timom)	a. Infekcije	a. Infekcija	a. Lekovi koji stimulišu oslobađanje ADH ili potenciraju njegove efekte- SSRI, 3-ciklični antidepresivi, karbamazepin, vinkristin, nikotin, narkotici, antipsihotici, ekstazi, ciklofosamid	a. Hereditarni- mutacije na V2 receptorima
b. Sarkomi	b. Astma	b. Hemoragije	b. Vazopresinski analozi- dezmozpresin, oksitocin	b. Idiopatski
c. Limfomi	c. Cistična fibroza	c. Mas- lezije		c. ARC i AIDS
	d. Respiratorna insuficijencija (posebno ona koja se tretira mehaničkom ventilacijom tj. pozitivnim pritiskom)	d. Multipla skleroza		d. Prolazni- opšta anestezija, stres, bol, mučnina, vežbe izdržljivosti

Tabela 4. Uzroci SIADH-a

Table 4. Causes of SIADH

Dijagnoza SIADH-a
Kriterijumi za dijagnozu SIADH:
1. snižena plazma osmolalnost (<275 mOsm/kg)
2. osmolalnost urina >100 mOsm/kg pri sniženoj osmolalnosti plazme
3. klinički nalaz koji ukazuje na euvolemiju (odsustvo hipo- i hipervolemije)
4. natrijum u urinu >30 (40) mmol/L pri normalnom unosu soli
5. normalna tiroidna i adrenalna funkcija
6. anamnestički podatak o nekorišćenju diuretika

Tabela 5. Dijagnoza SIADH-a

Table 5. Diagnosis of SIADH

U lečenju SIADH-a, pored tretmana osnovne bolesti, neophodno je pažljivo korigovanje hiponatrijemije. Konvencionalni tretman hronične hiponatrijemije uključuje restrikciju vode, ali ne i proteina i soli (500-1000 ml dnevno, odnosno proporcionalno oralnom osmotskom opterećenju), kao i potencijalnu primenu ureje (loše se toleriše), demeklociklina i litijuma (sporog efekta i toksični), kao i vazopresin (V)-receptorskih ili visoko selektivnih V₂ receptorskih antagonista (tzv. vaptana-npr. konivaptana

parenteralno, odnosno tolvaptana, liksivaptana i satavaptana oralno), kao i parenteralnu primenu hipertonom fiziološkog rastvora, prevashodno u urgentnom tretmanu akutne i životno-ugrožavajuće hiponatrijemije [3; 14; 20].

Prikazan je slučaj bolesnice sa hipotonom hiponatrijemijom hroničnog toka, sa kliničkom prezentacijom akutnog pogoršanja. Iako je inicijalna natrijemija bila značajno ispod 120mmol/L, bolesnica nije imala ozbiljne neurološke manifestacije, poput EPI napada ili kome. Verovatan razlog tome je hroničan tok hiponatrijemije, koji je omogućio volumnu adaptaciju mozga, što je i verifikovano CT-om endokranijuma (izostanak edema mozga). Moždane ćelije ispumpavaju osmole u ekstraćelijski prostor (EĆP), i to prvo neorganske (kalijum i natrijum), a potom i organske, koji za sobom povlače vodu. Tako se stvara novi transmembranski osmotski ekvilibrijum i redukuje edem. U slučajevima akutne hiponatrijemije, EĆP postaje naglo hipoton u odnosu na intraćelijski prostor, te voda naglo ulazi u ćeliju procesom osmoze i uzrokuje moždani edem. Dakle, u akutnoj hiponatrijemiji izostaje volumna adaptacija mozga na hiponatrijemiju [1; 18].

Kod naše bolesnice je tokom prve hospitalizacije hiponatrijemija pažljivo korigovana, prvo parenteralnim nadomeštajem hipertonom rastvorom natrijum hlorida, a potom održavana restrikcijom unosa vode. Pri otpustu je natrijemija bila 125 mmol/L, a opšte stanje bolesnice je bilo značajno bolje (potpuno uspostavljena vertikalizacija i relativno stabilan hod). Pored saveta o restrikciji unosa vode, dat je savet o čestim kontrolama elektrolita i azotnih materija, koje bolesnica, nažalost, nije obavljala.

Verovatno objašnjenje zašto je serum računski bio izoosmolaran prilikom druge hospitalizacije, uprkos hiponatrijemiji (124 mmol/L) i hipokalijemiji (2.4mmol/L), leži u novonastaloj hiperglikemiji, koja značajno utiče na računsku vrednost osmolarnosti seruma. Objašnjenje „empty sella“ sindroma uz obostranu hiperplaziju nadbubrega sa niskom vrednošću ACTH i zadovoljavajućim dnevnim profilom kortizola, moglo bi da bude postojanje ACTH-sekretujućeg adenoma, koji je nekrotizovao („sagoreli ACTH adenom“). Drugo objašnjenje za nizak ACTH je i postojanje cikličnog Kušinga (obostrana hiperplazija nadbubrega). Otkrivanje metastatske bolesti jetre oko 4 meseca nakon prve hospitalizacije, ukazuje na brzoprogresivni malignitet, kakvi su najčešće porekla respiratornog ili digestivnog trakta. Ne treba zaboraviti da je slika paraneoplastičnog sindroma, kakav je i SIADH, često prva manifestacija maligne bolesti. S’druge strane, brz razvoj bolesti često nedozvoljava otkrivanje primarnog polazišta neoplastičnog procesa, što je bilo i u našem prikazu slučaja.

Zaključak

Utvrđivanjem postojanja SIADH, neophodna je pažljiva kliničko-dijagnostička evaluacija bolesnika, prevashodno u pravcu otkrivanja maligne bolesti. Lečenje SIADH-a zahteva adekvatnu kontrolu hiponatrijemije i tretman osnovne bolesti.

Literatura

1. Adroge, H. J. and Madias, N. E. "Hyponatremia." *N Engl J Med* (2000) 342 (21): 1581-1589.
2. Berghmans, T. "Hyponatremia related to medical anticancer treatment." *Support Care Cancer* (1996) 4 (5): 341-350.
3. Chen, S., Jalandhara, N. and Battle, D. "Evaluation and management of hyponatremia: an emerging role for vasopressin receptor antagonists." *Nat Clin Pract Nephrol* (2007) 3 (2): 82-95.
4. Chute, J. P., Taylor, E., Williams, J., et al. "A metabolic study of patients with lung cancer and hyponatremia of malignancy." *Clin Cancer Res* (2006) 12 (3 Pt 1): 888-896.
5. Esposito, P., Piotti, G., Bianzina, S., et al. "The syndrome of inappropriate antidiuresis: pathophysiology, clinical management and new therapeutic options." *Nephron Clin Pract* (2011) 119 (1): c62-73; discussion c73.
6. Ferlito, A., Rinaldo, A. and Devaney, K. O. "Syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion associated with head neck cancers: review of the literature." *Ann Otol Rhinol Laryngol* (1997) 106 (10 Pt 1): 878-883.
7. Gross, A. J., Steinberg, S. M., Reilly, J. G., et al. "Atrial natriuretic factor and arginine vasopressin production in tumor cell lines from patients with lung cancer and their relationship to serum sodium." *Cancer Res* (1993) 53 (1): 67-74.
8. Hoorn, E. J. and Zietse, R. "Hyponatremia revisited: translating physiology to practice." *Nephron Physiol* (2008) 108 (3): p46-59.
9. Odell, W. D. and Wolfsen, A. R. "Humoral syndromes associated with cancer." *Annu Rev Med* (1978) 29: 379-406.
10. Onitilo, A. A., Kio, E. and Doi, S. A. "Tumor-related hyponatremia." *Clin Med Res* (2007) 5 (4): 228-237.
11. Padfield, P. L., Morton, J. J., Brown, J. J., et al. "Plasma arginine vasopressin in the syndrome of antidiuretic hormone excess associated with bronchogenic carcinoma." *Am J Med* (1976) 61 (6): 825-831.
12. Park, S. J., Kim, J. H. and Shin, J. I. "Insight on mechanism of hyponatraemia induced by low-dose intravenous pulse cyclophosphamide." *Nephrol Dial Transplant* (2010) 25 (10): 3453; author reply 3453-3454.
13. Peri, A., Pirozzi, N., Parenti, G., et al. "Hyponatremia and the syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone (SIADH)." *J Endocrinol Invest* (2010) 33 (9): 671-682.
14. Robertson, G. L. "Regulation of arginine vasopressin in the syndrome of inappropriate antidiuresis." *Am J Med* (2006) 119 (7 Suppl 1): S36-42.
15. Schwartz, W. B., Bennett, W., Curelop, S., et al. "A syndrome of renal sodium loss and hyponatremia probably resulting from inappropriate secretion of antidiuretic hormone." *Am J Med* (1957) 23 (4): 529-542.
16. Shapiro, J. and Richardson, G. E. "Hyponatremia of malignancy." *Crit Rev Oncol Hematol* (1995) 18 (2): 129-135.
17. Sorensen, J. B., Andersen, M. K. and Hansen, H. H. "Syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone (SIADH) in malignant disease." *J Intern Med* (1995) 238 (2): 97-110.
18. Vaidya, C., Ho, W. and Freda, B. J. "Management of hyponatremia: providing treatment and avoiding harm." *Cleve Clin J Med* (2010) 77 (10): 715-726.
19. Verbalis, J. G. "Managing hyponatremia in patients with syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion." *Endocrinol Nutr* (2010) 57 Suppl 2: 30-40.
20. Verbalis, J. G., Goldsmith, S. R., Greenberg, A., et al. "Hyponatremia treatment guidelines 2007: expert panel recommendations." *Am J Med* (2007) 120 (11 Suppl 1): S1-21.
21. Yeung, S. C., Chiu, A. C., Vassilopoulou-Sellin, R., et al. "The endocrine effects of nonhormonal antineoplastic therapy." *Endocr Rev* (1998) 19 (2): 144-172.

INDEX AUTORA

A		P	
Aleksić N.	35, 41	Pešut D.	20
Antić D.	5	Popović-Radinović V.	46
		Putniković B.	11
B		R	
Bila J.	5	Radak Đ.	35, 41
Bumbaširević M.	25	Rašić-Milutinović Z.	46
		Resanović I.	11
G		S	
Glavić Z.	46	Savić K.	11
Grbić E.	31	Sotirović V.	35, 41
Grbić K.	31	Stanić S.	35, 41
Grubor P.	31	Sudar E.	11
Gvozdenović E.	20		
I		T	
Ilić M.	25	Tanasković S.	35, 41
Ille M.	25	Tica J.	46
Isenović E.	11, 46	Todorović M.	5
		Tulić G.	25
L		V	
Lačković M.	46	Vučetić Č.	25
		Vučković S.	25
		Vujović M.	46
M		Z	
Manojlović R.	25	Zafirović S.	11
Maravić-Stojković V.	11		
Mihaljević B.	5		
O			
Obradović M.	46		

Uputstvo našim saradnicima

"Medicinska istraživanja" je naučni Časopis Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Izlazi kao sveska tri puta godišnje. U sveskama se štampaju originalni radovi i opšti pregledi, po pozivu Redakcije i originalni radovi koji su prethodno referisani na redovnim godišnjim simpozijumima Medicinskog fakulteta "Stremljenja i novine u medicini" u okviru "DANA ŠKOLE", a koje odabere Uređivački odbor.

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

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

Uređivački odbor prima samo one radove koji do sada nisu objavljeni i zadržava pravo određivanja redosleda njihovog štampanja. Redosled kojim se radovi objavljuju ne odražava naučnu vrednost rada.

Rad treba da bude uredno pisan u nekom od tekst procesora (Word for Windows, Word Perfect for Windows i sl.). Margine treba da budu 2 cm (gornja i donja) odnosno 2,5 (leva i desna), dok je format papira A4. Prored između redova treba da bude uobičajen (single-spaced). Predaje se original rada, koji ne treba da pređe 10 stranica (odnosno 36000 slovnih mesta).

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

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

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

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

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

Tekst rada (posebno citate i imena autora) treba povezati sa literaturom odgovarajućim brojevima (10, (10), ¹⁰, [10]). Na posebnoj listi na kraju rada treba

ispisati literaturu na izvornom jeziku po abecednom redu.

Podaci o knjigama i monografijama treba da sadrže: prezime i početno slovo imena autora, naziv knjige, izdanje, izdavača, mesto izdavanja i godinu izdavanja.

Ukoliko nije korišćen originalni izvor, u literaturi se navodi izvorno delo.

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

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

Rad treba dostaviti odštampan na papiru i snimljen na disketi.

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

Rukopisi se ne vraćaju.

GLAVNI I ODGOVORNI UREDNIK
Prof. dr Đorđe Radak

Instructions for our contributors

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

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

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

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

The article should not have more than 10 pages (about 36 000 characters). It should be neatly typed in one of the text processors (Word for Windows, Word Perfect for Windows, or similar). Margins should be 2 cm (upper and lower), 2.5 (left and right) on paper size A4. Please use single-spacing when typing.

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

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

The article should have a summary in English, if written in Serbian. The summary should contain the title, the aim of the article (1 or 2 sentences) and basic elements of methodology, concisely presented results with details from which the conclusion is drawn.

Articles written in English should have a summary in Serbian.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

The manuscripts will not be returned.

EDITOR-IN-CHIEF
Prof.dr Đorđe Radak

Glavni i odgovorni urednik:

Prof. dr ĐORĐE RADAČ

Urednik - editor:

Prof. dr ALEKSANDAR LJUBIĆ

Lektor za srpski jezik:

NATAŠA MICIĆ

Lektor za engleski jezik:

DANKA SINADINOVIĆ

Sekretar - Secretary:

Prof. dr ZVEZDANA KOJIĆ

Tehnički sekretar:

VIKTORIJA JOKSIMOVIĆ

Izdavač i vlasnik:

MEDICINSKI FAKULTET UNIVERZITETA U BEOGRADU

Uredništvo i administracija:

11105 Beograd, Dr Subotića br. 8, soba 313

Realizacija:

GRAFOSTIL d.o.o. Kragujevac

Tiraž: 500

primeraka