



Medicinska istraživanja

Uređivački odbor - Editorial board

glavni i odgovorni urednik – editor-in-chief

Prof. dr Đorđe Radak, dopisni član SANU

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:

Евгении 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

Mr Viktorija Joksimović

SADRŽAJ

ESOPHAGEAL ATRESIA – CURRENT APPROACH IN TREATMENT	1
ATREZIJE JEDNJAKA- SAVREMENI PRISTUP LEČENJU	1
<i>Dragana Vujović, Marija Lukač, Dejan Stojakov, Dušica Simić, Sanja Sindić-Antunović</i>	
THE IMPORTANCE OF MICROSTRUCTURE OF THE MIDDLE EAR IN OTOSURGERY	8
ZNAČAJ MIKROSTRUKTURE UVA U OTOHIRURGIJI	8
<i>Dragoslava Đerić, Nenad Arsović, Srbislav Blažić</i>	
RISK OF TRAVELING BY PLANE IN PATIENTS WITH RESPIRATORY SYSTEM DISEASE	12
RIZIK OD PUTOVANJA AVIONOM BOLESNIKA SA OBOLJENJIMA RESPIRATORNOG SISTEMA	12
<i>Dragica Pešut, Ljudmila Nagorni Obradović, Vladimir Žugić, Marina Roksandić Milenković, Branislava Milenković</i>	
NOVEL FACTS IN PHARMACOLOGY OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION	18
NOVA SAZNANJA U FARMAKOLOGIJI ENDOTELNE DISFUNKCIJE	18
<i>Miroslav Radenković, Marko Stojanović, Milica Prostran</i>	
URBAN NOISE AND BLOOD PRESSURE OF THE POPULATION – A SYSTEMATIC REVIEW OF STUDIES IN BELGRADE ..	23
GRADSKA BUKA I KRVNI PRITISAK STANOVNIŠTVA – SISTEMATSKI PREGLED ISTRAŽIVANJA U BEOGRADU	23
<i>Goran Belojević, Katarina Paunović, Branko Jakovljević, Vesna Stojanov, Vesna Slepčević, Jelena Ilić Živojinović</i>	
DIETARY SUPPLEMENTS AND PHYSICIANS’ – KNOWLEDGE AND ATTITUDES	29
DIJETETSKI SUPLEMENTI U ISHRANI – ZNANJE I STAVOVI LEKARA	29
<i>Nikola Krcunović, Nađa Vasiljević, Đorđe Radak, Miloš Maksimović</i>	
THE IMPACT OF OBESITY ON DEVELOPMENT OF CARDIOVASCULAR DISEASES – MINI REVIEW	33
EFEKTI GOJAZNOSTI NA NASTANAK KARDIOVASKULARNIH POREMEĆAJA	33
<i>Sanja Soskić, Anastasija Panić, Esma R. Isenović</i>	
LEPTIN AND ITS MECHANISM OF ACTION	36
LEPTIN I MEHANIZAM DELOVANJA LEPTINA	36
<i>Anastasija Panić, Sanja Soskić, Esma R. Isenović</i>	
FUNDAMENTALS OF APOPTOSIS	42
OSNOVE APOPTOZE	42
<i>Ivana Resanović, Emina Sudar Milovanović, Nikola Bogdanović, Aleksandra Jovanović, Sonja Zafirović, Anastasija Panić, Esma R. Isenović</i>	
TREATMENT OF “BLUE TOE” SYNDROME WITH HYPERBARIC OXYGEN THERAPY – CASE STUDY	46
LEČENJE SINDROMA PLAVIH PRSTIJU HIPERBARIČNOM OKSIGENOTERAPIJOM – PRIKAZ SLUČAJA	46
<i>Davorka M. Milačić, Tatjana Matković, Anja Lalić, Julijana Stanimirović, Zoran Gluvić, Esma R Isenović</i>	
CORRELATION OF METABOLIC PROFILE AND BONE MINERAL DENSITY IN TREATMENT – NAIVE FEMALES WITH SUBCLINICAL THYROID DYSFUNCTION – A PILOT STUDY	50
KORELACIJA METABOLIČKOG PROFILA I KOŠTANE GUSTINE KOD NETRETIRANIH ISPITANICA OBOLELIH OD SUPKLINIČKIH TIREOIDNIH DISFUNKCIJA – PILOT STUDIJA	50
<i>Marija Popin-Tarić, Zoran Gluvić, Vladimir Samardžić, Anita Vasić-Vlaisavljević, Jelena Tica Jevtić, Anastasija Panić, Emina Sudar Milovanović, Ratko Tomašević, Esma R. Isenović</i>	
STANDARDS AND NEEDS OF A NEWLY FORMED VASCULAR SURGERY CENTER	58
STANDARDI I POTREBE NOVOFORMIRANOG CENTRA ZA VASKULARNU HIRURGIJU	58
<i>Vladimir Popović, Nenad Đorđević, Nenad Ilijevski, Petar Popov, Slobodan Tanasković</i>	

ESOPHAGEAL ATRESIA – CURRENT APPROACH IN TREATMENT

ATREZIJE JEDNJAKA- SAVREMENI PRISTUP LEČENJU

Dragana Vujović¹, Marija Lukač^{1,3}, Dejan Stojakov^{2,3}, Dušica Simić^{1,3}, Sanja Sindić-Antunović^{1,3}

Summary

Esophageal atresia refers to a congenitally interrupted esophagus, with one or more fistulae present between the malformed esophagus and the trachea. The most frequent type is the one with distal tracheoesophageal fistula. If not diagnosed in time, it could cause severe respiratory complications, due to the aspiration of saliva, or direct flow of gastric secretions from below into the tracheobronchial tree. Surgical treatment of esophageal atresia demands a very precise operative technique, because of very limited possibilities for redo procedures.

Results in the treatment of esophageal atresia, associated anomalies and postoperative complications are used in evaluation of both expert achievements of surgical team and institutional recommendations for certain pediatric hospitals. That is why the aim of the study is to evaluate our success in surgical treatment and to make a diagnostic and therapeutic algorithm for esophageal atresia.

A retrospective study included 294 neonates treated from 1971 – 2013. The data are analyzed by comparing the incidence of different types of esophageal atresia, association with other congenital anomalies, treatment modalities of long-gap esophageal atresia and postoperative complications, as well as the outcome and survival rate over time. The results are analyzed using descriptive statistical method.

The incidence of common esophageal atresia with distal tracheoesophageal fistula was 92,7 %; 5,1% with no fistula, 0,5% with two fistulae and 1,7% of H-type anomaly. The long-gap esophageal atresia was surgically treated in 3,4 % of cases. Various other congenital anomalies were associated in 48% of cases. The incidence of early complications including an anastomotic leak was about 5%; 1% of recurrent tracheoesophageal fistula and 7% of anastomotic structures. Gastroesophageal reflux as the main late postoperative complication, particularly problematic in patients with esophageal atresia occurs in 10% of cases in our series of patients.

Developing surgical experience and neonatal intensive care units, the survival rate achieved 98%, which has certainly improved the outcome of surgical treatment, lowered the rate of postoperative complications and improved the quality of life, because most of the children who undergo a successful repair of esophageal atresia are relatively healthy.

Key words: *esophageal atresia, neonates, complications, surgical treatment.*

Sažetak

Atrezija jednjaka je kongenitalna, razvojna anomalija koju karakteriše anatomski diskontinuitet jednjaka, a najčešći tip podrazumeva postojanje traheozofagealne fistule. Ako se ne otkrije na vreme, dovodi do teških respiratornih komplikacija koje su uzrok ozbiljnom respiratornom distresu, povećanom morbiditetu, ali i mortalitetu novorođenčadi, već veoma rano po rođenju. Lečenje je hirurško, zahteva veoma preciznu operativnu tehniku, jer su mogućnosti ponavljanja hirurških intervencija na jednjaku veoma ograničene.

Kako se rezultati, postignuti u lečenju atrezija jednjaka, udruženih anomalija koje ih prate i komplikacija nastalih nakon hirurškog tretmana, koriste kao parametri za procenu nivoa stručnosti hirurškog tima i ustanove koja se bavi lečenjem dece, cilj rada je da se evaluiira ukupni ishod lečenja naših bolesnika, kao i da se donese jedinstven doktrinarni stav u pogledu otkrivanja i lečenja ove urođene anomalije.

Retrospektivnom studijom obuhvaćeno je 294 novorođenčadi, lečenih u periodu od 1971-2013. godine, koji su analizirani i upoređivani prema učestalosti različitih tipova atrezija jednjaka, njihove udruženosti sa drugim urođenim anomalijama, načinima hirurškog lečenja atrezija jednjaka sa velikom distancom, lečenja postoperativnih komplikacija, kao i krajnjem ishodu bolesti i stopi preživljavanja kroz različite vremenske periode. Rezultati su analizirani metodom deskriptivne statistike.

U 92,7% slučajeva se radi o atreziji jednjaka sa traheozofagealnom fistulom donjeg okrajka, u 5,1% bez fistule, u 0,5% sa fistulom i gornjeg i donjeg okrajka, odnosno u 1,7% sa izolovanom traheozofagealnom fistulom. U 3,4% slučajeva postojala je velika distanca između ezofagealnih okrajaka, što je rešeno raspoloživim hirurškim tehnikama. U 48% slučajeva prisutne su i udružene anomalije. Od ranih postoperativnih komplikacija disrupcija anastomoze po tipu manjeg odnosno većeg anastomotičnog curenja javila se u oko 5% slučajeva, stenoza na mestu anastomoze kod 7%, a od kasnih komplikacija, simptomatski gastroezofagealni refluks potvrđen je u oko 10% naših bolesnika.

Sticanjem hirurškog iskustva i razvojem mera intenzivnog lečenja preživljavanje naših pacijenata za poslednjih deset godina iznosi 98%, što je značajan uspeh s obzirom na dobar ishod hirurškog lečenja, mali broj postoperativnih komplikacija, kao i zadovoljavajući kvalitet života ovih bolesnika.

Cljučne reči: *atrezija jednjaka, novorođenčad, komplikacije, hirurško lečenje*

Uvod

Medicinski entitet pod nazivom atrezija jednjaka, javlja se kod 1 na 2500-3000 novorođene dece i podrazumeva postojanje anatomskog diskontinuiteta jednjaka, koji je uzrokovan poremećajem u razvoju traheozofagealnog septuma u četvrtoj nedelji embrionalnog razvoja. Osnovna klasifikacija obuhvata pet tipova atrezije jednjaka, a najčešći tip podrazumeva postojanje kratkog, slepo završenog proksimalnog okrajka jednjaka i distalnog, koji preko fistule, komunicira sa traheobronhijalnim stablom.

Kao izolovana anomalija uglavnom se javlja sporadično, ali se pretpostavlja i mogućnost poligenskog nasleđivanja, jer je zabeleženo da se može javiti udruženo sa nekim sindromima, ali i u pojedinim familijama sa malim procentom rizika od ponovnog pojavljivanja.

Prvi zapis o klasičnoj atreziji jednjaka dao je Gibson još 1697. godine, a prvu primarnu hiruršku reparaciju izveo je Hight tek 1941. godine. Na Univerzitetskoj dečjoj klinici (UDK) u Beogradu, ranih '60. godina prošlog veka, Ignjatović beleži prvo preživelo novorođenče operisano od kongenitalne atrezije jednjaka.

Posledica ovakve anomalije je prelivanje sadržaja proksimalnog jednjaka, ali i gastričnog sadržaja kroz fistulu u pluća gde izaziva nastanak aspiracione pneumonije, odnosno teškog hemijskog pneumonitisa, što je uzrok razvoju ozbiljnog respiratornog distresa novorođenčeta, već veoma rano po rođenju. Na kompleksnost anomalije utiče i prisustvo brojnih modaliteta atrezije jednjaka, ali često i drugih udruženih kongenitalnih malformacija. Hirurško lečenje nije jednostavno, zbog specifične karakteristike jednjaka i njegovog zida u pogledu rasta, razvoja, vaskularizacije i zarastanja, ali i odnosa sa okolnim strukturama u grudnom košu.

Poseban akcenat se odnosi na intenzivan tretman bolesnika pre i posle operacije, što zahteva kompleksan,

iskustveni pristup i često predstavlja ozbiljan neonatološki i anesteziološki problem zbog opasnosti od razvoja respiratorne insuficijencije, koja u velikom broju slučajeva prati atreziju jednjaka i ugrožava život malog bolesnika, a posebno u slučajevima kada postoji i udružena srčana mana.

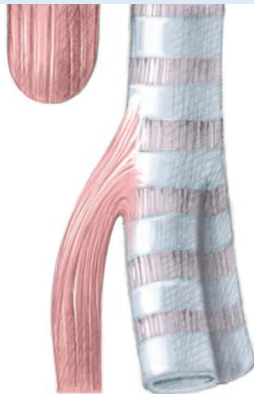
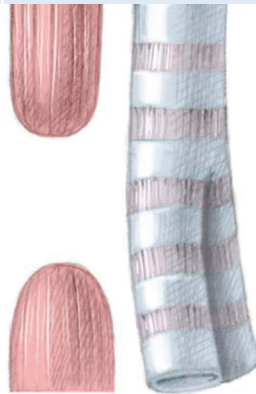
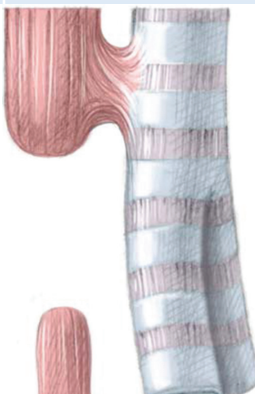
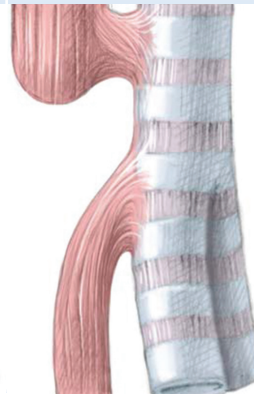
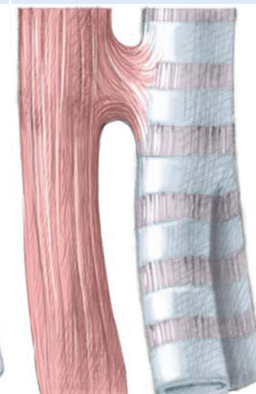
Otuda se u svakodnevnom radu suočavamo sa brojnim komplikacijama koje utiču na krajnji ishod lečenja i posledica su neprepoznavanja anomalije još prenatalno ili na samom rođenju. Uzrok ovome je obično nedostatak iskustva ili adekvatne medicinske edukacije u pogledu postojanja, otkrivanja i lečenja ove specifične anomalije u perinatalnom periodu. S druge strane, rezultati postignuti u lečenju atrezije jednjaka, udruženih anomalija koje je prate i komplikacija nastalih nakon hirurškog tretmana koriste se kao parametri za procenu nivoa stručnosti hirurškog tima i ustanove koja se bavi lečenjem dece.

Zbog toga je cilj rada da se evaluiira ukupni ishod lečenja naših pacijenata, rođenih sa atrezijom jednjaka, kao i da se iz toga izvede jedinstven doktrinarni stav u pogledu savremenih modaliteta otkrivanja i lečenja ove urođene anomalije, sa posebnim naglaskom na celokupnu udruženu problematiku koja je prati.

MATERIJAL I METODE

Retrospektivna studija obuhvata ukupno 294 novorođenčeta sa atrezijom jednjaka, lečenih na UDK u periodu od 1971-2013. godine, koji su analizirani i upoređivani prema učestalosti različitih tipova atrezija jednjaka, njihove udruženosti sa drugim urođenim anomalijama, načinima hirurškog lečenja atrezija jednjaka sa velikom distancom, lečenja postoperativnih komplikacija, kao i krajnjem ishodu bolesti i stopi preživljavanja kroz različite vremenske periode.

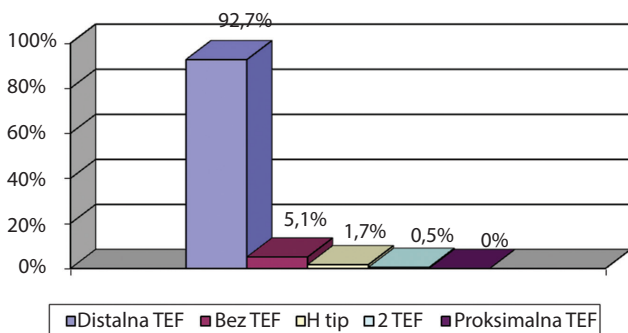
Tabela 1. Tipovi atrezije jednjaka
Table 1. Types of esophageal atresia

Distalna fistula	Bez fistule	Proksimalna fistula	Proksimalna i distalna fistula	H tip (TEF)
				
82,8%	8,4%	2,1%	3,4%	3,3%
UDK 1971-2013: 294 ATREZIJE JEDNJAKA				
92,7%	5,1%	0%	0,5%	1,7%

Rezultati su izraženi u procentualnim srednjim vrednostima, grupisani, prikazani i evaluirani deskriptivnim statističkim metodama.

REZULTATI

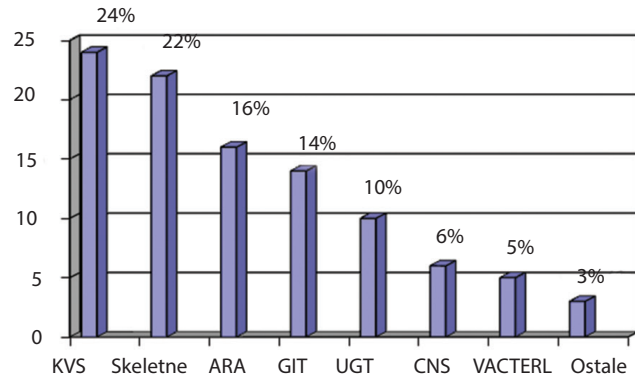
Od ukupno 294 novorođenčeta sa atrezijom jednjaka, 92,7% je bilo sa traheozofagealnom fistulom donjeg okrajka, 5,1% bez fistule, a 0,5% sa fistulom i gornjeg i donjeg okrajka, odnosno 1,7% sa izolovanom traheozofagealnom fistulom. Nije bilo bolesnika sa samo proksimalnom traheozofagealnom fistulom.



Slika 1. Učestalost različitih tipova atrezije jednjaka kod bolesnika na UDK 1971-2013.

Fig. 1. Incidence of different types of esophageal atresia in patients at UCH 1971-2013

Kod 142 novorođenčeta ili u 48% slučajeva postojale su udružene anomalije, od kojih se oko 24% odnosi na urođene srčane mane (KVS), 22% na skeletne, 16% na anorektalne (ARA), 14% na druge gastrointestinalne (GIT), 10% na urogenitalne (UGT), 6% na anomalije CNS-a, 5% na VATER sindrom, a 3% na hromozomske i ostale anomalije.

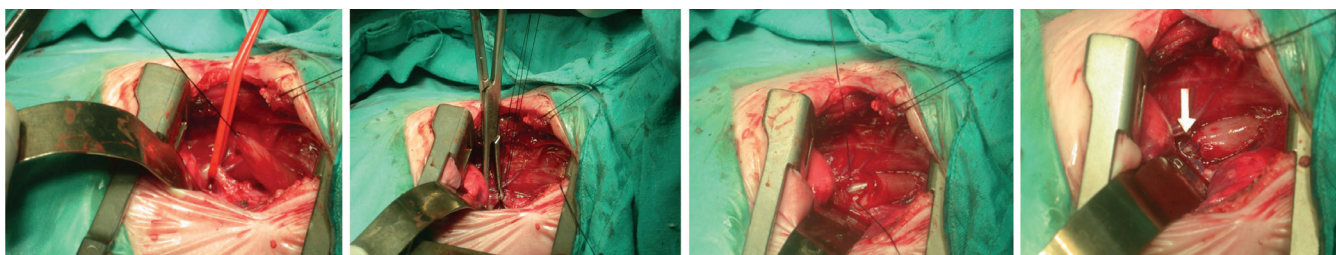


Slika 2. Udružnost atrezije jednjaka sa drugim urođenim anomalijama kod bolesnika na UDK 1971-2013.

Fig. 2. Association of esophageal atresia with other congenital anomalies in patients at UCH 1971-2013

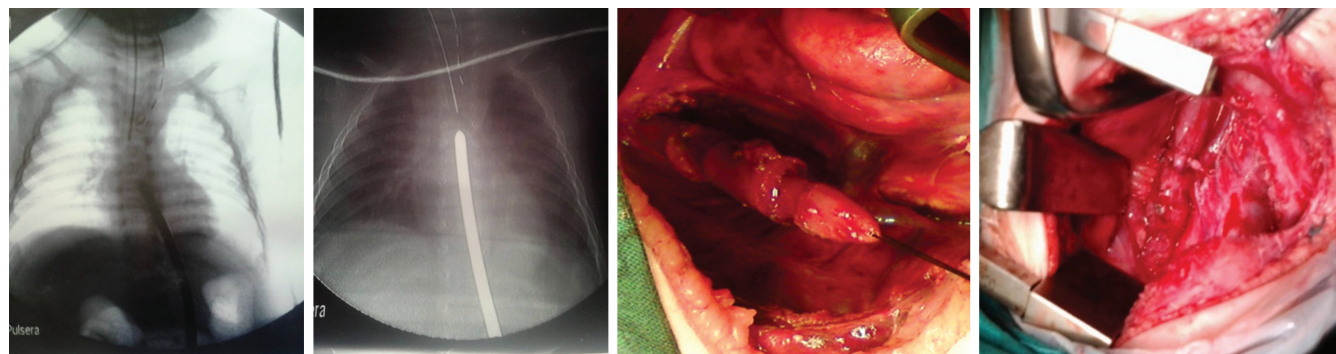
Metoda izbora hirurškog lečenja je primarna anastomoza sa podvezivanjem traheozofagealne fistule kroz interkostalnu torakotomiju, ekstrapleuralnim pristupom.

Hirurški tretman složenih tipova ove anomalije, kao što je atrezija jednjaka sa velikom distancom ezofagealnih okrajaka, podrazumeva brojne elongacione procedure praćene odloženom primarnom anastomozom ili razne varijante supstitucije jednjaka. Serija od 10 bolesnika sa atrezijom jednjaka velike distance čini oko 3,4% naših slučajeva atrezije jednjaka. Kod 8 (80%) bolesnika, inicijalno su otvorene gastrostoma i cervikalna ezofagostoma, a u drugom aktu radjena je supstitucija jednjaka: interpozicija kolona kod 4 (40%), transpozicija želuca kod 2 (20%), a reverzni gastrični tubus uradjen je kod 2 (20%) bolesnika. Odložena primarna anastomoza jednjaka uspešno je urađena kod 2 (20%) bolesnika.



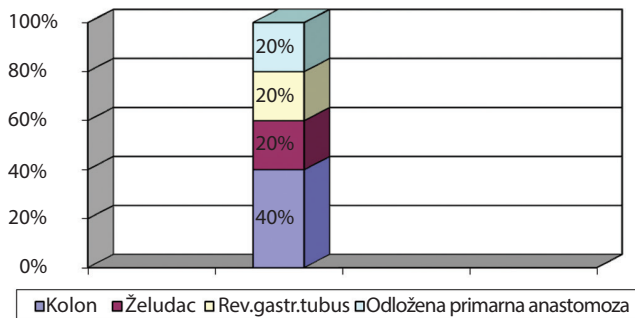
Slika 3. Primarna anastomoza sa identifikacijom i podvezivanjem traheozofagealne fistule kroz interkostalnu torakotomiju, ekstrapleuralnim pristupom

Fig.3. Primary esophageal repair with identification and ligation of tracheoesophageal fistula through extrapleural intercostal thoracotomy



Slika 4. Elongaciona procedura u pripremi za odloženu primarnu anastomozu (mesečno radiografsko merenje distance i intraoperativna cirkularna miotomija jednjaka po Livaditisu)

Fig.4. Elongation procedure in preparation for delayed primary esophageal repair (monthly radiografic distance measurement and intraoperative circular myotomy according Livaditis)

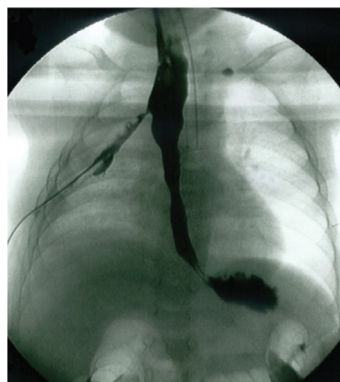


Slika 5. Ishod bolesnika sa atrezijom jednjaka velike distance (supstitucija jednjaka vs.odložena primarna anastomoza)

Fig.5. Outcome of „long-gap“ esophageal atresia (esophageal replacement vs. delayed primary repair)

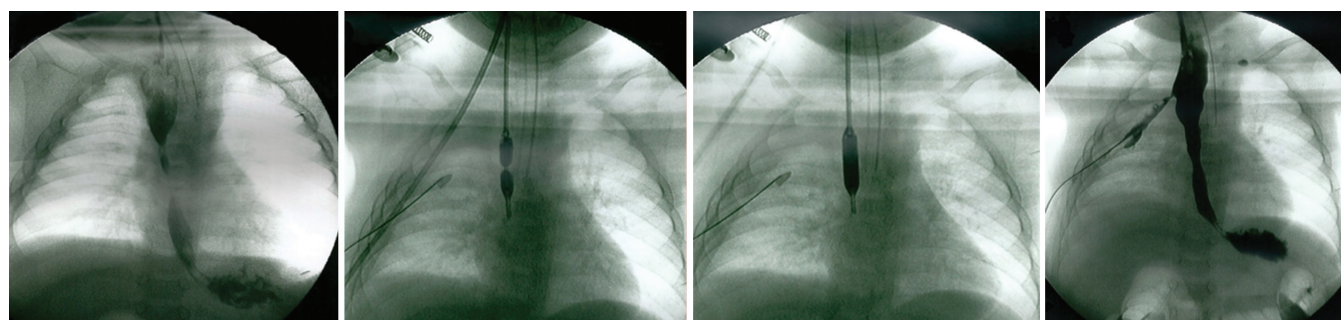
Broj postoperativnih komplikacija u nasoj seriji bolesnika lečenih u poslednjih deset godina se odnosi na disrupciju anastomoze po tipu manjeg anastomotičnog curenja u svega 3% slučajeva, a koje je prošlo na konzervativni tretman; po tipu većeg anastomotičnog curenja u 2% slučajeva od kojih je jedna nastala posle primarne anastomoze jednjaka sa izuzetno velikom distancom od preko 6 pršljenskih tela, a sanirana je konzervativnim tretmanom i druga posle zamene jednjaka gastričnim tubusom, koja je rešena drugom rekonstrukcijom jednjaka. Stenoza na mestu anastomoze postojala je takođe kod 7% bolesnika, što je rešeno bužiranjem kod 4 (4%) i balon dilatacijama kod 3 (3%) bolesnika, osim kod 1 (1%), kod koga je na kraju primenjen lokalni tretman mitomicinom C (28,35). Od kasnih komplikacija, simptomatski gastroezofagealni refluks potvrđen je u oko 10% naših bolesnika, uspešno je tretiran medikamentozno, osim u 3 (30%) slučajaja kada je rešen antirefluksnom hirurgijom.

Preživljavanje ovih bolesnika se menjalo kroz različite vremenske periode u kojima su lečeni. Tako da je od početka



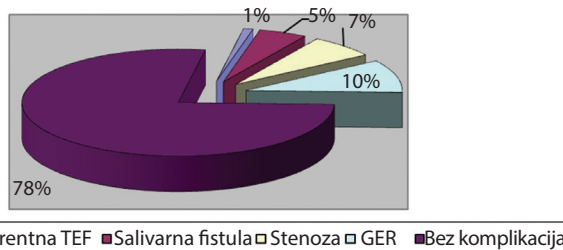
Slika 6. Disrupcija anastomoze jednjaka po tipu „minor leak“-a

Fig.6. Anastomotic leak after primary esophageal repair



Slika 7. Balon dilatacija postoperativne stenoz jednjaka na mestu anastomoze

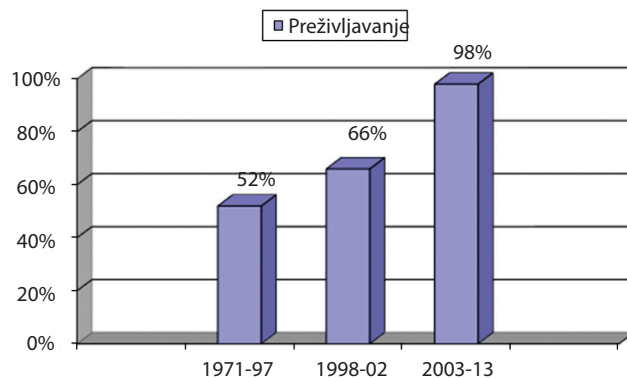
Fig.7. Balon dilatation of postoperative esophageal anastomotic stricture



Slika 8. Komplikacije hirurškog lečenja atrezije jednjaka kod bolesnika na UDK 1971-2013.

Fig.8. Postoperative complications after primary esophageal repair in patients at UCH 1971-2013

pa kroz period od 1971-1997. godine preživljavanje iznosilo svega oko 52%, u vremenskom periodu od 1998-2002. godine oko 66%, a za poslednjih deset godina od 2003-2013. godine preživljavanje naših bolesnika iznosi 98%.



Slika 9. Stopa preživljavanja u seriji bolesnika na UDK 1971-2013.

Fig.9. Survival rate in patients at UCH 1971-2013

DISKUSIJA

Prvi znaci koji se mogu otkriti prenatalno, najranije od 18. nedelje gestacije (n.g.), kao što su polihidramnion i mali ili odsutan želudac indirektno ukazuju na kongenitalnu atreziju jednjaka, dok jedini siguran znak, koji se od 32. n.g. može uočiti, znak slepog gornjeg okrajka jednjaka, u vidu anehogene formacije u vratu, definitivno, uz prethodne, potvrđuje prenatalnu dijagnozu (14). Ukoliko ona izostane, atreziju jednjaka treba prepoznati na samom rođenju, nemogućnošću plasiranja nazogastrične sonde, pre nego što se ona počne klinički ispoljavati pojavom penušavog sadržaja na ustima. U tom slučaju, na nativnoj radiografiji grudnog koša i abdomena, uočavaju se sigurni znaci atrezije jednjaka – vrh nazogastrične sonde u visini I-III torakalnog pršljena, kao i prisustvo gasa u želucu ukoliko je prisutna trahe-

ezofagealna fistula, odnosno odsustvo gasa u želucu i crevima ukoliko je tip atrezije jednjaka bez fistule (13).

U dijagnostici ove anomalije neophodno je njeno brzo prepoznavanje, kako bi se: adekvatnim pozicioniranjem novorođenčeta u uspravnom, gotovo sedećem položaju pod uglom od 45°, prevenirao refluks gastričnog sadržaja u pluća i nastanak hemijskog pneumonitisa; aktivnom sukcijom kroz dvolumensku sondu, predupredila aspiracija pljuvačke iz slepog gornjeg okrajka jednjaka, kao i da bi se u terapiju blagovremeno uveli intravenska nadoknada tečnosti i elektrolita, antibiotici, ali i lekovi za sprečavanje gastrične sekrecije: H₂ blokatori ili inhibitori protonske pumpe. Preporučuje se i preoperativna traheobronhoskopija u cilju dijagnostikovanja traheoezofagealne fistule, ali i detaljan skrining u pogledu traženja udruženih anomalija (13).

Hirurška intervencija nije hitna, sve dok su prethodno opisani uslovi ispunjeni, a parametri oksigenacije na mehaničkoj ventilaciji ne ukažu na stabilnu respiratornu funkciju, pod uslovom da je endotrahealni tubus plasiran tako da zatvori otvor fistule (12).

Poseban problem predstavlja atrezija jednjaka kod pre vremena rođene dece veoma male porođajne mase, manje od 1500 g, koja se zbog respiratornog distres sindroma nalaze pod visokim pritiscima gasova na mehaničkoj ventilaciji i kod kojih zbog toga, postoji opasnost od perforacije želuca. Otvaranje gastrostome obično pogoršava respiratornu funkciju zbog gubitka gasova. Zato je kod ove dece neophodna hitna hirurška intervencija zatvaranja traheoezofagealne fistule i otvaranja gastrostome, a tek kasnije, kada opšte stanje i stabilna respiratorna funkcija to dozvole odložena primarna anastomoza jednjaka (15,25,31).

Osnovni postulati hirurškog lečenja svode se na uspostavljanje kontinuiteta jednjaka i podvezivanje traheoezofagealne fistule, primarno u jednom aktu, ili etapno, uz podvezivanje fistule i otvaranje gastrostome u prvom, a odloženu primarnu anastomozu u dugom aktu (26).

Iako nefiziološka, fistula kontinuiranom trakcijom obezbeđuje adekvatan rast distalnog jednjaka, pa je kod ovog tipa atrezije uglavnom moguće kreiranje primarne anastomoze (3). Kada je anastomoza pod značajnom tenzijom koriste se miotomije gornjeg okrajka (cirkularne po Livaditisu ili spiralne po Kimuri) koje redukuju tenziju i do 50% i obezbeđuju dodatnih 0,5-1 cm dužine (16,20). Često se koristi i tubularizacija gornjeg jednjaka i kreiranje flapa (10).

Nasuprot njima, atrezije jednjaka bez fistule su uvek sa velikom distancom izmedju slepih krajeva jednjaka, a često i sa potpunim nedostatkom njegovog torakalnog dela, pa kao najteža forma čine vrhunski izazov u dečijoj hirurgiji. Javljuju se u manje od 10% svih slučajeva atre-

zije jednjaka (8). „Long-gap” ili atrezija jednjaka velikog zjapa je svaka atrezija sa insuficijentnom dužinom ili prevelikom distancom za pravu primarnu anastomozu. Iako je prilikom pristupa ovom problemu, najbitnije precizno izmeriti distancu, konsenzus oko definicije izražene brojem pršljenjskih tela, više od 3 ili 6, još uvek nije postignut i odluka je na subjektivnoj proceni hirurga (3).

Nemogućnost kreiranja primarne anastomoze razlog je višeetapnoj hirurgiji, koja se sprovodi kroz duži vremenski period (2). Istorijski gledano, tretman „long-gap” atrezija, podrazumevao je prvo otvaranje cervikalne ezofagostome i nutritivne gastrostome i naknadnu supstituciju jednjaka nekim od delova digestivnog tubusa. Nefiziološki i suboptimalni rezultati takvog lečenja razlog su opšte prihvaćenog mišljenja da ih ipak treba ostaviti kao krajnju varijantu i ukoliko naponi da se sačuva prirodni jednjak ne daju rezultat. Da bi se sačuvalo prirodni jednjak, a skratilo vreme hospitalizacije, razmatraju se različiti načini ubrzanja rasta jednjaka, pa se u tom smislu primenjuju razne elongacione procedure kao što su one po Kimuri, Livaditisu, Scharli ili Foker-u (1,5,17). Mada je trakcijom jednjaka na animalnom modelu, postignut porast ezofagealne mase uz očuvanje morfologije i bez oštećenja tkiva, sve pomenute elongacione procedure ipak imaju svoje nedostatke i ograničenja (21).

Međutim, kako su se refleksi gutanja i refluks gastričnog sadržaja u distalni jednjak, pokazali najboljim stimulusima za njegov spontani rast, a koji je maksimalan u prva 3 meseca života, tako se odložena primarna anastomoza, inaugurisana od strane Puri-ja još 1981. godine, nakon spontanog rasta jednjaka u trajanju od 3-5 meseci i dalje smatra najboljim rešenjem, najšire je prihvaćena i poželjna (27). Osnovni nedostaci ove tehnike su duga hospitalizacija, česte aspiracione pneumonije, bolničke infekcije i mala ekonomska isplativost, ali zadovoljavajući rezultati kod više od 80% pacijenata u smislu normalne peroralne ishrane i adekvatnog rasta i razvoja uz agresivan pristup gastroezofagealnom refluksu, sve navedene nedostatke stavljaju u drugi plan (9).

Mnogobrojnost tehnika ukazuje na nepostojanje idealnog rešenja, ali je prezervacija sopstvenog jednjaka pacijenta, ukoliko je moguća, uvek najbolja opcija (4,24,32). Da li će nove elongacione metode injekcijama botulinum toksina u zid slepih okrajaka jednjaka, a svakako i tkivni inženjering u nadoknadi nedostajućeg dela jednjaka imati značajno mesto u budućnosti, pokažeće vreme (19,34).

Komplikacije hirurškog lečenja atrezija jednjaka uobičajeno nastaju u jednom od četiri ključna momenta u samoj hirurškoj proceduri: prvi moment je adekvatna ligatura fistule; zatim, preparacija proksimalnog okrajka jednjaka koja sa sobom nosi opasnost od previdanja proksimalne traheoezofagealne fistule; potom preparacija distalnog okrajka jednjaka, koji je zbog specifične vaskularizacije,

uvek pod rizikom od nastanka ishemije, ali i oštećenja grana vagusa i ductus thoracicus-a, sa kojima je u intimnom kontaktu i na kraju, anastomoza jednjaka pod tenzijom je obično uzrok postoperativne stenoze jednjaka, kao najčešće komplikacije hirurškog lečenja (11). Inače stenoza, popuštanje anastomoze i rekurentna fistula, kao rane komplikacije hirurškog lečenja koje se javljaju prvih par nedelja posle operacije, više su posledica lošije hirurške tehnike, neadekvatnog hirurškog materijala, nedostatka hirurškog iskustva, ali i nepovoljne anatomije (29). Zato se preporučuje pažljiva hirurgija, uz veoma preciznu prezervaciju vaskularizacije, inkluziju mukoze u svaki šav, pravljenje posebnog tipa anastomoza koje nisu sklone stenoziranju, kao i upotreba specifičnog, monofilamentnog šavnog materijala (6,10,23).

Konzervativni tretman odnosno ekspektativni stav u gotovo svakom slučaju pojave ranih komplikacija, uz primenu medikamentozne, dilatacione ili druge adekvatne terapije su početak, uglavnom uspešnog lečenja. Salivarna fistula po tipu manjeg ili većeg curenja, kao posledica delimične dehiscencije šava na anastomozi javlja se u manje od 15% operisanih, obično od 4-7. postoperativnog dana pojavom salive, odnosno penušavog sadržaja u torakalnom drenu. Obično prolazi spontano za 1-6 nedelja uz intenzivan konzervativni tretman, koji podrazumeva primenu snažnih antibiotika, antiholinergika za smanjenje salivacije, totalnu parenteralnu ishranu i kontinuiranu, ponekad i aktivnu drenažu medijastinuma (22). U slučajevima većeg curenja sa razvojem nekontrolisane infekcije u medijastinumu i sepse, ili ukoliko ipak nema adekvatnog odgovora na konzervativni tretman, jedini izbor je reviziona hirurgija, čija je zahtevnost i složenost nesumnjiva, a krajnji ishod je često supstitucija jednjaka (33).

Postoperativna stenoza na mestu anastomoze javlja se u oko 20-40% slučajeva svih komplikacija operativnog lečenja atrezije jednjaka. U osnovi sva operisana deca imaju stenozu na mestu anastomoze, i mada se ona definiše kao suženje lumena jednjaka na manje od 5 mm, ona nije kod svih funkcionalno signifikantna, pa tada govorimo o relativnoj ili elastičnoj stenozu, koja u najvećem broju slučajeva prolazi na 1-2 ponavljane balon dilatacije ili bužiranja na mestu stenoze (28). Često može biti uzrokovana i postojećim gastroezofagealnim refluksom, što je čini refraktarnom na dilatacioni tretman. U tim slučajevima, danas se primenjuje endoskopska metoda lokalne intramuralne injekcije Mitomycin-a C u kombinaciji sa hirurškom anti-refluksnom procedurom (35).

Najozbiljnija komplikacija hirurškog lečenja atrezije jednjaka je rekurentna traheozofagealna fistula koja se javlja u oko 3-14% slučajeva. Obično se manifestuje par nedelja posle operacije, zagrcnjavanjem, gušenjem pri hranjenju i razvojem rekurentnih bronhopneumonija. Teško se dokazuje zbog velikog broja lažno negativnih rezultata, zbog čega je, ali i zbog mogućnosti neočekivanih intraoperativnih akcidenata, neophodna opsežna

i detaljna preoperativna dijagnostika. Lečenje je hirurško uz eventualnu interpoziciju vaskularizovanog perikardnog ali ne i nevaskularizovanog pleuralnog flapa.

S druge strane, gastroezofagealni refluks, traheomalacija i dismotilitet, kao kasne komplikacije, više su uzrokovane kongenitalnim abnormalnostima u samom zidu jednjaka, u smislu poremećene inervacije i peristaltike distalnog jednjaka, kao i strukturnom i funkcionalnom slabošću zida traheje, posebno u visini treheozofagealne fistule. Od značaja, posebno za razvoj gastroezofagealnog refluksa i dismotiliteta je i uticaj intraoperativne vagalne denervacije, skraćivanja intra-abdominalnog jednjaka i poremećaja Hisovog ugla (7). Gastroezofagealni refluks je najčešća komplikacija koja prati hirurško lečenje atrezije jednjaka u preko 40% operisanih, zbog čega se danas obavezno sprovodi terapija za smanjenje želudačne sekrecije najmanje 1-3 meseca nakon operacije i duže ukoliko je potrebno, a u slučaju komplikacija, perzistentne ili pojave refluksivne stenoze indikovana je i antirefluksna hirurgija, obično u manje od jedne trećine bolesnika sa simptomatskim gastroezofagealnim refluksom (18). Dismotilitet jednjaka, kao i traheomalacija u manjem ili većem stepenu prate svaku atreziju jednjaka. Na sreću one su prolaznog karaktera i dobro se tolerišu uz simptomatsku terapiju.

Rekonstrukcija, odnosno zamena jednjaka u dečijem uzrastu je najčešće indikovana u slučajevima atrezije jednjaka sa velikom distancom, posebno nedostajućeg grudnog dela jednjaka, u nedilatabilnim korozivnim stenozama jednjaka, a retko u specifičnim slučajevima, koji su posledica ozbiljnih postoperativnih komplikacija. Zbog kompleksnosti hirurške procedure i specifičnosti starosne dobi pacijenata rekonstrukcija jednjaka je veliki izazov za hirurge i anesteziologe. Relativno mali broj studija analizira kasne rezultate rekonstrukcije jednjaka kod dece, te još uvek nije potvrđena superiornost ni jedne od brojnih metoda koje stoje na raspolaganju. Rekonstrukcija celog ili jednog dela jednjaka se najčešće izvodi primenom segmenata digestivnog tubusa: transpozicijom celog ili tubulizovanog dela želuca, kolona, ileokolona, ili jejunuma. Anastomoza jednjaka i konduita može biti formirana na vratu ili u toraksu, a rane i kasne komplikacije na mestu anastomoze nisu retkost (11,30,34).

U uslovima naše zemlje, gde dečiji hirurzi nemaju prilike da steknu značajnije iskustvo u rekonstrukciji jednjaka raznim segmentima digestivnog trakta, stalno usavršavanje, unapređenje hirurške tehnike, kao i uvođenje novih operativnih i endoskopskih procedura u lečenju komplikovanih formi, postaje realnost i omogućava postizanje optimalnih rezultata lečenja (30,34).

Rezultate iz ranih '50. godina prošlog veka, kada je preživljavanje novorođenčadi sa atrezijom jednjaka u svetu bilo oko 50%, mi smo na našim prostorima dostigli oko dvadeset godina kasnije, ali od tada, lečenje atrezije jed-

njaka, veoma specifično i zahtevno, i uz poboljšanje opremljenosti, rada i organizacije jedinica intenzivnog lečenja, kao i tesne saradnje multidisciplinarnog tima lekara, postaje veoma uspešno i kod nas perspektivno, sa rezultatima koji dostižu rezultate svetskih studija i preživljavanjem bolesnika koje je danas gotovo stoprocentno (18).

ZAKLJUČAK

Sticanjem hirurškog iskustva u lečenju atrezija jednjaka, razvojem mera intenzivnog lečenja ovih bolesnika, kao i unapređenjem saradnje multidisciplinarnog tima lekara koji su angažovani u otkrivanju i lečenju ove anomalije, preživljavanje naših pacijenata za poslednjih deset godina unapređeno je do 98%, što je značajan uspeh s obzirom na dobar ishod hirurškog lečenja, mali broj postoperativnih komplikacija, kao i zadovoljavajući kvalitet života ovih bolesnika.

U zaključku se može reći i da se prikazane mogućnosti u pogledu načina otkrivanja, kao i uspeh operativnog lečenja urođenih atrezija jednjaka kod nas, sa posebnim naglaskom na celokupnu udruženu problematiku koja je prati, savremene modalitete lečenja najtežih formi ove malformacije, njihove komplikacije, kao i ishod ovih bolesnika u daljem postoperativnom toku, mogu sagledati i kao jedinstven doktrinarni stav, od faze otkrivanja i prenatalnog praćenja anomalije, do njenog uspešnog hirurškog zbrinjavanja.

NAPOMENA

Rad je usmeno izložen na mini simpozijumu Savremeni pristup otkrivanju i lečenju urođenih atrezija jednjaka na 43. simpozijumu Stremljenja i novine u medicini, Medicinski fakultet u Beogradu, 08.12.2014. godine.

Literatura

1. Abraham MK et al. A safer way of suturing in Foker's technique; J Ped Surg 2013; 48: 1819-21.
2. Ahmed Nasr, Jacob C Langer. Mechanical traction techniques for LG esophageal atresia: A critical appraisal; Eur J Pediatr Surg. 2013; 23(3):191-98.
3. Bagolan P, Valfrè L, Morini F, Conforti A. Long-gap esophageal atresia: traction-growth and anastomosis – before and beyond. Dis Esophagus 2013; 26: 372-79.
4. Bairdain S, Ricca R et al. Early results of an objective feed-back-directed system for the staged traction repair of LGEA; J Pediatr Surg 2013; 48: 2027-31.
5. Beasley S, Skinner A. Modified Scharli technique for the very long gap esophageal atresia; J Pediatr Surg 2013; 48(11):2351-3.
6. Catalana P et al. A simple technique of oblique anastomosis can prevent stricture formation in primary repair of EA. J Pediatr Surg 2012; 47: 1767-71.
7. Di Pace MR et al. Evaluation of esophageal motility and reflux in children treated for EA with the use of combined multichannel intraluminal impedance and pH monitoring; J Pediatr Surg 2011; 46: 443-51.
8. Foker J E, Linden B C, Boyl eEMJr et al. Development of a true primary repair for the full spectrum of esophageal atresia. Ann Surg 1997; 226:533-43.
9. Friedmacher F, Puri P. Delayed primary anastomosis for management of long-gap esophageal atresia: a meta analysis of complications and long-term outcome. Pediatr Surg Int 2012; 28:899-906.
10. Gough MH. Esophageal atresia – use of an anterior flap in the difficult anastomosis. J Pediatr Surg 1980; 15:310-11.
11. Hall N.J, Wyatt M, Curry J.I, Kiely E.M. A standardised investigative strategy prior to revisional oesophageal surgery in children: High incidence of unexpected findings. J Pediatr Surg 2013; 48:2241-46.
12. Hammer GB. Anesthesia for thoracic surgery. In:Cote CJ, Lerman J, Anderson. A practice of anesthesia for infants and children. Elsevier Saunders, Fifth ed. 2013, 277-90.
13. Holand A.J.A, Fitzgerald D.A. OA: current management strategies and complications. Paediatric Respiratory Reviews 2010; 11:100-7.
14. Houben CH, Curry J.I. Current status of prenatal diagnosis, operative management and outcome of esophageal atresia/tracheoesophageal fistula. Prenat Diagn 2008; 667-75.
15. Karl HW. Control of life threatening air leak after gastrostomy in an infant with respiratory distress syndrome and tracheoesophageal fistula. Anesthesiology. 1985; 62:670-2.
16. Kimura K, Nishijima E, Tsugawa C, Matsumoto Y. A new approach for the salvage of unsuccessful esophageal atresia repair: A spiral myotomy and delayed definitive operation. J Pediatr Surg 1987; 22:981-3.
17. Kimura K, Soper R T. Multistaged extrathoracic esophageal elongation for long gap esophageal atresia. J Pediatr Surg 1994; 29:566-8.
18. Koivusalo A.I. et al. Modern outcomes of EA. Single centre experience over the last twenty years. J Pediatr Surg 2013; 48:297-303.
19. Larsen, Heidi Fhær et al. Intramural injection with botulinum toxin significantly elongates the pig esophagus. J Pediatr Surg 2013; 48:2032-35.
20. Livaditis A, Bjorck G, Kangstrom LE. Esophageal myectomy. Scand J Thorac Cardiovasc Surg 1969; 3:181-5.
21. Lopes MF, Catre D, Cabrita A, Pires A, Patricio J. Effect of traction sutures in the distal esophagus of the rat: a model for esophageal elongation by Foker's method. Dis Esophagus 2008; 21(6):570-73.
22. Mathur Sh. et al. Novel use of glycopyrrolate (Robinul) in the treatment of anastomotic leak after repair of EA and TEF. J Pediatr Surg 2011; 46: E29-E32.
23. Melek M et al. New Technique in Primary Repair of Congenital Esophageal Atresia Preventing Anastomotic Stricture Formation and Describing the Opening Condition of Blind Pouch: Plus (“+”) Incision. Gastroenterology Reserch and Practice vol.2011; article ID 527323.
24. Nakahara Y et all: Modified Collis-Nissen procedure for long gap pure esophageal atresia. J Pediatr Surg 2012; 47(3):462-6.
25. Petrosyan M. et al. EA/TEF in VLBW neonatus: improved outcomes with staged repair, J Pediatr Surg 2009; 44:2278-81.
26. Pinheiro PFM et al. Current knowledge on esophageal atresia. World J Gastroenterol 2012; 28:3662-72.
27. Puri P, Blake N, O'Donnell B, Duincy EJ. Delayed primary anastomosis following spontaneous growth of esophageal segments in esophageal atresia. J Pediatr Surg 1981; 16(2):180-3.
28. Serhal L, Gottrand F, Rony S, Guimber D, Devos P, Bonneville M, Storme L, Turck D, Michaud L. Anastomotic stricture after surgical repair of esophageal atresia: frequency, risk factors, and efficacy of esophageal bougie dilatations. J Ped Surg 2010; 4:1459-62.
29. Sodhi KS, Saxena AK, Ahuja CK, Rao K, Menon P, Kandelwal N. Post-operative appearances of esophageal atresia repair: retrospective study of 210 patients with review of literature – what the radiologist should know. Acta Radiol. 2013; 54(2):221-5.
30. Spitz L. Gastric transposition in children. Semin Pediatr Surg 2009; 18:30-3.
31. Spitz L. Oesophageal atresia. Orphanet J Rare Dis 2007; 2:24.
32. Tamburri N, Laje P, Bognione M, Martinez-Ferro M. Extrathoracic esophageal elongation (Kimura's technique): a feasible option for the treatment of patients with complex esophageal atresia. J Pediatr Surg 2009; 44(12):2420-5.
33. Tannuri U et al. Which is better for esophageal substitution in children, esophagocoloplasty or gastric transposition? J Pediatr Surg 2007; 42:500-4.
34. Totonelli G, Maghsoudlou P, Fishman MJ, Orlando G, Ansari T, Sibbons P, Birchall AM, Pierro A, Eaton S, De Coppi P. Esophageal tissue engineering: A new approach for esophageal replacement. World J Gastroenterol 2012; 18(47): 6900-7.
35. Uhlen S, Fayoux P, Vachin F, Guimber D, Gottrand F, Turck D, Michaud L. Mitomycin C: An Alternative Conservative Treatment for Refractory Esophageal Stricture in Children. Endoscopy 2006; 38(4):404-7.

THE IMPORTANCE OF MICROSTRUCTURE OF THE MIDDLE EAR IN OTOSURGERY

ZNAČAJ MIKROSTRUKTURE UVA U OTOHIRURGIJI

Dragoslava Đerić^{1,2}, Nenad Arsović^{1,2}, Sribislav Blažić²

Summary

The purpose of this paper is to review important anatomical variations and relations in the middle ear that may occur on the human temporal bones. We presented findings of specimens that demonstrated morphological variations involved: the facial nerve canal, an internal carotid artery and upper jugular bulb and pointed out their clinical and surgical importance. The studies were performed on the large collection of the temporal bones (2000 temporal bone specimens) in our laboratory for anatomical and surgical examinations, over the period of many years. In our study the facial nerve dehiscence was commonly present just above the oval window, in about 65% of the specimens. The middle ear cavity is closely related to the internal carotid artery, which extends medially from the promontory. This part of the wall could be noticed since the carotid channel is always more or less protruded into the lumen of the tube. In some cases (2/150) we noticed a bone defect above the internal carotid artery up to the level of tympanic orifices. In 38 (25.3%) of the cases, we found that jugular bulb protruded into the cavum tympani, elevating its bottom. The absence of bone wall above the bulb, as well as its dehiscence, could make infection spread from the middle ear spaces more easily, thus possibly causing thrombophlebitis. A highly positioned jugular bulb in the cavum tympani could lead to difficulties in differential diagnosing. In cases with clinical symptoms of jugular foramen mass, it is important to make identification of an expanding process (cholesteatoma, paraganglioma, meningioma), but also the presence of vascular anomalies. CT scan of the temporal bone, performed before any ear surgery, is the main modality for identification of such anomalies and preventing possible insults.

Key word: anatomical variations, middle ear, otosurgery.

Sažetak

Cilj rada je da prikaže značaj anatomskih varijacija i odnosa srednjeg uva koje mogu da se jave na humanim temporalnim kostima. Prikazani su uzorci koji pokazuju morfološke varijacije na kanalu facijalnog živca, unutrašnjoj karotidnoj arteriji, i gornjem jugularnom bulbusu a ukazano je na njihov klinički i hirurški značaj. Studije su vršene na velikoj kolekciji temporalnih kostiju (2000 uzoraka temporalnih kostiju) u našoj laboratoriji za anatomsku i hiruršku ispitivanja, tokom više godina. U našoj studiji kanal facijalnog živca je često dehiscentan iznad ovalnog otvora, u oko 65% slučajeva. Srednje uvo je u bliskom odnosu sa unutrašnjom karotidnom arterijom, koja se pruža medijalno od promontorijuma. Ovaj deo zida se može uočiti kod manje ili veće protruzije u lumen tube. U nekim slučajevima (2/150) otkriven je defekt koštanog zida unutrašnje karotidne arterije u nivou timpanalnog otvora tube. Nađeno je da u 38 (25,3%) slučajeva, bulbus vene jugularis protrudira u kavum timpani uzdižući pod kavuma. Odsustvo koštanog zida iznad bulbusa, kao i dehiscencije, može da olakša širenje infekcije u prostore srednjeg uva, kao i pojavu tromboflebitisa. Visoko pozicioniran bulbus u kavum timpani stvara teškoće u diferencijalnoj dijagnozi. U slučajevima sa kliničkim simptomima mase jugularnog foramena, veoma je vazno da se identifikuje prošireni proces (holesteatom, paraganglioma, meningeoma), ali takođe i vaskularne anomalije. CT temporalne kosti, urađen pre otopirurške intervencije, predstavlja osnovni modalitet, za identifikaciju takvih anomalija kao i prevenciju eventualnog incidenta.

Ključne reči: anatomske varijacije, srednje uvo, otopirurģija.

INTRODUCTION

Having precise knowledge of anatomical variations and relations of the middle ear is very important for middle ear surgery to be safely performed and to improve its outcome. Success of an operation depends on identifying anatomical structures and relations in the operative field, but also on avoiding a potential surgical accident. The goals of temporal bone surgery depend on various factors such as: types of disease, surgical procedure, diagnostic methods, morphological factors, surgical experiences and others.

A new concept in otosurgery has been developed on the basis of anatomical studies with implications of different biomechanical methods. With advancement of microscope in the ear surgery, there is a renewed interest amongst otologists to study the microscopic anatomy. Background of microstructure and knowledge of various biomechanical aspects have had an influence on introducing many novel procedures in treating otologic diseases.

The purpose of this paper is to review important anatomical variations and relations in the middle ear that may occur on the human temporal bones. We presented findings of specimens that demonstrated morphological variations involved: the facial nerve canal, an internal carotid artery and upper jugular bulb and pointed out their clinical and surgical importance.

MATERIALS AND METHOD

The studies were performed on a large collection of temporal bones (2000 temporal bone specimens) in our laboratory for anatomical and surgical examinations, over the period of many years. From the collection we selected specimens with microscopic variations that might be significant in otosurgery. Methods used were anatomical and histological, and analyses were performed using a microscope. The temporal bone were harvested from cadavers and prepared by the standard method (fixed in 10% buffered formalin for 4 weeks, than decalcified in 5% nitric acid for 3 days, and finally rinsed with distilled water). The specimens were sectioned in different planes (frontal, horizontal, sagittal) and analyzed under operative microscope. Morphological variations were examined on various sections depending on anatomical structures. Significant findings were photographed.

RESULTS

FACIAL CANAL DEHISCENCE

The facial nerve is the most vulnerable structure in the middle ear during otologic surgery. In practice, we commonly performed tympano – mastoid surgery when treating middle ear diseases, and we have to keep in mind that occurrence of facial paralysis as a postoperative complication, may be a devastating consequence of surgery. Also, the appearance of facial palsy may have a considerable psychological impact owing to social isolation and serious problems. Because of this, having knowledge of surgical anatomy of the facial nerve is essential in middle ear surgery. An otologist who is inadequately familiar with the facial nerve usually has a tendency to do incomplete surgery or sometimes to avoid it. Preoperative evaluation of morphology, particularly the region of the oval window and the tympanic segment of the fallopian canal is very important for stapes surgery. A useful assessment may be done by CT that allows visualization of numerous anatomical structures.

The facial nerve transverse throughout the temporal bone within its bony canal called the fallopian canal. After leaving the geniculate ganglion, the facial nerve bends posteriorly forming its tympanic segment. The nerve then passes inferiorly bending above the oval window to form the mastoid segment. The second genu

is in the area between the oval window niche and pyramidal process where the nerve bends. The tympano-mastoid segment of the facial nerve shows variations in course and in its relation with various middle ear structures. Facial nerve dehiscence is a common anatomic variation that usually occurs in the tympanic segment above the oval window, but it is also encountered at the level of the geniculate ganglion and the mastoid segment adjacent to the surrounding pneumatic cells (1-3). Although anatomy of the facial nerve is known, each temporal bone can be surprising and make the otosurgeon face a less frequent or even unseen anomaly. Baxter A (1) reported that in 535 temporal bones in 55% of the facial nerves were dehiscence. Ninety-one percent were located in the tympanic segment and 9% in the mastoid segment. Among the cases of dehiscence in the tympanic segment, 83% were located adjacent to the oval window involving the lateral portions of the canal with the nerve protruding from its canal in 26%. Their diameter ranged from 0.5 to 3.1 mm. Other studies have described similar findings (4,5).

In our studied temporal bones, we found that in 45.5% of the cases, the upper wall of the oval window niche is formed by the prominence of the facial canal (over the tenth, the prominence partially covers the oval window). The facial nerve dehiscence was commonly present just above the oval window, in about 65% of the specimens. The area of dehiscence varied between 0.4 and 2.5 mm. In some cases, the lateral wall of the facial canal was very thin with exposition of the nerve trunks. That situation may predispose a prolepsis of the facial nerve trunk over the stapes footplate, and clinically cause a conductive hearing loss or shielding surgical access to the footplate. During the operation, if the surgeon does not pay enough attention to the place where the bony defects are frequently expected, an accidental injury may occur and consequently facial palsy. In that situation, the surgeon should decide as to modify a surgical technique to enhance footplate visualization. Haussler R et al. (6) performed 595 stapedotomies and found 40 cases (6.7%) where the facial nerve had an abnormal course. In 32 patients the nerve prolapsed over the oval window and in 8 of these, there was a total prolapse of the nerve over the oval window.

In middle ear infection, acute or chronic, the inflammatory process may involve the facial nerve at any point but it most commonly occurs in the tympanic segment. The main reason for this is the exposed facial nerve trunk due to dehiscence. A pathological process as granulation tissue or cholesteatoma is very often localized around the tympanic part of the facial nerve. However, degenerative changes in the facial nerve may be present without clinical impairment of its function. These changes may have a potential for developing facial paralysis during chronic otitis media (7).

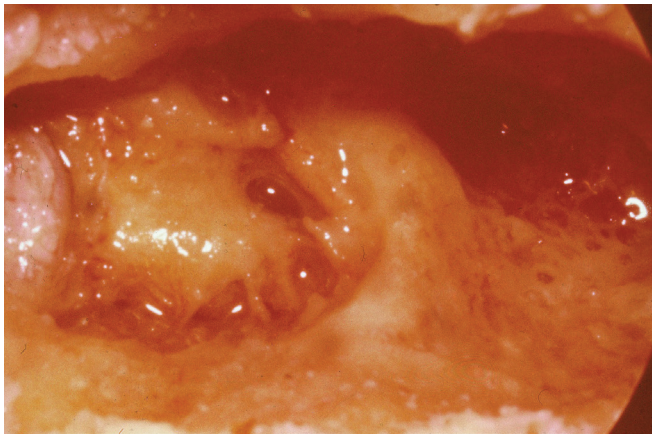


Figure 1. Horizontal section of the temporal bone. The prominence of the facial canal partially covers the oval window. Dehiscence on the internal carotid canal at the level of Eustachian tube.

CAROTID CANAL DEHISCENCE

The middle ear cavity is closely related to the internal carotid artery, extending medially from the promontory, i.e. it makes the anteromedial part of the inner wall of the Eustachian tube. This part of the wall could be noticed since the carotid channel always more or less protrudes into the lumen of the tube. The prominence is variable and in some cases (2/150) we noticed a bone defect above the internal carotid artery up to the level of tympanic orifices. The wall was completely present up to the level of tympanic orifice, but it was absent towards the lumen of the tube, so that the carotid was exposed directly into the lumen. The macroscopic prevalence of carotid canal dehiscence is low (2%), while the microscopic incidence is about 8%. The occurrence of an exposed artery must be kept in mind whenever a surgical intervention is undertaken in the region of anterior mesotympanum or Eustachian tube. Being familiar with the occurrence of a rare vascular anomaly such as an aberrant internal carotid artery (that internal carotid artery takes in an aberrant lateral course in the temporal bone) is very important in otosurgery. An aberrant internal carotid artery can mimic other middle ear diseases that may result in a misdiagnosis. An otologist should be aware of this potentially life – threatening anomaly because it may be obscured by a pathological process due to chronic otitis or other diseases. The symptoms and signs of aberrant internal carotid artery are often nonspecific and include hearing loss, positive tinnitus, and a retrotympanic mass behind the anterior-inferior part of the membrane. It can mimic various pathological lesions, such as glomus tumors, dehiscent jugular bulb, cholesterol granuloma, petrous carotid aneurysms, hemangioma and others (8-10).

A CT scan of the temporal bone, performed before any ear surgery, is the main modality for identifying such anomalies. It is important to prevent a possible insult (aural bleeding and serious consequences which are potentially life threatening) during a surgical procedure.

In the case of chronic middle ear infection or to reduce tinnitus, however, a surgical treatment is indicated, including covering the aberrant vessel with bone and soft tissues or trimming the handle that touches the exposed carotid artery. Therefore, the benefit of the surgery must be debated against the risk of possible consecutive neurological disorders and serious bleeding complications.

A HIGH JUGULAR BULB AND DEHISCENCE

The middle ear cavity is closely related to the upper bulb of the internal jugular vein that lies under the hypotympanic base. A variable anatomy of the jugular bulb is not rare and is usually manifested as a high jugular or dehiscent bony wall. A high jugular bulb refers to a superior location of the bulb that brings it into contact with structure in the hypotympanum and mesotympanum. Often a high jugular bulb is incidentally found on otoscopic examination. Clinically, blush discoloration at the poster inferior quadrant of the tympanic membrane may raise the suspicion of a high jugular bulb. If the bulb extends laterally to the tympanic membrane, clinically, it may cause positive tinnitus or conductive hearing loss, whereas when extending more medially, sensorineural hearing loss or vertigo may be present. The frequency of a high jugular bulb varies between 6% and 34% (11, 12).

In our studied cases, there were 38 (25.3%) of the 150 temporal bones (25,3%), where jugular bulb protruded into the cavum tympani, elevating its bottom. This prominence could be pronounced as follows: in 10 out of 38 (26.3%) samples, in which we determined that the bulb protruded into the cavum tympani, bulb's prominence was slightly pronounced, situated only in the medial portion of the hypotympanum, not expanding the level of the lower annulus tympanicus. In other 25 cases (65,9%) the bulb's prominence extended above the lower annulus tympanicus, reaching the stylomastoid prominence while in 3 out of 38 (7,8%) cases the bulb had a high position, thus filling the hypotympanum and closing the lower half of the round window niche.

In cases of prominent bulbus, the thickness of the bone wall that separates it from the cavum tympani is 1.2 mm, on average, ranging to 3,5 mm. Usually, this wall thickness ranges from 1 to 2 mm, is rarely of paper consistency and even more rarely 2.5–3.5 mm, and in 2 cases the bone wall was entirely absent. In 2 out of 38 cases with prominent bulbus, the bone wall was absent. A highly positioned jugular bulb in the cavum tympani could lead to difficulties in differential diagnosing glomus jugular tumors. An exact diagnosis is sometimes made not later than ear exploration.

These anatomical variations are considered important for middle ear surgery for many reasons. They are usually recognized by the appearance of heavy hemorrhage

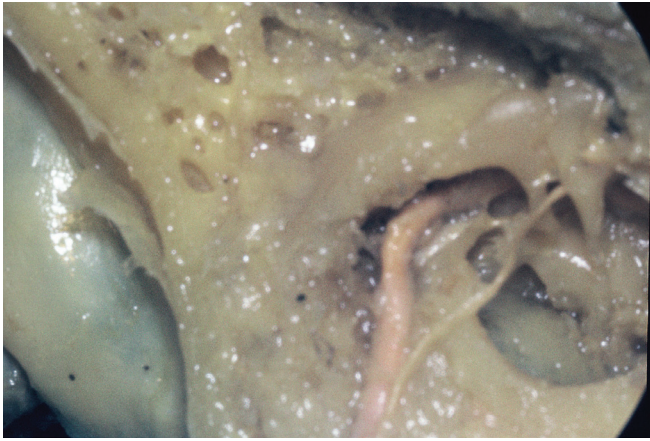


Figure 2. Horizontal section of the temporal bone. A high position of the jugular bulb and dehiscence of bone wall

during surgery in this area. Huang R. et al. (11) reported that dehiscent high jugular bulb was proven in 10 out of 1657 patients who underwent surgical interventions for middle ear cleft disease. The absence of bone wall above

the bulb, as well as its dehiscence, could make infection spreading from the middle ear spaces easier, thus possibly causing thrombophlebitis. A highly positioned jugular bulb in the cavum tympani could lead to difficulties in differential diagnosing glomus jugular tumor. In cases with clinical symptoms of jugular foramen mass, it is important to make identification of an expanding process (cholesteatoma, paraganglioma, meningioma), but also presence of vascular anomalies, such as enlarged jugular bulb or aberrant internal carotid artery.

NAPOMENA:

Rad je usmeno izložen na mini simpozijumu povodom 90 godina Klinike za otorinolaringologiju i maksilofacijalnu hirurgiju – Savremena shvatanja u mikrohirurgiju uva na 43. simpozijumu Stremljenja i novine u medicini, Medicinski fakultet u Beogradu, 10.12.2014.

References

1. Baxter A.: Dehiscence of the Fallopian canal: an anatomical study. *J Laryngol Otol* 1971, 85:587-594
2. Aslan A., Mutlu C., Celik O., Govsa F.: Surgical implications of anatomical landmarks on the lateral surface of the mastoid bone. *Surg radiol Anat.* 204, 26:263-267
3. Maru N., Cheita A., Mogoanta A., Prejoianu B.: Intratemporal course of the facial nerve: morphological, topographic and morphometric features. *Rom J Morphol Embryol.* 2010, 51:243-248
4. Takahashi H., Sando I.: Facial canal dehiscence. *Ann Otol Rhinol*, 1992, 101:925-930
5. Nilssen E., Wormald P.: Facial nerve palsy in mastoid surgery. *J Laryngol Otol* 1997, 11:113-116
6. Ballester M., Blaser B., Hausler R.: Stapedotomy and anatomical variations of the facial nerve. *Rev Laryngol Otol Rhinol* 2000, 121:181-186
7. Djerić D.: Neuropathy of the facial nerve in chronic otitis media without associated facial paralysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1990, 247:232-236
8. Alharethy S.: Aberrant internal carotid artery in the middle ear. *Ann Saudi Med.* 2013, 33:194-196
9. Moreano E., paparella M., Zelterman D., Goycoolea M.: Prevalence of carotid canal dehiscence in the human ear > a report of 1000 temporal bones. *Laryngoscope* 1994, 104:108-110
10. Moon S., Lee W.S.: Internal carotid artery in the middle ear. *N Engl J Med.* 2014, 371:120
11. Huang R., Young H.: Dehiscent high jugular bulb: A pitfall in middle ear surgery. *Otol Neurotol.* 2006, 27:923-927
12. Hourani R., Carey J., Yousem M.: Dehiscence of the jugular bulb and vestibular aqueduct: Findings on 200 consecutive temporal bone computed tomography scans. *J Comput Assist Tomogr.* 2005:29:657-662
13. Weiss L., Zahtz G., Parnens H., Shikowitz J.: High jugular bulb and conductive hearing loss. *Laryngoscope* 1997, 107:321-327

RISK OF TRAVELING BY PLANE IN PATIENTS WITH RESPIRATORY SYSTEM DISEASE

RIZIK OD PUTOVANJA AVIONOM BOLESNIKA SA OBOLJENJIMA RESPIRATORNOG SISTEMA

Dragica Pešut^{1,2}, Ljudmila Nagorni Obradović^{1,2}, Vladimir Žugić^{1,2}, Marina Roksandić Milenković^{1,2}, Branislava Milenković^{1,2}

Summary

In an attempt to meet desires and needs of the patients with pulmonary diseases who plan to travel by air craft, physicians might face complex problems. They are expected to estimate individual risk and need of oxygen supplementation that might be necessary. Sometimes, these patients are a source of infection to other passengers. Some international air travel guidelines offer precise and mandatory conditions, which should be fulfilled during the flight in case such a patient has to travel. Thus, patients with drug resistant tuberculosis are not permitted to travel at all, while all the other patients with pulmonary tuberculosis and other air born infections should not travel during the infectious period. Recent or uncured pneumothorax and hemoptysis are contraindications for travelling. Other patients with pulmonary diseases, especially those with manifested respiratory insufficiency should respect the rules, which include contacting air travel company prior to flight, sharing information about their health condition and asking for details on possibilities of oxygen supplementation while on board, current voltage, and availability of plugs in the cabin where the devices for respiratory support might be put in, etc. A possibility of hypoxia during the flight is an important individual risk. Methods of hypoxia prediction and possibilities of oxygen supplementation in air craft cabin are in focus of current research.

Key words: *respiratory system; disease; travel; air craft; high altitude; risk; regulation, oxygen.*

Sažetak

U odgovoru na želje i potebe plućnih bolesnika za putovanjem avionom, lekari se katkad susreću sa kompleksnim problemima. Od njih se očekuje da procene individualni rizik i potrebu za obezbeđivanjem nadoknade kiseonika ovim bolesnicima. Neke od međunarodnih smernica iz oblasti vazduhoplovnog saobraćaja preciziraju uslove putovanja za obolele. Katkad ovi bolesnici predstavljaju izvor zaraze za druge putnike. Tako, nije dozvoljeno putovanje obolelima od rezistentne tuberkuloze, odnosno, svim obolelima od tuberkuloze i drugih zaraznih respiratornih bolesti u periodu zaraznosti. Apsolutno je kontraindikovano putovanje obolelima od skorašnjeg ili nesanimiranog pneumotoraksa i onima sa hemoptizijama. Ostali plućni bolesnici, a naročito oni sa već ispoljenom respiracijskom insuficijencijom treba da se pridržavaju pravila koja podrazumevaju stupanje u vezu sa aviokompanijom pre leta, obaveštavanje o svom zdravstvenom stanju i informisanje o mogućnostima nadoknade kiseonika tokom leta, naponu struje i priključcima u letilici gde bi aparat za potporu disanja tokom putovanja trebalo da bude priključen i drugo. Kako se značajan individualni rizik pri letu avionom svodi na mogućnost nastanka hipoksije, poseban deo istraživanja u ovoj oblasti posvećen je savremenim metodama predviđanja hipoksije i mogućnostima nadoknade kiseonika tokom boravka u avionskoj kabini.

Ključne reči: *respiratorni sistem; bolest; putovanje; avion; velika nadmorska visina; rizik; propisi; kiseonik*

Uvod

Oko 2,75 milijarde ljudi u svetu godišnje koristi avionski saobraćaj kao najbrži vid prevoza (1). Produženje životnog veka, bolja prosvetlost ljudi i sve veća dostupnost avionskog saobraćaja, povećali su broj putnika starijeg životnog doba, a samim tim i putnika sa različitim hroničnim bolestima. Među njima, sve češći su i putnici oboleli od različitih bolesti respiratornog sistema, pa i oni koji koriste dugotrajnu oksigenoterapiju (DOT)(2). Uslovi koji vladaju u avionskoj kabini tokom leta, mogu da utiču na zdravstveno stanje ovih bolesnika. Zbog izmenjene fiziologije disanja na velikoj nadmorskoj visini, uobičajena adaptacija, kakva postoji kod zdravih osoba, nekada nije dovoljna kod onih koji već imaju respiracijsku insuficijenciju ili su pod rizikom da je razviju.

Razmatranje značaja procene rizika za putovanje avionom plućnih bolesnika koje sledi ne obuhvata vazdušni medicinski transport bolesnika, koji se, obično, izvodi helikopterima za tu namenu na nadmorskoj visini koja je neuporedivo manja u odnosu na visinu na kojoj se odvija vazduhoplovni saobraćaj komercijalnim letovima. Dok helikopter za medicinski transport obično ne prelazi visinu od oko 1500 m, komercijalni avionski saobraćaj se odvija na visinama koje mogu veoma da variraju od 8000 –10000 m i više. Zato za medicinski transport helikopterom, praktično, nema kontraindikacija a rizik od putovanja avionom na komercijalnim letovima, koje zahteva adaptaciju organizma usled pritiska u avionskoj kabini (ekvivalentan barometarskom pritisku na visini od oko 1800 – 2400 m nadmorske visine pa i ve-

ćem), treba da se razmotri u svakom pojedinom slučaju (3). Najčešće bolesnici sa hroničnim plućnim bolestima kao što su hronična opstruktivna bolest pluća (HOBP), bronhiektazije i druge, pitaju lekare da li je putovanje avionom bezbedno za njih. Ukoliko već imaju respiracijsku insuficijenciju, strepe da bi putovanje avionom moglo dodatno da pogorša njihovo zdravstveno stanje. I zaista, ukoliko pilot proceni da je neophodno, maksimalno povećanje visine leta može da bude toliko da pritisak u kabini ogovara onom na nadmorskoj visini od 3000 m. Tada pogotovu, efikasnost aktiviranih adaptacionih mehanizama kod bolesnika sa oboljenjima respiratornog sistema može da bude nedovoljna.

Kako se značajan individualni rizik pri letu avionom svodi na mogućnost nastanka hipoksemije i sledstvene hipoksije, poseban deo istraživanja u ovoj oblasti posvećen je savremenim metodama predviđanja ovih stanja i mogućnostima nadoknade kiseonika tokom boravka u avionskoj kabini. Katkada oboleli može da predstavlja izvor zaraze za druge putnike u kabini (4-6). Postupak sa ovakvim bolesnicima kao i ukupne mere predostrožnosti pre planiranog putovanja avionom bolesnika sa oboljenjima respiratornog sistema, kao i postupci posle putovanja, regulisani su propisima (4).

FIZIOLOGIJA DISANJA NA VELIKOJ NADMORSKOJ VISINI

Pod velikom nadmorskom visinom uglavnom se podrazumevaju mesta iznad 3000 m, a pod ekstremno velikom nadmorskom visinom mesta iznad 6000 m. Fiziologija disanja na tim visinama prolazi kroz adaptacione promene koje se nazivaju aklimatizacija. Osnovni uzrok potrebe za aklimatizacijom je hipoksemija izazvana smanjenim parcijalnim pritiskom kiseonika u vazduhu ($P_A O_2$), što je posledica pada atmosferskog pritiska sa povećanjem visine. Iako se koncentracija kiseonika u atmosferskom vazduhu ne smanjuje sa povećanjem nadmorske visine, parcijalni pritisak kiseonika se smanjuje zbog smanjenja atmosferskog pritiska (7), ali i povećanja parcijalnog pritiska vodene pare u vazduhu (sa 6% na nivou mora na 19% na ekstremno visokim nadmorskim visinama).

Osnovni odgovor organizma na smanjeni $P_A O_2$ je hiperventilacija zbog stimulacije perifernih hemoreceptora, posebno u karotidnim telima (8). Hiperventilacija, sa svoje strane, dovodi do hipokapnije i respiratorne alkalozije, koja se ubrzo koriguje povećanom ekskrecijom bikarbonata bubrezima. Akutni odgovor na hipoksemiju velikih visina je značajan porast ventilacije tek kada parcijalni pritisak kiseonika u arterijskoj krvi ($P_a O_2$) padne ispod 7 kPa. Nije jasan mehanizam ovakvog usporenog odgovora ventilacije na akutnu hipoksemiju izazvanu padom parcijalnog pritiska kiseonika u atmosferskom

vazduhu. Mogući mehanizam je hipoksemijom stimulirano povećanje cirkulacije likvora, što sa svoje strane dovodi do smanjena ekstracelularnog parcijalnog pritiska ugljen-dioksida (PCO_2) u mozgu i smanjenja pH oko hemoreceptora u produženoj moždini. Posle aklimatizacije, ventilacija je značajno povećana i pri normalnim vrednostima (PaO_2). Na velikim nadmorskim visinama dolazi i do značajno povećanog ventilatornog odgovora na hiperkapniju. Naime, i normalne vrednosti PCO_2 na nivou mora dovode do značajne stimulacije ventilacije (9). Mehanizam ventilatornog odgovora na PCO_2 pri velikim nadmorskim visinama je, takođe nejasan, ali se pretpostavlja da se radi o homeostatskom podešavanju ekstracelularnog pH u mozgu, verovatno usled povećane ekskrecije bikarbonata bubrezima, aktivnog transporta bikarbonata i povećane sekrecije mlečne kiseline.

Smanjeni parcijalni pritisak kiseonika u vazduhu, kao i povećan parcijalni pritisak vodene pare dovode do smanjenog parcijalnog pritiska kiseonika u alveolama. Tako je alveolarni $P_A O_2$ na oko 6000 m nadmorske visine oko 6-7 kPa, naspram 12-13 kPa na nivou mora (10). S obzirom na to da je difuzija kiseonika u plućima direktno proporcionalna gradijentu parcijalnog pritiska kiseonika između alveola i plućnih kapilara (gradijent $P_A O_2 - P_a O_2$), jasno je da je i difuzija na velikim nadmorskim visinama značajno smanjena, prvenstveno pri naporu, a na ekstremno velikim nadmorskim visinama i u miru. Drugi faktori od kojih zavisi difuzija kiseonika u plućima su praktično nepromenjeni na bilo kojoj nadmorskoj visini (11).

Na velikim nadmorskim visinama dolazi do blagog smanjenja vitalnog kapaciteta zbog, takođe, blagog slabljenja snage respiracijske muskulature, dok protoci kroz disajne puteve nisu smanjeni i pored slabosti respiratorne pumpe zahvaljujući smanjenju gustine vazduha.

Kardiovaskularni odgovor na veliku nadmorsku visinu je plućna vazokonstrikcija izazvana hipoksemijom i hipoksijom tkiva. Plućna vazokonstrikcija, zajedno sa refleksnom tahikardijom i povećanim sistolnim volumenom, dovodi do prolazne plućne hipertenzije koja retko ima klinički značaj, ali može da se manifestuje pri većoj fizičkoj aktivnosti neaklimatizovanih osoba.

Svi navedeni mehanizmi u roku od nekoliko dana dovode do aklimatizacije osobe koja živi na nižim nadmorskim visinama. Međutim, u određenom, ne tako malom broju slučajeva, dolazi do akutnih poremećaja zdravstvenog stanja kod onih osoba koje nisu aklimatizovane. U te poremećaje spadaju akutna visinska bolest i njen teži oblik akutni edem mozga, kao i akutni plućni edem.

AKUTNA PLANINSKA BOLEST

Akutna planinska bolest (*eng.* acute mountain sickness – AMS) predstavlja poremećaj zdravstvenog stanja prilikom naglog penjanja na velike nadmorske visine, obično posle 6-12 sati. AMS je posledica akutne hipoksemije i akutnog blagog edema mozga i manifestuje se glavoboljom, mučninom, malaksalošću, povraćanjem i nesanicom. Teži oblik AMS naziva se edem mozga velikih visina (*eng.* high-altitude cerebral edema – HACE) i manifestuje se akutnim težim poremećajem svesti, sve do razvoja kome. U najtežim slučajevima dolazi i do smrtnog ishoda zbog hernijacije mozga. Patogeneza nije sasvim jasna, ali se pretpostavlja da se radi o povećanoj cirkulaciji likvora zajedno sa poremećajem distribucije tečnosti usled hipersekrecije aldosterona i antidiuretskog hormona (12). Lečenje se sastoji od hitne primene kiseonika, hitnog spuštanja na niže nadmorske visine, primene acetazolamida i deksazona.

NEKARDIOGENI PLUĆNI EDEM

Nekardiogeni plućni edem (*eng.* high-altitude pulmonary edema – HAPE) nastaje zbog izražene i neravnomerno raspoređene plućne vazokonstrikcije sa posledičnom hiperperfuzijom delova pluća koja nisu zaštićena vazokonstrikcijom. Povećan plućni kapilarni pritisak dovodi do eksudacije tečnosti u alveolarne prostore i nastanka edema (13). Klinički, u blažim oblicima, manifestuje se suvim kašljem i dispnejom pri uobičajenom naporu, a u težim, dispnejom u miru, iskašljavanjem ružičastog sputuma, tahikardijom i cijanozom. Na radiografiji toraksa tipičan je izgled zastoynih promena u plućnom parenhimu uz normalnu veličinu srčane senke. U većini slučajeva, primena kiseonika i spuštanje na niže nadmorske visine dovoljni su za izlečenje HAPE. U težim slučajevima, primena nifedipina, uz prethodno navedene mere, dovodi do smanjenja plućnog edema. Diuretici i morfin nisu efikasni.

KONTRAINDIKACIJE ZA PUTOVANJE AVIONOM, SMERNICE I MEĐUNARODNI PROPISI

Iz navedenih razloga, putovanje avionom obolelih od bolesti respiratornog sistema može da predstavlja rizik od pogoršanja postojećeg stanja ili rizik po život bolesnika. Zato je apsolutno kontraindikovano putovanje obolelima od nesaniranog ili skorašnjeg *pneumotoraksa*, bilo da se radi o spontanom pneumotoraksu ili onom iza hirurške intervencije i drugih stanja. Osim u retkim izuzecima, ovi bolesnici ne bi smeli da putuju avionom pre učinjene drenaže i reekspanzije pluća. Ukoliko je prošlo nedelju dana od stabilizovane reekspanzije pluća dokazane radiografski, putovanje može da se ostvari bez opasnosti (3, 14). Međutim, ukoliko postoji utvrđena plućna bolest u osnovi pneumotorak-

sa, rizik od ponovnog pneumotoraksa je veći ukoliko osoba putuje avionom. Ovaj rizik se održava narednih godinu dana od pneumotoraksa (15).

Rizik po život bolesnika, odnosno, opasnost od pogoršanja stanja postoji i kod bolesnika sa *hemoptizijama*, a u svakom slučaju i kod onih bolesnika koji imaju potrebu za kiseoničnom terapijom od 4l/min i više na nivou mora. Za ostale bolesnike sa hroničnim plućnim bolestima važi pravilo da se putovanje odlaže u slučaju *egzacerbacije bolesti*, pre putovanja ulože svi naponi ka poboljšanju stanja i popravljajući eventualne postojeće hipoksemije uz procenu rizika od nastanka hipoksemije za vreme putovanja na velikoj nadmorskoj visini.

PUTNICI KAO IZVOR RESPIRATORNE INFEKCIJE

Bolesnici koji mogu da predstavljaju izvor zaraze za druge putnike, ne treba da putuju u fazi zaraznosti. Transmisija zaraznih bolesti koje se prenose putem vazduha među ljudima koji borave u zatvorenom prostoru kakve su avionske kabine, uvek je bila poseban predmet interesovanja zdravstvenih radnika i javnosti uopšte, posebno u sezoni godišnjih odmora i putovanja do udaljenih odredišta. Od početka 1990-ih godina do danas, veliku pažnju su izazvale tuberkuloza i, posebno, SARS (*eng.* Severe Acute Respiratory Syndrome, teški akutni respiratorni sindrom) 2003, jer se radilo o smrtonosnoj bolesti nepoznatog uzroka (6).

Rizik od zaraze zavisi od koncentracije infektivnog agensa u vazduhu, dužini izloženosti izvoru zaraze i individualne prijemčivosti za bolest (16). Rizik od prenošenja infekcije vazduhom pri boravku u avionskoj kabini je veoma mali i ograničen je na one putnike koji su bili u sasvim bliskom kontaktu sa obolelim ili/i bližem kontaktu: putnici u istom redu ili dva reda ispred i iza reda u kojem je zaradni bolesnik (4,6,17). U slučaju da poletanje kasni više od 30 minuta, neophodno je da se obezbedi adekvatna ventilacija radi smanjenja koncentracije potencijalnih zaraznih jezgara u vazduhu. Ovo je regulisano međunarodnim pravilnikom (4). Nema dokaza da recirkulacija vazduha u kabini olakšava prenošenje zaraze.

MEĐUNARODNE SMERNICE

Oboleli od plućne tuberkuloze (zaradni) ne treba da putuju na redovnim linijama putničkog saobraćaja dok ne prođe najmanje dve nedelje propisne terapije antituberkuloticima. Oni koji imaju multirezistentnu tuberkulozu ne treba da putuju dok se ne dokaže da nisu zarazni (negativnim rezultatom kulture sputuma), što može da znači znatno odlaganje putovanja (4). Do sada je zaraza bacilom tuberkuloze dokazana samo na letovima koji su trajali duže od osam sati. Poznavanje regionalne i

globalne epidemiologije plućnih bolesti koje se prenose respiratornim putem veoma je važno. Međunarodne smernice SZO o zdravlju i međunarodnim letovima ukazuje na mnoge od mikrobioloških uzročnika respiratornih infekcija, njihovu geografsku distribuciju i rizik od prenošenja u zavisnosti i od obavezne imunizacije koja se izvodi u pojedinim zemljama. Tako su pod rizikom od zaraze bakterijom *Haemophilus influenzae* type b (Hib) pri putovanju avionom nevakcinisana deca a naročito ona starosti do pet godina. Poznato je da ova bakterija godišnje izazove 7-8 miliona slučajeva pneumonije i meningitisa sa stotinama hiljada smrtnih ishoda, uglavnom u zemljama u razvoju, dok je bolest, praktično, iskorenjena u zemljama u kojima se vakcinacija Hib kod dece sprovodi (4).

Neke od međunarodnih smernica iz oblasti vazduhoplovnog saobraćaja preciziraju uslove putovanja za obolele. Tako, nije dozvoljeno putovanje obolelima od rezistentne tuberkuloze, a svim obolelima od plućne tuberkuloze u periodu zaraznosti (4,6). Svi ostali plućni bolesnici a naročito oni sa respiracijskom insuficijencijom treba da se pridržavaju pravila koja podrazumevaju stupanje u vezu sa aviokompanijom pre leta, obaveštavanje o svom zdravstvenom stanju i informisanje o mogućnostima nadoknade kiseonika tokom leta, naponu struje u priključcima letilice gde bi aparat za potporu disanja tokom putovanja trebalo da bude priključen i drugo.

METODE ZA PREDVIĐANJE HIPOKSIIJE

Da bi se procenio rizik od hipoksije kod bolesnika sa bolestima respiratornog sistema, osmišljene su različite metode za predviđanje hipoksije. Jedna od njih je udisanje hipoksične smeše gasova, a naziva se "hipoksični izazov". Tokom izvođenja ovog testa, imitira se vrednost parcijalnog pritiska kiseonika u arterijskoj krvi (P_aO_2) prilikom putovanja avionom (18). Druga mogućnost ispitivanja je korišćenje hipobaričnih komora, ali se one, uglavnom, ne koriste za rutinsku procenu kod bolesnika, već češće u istraživačke svrhe. Nedostatak ove metode je što su komore glomazne i što bolesnici u njima mogu da dobiju klaustrofobiju. Ispitivanja, sprovedena i kod zdravih osoba i kod bolesnika sa stabilnim stanjem hronične opstruktivne bolesti pluća (HOBP), pokazala su da nije bilo razlika u rezultatima za predviđanje hipoksije između metode udisanja hipoksične smeše i metode hipobarične komore (19).

Na osnovu sprovedene meta-analize publikovanih radova u vezi sa različitim metodama za predviđanje hipoksije, donesena je preporuka da se kod bolesnika sa stabilnim stanjem HOBP u ispitivanje uključi merenje forsiranog ekspiratornog volumena u prvoj sekundi (FEV_1) kao i P_aO_2 na nivou zemlje (20).

U većini studija su za merenje P_aO_2 analizovani gasovi u arterijskoj krvi i na taj način posmatran stepen nedostatka kiseonika. Analiza kiseonika u arterijskoj krvi jeste zlatni standard za određivanje hipoksemije, ali se ovaj postupak svrstava u grupu agresivnih ispitivanja. Takođe, metoda je zahtevna jer podrazumeva analizu neposredno posle uzimanja uzorka krvi. Zato se korišćenje pulsno oksimetra za procenu nedostatka kiseonika u krvi preporučuje kao jednostavnija metoda koja nije agresivna i koja bi mogla da bude alternativa gasnim analizama arterijske krvi.

Bolesnici lekarima postavljaju i pitanja da li dužina leta može da utiče na pojavu zdravstvenih tegoba usled hipoksije. Većina hipoksičnih izazova se koristila za kliničku procenu bolesnika dok putuju avionom u trajanju od oko 30 minuta jer se pretpostavljalo da je to vreme dovoljno za fiziološke promene koje bi mogle da se dese u organizmu. Tako je ispitivana pojava hipoksije kod bolesnika sa cističnom fibrozom na niskoj nadmorskoj visini (530 m) kao i posle 7 sati leta avionom na većoj nadmorskoj visini (2650 m)(21). Izmerene vrednosti su pokazale blagi stepen hipoksije ali nije uočeno pogoršanje tokom produženja vremena putovanja. Jedna druga studija je, pak pokazala da je dužina leta važan faktor koji treba da se uzme u obzir, a pojava mogućih respiratornih simptoma je povezana sa letovima koji su trajali preko tri sata (2, 22). Većina upozoravajućih podataka u vezi sa mogućom hipoksijom tokom putovanja avionom odnose se na bolesnike sa HOBP. Inače, s obzirom na visoku prevalenciju ove bolesti, oboleli od HOBP spadaju u najčešće putnike avionom u odnosu na sve druge plućne bolesnike (18).

Savetuje se da bolesnici koji imaju težak oblik plućne bolesti a ne koriste kiseoničnu terapiju prođu testove za procenjivanje hipoksije. Ukoliko se ispolje simptomi hipoksije tokom testiranja, preporučuje se kiseonična potpora u toku leta avionom. Ispitivanja su potvrdila da i oni bolesnici koji imaju rizik od pojave hipoksije tokom leta takođe mogu da putuju avionom uz dodavanje kiseonika. Oni koji nemaju simptome tokom testa procene hipoksije, mogu da putuju bez kiseonika, ali, ukoliko je moguće, stalnim praćenjem stepena hipoksije tokom leta ili pripravnosti za korišćenje kiseoničnog uređaja (2).

Potrebna su dalja istraživanja u oblasti sprovođenja metoda za predviđanje hipoksije tokom putovanja avionom kako bi se što pouzdanije predvidelo koji bolesnici će razviti simptome ili će imati akutno pogoršanje zbog hipoksije u toku leta avionom (22-25). Iako se smatra da je putovanje avionom za većinu osoba sa hroničnim plućnim bolestima bezbedno, uvek treba biti na oprezu, pogotovu kada su u pitanju bolesnici sa HOBP. Jedna studija je pokazala da je, i pored prethodnog testiranja koje nije ukazalo na rizik od hipoksemije, u 18% bole-

snika došlo do pojave simptoma od strane respiratornog sistema tokom leta (26).

NADOKNADA KISEONIKA ZA VREME LETA AVIONOM

Smanjenje pritiska u avionskim kabinama može da izazove hipoksemiju i pogoršanje dispneje kod bolesnika sa hroničnim plućnim obolenjima. Kod najbrojnijih među njima – onima sa HOBP, jedna četvrtina ima pogoršanje dispneje tokom leta avionom (27). Kod njih je rizik od doživljavanja dispneje u toku leta skoro sedam puta veći nego u kontrolnoj grupi osoba koje nemaju HOBP. Takođe, desaturacija kiseonikom zapažena tokom šestominutnog testa hodanjem (*eng.* skraćenica 6MWT) su povezane sa intenzitetom simptoma tokom leta. Za procenu parcijalnog pritiska kiseonika kod bolesnika sa HOBP i potrebe za kiseonikom kod ovih bolesnika, mogu da se koriste pomenuti testovi za predviđanje hipoksije (27-30). Tako, kod bolesnika sa stabilnom HOBP bez posledične respiracijske insuficijencije, ne postoje kontraindikacije za putovanje komercijalnim letovima. Međutim, može da se pretpostavi da će za vreme leta bolesnici sa dispnejom i hipoksemijom, a oboleli od HOBP i drugih hroničnih plućnih bolesti, imati manje simptoma ukoliko koriste dopunski kiseonik. Kod odraslih plućnih bolesnika kod koji je PaO₂ u arterijskoj krvi pre putovanja avionom niži od 70mmHg ili je saturacija kiseonikom niža od 92%, neophodna je primena oksigenoterapije tokom leta (31). Ovim bolesnicima se savetuje da put avionom planiraju 60 dana unapred. Mnoge aviokompanije nude posebne brošure za informisanje putnika sa različitim fizičkim i mentalnim zdravstvenim problemima. Ipak, radi optimalne pomoći, neophodno je individualno savetovanje bolesnika koji imaju plućno oboljenje, a planiraju putovanje avionom. Ukoliko bolesnik ima poremećaj ventilacije, potrebno je da se obezbedi dodatna jedinica kiseonika (portabilni oksigenokonzentator – POK, POC, *eng.*) koja treba da, preko nosne kanile, obezbedi do 5 litara kiseonika u minuti (najčešći preporučeni protok kiseonika je 2l/min). Kiseonik ne bi trebalo da se koristi tokom uzletanja i sletanja aviona, već kada avion dostigne planiranu visinu leta (3,28,29).

Većina aviokompanija omogućuje korišćenje POK tokom leta, odobrenog za upotrebu uz poštovanje standardnih zahteva i procedura. Putnik mora da dostavi izveštaj lekara o potrebi i načinu korišćenja kiseonika tokom leta. Takođe, POK mora da ima sopstvenu bateriju koja traje 150% vremena planiranog trajanja leta. Neke kompanije ne dozvoljavaju unošenje POK-a u avionsku kabinu, već same, na zahtev bolesnika-putnika, obezbeđuju kiseoničku potporu tokom puta. Idealno bi bilo da se tokom oksigenoterapije koristi pulsni oksimetar i tako proverava postignuta saturacija krvi kiseonikom. Takođe, kada je neophodno, mogu da se koristite i uređaji sa kontinuiranim pozitivnim pritiskom, ukoliko na taj način može da se postigne zadovoljavajuća ok-

sigencija putnika (3, 28). Svi navedeni uređaji moraju da budu odobreni od strane aviokompanije kojoj treba da se prijavi putnik sa plućnom bolešću najmanje 48 sati pre leta. Neke aviokompanije nude posebne opcije prevoza, na primer, rezervaciju dodatnih sedišta ako je potrebno posebno smeštanje putnika.

Porast broja osoba koje imaju hroničnu plućnu bolest sa hipoksemijom, a koje planiraju putovanja avionom, doveo je do interesovanja za pronalaženje novih načina pružanja oksigenoterapije, kao i novih modela koncentratora i drugih uređaja.

LEKAR KAO PUTNIK

Lekari često putuju avionom: od svih medicinskih nezgoda, koje su prijavljene tokom putovanja, u 85% slučajeva nalazio se lekar u avionu kao putnik. Skorašnje istraživanje je pokazalo da su najčešća medicinska hitna stanja tokom leta avionom sinkopa, respiratorni i gastrointestinalni simptomi i potvrdilo da je lekar kao putnik često u situaciji da volonterski interveniše (33). Danas članovi posade imaju duže pripreme iz prve pomoći i u stanju su da pomognu ugroženim putnicima više nego ranije. Iako su lekari koji pruže pomoć bolesnom ili povređenom putniku obično zaštićeni od sudskog gonjenja zakonom "dobrog Samarićanina", trebalo bi da izbegavaju praksu van one za koju su obučeni, odnosno, stručni. Stoga su prethodne pripreme bolesnika sa respiratornim oboljenjima i procena rizika od pogoršanja ukoliko putuju avionom posebno korisne u sprečavanju neželjenih događaja tokom leta i smanjenju broja potrebnih intervencija u avionskoj kabini.

ZAKLJUČAK

U proceni rizika za putovanje avionom bolesnika sa oboljenjima respiratornog sistema, neophodan je individualni pristup i uvid u stvarno stanje bolesti, trajanje putovanja i odredište, procena adaptacionih mehanizama bolesnika na velikoj nadmorskoj visini i rizika od hipoksije, mogućnosti kontrole i lečenja tokom leta, kao i dostupnosti medicinskog kiseonika u kabini. Neophodno je znanje lekara o apsolutnim kontraindikacijama za putovanje avionom bolesnika sa oboljenjima respiratornog sistema, a posebna pažnja treba da se usmeri na one bolesti i stanja u kojima ekspanzija gasa može da izazove bol ili oštećenje tkiva i organa. Poštovanje propisa u pogledu putovanja obolelih od zaraznih i potencijalno zaraznih plućnih bolesti je od velike važnosti iz aspekta prevencije bolesti, pa sve aviokompanije treba da ih se pridržavaju. Činjenica je da milioni ljudi putuju avionom svake godine i da ne mogu svi da budu pregledani zbog rizika po druge putnike koji, eventualno, nose. Međutim, oni koji već znaju da imaju zaraznu bolest, ne treba da putuju, a to nekada znači i znatno odlaganje putovanja. O tome lekari treba upoznavaju bolesnike.

NAPOMENA

Rad je usmeno izložen na mini simpozijumu Procena rizika od putovanja avionom kod bolesnika sa respi-

ratornim oboljenjima na 43. simpozijumu Stremljenja i novine u medicini, Medicinski fakultet u Beogradu, 12.12.2014.

Literatura

1. Worldbank. Air transport, passengers carried. 2014 Dostupno na web site adresi: <http://data.worldbank.org/indicator/IS.AIR.PSGR>.
2. Coker RK, Shiner RJ, Partridge MR. Is air travel safe for those with lung disease? *Eur Respir J* 2007;30:1057-1063.
3. Ahmedzai S, Balfour-Lynn IM, Bewick T, Buchdahl R, Coker RK, Cummin AR, et al. Managing passengers with stable respiratory disease planning air travel: British thoracic society recommendations. *Thorax* 2011;66 Suppl 1:i1-30.
4. WHO. International travel and health 2012. Geneva: WHO; Dostupno na web sajt adresi: <http://www.who.int/ith>
5. WHO. Tuberculosis and air travel. Guidelines for prevention and control. 3rd ed. Geneva: WHO; 2008.
6. Pešut D. Rizik od tuberkuloze za vreme leta avionom. *Vojnosanit Pregl* 2007; 64(8):511-512.
7. West JB, Lahiri S, Maret KH, Peters RM Jr, Pizzo CJ. Barometric pressures at extreme altitudes on Mt. Everest. *J Appl Physiol* 1983; 54: 1188-1194
8. Wolff CB, The control of ventilation in hypoxia, I. *International Society of Mountain Medicine Newsletter*, 1998; 8(1): 3-6.
9. Kellog RH. The rôle of CO₂ in altitude acclimatization. In: Cunningham DJC, Lloyd BB (eds) *The Regulation of Human Respiration*. Oxford: Blackwell Scientific, 1963, 379-394.
10. Pugh LGCE *The Scientific Basis of Medicine Annual Reviews*, 'Man at high altitude.' 1964; 32-54.
11. Mason NP. The physiology of high altitude: an introduction to the cardio-respiratory changes occurring on ascent to altitude. *Current Anaesthesia and Critical Care* 2000; 11:34-41.
12. Hackett PH, Roach RC. High altitude cerebral oedema. *High Alt Med Biol* 2004;5:136-146.
13. Bartsch P, Mairbaurl H, Maggiorini M, Swenson ER. Physiological aspects of high-altitude pulmonary oedema. *J Appl Physiol* 2005; 98: 1101-1110.
14. Barker A, Maratos EC, Edmonds L, Lim E. Recurrence rates of video-assisted thoracoscopic versus open surgery in the prevention of recurrent pneumothoraces: A systematic review of randomised and non-randomised trials. *Lancet* 2007; 370:329-335.
15. Lippert HL, Lund O, Blegvad S, Larsen HV. Independent risk factors for cumulative recurrence rate after first spontaneous pneumothorax. *Eur Respir J* 1991;4:324-331.
16. Reider H. Interventions in tuberculosis control. Paris: International Union against Tuberculosis and Lung Disease; 2002.
17. Mangili A, Gendreau MA. Transmission of infectious diseases during commercial air travel. *Lancet* 2005; 365(9463): 989-96.
18. Robson AG, Innes JA. Problems of air travel for patients with lung disease: Clinical criteria and regulations. *Breath* 2006; 3(2): 141-147.
19. Dillard TA, Moores LK, Bilello KL, Philips YY. The pre-flight evaluation: a comparison of the hypoxia inhalation test with hypobaric exposure. *Chest* 1995; 107: 352-357.
20. Dillard TA, Rosenberg AP, Berg BW. Hypoxemia during altitude exposure. A meta-analysis of chronic obstructive pulmonary disease. *Chest* 1993; 103: 422-425.
21. Fischer R, Lang SM, Bruckner K. Lung function in adults with cystic fibrosis at altitude: impact on air travel. *Eur Respir J* 2005; 25: 718-724.
22. Muhm JM, Rock PB, McMullin DL, Jones SP, Lu IL, Eilers KD, et al. Effect of aircraft-cabin altitude on passenger discomfort. *New Engl J Med* 2007;357:18-27.
23. Luks AM. Do lung disease patients need supplemental oxygen at high altitude? *High Alt Med Biol* 2009;10(4):321-327.
24. Withers A, Wilson AC, Hall GL. Air travel and the risk of hypoxia in children. *Paediatric Respiratory Reviews* 2011; 12(4): 271-276.
25. Luks AM. Can patients with pulmonary hypertension travel to high altitude? *High Alt Med Biol* 2009;10(3):215-219.
26. Dillard TA, Beninati WA, Berg BW. Air travel in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Arch Int Med* 1991;151:1793-1795.
27. Edvardsen A, Akerø A, Christensen CC, Ryg M, Skjønsberg OH. Air travel and chronic obstructive pulmonary disease: a new algorithm for pre-flight evaluation. *Thorax*. 2012; 67(11):964-969.
28. Nicholson TT, Sznajder JI. Fitness to fly in patients with lung disease. *ANNALSATS Articles in Press*. Published on 13-November-2014 as 10.1513/AnnalsATS.201406-234
29. Žugic V. Putovanje avionom bolesnika sa hroničnom opstruktivnom bolešću pluća. U: Bošnjak-Petrović V. *Hronična opstruktivna bolest pluća*. Beograd: Medicinski fakultet, 2011; 375-81.
30. Secombe LM, Petres MJ. Oxygen supplementation for chronic obstructive pulmonary disease patients during air travel. *Curr Opin Pulm Med*. 2006;12(2):140-4.
31. Mohr LC. Hypoxia during air travel in adults with pulmonary disease. *Am J Med Sci*. 2008;335(1):71-9.
32. Edvardsen A, Ryg M, Akerø A, Christensen CC, Skjønsberg OH. COPD and air travel: does hypoxia- altitude simulation testing predict in-flight respiratory symptoms? *Eur Respir J*. 2013; 42(5):1216-23.
33. Peterson DC, Martin-Gill C, Guyette FX, Tobias AZ, McCarthy CE, Harrington ST, et al. Outcomes of medical emergencies on commercial airline flights. *N Engl J Med*. 2013;368(22):2075-83.

NOVEL FACTS IN PHARMACOLOGY OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

NOVA SAZNANJA U FARMAKOLOGIJI ENDOTELNE DISFUNKCIJE

Miroslav Radenković¹, Marko Stojanović¹, Milica Prostran¹

Summary

Homeostasis of different blood vessels is directly linked with physiological and pathological features of morphological and functional integrity of vascular endothelial cells. Vascular endothelium has a central role in the modulation of vascular tone, together with established local antioxidant, anti-inflammatory, profibrinolytic, anti-adhesive and anticoagulant activity. These effects are results of timely production and release of vasoactive autacoids, where nitric oxide, prostacyclin and endothelially-derived hyperpolarizing factor are considered to be crucial for physiological cellular signaling mechanisms. In contrast, endothelial dysfunction is a pathological process, which is known to be correlated with different vascular pathological conditions. It is basically characterized by marked disturbance of the regulation of vascular tone, as a consequence of reduced bioavailability of endothelial relaxing factors and concomitant enhanced production of endothelial contractile factors. Moreover, endothelial cells are affected by oxidative stress and increased inflammatory processes that are all associated with migration of circulating leukocytes in subendothelial space and enhanced pathological proliferation of adjacent smooth muscle cells. Pharmacological approach in improving endothelial dysfunction currently represents a crucial part in different cardiovascular clinical trials. Conventional drugs, including statins, ACE-inhibitors, angiotensin receptor blockers, oral antidiabetic agents or some beta adrenoceptor antagonists, all have clearly established efficacy in improving endothelial function, either via direct or indirect mechanisms of action. Besides, it has been concluded that, under specific conditions, some dietary ingredients, natural products or specific dietary supplements can improve endothelial dysfunction and overall vascular homeostasis. Owing to the fact that endothelial dysfunction was confirmed to be associated with etiology and/or further progression of different vascular disturbances, clinical investigations of novel pharmacological possibilities for improving endothelial dysfunction still represents an up-to-date trend in scientifically-based attempts of discovering a viable therapeutic solutions in treating cardiovascular diseases.

Key words: endothelial dysfunction, nitric oxide, TNF-alpha, pathological angiogenesis, eNOS

Sažetak

Homeostaza krvnih sudova različitih organa i organskih sistema u direktnoj je korelaciji sa fiziološkim ili patološkim stanjem morfološkog i funkcionalnog integriteta vaskularnih endotelnih ćelija. Vaskularni endotel ima ključnu ulogu u modulaciji tonusa krvnih sudova, sa takođe potvrđenim lokalnim antioksidantnim, antiinflamatornim, profibrinolitičkim, antiadhezivnim i antikoagulantnim dejstvima. Navedeni efekti su posledica pravovremene produkcije i oslobađanja vazoaktivnih autakoida, od kojih su za fiziološke ćelijske signalne mehanizme najvažniji azot oksid, prostaciklin ili endotelni hiperpolarizujući faktor. Suprotno prethodnom, endotelna disfunkcija je patološki proces, koji se dovodi u vezu sa nastankom ili napredovanjem različitih vaskularnih bolesti i koji se u osnovi odlikuje poremećajem regulacije vaskularnog tonusa kao posledica smanjene raspoloživosti endotelnih relaksantnih faktora, odnosno povećane produkcije endotelnih kontraktilnih faktora. Endotelne ćelije pokazuju prisustvo pojačanog oksidativnog stresa i inflamatornih procesa sa udruženom migracijom cirkulišućih leukocita u subendotelni sloj i patološkom stimulacijom proliferacije susjednih glatkih mišićnih ćelija. Farmakološki pristup u popravljanju endotelne disfunkcije danas predstavlja veoma važan segment protokola različitih kliničkih ispitivanja u oblasti kardiovaskularne patologije. Konvencionalni lekovi, kakvi su npr. statini, ACE-inhibitori, blokatori angiotenzinskih receptora, oralni antidiabetici ili neki beta blokatori jasno pokazuju korisne efekte u popravljanju endotelne funkcije, bilo da su posledica direktnog ili indirektnog mehanizma dejstva. Pored ovoga, za specifične sastojke hrane, neke supstance prirodnog porekla ili određene dodatke ishrani je utvrđeno da pod definisanim uslovima značajno doprinose popravljanju endotelne disfunkcije i sveukupne homeostaze vaskularnog sistema. Uzimajući u obzir da je endotelna disfunkcija kao patološki proces povezana sa nastankom i/ili progresijom različitih vaskularnih poremećaja, klinička istraživanja novih farmakoloških mogućnosti popravljanja endotelne disfunkcije i dalje predstavljaju veoma aktuelni trend u naučno zasnovanim pokušajima pronalazjenja efikasnih terapijskih rešenja u tretmanu kardiovaskularnih bolesti.

Ključne reči: endotelna disfunkcija, azot oksid, TNF-alfa, patološka angiogeneza, eNOS

UVOD

Endotelna disfunkcija predstavlja inicijalni korak u patogenezi ateroskleroze i u svojoj osnovi se karakteriše smanjenom produkcijom endotelnih relaksantnih faktora (uglavnom azot oksida) i/ili povećanim oslobađanjem endotelnih kontraktilnih faktora (15, 31). Pored ovoga, aktivacija nikotinamid-adenin dinukleotid fosfat oksidaze, ksantin oksidaze, ciklooksigenaze i elektronskog transporta u mitohondrijama, zajedno sa istovremenom inaktivacijom intracelularnog antioksidacionog sistema i redukovanom aktivacijom endotelne NO-sintaze prouzrokuje oksidativni stres, praćenim povećanom produkcijom i smanjenom razgradnjom slobodnih kiseonikovih radikala (18). Faktori i mehanizmi koji modulišu balans između fiziološkog oslobađanja relaksantnih, antikoagulantnih, antiagregacionih i antimitotičkih faktora iz endotelnih ćelija sa jedne strane, u odnosu na kontraktilne, proagregacione i promitotičke faktore vezane za gubitak protektivne funkcije endotela sa druge strane, još uvek nisu u potpunosti razjašnjeni (2). Stoga se ovaj kompleksni i sistemski patološki poremećaj može posmatrati i klasifikovati sa etiološkog, funkcionalnog i prognostičkog aspekta (10).

Uzimajući u obzir ozbiljne zdravstvene sekvele povezane sa patološkom aktivacijom i poremećajem funkcije endotelnih ćelija, metodološki postupci i biomarkeri za kliničku procenu endotelne disfunkcije svakim danom su sve brojniji (16, 38). Ovo je posledica danas prihvaćenog konsenzusa da ne postoji uvek vidljiva i direktna korelacija između različitih terapijskih opcija i popravljanja endotelne disfunkcije, već da se radi o kompleksnim transdukcionim procesima i vezama između brojnih celularnih i subcelularnih ciljnih mesta vezivanja farmakološki aktivnih supstanci (39). Ovo se poklapa sa dosadašnjim nalazima da postignuto poboljšanje endotelne disfunkcije primenom određenih lekova nije uvek i održivo, niti da uvek postoji jasna korelacija između krajnjeg kliničkog ishoda primenjene terapije i reverzije endotelne disfunkcije. Smatra se da je jedan od uzroka za ovakve kliničke nedoumice još uvek nedovoljno poznavanja pleiotropnih mehanizama dejstva lekova za koje je pokazano da popravljaju endotelnu disfunkciju, kakvi su npr. statini, ACE inhibitori, blokatori angiotenzinskih AT1 receptora ili tiazolidindioni, ali i drugih farmakološki aktivnih supstanci čiji se mehanizmi dejstva u ovoj oblasti još uvek ispituju (21, 30, 31). Stoga će u ovom prikazu u kratkim crtama biti predstavljena neka od najnovija saznanja i usmerenja vezana za potencijalne farmakološke mogućnosti u popravljanju endotelne disfunkcije.

ENDOTELNA DISFUNKCIJA I INFLAMATORNI CITOKINI

Sve je više dokaza koji ukazuju na povezanost hroničnih autoimunih inflamatornih bolesti sa ubrzanim pro-

cesom razvoja ateroskleroze, kao i generalno povećanim kardiovaskularnim morbiditetom i mortalitetom (24, 29). Ovo je posledica brojnih nalaza u kojima se nastanak i progresija ateroskleroze sve više posmatra kao inflamatorni proces i dovodi u direktnu korelaciju sa patogenetskim mehanizmima prepoznatim kao važnim za napredovanje hroničnih autoimunih inflamatornih bolesti. Iako je u ovom kontekstu reumatoidni artritis najviše proučavan, sve je veći broj pozitivnih pokazatelja za povećani kardiovaskularni rizik kod pacijenata sa sistemskim lupusom eritematozusom, seronegativnim spondiloartropatijama, psorijazom i zapaljenskom bolešću debelog creva (3, 22, 26, 34). Sa tim u vezi, endotelna disfunkcija se kod pacijenata sa hroničnim inflamatornim bolestima često može identifikovati u ranim fazama razvoja bolesti. Stoga se danas smatra da se mehanizmi koji povezuju sistemska inflamatorna oboljenja i aterosklerozu možda ponajbolje mogu razumeti upravo na nivou endotelnih ćelija.

Pojačana produkcija TNF-alfa (*tumor necrosis factor-alpha*) i drugih inflamatornih citokina direktno doprinosi razvoju endotelne disfunkcije i posledičnoj aterosklerozi. Naime, utvrđeno je da TNF-alfa indukuje povećanu ekspresiju adhezionih molekula sa sledstvenim privlačenjem cirkulišućih imunih ćelija prema ateromatoznom plaku, smanjuje biološku raspoloživost endotelne NO-sintaze, pojačava oksidacioni stres i apoptozu endotelnih ćelija, kao i da negativno utiče na funkciju i broj endotelnih progenitornih ćelija (3, 11). Sa druge strane, za inhibitore TNF-alfa je pokazano da redukuju serumski nivo ne samo TNF-alfa, već i drugih markera inflamacije, kao što su npr. C-reaktivni protein (CRP) ili IL-6, ali isto tako i da stimulišu povećanu ekspresiju endotelne NO-sintaze (25). Stoga se u ovom trenutku sa velikom sigurnošću pretpostavlja da bi farmakološki aktivne supstance usmerene protiv inflamatornog dejstva TNF-alfa (infliksimab, etanercept, adalimumab) mogle u značajnoj meri redukovati rizik za nastanak endotelne disfunkcije i pridruženih kardiovaskularnih oboljenja kod pacijenata sa hroničnim sistemskim inflamatornim bolestima (37).

ENDOTELNA DISFUNKCIJA I POVEĆANA MIKROVASKULARNA PROPUSTLJIVOST

Rezultati istraživanja skorijeg datuma ukazuju na direktnu povezanost poremećaja mehaničke funkcije endotelnog sloja ćelija i povećane mikrovaskularne propustljivosti sa patogeneom disfunkcije različitih organa prouzrokovanom infektivnim agensima. Tako je pokazano da povećana mikrovaskularna propustljivost izazvana kompromitovanom mehaničkom funkcijom endotelne barijere ima važnu ulogu u patogenezi i progresiji brojnih infektivnih sindroma uključujući

sepsu, akutnu povredu pluća, denga hemoragijsku groznicu, hemoragijske groznice virusnog porekla ili npr. plućni sindrom povezan sa hantavirus infekcijom (5, 12, 23, 27, 33). U fiziološkim uslovima polupropustljivi sloj endotelnih ćelija omogućava ograničeni prenos različitih materija iz krvi prema tkivu zida krvnog suda. Međutim, u patološkim uslovima nekontrolisana permeabilnost endotelnog sloja rezultuje povećanom propustljivošću za molekule proteina i vode, što dovodi do stvaranja paracelularnog edema. Smatra se da je ovaj proces delimično stimulisan postojanjem infektivnog procesa u organizmu. Stoga se pretpostavlja da bi jedan od mogućih novih pravaca u popravljaju endotelne disfunkcije mogao biti usmeren na osmišljavanje terapijskih strategija za ograničavanje propustljivosti endotelnog sloja ćelija prouzrokovanog infektivnim agensima, čime bi se poboljšala prevencija, a u isto vreme redukovala dalja oštećenja i gubitak funkcije različitih organa.

Uzimajući u obzir činjenicu da se radi o relativno novijem pristupu u popravljaju funkcije endotela, rezultati iz ove naučne oblasti predominantno dolaze iz prekliničkih istraživanja u kojima su korišćeni različiti modeli infektivnih bolesti. Karakterizacija farmakološki aktivnih supstanci sa izraženim potencijalom za ojačavanje endotelnog sloja ćelija kao mehaničke barijere danas predstavlja izuzetno atraktivno polje istraživanja, a među ispitivanim supstancama i lekovima svakako treba pomenuti antagoniste tipa 2 vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGFR2/Src), agoniste sfingozin-1-fosfata, fibrinopeptid Bb, slit2N, secinH3, agoniste angiotensin-1/Tie2, antagoniste angiotensin-2, statine, atrijski natriuretski peptid, kao i mezenhimalne stromalne (stem) ćelije (4). S obzirom na to da različite virusne infekcije mogu prouzrokovati poremećaj funkcije endotelnih ćelija, terapijske opcije usmerene prema endotelu kao ciljnom mestu dejstva, potencijalno mogu imati široki opseg upotrebe u prevenciji i dopunskom tretmanu virusnih infekcija, a time i ograničavanju oštećenja ciljnih tkiva i organa. Ipak, uzimajući u obzir brojna ograničenja eksperimentalnih modela neophodno je sprovođenje adekvatno dizajniranih kliničkih studija sa ciljem utvrđivanja da li strategija stabilizacije vaskularnog endotela zaista može biti efikasna u redukovanju morbiditeta i mortaliteta povezanih sa endotelnom disfunkcijom uzrokovanom infektivnim procesom.

ENDOTELNA DISFUNKCIJA I PATOLOŠKA ANGIOGENEZA

Patološko formiranje novih krvnih sudova (patološka angiogeneza) i endotelna disfunkcija karakterišu brojna oboljenja. Na osnovu nedavnih naučnih nalaza postojanja pozitivne povezanosti patološke angiogeneze i endotelne disfunkcije sa specifičnim metaboličkim poremećajima identifikovanim u endotelnim ćelijama (i to posebno onima vezanim za metabolizam gluko-

ze), može se pretpostaviti da bi popravljavanje ili reverzija metaboličkih alteracija u endotelnim ćelijama mogao biti jedan od novih terapijskih pravaca u poboljšanju različitih parametara endotelne disfunkcije (14). Ovo je u saglasnosti sa činjenicom da brojni faktori rizika za pojavu različitih kardiovaskularnih oboljenja (hiperholesterolemija, hipertenzija, dislipidemija, dijabetes, gojaznost, starenje) dovode do specifičnih metaboličkih alteracija u endotelnim ćelijama i na posletku do endotelne disfunkcije (6, 28). Takođe je pokazana i povezanost promena u metabolizmu endotelnih ćelija i patološke angiogeneze, a sa tim u vezi i patološke migracije i proliferacije endotelnih ćelija u tkiva sa smanjenom perfuzijom i oksigenacijom, tj. u tkiva sa patološkim poremećajem metaboličkih signalnih mehanizama (17).

Uzimajući u obzir značaj i sveukupni doprinos promena metabolizma glukoze u endotelnim ćelijama u odnosu na endotelnu disfunkciju i patološku angiogenezu, nedavno je pokazano da farmakološka inhibicija glikolitičkog enzima 6-fosfofrukto-2-kinaza/fruktoza-2,6-bifosfataze-3 (PFKFB3) prouzrokuje inhibiciju patološke angiogeneze, što bi moglo predstavljati jedan od značajnih pomaka terapijskom pristupu poboljšanja vaskularne funkcije u različitim patološkim stanjima (7, 32, 42). Ovome doprinosi i nalaz da parcijalna i kratkotrajna redukcija glikolize antiglikolitičkom terapijom može biti dovoljna da prozrokuje adekvatnu inhibiciju patološke angiogeneze bez istovremene pojave sistemskih neželjenih efekata uzrokovanih kompletnom i trajnom blokadom ovog važnog metaboličkog procesa (14). Ipak, treba dodati da bi dalja i sveobuhvatnija karakterizacija metaboličkih puteva u endotelnim ćelijama verovatno u značajnoj meri doprinela daljem pronalaznju farmakoloških mehanizama za reverziju endotelne disfunkcije i patološke angiogeneze, s obzirom na to da se izmenjenim metaboličkim putevima u endotelnoj disfunkciji još uvek ne pridaje adekvatan značaj u sveukupnom posmatranju patofizioloških mehanizama vezanih za poremećaj fiziološke funkcije endotelnih ćelija.

ENDOTELNA DISFUNKCIJA I NEPRAVILNA AKTIVACIJA eNOS

Poznato je da se u vaskularnom endotelu azot oksid, kao ključni endotelni relaksantni faktor stvara u hemijskoj reakciji katalitički regulisanoj dejstvom endotelne NO-sintaze (eNOS), sa L-argininom kao osnovnim supstratom, kao i flavin adenin dinukleotidom (FAD), flavin mononukleotidom (FMN) i tetrahidrobiopterinom (BH4), kao neophodnim kofaktorima za adekvatno funkcionisanje NO-sintaze (9). Suprotno, u nedostatku L-arginina ili tetrahidrobiopterina ne dolazi do pravilne aktivacije NO-sintaze, usled čega ovaj enzim pojačano katalizuje reakcije stvaranja slobodnih kiseonikovih radikala. Ovo predstavlja jedan od važnijih mehanizama nastanka endotelne disfunkcije (31). Sa tim u vezi, argi-

naza kao esencijalni enzim u metabolizmu ureje takođe koristi L-arginin kao svoj supstrat i na taj način se može nalaziti u direktnoj kompeticiji sa endotelnom NO-sintazom, što sve može prouzrokovati smanjenu aktivaciju ovog enzima i preusmeravanje signalne kaskade ka povećanoj produkciji slobodnih kiseonikovih radikala u endotelnim ćelijama (1, 36, 41). Iako je danas potvrđeno da postoje dve izoforme arginaze, predominantna izoforma u humanim endotelnim ćelijama je arginaza II.

Povećana ekspersija i aktivnost arginaze zabeležena je u mnogim patološkim stanjima, kao što su hipertenzija, ateroskleroza, diabetes mellitus ili npr. u ishemijsko-reperfuzijskim oštećenjima srčanog mišića, pluća i bubrega (35). Pored ovoga, aktivnost arginaze može biti indukovana dejstvom lipopolisaharida, TNF-alfa, interferonom-gama, 8-bromo-cGMP ili hipoksijom. Iako je koncept razvoja specifičnih i potentnih inhibitora arginaze u popravljaju endotelne disfunkcije prisutan već određeni niz godina, najnovija saznanja iz ove oblasti ukazuju da bi farmakološki aktivne supstance sa opisanim dejstvom mogle biti od značaja u smanjenju oksidativnog stresa i pomeranju biohemijskih signalnih mehanizama sa patološke produkcije slobodnih kiseonikovih radikala prema povećanoj sintezi endotelne azot oksida. Među ovim supstancama trebalo bi izdvojiti piceatanol-3'-O-beta-D-glukopiranozid, flavanoide izolovane iz biljke *Scutellaria indica* ili npr. 2-amino-6-boronoheksanoične kiseline (8, 13, 20, 40). Ovo bi sve moglo biti od posebnog značaja u tretmanu pacijenata sa dijagnozom diabetes mellitus tipa 2, uzimajući u obzir potvrđeno pojačano dejstvo arginaze sa udruženim poremećajem aktivnosti NO-sintaze kod ovih bolesnika (19).

ZAKLJUČAK

Endotelna disfunkcija predstavlja sistemski patološki poremećaj primarno karakterisan redukovanom produkcijom i oslobađanjem azot oksida. Ona dovodi do signifikantnog poremećaja vaskularne homeostaze udružene sa gubitkom protektivnih svojstava endotelnih ćelija i posledičnog razvoja ateroskleroze, a zatim i pridruženih kardiovaskularnih bolesti. Endotelnom disfunkcijom može biti zahvaćen bilo koji deo vaskularnog sistema. Stoga se pravovremena procena endotelne funkcije danas ubraja u veoma važne pokazatelje sveukupnog stanja kardiovaskularnog sistema, kao i procene kardiovaskularnog rizika. Uzimajući u obzir važnost endotelne disfunkcije u patogenezi različitih kardiovaskularnih bolesti, razumevanje što većeg broja transdukcionijskih mehanizama uključenih u nastanak endotelne disfunkcije je od ključnog značaja u otkrivanju i razvoju novih farmakološki aktivnih supstanci, koje bi mogle dovesti do popravljavanja poremećene funkcije endotelne ćelije.

NAPOMENA

Rad je usmeno izložen na mini simpozijumu 90 godina Instituta za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju – Najnovija saznanja i kontroverze u bazičnoj i kliničkoj farmakologiji na 43. simpozijumu Stremljenja i novine u medicini, Medicinski fakultet u Beogradu, 10.12.2014. godine.

Literatura

- Berkowitz DE, White R, Li D, Minhas KM, Cernetich A, Kim S, et al. Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels. *Circulation*. 2003;108(16):2000-6.
- Bernatova I. Endothelial dysfunction in experimental models of arterial hypertension: cause or consequence? *Biomed Res Int*. 2014;2014:598271.
- Brezinski EA, Follansbee MR, Armstrong EJ, Armstrong AW. Endothelial dysfunction and the effects of TNF inhibitors on the endothelium in psoriasis and psoriatic arthritis: a systematic review. *Curr Pharm Des*. 2014;20(4):513-28.
- Darwish I, Liles WC. Emerging therapeutic strategies to prevent infection-related microvascular endothelial activation and dysfunction. *Virulence*. 2013;4(6):572-82.
- Dalrymple NA, Mackow ER. Endothelial cells elicit immune-enhancing responses to dengue virus infection. *J Virol* 2012; 86:6408-15.
- Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109(23 Suppl 1):III27-32.
- De Bock K, Georgiadou M, Schoors S, Kuchnio A, Wong BW, Cantelmo AR, et al. Role of PFKFB3-driven glycolysis in vessel sprouting. *Cell*. 2013;154(3):651-63.
- De Vriese AS, Verbeuren TJ, Van de Voorde J, Lameire NH, Vanhoute PM. Endothelial dysfunction in diabetes. *Br J Pharmacol*. 2000;130(5):963-74.
- Eren E, Ellidag HY, Aydin O, Yilmaz N. Homocysteine, paraoxonase-1 and vascular endothelial dysfunction: Omnibus viis romam pervenitur. *J Clin Diagn Res*. 2014; 8(9): CE01-4.
- Evora PR, Baldo CF, Celotto AC, Capellini VK. Endothelium dysfunction classification: why is it still an open discussion? *Int J Cardiol*. 2009;137(2):175-6.
- Garg N, Syngle A, Verma I, Krishan P. Endothelial progenitor cells as cardiovascular surrogate markers in seropositive rheumatoid arthritis. *IJRCI*. 2015;3(1):OA1.
- Goldenberg NM, Steinberg BE, Slutsky AS, Lee WL. Broken barriers: a new take on sepsis pathogenesis. *Sci Transl Med* 2011; 3:88ps25.
- Golebiowski A, Paul Beckett R, Van Zandt M, Ji MK, Whitehouse D, Ryder TR, et al. 2-Substituted-2-amino-6-boronoheksanoične acids as arginase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*. 2013;23(7):2027-30.
- Goveia J, Stapor P, Carmeliet P. Principles of targeting endothelial cell metabolism to treat angiogenesis and endothelial cell dysfunction in disease. *EMBO Mol Med*. 2014;6(9):1105-20.
- Gutiérrez E, Flammer AJ, Lerman LO, Elízaga J, Lerman A, Francisco FA. Endothelial dysfunction over the course of coronary artery disease. *Eur Heart J*. 2013;34:3175-81.
- Hamilton SJ, Watts GF. Endothelial dysfunction in diabetes: pathogenesis, significance, and treatment. *Rev Diabet Stud*. 2013;10(2-3):133-56.
- Harjes U, Bensaad K, Harris AL. Endothelial cell metabolism and implications for cancer therapy. *Br J Cancer*. 2012;107(8):1207-12.
- Higashi Y, Maruhashi T, Noma K, Kihara Y. Oxidative stress and endothelial dysfunction: clinical evidence and therapeutic implications. *Trends Cardiovasc Med*. 2014;24(4):165-9.
- Kashyap SR, Lara A, Zhang R, Park YM, DeFronzo RA. Insulin reduces plasma arginase activity in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2008;31(1):134-9.

20. Kim SW, Cuong TD, Hung TM, Ryoo S, Lee JH, Min BS. Arginase II inhibitory activity of flavonoid compounds from *Scutellaria indica*. *Arch Pharm Res.* 2013;36(8):922-6.
21. Lin CP, Lin FY, Huang PH, Chen YL, Chen WC, Chen HY, et al. Endothelial progenitor cell dysfunction in cardiovascular diseases: role of reactive oxygen species and inflammation. *Biomed Res Int.* 2013;2013:845037.
22. Mathieu S, Motreff P, Soubrier M. Spondyloarthropathies: an independent cardiovascular risk factor? *Jt. Bone Spine* 2010; 77: 542-5.
23. Mei SH, McCarter SD, Deng Y, Parker CH, Liles WC, Stewart DJ. Prevention of LPS-induced acute lung injury in mice by mesenchymal stem cells overexpressing angiotensin II. *PLoS Med* 2007; 4:e269.
24. Murdaca G, Colombo BM, Cagnati P, Gulli R, Spanò F, Puppo F. Endothelial dysfunction in rheumatic autoimmune diseases. *Atherosclerosis.* 2012;224(2):309-17.
25. Murdaca G, Spanò F, Cagnati P, Puppo F. Free radicals and endothelial dysfunction: potential positive effects of TNF- α inhibitors. *Redox Rep.* 2013;18(3):95-9.
26. Nikpour M, Gladman DD, Urowitz MB. Premature coronary heart disease in systemic lupus erythematosus: What risk factors do we understand? *Lupus* 2013; 22: 1243-50.
27. Peters CJ, Zaki SR. Role of the endothelium in viral hemorrhagic fevers. *Crit Care Med* 2002; 30(Suppl):S268-73.
28. Pober JS, Min W, Bradley JR. Mechanisms of endothelial dysfunction, injury, and death. *Annu Rev Pathol.* 2009;4:71-95.
29. Prati C, Demougeot C, Guillot X, Godfrin-Valnet M, Wendling D. Endothelial dysfunction in joint disease. *Joint Bone Spine.* 2014;81(5):386-91.
30. Radenković M. Pioglitazone and Endothelial Dysfunction: Pleiotropic Effects and Possible Therapeutic Implications. *Sci Pharm.* 2014; 82: 709-21.
31. Radenković M, Stojanović M, Potpara T, Prostran M. Therapeutic approach in the improvement of endothelial dysfunction: the current state of the art. *Biomed Res Int.* 2013;2013:252158.
32. Schoors S, De Bock K, Cantelmo AR, Georgiadou M, Ghesquière B, Cauwenberghs S, et al. Partial and transient reduction of glycolysis by PFKFB3 blockade reduces pathological angiogenesis. *Cell Metab.* 2014;19(1):37-48.
33. Shrivastava-Ranjan P, Rollin PE, Spiropoulou CF. Andes virus disrupts the endothelial cell barrier by induction of vascular endothelial growth factor and downregulation of VE-cadherin. *J Virol* 2010; 84:11227-34.
34. Singh S, Singh H, Loftus EV Jr, Pardi DS. Risk of cerebrovascular accidents and ischemic heart disease in patients with inflammatory bowel disease: A systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2014; 12:382-93.
35. Stepan J, Nyhan D, Berkowitz DE. Development of novel arginase inhibitors for therapy of endothelial dysfunction. *Front Immunol.* 2013;4:278.
36. Stepan J, Ryoo S, Schuleri KH, Gregg C, Hasan RK, White AR, et al. Arginase modulates myocardial contractility by a nitric oxide synthase 1-dependent mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(12):4759-64.
37. Steyers CM 3rd, Miller FJ Jr. Endothelial dysfunction in chronic inflammatory diseases. *Int J Mol Sci.* 2014;15(7):11324-49.
38. Strisciuglio T, De Luca S, Capuano E, Luciano R, Niglio T, Trimarco B, Galasso G. Endothelial dysfunction: its clinical value and methods of assessment. *Curr Atheroscler Rep.* 2014;16(6):417.
39. Tousoulis D, Simopoulou C, Papageorgiou N, Oikonomou E, Hatzis G, Siasos G, et al. Endothelial dysfunction in conduit arteries and in microcirculation. Novel therapeutic approaches. *Pharmacol Ther.* 2014; 144(3):253-67.
40. Van Zandt MC, Whitehouse DL, Golebiowski A, Ji MK, Zhang M, Beckett RP, et al. Discovery of (R)-2-amino-6-borono-2-(2-(piperidin-1-yl)ethyl)hexanoic acid and congeners as highly potent inhibitors of human arginases I and II for treatment of myocardial reperfusion injury. *J Med Chem.* 2013;56(6):2568-80.
41. White AR, Ryoo S, Li D, Champion HC, Stepan J, Wang D, et al. Knockdown of arginase I restores NO signaling in the vasculature of old rats. *Hypertension.* 2006;47(2):245-51.
42. Xu Y, An X, Guo X, Habtetsion TG, Wang Y, Xu X, et al., Endothelial PFKFB3 plays a critical role in angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014;34(6):1231-9.

URBAN NOISE AND BLOOD PRESSURE OF THE POPULATION – A SYSTEMATIC REVIEW OF STUDIES IN BELGRADE

GRADSKA BUKA I KRVNI PRITISAK STANOVNIŠTVA – SISTEMATSKI PREGLED ISTRAŽIVANJA U BEOGRADU

Goran Belojević¹, Katarina Paunović¹, Branko Jakovljević¹, Vesna Stojanov^{2,3}, Vesna Slepčević⁴, Jelena Ilić Živojinović¹

Summary

The Belgrade team for biological effects of noise, comprising experts in the fields of hygiene and cardiology, has carried out population studies in Belgrade on the sample of 2503 adults, 328 pre – school children and 1113 schoolchildren to investigate the effects of urban noise on blood pressure. In the first phase of investigation acoustic measurements were performed on 115 streets of the central municipality “Stari grad” as a typical urban environment. Blood pressure measurements were performed using mercury sphygmomanometer in those subjects who did not have a diagnosed hypertension and were not under antihypertensive therapy. Among adults living in the streets with equivalent noise level (Leq) exceeding 45 dB (A) there was a significantly higher number of people with hypertension compared to areas with $Leq \leq 45$ dB (A) (23.6% vs.17.5%). After statistical adjustments according to family history of hypertension, age, body mass index (BMI), smoking habits, physical activity and alcohol consumption among males, we found 58% increased odds for obtaining hypertension if they lived in noisy environments for more than 10 years (OR = 1.58; 95 CI = 1.03-2.42; $p = 0.038$). In females noise exposure and hypertension were not significantly related. In pre – school children aged 3 – 7 and living in areas with night $Leq > 45$ dB (A) and attending kindergartens in the streets with daytime $Leq > 60$ dB (A) the prevalence of hypertensive values of blood pressure was higher compared to children from quiet streets (5,7 % vs. 1,5 %; $p = 0,054$). Systolic blood pressure was significantly higher (5 mmHg on average) in children from noisy streets and kindergartens compared to children from quiet environments ($p < 0,01$). Multiple regression after adjustments according to age, sex, BMI percentile-for-age, family history of hypertension, and socioeconomic status revealed a significant positive correlation between the exposure to urban noise and systolic blood pressure ($p = 0,009$). In schoolchildren aged 7 – 11 and attending schools in streets with public transport we found a higher systolic blood pressure (1.3 mmHg on average) compared to children from schools without public transport, after adjustments according to age, sex, BMI, family history of hypertension, living conditions and health related behavioral habits ($p < 0.05$).

Key words: community noise; blood pressure; hypertension, children, adults.

Sažetak

Beogradski tim za biološke efekte buke koji čine stručnjaci iz oblasti higijene i kardiologije sproveo je populacione studije u Beogradu na uzorcima od 2503 odrasle osobe, 328 predškolske dece i 1113 školske dece o uticaju komunalne buke na krvni pritisak. Opština Stari Grad kao tipično gradska sredina poslužila je kao područje na kojem su u prvoj fazi istraživanja sprovedena akustička merenja u 115 ulica. Merenja krvnog pritiska obavljena su živinim sfigmomanometrom kod onih ispitanika kod kojih nije dijagnostikovana hipertenzija i ne uzimaju terapiju. Kod odraslog stanovništva koje živi u ulicama sa ekvivalentnim nivoom noćne buke iznad 45 dB (A) bilo je značajno više ispitanika sa hipertenzijom u odnosu na sredine sa noćnom bukom ≤ 45 dB (A) (23.6% vs. 17.5%). Posle statističkog prilagođavanja u odnosu na porodičnu istoriju hipertenzije, dob, BMI, pušačke navike, fizičku aktivnost i konzumiranje alkohola, za muškarce je utvrđena za 58% veća šansa da dobiju hipertenziju ukoliko žive u bučnoj sredini duže od 10 godina (OR = 1.58; 95 CI = 1.03-2.42; $p = 0.038$), dok kod žena uticaj buke na pojavu hipertenzije nije značajan. Kod predškolske dece uzrasta 3-7 godina koja žive u sredini sa noćnom bukom $Leq > 45$ dB (A) i koja idu u obdaništa u ulicama sa dnevnim nivoom buke $Leq > 60$ dB (A) prevalencija hipertenzivnih vrednosti krvnog pritiska bila je viša nego kod dece iz tih ulica (5,7 vs. 1,5; $p = 0,054$). Sistolni pritisak bio značajno viši (5 mmHg u proseku) kod dece iz bučnih ulica i obdaništa u poređenju sa decom iz tih obe sredine ($p < 0,01$). Multipna regresiona analiza posle prilagođavanja u odnosu na dob, pol, percentil BMI u odnosu na dob, porodičnu istoriju hipertenzije i socioekonomski status pokazala je značajnu pozitivnu korelaciju između izlaganja dece komunalnoj buci i sistolnog pritiska ($p = 0,009$). Kod školske dece uzrasta 7-11 godina nađeno je da ukoliko su njihove škole locirane u ulici sa javnim saobraćajem sistolni pritisak je viši za 1.3 mmHg u odnosu na decu iz škola bez javnog saobraćaja, posle prilagođavanja u odnosu na dob, pol, BMI, porodičnu istoriju hipertenzije, uslove stanovanja i zdravstveno značajne navike ($p < 0.05$).

ključne reči: komunalna buka, krvni pritisak, hipertenzija, deca, odrasli

INTRODUCTION

Urban noise is an emerging environmental problem both in developed and developing countries. More than 50% of the European population is annoyed by unacceptable daytime equivalent noise levels (L_{eq}) exceeding 55 dB while about one third of the population complains of sleep disorders due to exposure to night time L_{eq} exceeding 45 dB. (1) Road-traffic noise exposure is also an ever – increasing environmental problem in Serbian towns, especially in Belgrade, where daytime and nighttime noise limits are regularly exceeded by 10 – 20 dB. (2)

Hypertension is one of the major risk factors for early death in urban populations due to its association with the incidence of stroke, myocardial infarction, heart failure and end – stage renal disease. (3) The link between urban noise and hypertension has been intensively studied in the past three decades. A recent meta – analysis based on 24 cross – sectional studies on the association between road traffic noise and the prevalence of hypertension showed an odds ratio (OR) of 1.07 (95% confidence interval (CI) = 1.02–1.12, $P < 0.05$) per 10 dB increase of the 16-h day – time average road traffic noise level (L_{Aeq16h}) in the range of <50 to >75 dB. (4) Pathophysiological concept explaining the relationship between noise and hypertension is based on a general stress – reaction model. (5-6) Noise activates the hypothalamic – pituitary – adrenal axis and sympathetic nervous system and stimulates reticular formation with a consequent increase in the circulatory catecholamines and cortisol, which are of substantial importance for blood pressure (BP) regulation. (7)

The research of the Belgrade Team of Biological Effects of Noise (BETBEN) from the Faculty of Medicine University of Belgrade over the past decade has focused on two main scientific problems that were not sufficiently studied in previous investigations: nighttime noise in residential areas and noise around schools and kindergartens and BP of adults and children.

The World Health Organization has recognized nighttime noise as an important stressor related to diseases with the mediating effect of sleep deprivation. (8) However, commonly used daytime noise measurements in residential areas in the investigations on the relationship between noise and hypertension may be the source of exposure bias, because people, and especially children, usually spend most of their daytime hours out of home. (9) It may be assumed that nighttime noise measurements would alleviate the possible bias problem. Beside studies on adults, of special scientific relevance are investigations on children's BP and noise exposure due to small body of evidence and rather conflicting results from previous studies. There are reports both on the positive correlation between noise exposure and children's BP (10-11) and on the negative association. (12)

This is the review of the studies performed by BETBEN in Belgrade on the effects of road traffic noise on the BP among adults and children. (13-16)

The tested null hypotheses in our studies were: 1. Nighttime noise in residential areas is not related to changes in BP among urban adult population and children; 2. There is no association between daytime road traffic noise around schools and kindergartens and BP among children.

The aims of our studies were: 1. To compare the prevalence of hypertension between the adult population living in residential areas with nighttime L_{eq} over and equal/below the adopted outdoor nighttime noise limit of 45 dB; 2. To investigate the effects of road traffic noise around kindergartens and nighttime noise around residences on BP levels of pre-school children; 3. To explore the effects of road traffic noise around schools and nighttime noise around residences on BP levels of schoolchildren. 4. To investigate the relationship between the presence of public transport as noise indicator and children's BP.

METHODS

Study samples

Adults

A cross – sectional study was performed on a sample of the adult population in a downtown Belgrade municipality. The estimated adult population of this municipality, according to the census data, was about 60.000. To obtain a 10% randomized sample of 6000 people, we used a step method in interviewing all adult residents of every tenth flat in all the streets. The appropriate numbers of questionnaires were delivered to post boxes inside the buildings according to the list of dwellers. The response rate was 52.8%, or 3169 completed questionnaires. The inclusion criteria for selecting the final subsample of residents were the period of residence longer than 10 years and a bedroom overlooking the street. The exclusion criteria included a high level of noise annoyance at work and the presence of diseases that might influence the occurrence of hypertension. Using these criteria, the sample was further reduced to 2,803 residents, 1,095 men and 1,708 women. The subjects who reported taking antihypertensive drugs were classified into a group with hypertension ($n=318$, 139 men and 179 women). Subjects who denied having medically confirmed hypertension or taking antihypertensive drugs ($n=2,485$) were contacted by phone and invited for BP measurement. The response rate was 87.9% ($n=2,185$, 856 men and 1,329 women). The final sample for investigation thus included a total of 2,503 subjects (995 men with an average age of 42,18 years [range 18–96 years] and 1,508 women with an average age of 40,17 years [range 18–91 years]).

Pre-school children

A cross – sectional study was performed on children aged 3 – 7 residing in a downtown Belgrade municipality, who attended 10 public kindergartens. Parents took the children to the kindergartens between 6 a.m. and 8 a.m. and brought them back home between 3 p.m. and 6 p.m. Parents were informed about the study and interviewed to obtain their approval for the examination of their children. The inclusion criteria for the sample were three or more years living on the present address and orientation of a child's bedroom towards the streets. The exclusion criterion for the sample was the presence of chronic diseases affecting arterial BP (diabetes mellitus and/or renal diseases). Out of 710 interviewed parents, 446 (62.8%) returned the questionnaires with the approval for examination. After applying the inclusion and exclusion criteria [living on the present address for less than 3 years ($n=21$); bedroom not oriented towards the street ($n=95$); diabetes mellitus ($n=1$); renal diseases ($n=1$)] the final sample consisted of 328 children (174 boys and 154 girls). The study sample was divided into four subsamples of children according to noise levels in the environment of residences and kindergartens. The environment of residence was regarded noisy if Leq exceeded 45 dB (A) during night (10 p.m. to 6 a.m.), and quiet if the Leq was ≤ 45 dB (A). The average Leq of noisy and quiet residences were 55.5 ± 6.7 dB (A) and 41.8 ± 3.0 dB (A), respectively. The environment of kindergarten was regarded noisy if daily Leq exceeded 60 dB (A), and quiet if Leq was ≤ 60 dB (A). The average Leq of the noisy and quiet kindergartens were 66.9 ± 5.3 dB (A) and 55.7 ± 2.8 dB (A), respectively. The four subsamples were created by applying the following acoustical characteristics of children's residences and kindergartens: 1. Quiet residence and quiet kindergarten ($n=60$; 29 boys and 31 girls); 2. Quiet residence and noisy kindergarten ($n=75$; 39 boys and 36 girls); 3. Noisy residence and quiet kindergarten ($n=62$; 37 boys and 25 girls), and 4. Noisy residence and noisy kindergarten ($n=131$; 69 boys and 62 girls).

Schoolchildren

A cross – sectional study was conducted in the municipality Stari grad, located in the center of Belgrade. This municipality is an administrative and residential area with road traffic as the principal source of noise. In total, eight public primary schools are located in this municipality. Investigators contacted children aged 7 – 11 (1st to 4th grade) and their parents through school boards. In the pilot study (15) the sample included 391 children (186 boys, 205 girls). Of 2000 interviewed parents in the final investigation (16), 1150 (57.5%) returned the questionnaires with the signed approval for examination of their children. Children gave their written consent for participating in this study. Ethics Committee of the Faculty of Medicine in Belgrade approved the study. The only exclusion criterion was the presence of chronic diseases affecting arterial BP (diabetes mel-

litus, heart or kidney diseases). Apart from pupils with diabetes ($n = 3$) and those absent from school on the day of examination ($n = 34$), the final sample consisted of 1113 children (533 boys and 580 girls).

Noise Measurements

Noise levels were measured in all 115 streets of the central Belgrade municipality “Stari grad”, as well as in front of 10 public kindergartens and eight elementary schools.

Hand – Held noise level analyzer type 2250 “Brüel and Kjær” was used, according to recommendations of International Standard Organization for the measurement of community noise (17). Noise levels were measured in the middle of the street. Noise was measured in two intervals during the day (between 10 a.m. and noon, and between 2 p.m. and 4 p.m.), in one evening interval (between 6 p.m. and 8 p.m.), and in two night intervals (between 10 p.m. and 12 p.m., and between midnight and 2 a.m.) In front of each kindergarten noise measurements were performed in two daily periods (9 a.m.–10.30 a.m. and 1.30 p.m.–3 p.m.). Noise levels around schools were measured on week days during lessons in two morning intervals (between 9 a.m. and 11 a.m., and between noon and 2 p.m.) and one afternoon interval (between 3 p.m. and 5 p.m.). The instrument was positioned on the pavement near the road; the time interval of each measurement was 15 min; the speed of sampling was 10/sec, with 9000 samples collected per measurement. Noise measurements were performed on several week days for each school; the measurements took place a few weeks after the examination of children in order to avoid researcher bias related to awareness of noise levels and traffic density.

A composite daytime equivalent noise level (Leq) was calculated for each kindergarten and school; a composite daytime and night time Leq levels were calculated for each street from the obtained emission noise values.

Blood Pressure Measurement

Adults

Participants were asked to avoid drinking coffee or smoking for half an hour before physical examination. A cardiologist took the BP measurements with a Fazzini mercury sphygmomanometer (cuff sizes 50–60 cm; width 14–17 cm; Fazzini, Italy). This instrument complies with the decision of Annex VI of the European Council Directive 93/42/EEC concerning medical devices. The measurements were performed on a week day in an outpatient department, between noon and 2 p.m., after a short rest of about 5 min. The subject was in a sitting position, and the mean value was determined from two measurements performed on each arm. If the difference between measurements exceeded 5 mmHg, a third measurement was performed on the same arm.

Hypertension was diagnosed according to the criteria established by the Seventh Report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (systolic pressure ≥ 140 mmHg and/or diastolic pressure ≥ 90 mmHg) (18). Ambulatory BP monitoring was applied in 175 participants (64 men and 111 women) with borderline BP levels and fluctuation from normal to hypertensive values. BP was measured every 30 min over a 24-h period including both waking and sleeping hours on weekdays. The criteria for hypertension based on the ambulatory BP measurements were a mean systolic pressure > 135 mmHg and/or a mean diastolic pressure > 85 mmHg (18). The proportion of subjects in whom hypertension was diagnosed through the BP measuring procedure was 7.5% ($n=163$), out of which there were 79 men (9.2%) and 84 women (6.3%). Within this group, 98 cases of hypertension (52 men and 46 women) were diagnosed by BP measurement with a sphygmomanometer, and 65 cases of hypertension (27 men and 38 women) were diagnosed by additional ambulatory BP monitoring. In the whole investigated sample the total proportion of subjects with hypertension was 19.2% ($n=481$) out of which there were 218 men (21.9%) and 263 women (17.4%).

Children

Children's BP was measured using mercury sphygmomanometer "Fazzini", Italy in a kindergarten or a school. Cuff sizes of 7.5 \times 19.5 cm or 11 \times 27 cm were used according to arm measurement criteria (19). This instrument complies with the decision according to Annex VI of the Council Directive 93/42/EEC concerning medical devices. The measurements were performed after a 15 – minute rest, in a sitting position, with a child's right arm at heart level. Two measurements were performed on the right arm with five minute interval. If the difference between measured BP levels exceeded 5 mm Hg, the third measurement was performed and mean values of systolic and diastolic pressures were calculated. Heart rate was measured by radial artery palpitation for 1 min. The measurements were performed by one of two researchers – medical doctors trained according to the study protocol. Children were not allowed to talk during the measurement session. Hypertension was diagnosed if systolic and/or diastolic pressure were equal or exceeding 95th percentile of values, according to body height, sex, and age (20).

QUESTIONNAIRES

Adults

The questionnaire was anonymous and it consisted of two segments. The first part comprised general socio – demographic data: age, sex, education, employment, period of residence, daily time spent in the apartment, apartment size, number of dwellers, and orientation of the bedroom(s) (toward the street or not).

The second segment consisted of questions on antihypertensive therapy and possible confounding factors, such as family history of hypertension, body weight and height, smoking habits, physical activity, and alcohol consumption, graded on a six – point scale (0: never; 1: several times a year; 2: 1 – 3 times a month; 3: 1 – 3 times a week; 4: 4 – 6 times a week; and 5: every day). There were also questions concerning medically confirmed diseases related to hypertension: diabetes mellitus, renal diseases, aortal coarctation, Cushing's Syndrome, hyperthyreosis, pheochromocytoma, primary aldosteronism, acromegaly and hyperparathyroidism.

Children

The questionnaire consisted of two segments. The first part comprised general socio-demographic data: child's age, sex, birth by order, parental education (coded as: 1—elementary school; 2—secondary school; 3—college; 4—faculty), parental employment, marital status, monthly income (coded as: 1—insufficient; 2—sufficient; 3—more than sufficient), apartment size, number of dwellers, floor. The second part of the questionnaire consisted of questions on family history of hypertension, child's birth weight and diseases related to arterial hypertension (diabetes mellitus, renal diseases).

STATISTICAL ANALYSIS

Data are presented as the means \pm SD for numeric variables, or as percentages (relative numbers) for categorical variables. Differences between groups in parametric data were compared using Student's *t*-test and one – way ANOVA [followed by Least Significant Difference Test (LSD) post hoc analysis]. Mann Whitney U-test and Chi-square test were used for nonparametric data. Pearson correlation analysis was performed to test the association between variables from the questionnaire and children's BP and heart rate. Based on the results of univariate analyses, variables significantly related to BP and heart rate were included in a multiple linear regression model. Univariate logistic regression was performed to calculate OR for arterial hypertension in relation to relevant independent variables. Multiple logistic regression was used to calculate adjusted OR for arterial hypertension in relation to noise exposure. A probability level of less than 0.05 was accepted as significant. We used SPSS 15.0 for Windows software (SPSS Inc. 1989-2006)

RESULTS

Main findings of the performed studies in Belgrade are presented in Table 1.

The prevalence of hypertension among male adults living in residential areas with a higher nighttime noise level

Table 1. Main findings of the studies in Belgrade on the relationship between noise exposure and blood pressure of the population

Reference	Design	Sample size	Exposure assessment method	Blood pressure measurement	Main finding	Effect Size
Belojevic et al. (13)	Cross-sectional	2503 adults (995 male & 1508 female) Belgrade	L night 8h > 45 dB (A) vs. ≤ 45 dB (A)	Diagnosed hypertension & Sphygmomanometer measurement	Higher prevalence of and odds for hypertension among males exposed to L night 8h > 45 dB (A) vs. ≤ 45 dB (A)	OR (95% CI) 1.58 (1.03 -2.42)
Belojevic et al. (14)	Cross-sectional	328 preschool children (age 3-7) 174 boys, 154 girls, Belgrade	Lnight, ≤ 45 dB (A) vs. > 45 dB (A); kindergarten: Lday, ≤ 60 dB (A) vs. > 60 dB (A)	Sphygmomanometer measurement	More children with hypertensive values of BP and higher systolic BP from noisy residences and kindergartens vs. quiet residences and kindergartens	5.70% vs. 1.48%; p = 0.054; 5 mm Hg mean difference (P < 0.01)
Belojevic et al. (15)	Cross-sectional	391 schoolchildren (age 7-11) 186 boys, 205 girls, Belgrade	Lnight, ≤ 45 dB (A) vs. > 45 dB (A); School: Lday, ≤ 60 dB (A) vs. > 60 dB (A)	Sphygmomanometer measurement	Higher systolic BP among children from noisy residences and schools vs. quiet residences and schools	4 mm Hg mean difference (P < 0.01)
Paunovic et al. (16)	Cross-sectional	1113 schoolchildren (533 boys; 580 girls)		Sphygmomanometer measurement	Higher systolic BP among children from residences and schools from the streets with public transport vs. no public transport	2 mm Hg mean difference (P < 0.05)

was higher compared to the population from less noisy areas (23.6% vs. 17.5%). Odds ratio adjusted for age, body mass index, physical activity, subjective noise sensitivity, noise annoyance, family history of hypertension and alcohol consumption pointed to 58% higher probability of obtaining hypertension if exposed to noise. There was no significant effect of noise on BP of females.

Systolic pressure was significantly higher (5 mm Hg on average) among pre-school children from noisy residences and kindergartens compared to children from both quiet environments ($p=0.001$). Diastolic pressure and mean arterial pressure were similar between the groups. The prevalence of children with hypertensive values of BP was 3.96% (13 children, including 8 boys and 5 girls), with higher prevalence in children from noisy residences (5.70%), compared to children from quiet residences (1.48%). The difference was borderline significant ($\chi^2=3.71$; $p=0.054$). To determine the relationship between noise exposure and studied cardiovascular parameters allowing for age, parental education, family history of hypertension and family income, multiple linear regression analysis was performed. The correlation was positive and significant ($B = 1.056$ (95% CI= 0.269-1.843) ($P = 0.009$)).

In the pilot study on school children (15) the systolic BP among children from noisy residences and schools was higher compared to children from quiet residences and schools. The multiple linear regression adjusted for age, parental education, family history of hypertension and family income showed that systolic pressure was positively and significantly related to noise exposure ($B = 3.413$ (95% CI= 1.903-4.923) ($P < 0.001$)).

The final study on schoolchildren showed that children attending schools with public transport running nearby had by 1.3 mmHg higher systolic BP compared to children from schools without public transport. (16) This effect was independent from children's age, gender, BMI, family history of hypertension, physical activity and eating habits.

DISCUSSION

Our investigations show that nighttime road – traffic noise is significantly related to hypertension in the adult male urban population. We also show that systolic pressure is higher among children exposed to noise at home and at kindergartens or schools, compared to children from two quiet environments. There is a possible positive association between the presence of public transport near schools and systolic BP in schoolchildren.

So far, few studies have focused on the influence of nighttime noise. One of these is a study conducted in the city of Erfurt in Germany. It was designed as a longitudinal 5 – year prospective study investigating health benefits of lowering traffic noise levels by 10 dB(A) in the residential area. (21) The results showed that the recovery of the patients with arterial hypertension was more frequent than in the control group where no such measures were undertaken. Only one German survey distinguished the effects of nighttime vs. daytime noise exposure, showing slightly higher relative risk for hypertension in association with night noise (22). That study revealed significant risk for the occurrence of hypertension among men exposed to nighttime noise

levels exceeding 55 dB(A), independent from other possible confounders, including age, body mass index, physical activity or family history of hypertension.

The presented results on noise exposure and children's BP are partially in accordance with the results from Bratislava study on preschool children (11) and with the Inn Valley study (10). In the Bratislava study significantly higher systolic and diastolic BP readings were reported in children aged 3 – 7, from homes and/or kindergartens exposed to traffic noise of $Leq_{24h}N_{60}$ dB compared to those from less exposed areas ($Leq_{24h} \leq 60$ dB). The findings of the London study (12) were mainly opposite to our results, showing significant negative association between daytime road – traffic noise at schools and children's systolic pressure. However, the effect of road – traffic noise at home was not investigated. Daytime and night time aircraft noises at home were significantly and positively associated with BP.

The clinical significance of the observed 2-5 mm Hg difference in the mean systolic pressure level between children exposed to higher and lower noise levels is

difficult to determine. It is also challenging to predict whether and to what extent slight increases in children's BP can cause possible health risks in later life, although there is evidence that elevated BP values in childhood might be related to hypertension in young adults (23).

CONCLUSION

The investigations of the BETBEN over the past decade show that road traffic noise might be regarded as a significant risk factor for hypertension in adult urban population and an important stressor that might elevate systolic BP in children.

NAPOMENA

Rad je usmeno izložen na mini simpozijumu Higijensko-ekološki činioci i zdravlje na 43. simpozijumu Strem-ljenja i novine u medicini, Medicinski fakultet u Beogradu, 12.12.2014. godine.

References

- Berglund B, Lindvall T, Schwella DH. (eds.) Guidelines for community noise. World Health Organization, Geneva, 1999, pp. 1-2
- Institute of Public Health of Belgrade. Ecological atlas of Belgrade. Final document of the second stage of the project 'ecological assessment of the general urban plan of Belgrade'. Vol. B. Cartographic reports on the sectors analyses (CDROM). Belgrade (Serbia): GZZZ; 2002.
- Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens* 2013; 31 (7): 1281-357.
- van Kempen E, Babisch W. The quantitative relationship between road traffic noise and hypertension: a meta-analysis. *J Hypertens*. 2012; 30 (6):1075-1086.
- Babisch W. Cardiovascular effects of noise. *Noise Health*. 2011;13 (52):201-204.
- Münzel T, Gori T, Babisch W, Basner M. Cardiovascular effects of environmental noise exposure. *Eur Heart J*. 2014 35(13): 829-836.
- Babisch W. Stress hormones in the research on cardiovascular effects of noise. *Noise Health*. 2003; 5(18):1-11.
- World Health Organization. Night noise guidelines for Europe. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, 2009.
- Xue J, McCurdy T, Spengler J, Ozkaynak H. Understanding variability in time spent in selected locations for 7-12 year old children. *J Exp Anal Environ Epidemiol* 2004; 14 (3):222-33.
- Evans GW, Lercher P, Meis M, Ising H, Kofler W. Community noise exposure and stress in children. *J Acoust Soc Am* 2001; 109 (3):1023-7.
- Regecova V, Kellerova E. Effects of urban noise pollution on blood pressure and heart rate in preschool children. *J Hypertension* 1995; 13 (4):405-12.
- Van Kempen E, Van Kamp I, Fischer P, et al. Noise exposure and children's blood pressure and heart rate: the RANCH project. *Occup Environ Med* 2006; 63(9):632-9.
- Belojević G, Jakovljević B, Stojanov V, Slepčević V, Paunović K. Night-time road-traffic noise and arterial hypertension in an urban population. *Hypertens Res* 2008; 37: 775-81.
- Belojevic G, Jakovljevic B, Stojanov V, Paunovic K, Ilic J. Urban road-traffic noise and blood pressure and heart rate in preschool children. *Environ Int* 2008; 34:226-231.
- Belojevic G, Jakovljevic B, Paunovic K, Stojanov V, Ilic J. Urban road-traffic noise and blood pressure in school children. In: Griefahn B (Ed.) Proceedings of the 9th Congress of the International Commission on Biological Effects of Noise „Noise as a Public Health Problem“, Mashantucket, Foxwoods, CT, USA, 21-25 July 2008, pp.287-292.
- Paunovic K, Belojevic G, Jakovljevic B. Blood pressure of urban school children in relation to road traffic noise, traffic density and presence of public transport. *Noise Health* 2013; 15 (65): 253-260.
- ISO (International Organization for Standardization). Acoustics—description and measurement of environmental noise—Part 1, Basic quantities and procedures. International Standard. ISO 1996-1. Geneva: International Organization for Standardization; 1982.
- National Institute of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute: The Seventh Report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. NIH Publication No. 03-5233, 2003.
- Kirkendall WM, Feinleib M, Freis ED, Mark AL. Recommendations for human blood pressure determination by sphygmomanometers. Subcommittee of the AHA Postgraduate Education Committee. *Hypertension* 1981; 3 (4):510A-9A.
- National High Blood Pressure Education Program. Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. The fourth report on the diagnosis, evaluation and treatment on high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* 2004; 114 (2):555-76.
- Wölke C, Mahr B, Kahl G, Morstedt R, Schulze B: Traffic noise and cardiovascular risk. *Forum Städte-Hygiene* 1990; 41: 306-308 (in German).
- Maschke C, Wolf U, Leitmann T: Epidemiological examinations of the influence of noise stress on the immune system and the emergence of arteriosclerosis. Report 298 62 515, WaBoLu-Hefte, 01/03. Umweltbundesamt, Berlin, 2003 (in German, executive summary in English).
- Bao W, Threefoot SA, Srinivasan SR, Berenson GS (1995). Essential hypertension predicted by tracking of elevated blood pressure from childhood to adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Am J Hypertens* 8: 657-665.

DIETARY SUPPLEMENTS AND PHYSICIANS’ – KNOWLEDGE AND ATTITUDES

DIJETETSKI SUPLEMENTI U ISHRANI – ZNANJE I STAVOVI LEKARA

Nikola Krcunović¹, Nađa Vasiljević², Đorđe Radak^{3,4}, Miloš Maksimović²

Summary

Dietary supplements are products that supplement a normal diet and they are concentrated sources of vitamins, minerals or other substances with a nutritional or physiological effect, individually or in combination. Previous studies indicate that the use of dietary supplements is widespread in many countries. Patients expect their doctors to provide information about supplements, and in many cases supplements are used according to a recommendation of a friend who often has no medical education.

Health workers’ knowledge about supplements depends on many factors, but most of the studies in this field of education show there is a lot of room for improvement.

There is not much information on the knowledge medical students (as future physicians) have about supplements and how these are used, but available data suggest that this knowledge is at a low level.

Owing to the fact that the number of dietary supplements on the market is increasing, as well as the number of their users, which can lead to uncontrolled use and health damage, there is a need for educating health workers about dietary supplements so that their use becomes rational and safe.

Key words: dietary supplements, nutrition, medical doctors’ knowledge.

Sažetak

Dijetetski suplementi su proizvodi koje dopunjuju normalnu ishranu i predstavljaju koncentrovane izvore vitamina, minerala ili drugih supstanci sa hranljivim ili fiziološkim efektom, pojedinačno ili u kombinaciji. Dosadašnja istraživanja ukazuju da je korišćenje dijetetskih suplemenata veoma rasprostranjeno u mnogim zemljama. Pacijenti očekuju od lekara informacije o suplementima, i u velikom broju slučajeva suplemente koriste po savetu prijatelja koji često nemaju medicinsko obrazovanje.

Znanje zdravstvenih radnika o suplementima zavisi od mnogo faktora, ali najveći broj istraživanja pokazuje da na tom polju edukacije ima dosta prostora za napredak.

Nema mnogo podataka o informisanosti studenata medicine kao budućih lekara o znanju i načinima korišćenja suplemenata, ali dostupni podaci sugerišu da je ono na niskom nivou.

S obzirom da na tržištu raste broj dijetetskih suplemenata i njihovih korisnika, koje mogu dovesti do nekontrolisanog korišćenja i oštećenja zdravlja prouzrokovanih ovim preparatima, nameće se potreba za edukacijom zdravstvenih radnika o dijetetskim suplementima kako bi njihova upotreba postala racionalna i bezbedna.

Cljučne reči: dijetetski suplementi, ishrana, znanje lekara

UVOD

Dijetetski suplementi su proizvodi koje dopunjuju normalnu ishranu i predstavljaju koncentrovane izvore vitamina, minerala ili drugih supstanci sa hranljivim ili fiziološkim efektom, pojedinačno ili u kombinaciji [1].

U prometu su u doziranim oblicima, dizajnirane da se uzimaju u odmerenim pojedinačnim količinama (kapsule, tablete, kesice praška, ampule tečnosti, bočice za doziranje u kapima i dr). Namenjeni su osobama koje imaju povećane potebe ili smanjeni unos pojedinih nutrijenata ili kod osoba kod kojih je potrebno postići određeno fiziološko delovanje kontrolisanom suple-

mentacijom svakodnevne ishrane. Dijetetske suplemente možemo podeliti na:

1. Dijetetske suplemente koji sadrže vitamine, minerale i druge nutrijente (pojedinačno ili u kombinacijama)
2. Dijetetske suplemente koji sadrže supstance biljnog i drugog porekla (enzimi, probiotici).

Odluku o korišćenju dijetetskih suplemenata korisnici najčešće donose samostalno, pod uticajem informacija iz medija i od prijatelja, bez konsultacija sa lekarom ili farmaceutom, smatrajući ove preparate potpuno

bezbednim i bezopasnim po svoje zdravlje. Uzimanje suplemenata na svoju ruku kao i njihova nepravilna i neracionalna kao i moguće interakcije između dijetetskih suplemenata i lekova mogu dovesti do oštećenja zdravlja i brojnih neželjenih reakcija.

Porast upotrebe suplemenata ukazuje na potrebu da svi uključeni u ovu oblast ulože adekvatni napor da korišćenje suplemenata postane bezbedno, kontrolisano i racionalno. U tom procesu posebno mesto imaju zdravstveni radnici, pre svega iz primarne zdravstvene zaštite, ali i farmaceuti, nutricionisti i stručnjaci iz oblasti sporta. Znanje i stavovi navedenih stručnjaka u pogledu značaja, mogućnosti i ograničenja upotrebe dijetetskih suplemenata preduslov je za njihovu efikasnu primenu. Iako se preporučuje da pre upotrebe određenog suplementa korisnici se posavetuju sa lekarom o bezbednosti i terapijskoj primeni suplementa, mali broj korisnika suplemenata stvarno to čini.

U početku su dijetetski suplementi bili ograničeni na vitamine i mineralne materije, što i danas predstavlja klasičan primer nutritivne suplementacije esencijalnim nutrijentima kod koje su tačno utvrđene dnevno potrebne količine za pojedine uzraste i pojedina fiziološka stanja. Nakon minerala i vitamina u dijetetske suplemente je dospelo čitav niz nutrijenata kao što su masne kiseline, aminokiseline i izolovani proteini i peptidi i pojedini ugljeni hidrati. Nakon nutrijenata, u suplementaciju su uvođene nenutritivne supstance za koje su naučna istraživanja dokazala da su korisna i da povoljno deluju na organizam (karotenoidi, Q10, bioflavonoidi itd). Danas veliki broj suplemenata sadrži supstance koje se ne unose običnom ishranom, biljne preparate, koje su nekad korišćeni kao lekovi, a danas se u subterapijskoj dozi koriste kao suplementi.

RAZLOZI POPULARNOSTI DIJETETSKIH SUPLEMANATA

Razlozi za popularnost dijetetskih suplemenata su brojni. Glavni razlog njihove primene je da se ne radi o lekovima, već o prirodnim supstancama koje se mogu naći u hrani. Sve veći troškovi lečenja su još jedan od faktora koji utiču da se ljudi u potrazi za poboljšanjem i produženjem zdravlja okreću ka preventivnim aktivnostima u koje spada i korišćenje suplemenata. Dijetetski suplementi su lako dostupne, relativno jeftine, supstance koje poboljšavaju zdravlje i vrše prevenciju zdravlja. Za suplemente u vidu vitamina i biljne suplemente se predpostavlja da imaju sigurnije dejstvo nego lekovi koje proizvode farmaceutske kompanije. U sve većem porastu je suplementacija i kod rekreativnih i profesionalnih sportista radi postizanja što boljih rezultata.

Sa obzirom na povećanu svest zajednice o prevenciji i tretmanu bolesti, upotreba dijetetskih suplemenata je

u stalnom porastu u razvijenim zemljama [2]. Prema istraživanjima sprovedenim u Australiji, 52% populacije je koristilo barem jedan dijetetski suplement 2003 godine, a taj broj se povećao na 68,99 % 2007. godine [3,4]. U Kanadi 71 % stanovnika je koristilo dijetetski suplement 2005. godine [5], dok podaci za Sjedinjene Američke Države ukazuju da je preko 60 % američke populacije koristilo suplemente [6].

ZNAČAJ EDUKACIJE NA POPULACIONOM NIVOU LEKARA O DIJETETSKIM SUPLEMENTIMA

Iako je veliki broj suplemenata bezbedan i ima korisno dejstvo, mnogi suplementi koji se koriste na tržištu još uvek nisu dovoljno ispitani i njihovo pravo dejstvo je i dalje kontradiktorno. Neki se čak smatraju nebezbednim za upotrebu [7,8].

Međutim iako nisu bezbedni i nemaju ispitano dejstvo i dalje se nalaze na tržištu. Prodaju se i korisnici ih uzimaju na svoju ruku” bez prethodne konsultacije sa lekarom, takođe veliki broj proizvoda se prodaje preko interneta i postoji mala kontrola kvaliteta tih proizvoda. Njihova pojava na tržištu praćena je agresivnom promocijom u medijima, često sa zvučnim obećanjima o efikasnosti. Veliki broj ljudi dobija informacije iz medija i od prijatelja.

Potrebno je posvetiti veću pažnju promociji pravilne upotrebe dijetetskih suplemenata koju realizuju lekari i farmaceuti. S obzirom na različit sastav kao i različite mehanizme delovanja aktivnih komponenata ovih proizvoda, njihova upotreba može biti rizična za zdravlje potrošača, naročito ako se istovremeno koriste i lekovi. U svetu su zabeleženi mnogi slučajevi neželjenih reakcija i interakcija između dijetetskih suplemenata i medikamenata konvencionalne medicine. Zbog svega ovoga kao i trenda porasta upotrebe suplemenata u svetu nepohodna je stroža kontrola kvaliteta suplemenata kao i edukacija samih korisnika o dejstvu i neželjenim dejstvima konzumiranih suplemenata.

I pored velike upotrebe suplemenata i važnosti informisanja o suplementima, mali broj pacijenata koji koriste suplemente i o tome razgovara sa svojim lekarom [9].

Smatra se da su ovoga dolazi zato što se doktori dovoljno ne raspituju o upotrebi dijetetskih suplemenata kod pacijenata, i da zbog toga pacijenti smatraju da doktori nemaju dovoljno znanja o dijetetskim suplementima [10].

Zbog svega ovoga neophodno je ispitati i znanje lekara (pre svega primarne zdravstvene zaštite) o dijetetskim suplementima i njihovim neželjenim dejstvima jer oni igraju veoma važnu ulogu u informisanju pacijenata o istim.

ZNANJA I STAVOVI LEKARA O DIJETETSKIM SUPLEMENTIMA

Prema podacima iz istraživanja koje je rađeno u Sjedinjenim Američkim Državama 2003. godine [11] i koje je obuhvatilo 537 učesnika od čega su 111 bili doktori medicine, 350 nutricionista, 30 medicinskih sestara i 46 farmaceuta. Ovo studija preseka je ispitivala znanje, stavove i praksu o biljnim i dijetetskim suplementima. Najveći broj učesnika je direktno bio uključen u brigu o pacijentima (86%), u praksi ili na fakultetu (84%) ili lokalnih institucija (76%), njih 66% se prijavilo da se edukovalo o dijetetskim suplementima te godine. Postojala je statistički značajna razlika u znanju o suplementima između različitih profesija, pri čemu su nutricionisti su pokazali najbolje rezultate, ali su i oni imali ispod 60% tačnih odgovora. Od ukupnog broja zdravstvenih radnika odgovori na testiranja na znanja o suplementima su bili manji od 50% tačnih odgovora. Većina ispitanika je znala čemu služe i kako se koriste određeni suplementi, ali nije znala neželjena dejstva suplemenata prilikom komunikacije sa pacijentima o suplementima.

Smatra se da i pored interesovanja za dijetetske suplemente i edukaciji o njima postoji prostora za unapređenje u znanju, stavovima i kliničkoj praksi o suplementima. Zaključeno je da je neophodna dalja edukacija kako bi se povećao kvalitet brige o pacijentima kada su u pitanju suplementi.

Po drugoj studiji preseka sprovedenoj u Sjedinjenim Američkim Državama u periodu od 2004. do 2005. godine u kojoj je učestvovalo 1268 zdravstvena radnika [12] od kojih je 379 doktora medicine, ispitivana su znanja zdravstvenih radnika o suplementaciji i komunikaciji sa pacijentima o dijetetskim suplementima.

Ovo predstavlja najveću do sada sprovedenu studiju o znanju i stavovima zdravstvenih radnika o suplementima.

Većina ispitanika (85%) i sami koriste suplemente ili biljne proizvode. Najviše koriste multivitamin (64%), kalcijum (39%), B vitamin (33%), C vitamin (33%), zeleni čaj (26%), riblje ulje (26%), vitamin E (23%) i vitamin D (16%). Podaci da i sami koriste ove suplemente pokazuje nam da zdravstveni radnici imaju poverenje u određene suplemente.

Odgovarajući na upitnik o suplementima ispitanici su imali 66% tačnih odgovora. Doktori medicine su odgovorili tačno na 70% postavljenih pitanja.

I pored toga što su doktori pokazali visok nivo znanja o suplementima i komunikaciji sa pacijentima o suplementima studija navodi da ima mesta za napredak. Naročito u pogledu informisanosti o toksičnosti pojedinih suplemenata i biljnih proizvoda, kao i u pogledu

poboljšanja komunikacije između doktora i pacijenta u pogledu dijetetskih suplemenata [13].

Treća studija sprovedena na teritoriji Sjedinjenim Američkim Državama koja je obuhvatila 200 hospitalizovanih pacijenata nam pokazuje da je svega 21% suplemenata koji koriste pacijenti zavedeno u medicinsku dokumentaciju pacijenta [14]. To nam govori da doktori iako su svesni da pacijenti koriste suplemente još uvek ih ne tretiraju kao druge lekove.

Upotreba suplemenata među doktorima je slična po učestalosti upotrebi među opštom populacijom. Prema studiji Healthcare Professionals Impact Study (HCP) impact studiji sprovedenoj u SAD u kojoj je učestvovalo 900 doktora i 277 medicinskih tehničara navodi se da većina doktora preporučuje unos suplemenata svojim pacijentima [15], ali takođe većina njih navodi da nije imala nikakvu dodatnu edukaciju o suplementaciji i izrazila je interesovnje za dalju edukaciju u vezi sa suplementima.

Tabela 1. Upotreba i preporuka korišćenja suplemenata u HCP Impact studiji [15]

	Doktori (n = 900)	Medicinski tehničari (n = 277)
Procenat koji koristi dijetetske suplemente (redovno, povremeno, ili sezonski)	72%	89%
Procenat redovne upotrebe dijetetskih suplemenata	51%	59%
Preporučuje upotrebu suplemenata pacijentima	79%	82%

U našoj zemlji nisu do sada sprovedena istraživanja o znanju i stavovima lekara o dijetetskim suplementima ali je sprovedeno istraživanje o znanjima, stavovima i ponašanju studenata medicine i farmacije u vezi sa dijetetskim suplementima [16]. Deskriptivnim epidemiološkim ispitivanjem je obuhvaćeno ukupno 100 studenata četvrte godine Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu, odabranih metodom slučajnog izbora. Obavljeno je anketiranje ispitanika, korišćenjem originalnog epidemiološkog upitnika. Rezultati su pokazali da je polovina ispitanika koristila povremeno dijetetske suplemente tokom 2011. godine. Informisanost o načinu korišćenja dijetetskih suplemenata kod studenata medicine je bila svega 22%. Prema rezultatima istraživanja osobe koje utiču na izbor dijetetskih suplemenata uglavnom su prijatelji, a ne lekari i farmaceuti.

ZAKLJUČAK

S obzirom da na tržištu raste broj dijetetskih suplemenata i njihovih korisnika, u budućnosti treba očekivati mogući porast broja neželjenih reakcija i oštećenja

zdravlja prouzrokovanih ovim preparatima. Usled toga postoji potreba za edukacijom zdravstvenih radnika i korisnika dijetetskih suplemenata kako bi njihova upotreba postala racionalna i bezbedna.

ZAHVALNICA:

Ovaj rad je podržan projektom broj III 41002 finansiranim od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja.

Literatura

1. Sl. glasnik RS", br. 45/2010, 27/2011 i 50/2012.
2. Tran S, Calabretto JP, Sorich M. Consumer-pharmacist interactions around complementary medicines: agreement between pharmacist and consumer expectations, satisfaction and pharmacist influence. *Int J Pharm Pract.* 2013;21:378-385.
3. Semple SJ, Hotham E, Rao D, Martin K, Smith CA, Bloustien GF. Community pharmacists in Australia: barriers to information provision on complementary and alternative medicines. *Pharm World Sci.* 2006;28:366-373.
4. Xue CC, Zhang AL, Lin V, Da Costa C, Story DF. Complementary and alternative medicine use in Australia: a national population-based survey. *J Altern Compl Med* 2007;13:643-650.
5. Reid I. Baseline Natural Health Products Survey Among Consumers: Final Report. Health Canada ; 2005.
6. Gahche J, Bailey R, Burt V, Hughes J, Yetley E, Dwyer J, et al. Dietary supplement use among U.S. adults has increased since NHANES III (1988-1994) NCHS data brief. 2011:1-8.
7. Denham BE. Dietary supplements—regulatory issues and implications for public health. *JAMA.* 2011; 306 (4): 428-429.
8. Petroczi A, Taylor G, Naughton DP. Mission impossible? Regulatory and enforcement issues to ensure safety of dietary supplements. *Food Chem Toxicol.* 2010; 49 (2): 393-402.
9. Tasaki K, Maskarinec G, Shumay DM, Tatsumura Y, Kakai H. Communication between physicians and cancer patients about complementary and alternative medicine: exploring patients perspectives. *Psychooncology.* 2002;11:212-220.
10. Cohen MH, Eisenberg DM. Potential physician malpractice liability associated with complementary and integrative medicaltherapies. *Ann Intern Med* 2002; 136:596-603.
11. Kemper K, Amata-Kynvi A, Dvorkin L, Whelan JS, Woolf A, Samuels RC, et al. Herbs and Other Dietary Supplements: Health Care Professionals' Knowledge, Attitudes and Practices. *Altern Ther Health Med.* 2003;9:42-49
12. Kemper KJ, Gardiner P, Gooble, Woods C. Expertise about herbs and dietary supplements among diverse health professionals. *BMC Complement Altern Med.* 2006;286:15.
13. Suchard JR, Suchard MA, Steinfeldt JL. Physicianknowledge of herbal toxicities and adverse herb-drug interactions. *Eur J Emerg Med.* 2004;11:193-197.
14. Glintborg B, Andersen SE, Spang-Hanssen E, Dalhoff K. Disregarded use of herbal medical products and dietary supplements among surgical and medical patients as estimated by home inspection and interview. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2005; 14(9):639-645.
15. Dickinson A, Boyon N, Shao A. Physicians and nurses use and recommend dietary supplements: report of a survey. *Nutr J.* 2009;8:29
16. Nikolić M, Blagojević M, Simonović N. Znanje, stavovi i ponašanje studenata farmacije i medicine u vezi sa upotrebom dijetetskih suplemenata. *Studentski Medicinski glasnik.* 2011; II(1-4): 4-8.

THE IMPACT OF OBESITY ON DEVELOPMENT OF CARDIOVASCULAR DISEASES – MINI REVIEW

EFEKTI GOJAZNOSTI NA NASTANAK KARDIOVASKULARNIH POREMEĆAJA

Sanja Soskić¹, Anastasija Panic¹, Esmā R. Isenović^{1,2,3}

Summary

Obesity is considered to be a chronic metabolic disorder closely connected to the chronically low inflammation characterized by significant changes in the levels of adipokines and proinflammatory cytokines, as well as other molecules that have an impact on cardiovascular function. Therefore, obesity (especially central obesity) is considered to be a significant risk factor for the development of cardiovascular diseases, atherosclerosis, coronary artery disease, hypertension and left ventricular dysfunction being some of them. The increased accumulation of fat tissue around the heart and in the blood vessels, the increased levels of oxidative stress and the inflammatory state mutually interact in the process of cardiovascular disease occurrence. Lowering the amount of body weight could significantly contribute to reduction of cardiovascular diseases and the subsequent complications.

Key words: *obesity, cardiovascular disease.*

Sažetak

Prekomerno prisustvo adipoznog tkiva u organizmu, odnosno gojaznost, predstavlja rezultat energetske disbalansa, pri čemu unos energije premašuje energetske potrebe tokom vremena. Gojaznost se smatra hroničnim metaboličkim poremećajem povezanim sa hroničnom niskom inflamacijom okarakterisanom značajnim promenama nivoa adipokina i proinflamatornih citokina, kao i drugih molekula koji utiču na kardiovaskularnu funkciju. Stoga se gojaznost, posebno centralna gojaznost, smatra značajnim faktorom rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti (KVB), među kojima su ateroskleroza i bolest koronarnih arterija, hipertenzija i disfunkcija leve komore. Povećano nakupljanje masnog tkiva oko srca i krvnih sudova, povećani nivo oksidativnog stresa i inflamatorno stanje međusobno interaguju u procesu nastanka KVB. Smanjenje telesne težine može značajno doprineti smanjenju KVB i njihovih komplikacija. U okviru ovog kratkog preglednog članka, dat je prikaz najnovijih literaturnih podataka o uticaju gojaznosti na nastanak kardiovaskularnih poremećaja.

Ključne reči: *gojaznost, kardiovaskularne bolesti*

GOJAZNOST

Prekomerno prisustvo adipoznog tkiva u organizmu predstavlja gojaznost koja može dovesti do mnogobrojnih zdravstvenih problema [1, 2]. Gojaznost u svojoj osnovi predstavlja rezultat energetske disbalansa, pri čemu unos energije premašuje energetske potrebe tokom vremena [3]. Gojaznost je peti od vodećih uzroka smrti na svetskom nivou [8] prema podacima Svetske Zdravstvene Organizacije (WHO; *engl. World Health Organization*) i sa sobom nosi povećan rizik od nastanka metaboličkog sindroma, dijabetesa, kardiovaskularnih i malignih bolesti [9]. Gojaznost, posebno centralna gojaznost *per se* smatra se značajnim faktorom rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti (KVB) i smatra se hroničnim metaboličkim poremećajem povezanim sa hroničnom niskom inflamacijom koju karakterišu značajne promene nivoa adipokina i proinflamatornih citokina, kao i drugih molekula koji utiču na kardiovaskularnu funkciju [4]. Smatra se da će 2015. godine u svetu biti 2,3 milijarde osoba sa prekomernom težinom i više

od 700 miliona gojaznih osoba [5]. Učestalost gojaznosti se progresivno povećava, čak i u populaciji starijih ljudi [6]. Gojaznost je jedan od najvažnijih zdravstvenih problema u Srbiji sa učestalošću od 54%, a najveće prisustvo prekomerne težine je uočeno u populaciji Vojvodine (58%) [7]. U nekoliko meta-analiza jasno je uočeno da su mortalitet i morbiditet asocirani sa prekomernom telesnom težinom i gojaznošću samo kada je indeks telesne mase (BMI; *engl. body mass index*) veći od 30kg/m² [6].

GOJAZNOST I KARDIOVASKULARNI POREMEĆAJI

Gojaznost je nezavisni uzročnik bolesti koronarnih arterija [10]. Gojazni muškarci stariji od 50 godina imaju duplo veći rizik od nastanka koronarnih bolesti, a takođe i gojazne žene približnih godina imaju 2,4 puta veći rizik [13]. Gojaznost dovodi do povećanog nakupljanja perivaskularne masti oko srca i njegovih glavnih krvnih

sudova [10]. Ovo povećanje adipoznog tkiva oko krvnih sudova uzrokuje prekomerno stvaranje proinflammatoryh citokina dovodeći do inflamacije i ateroskleroze sa istovremenim povećanjem zadebljanja intime-medie i smanjenja elastičnosti arterija [14]. Eksperimentalne studije pokazuju da čak i u ranim stadijumima gojaznosti postoji redukcija vazorelaksacije koronarnih arterija zavisne od endotela [15]. Akutni koronarni sindromi su obično aktivirani rupturom ili erozijom ateromatoznog plaka. Kada dođe do rupture plaka, faktor endotelneog tkiva je izložen krvi i pokreće kaskadu koagulacije uzrokujući formiranje tromba [11].

Učestalost hipertenzije kod gojaznih pacijenata je u porastu i osobe sa indeksom telesne mase (BMI, *engl. body mass index*) većim od 40 imaju sedam puta veću šansu da postanu hipertenzivne [16]. Poznato je da gojaznost kod dece i adolescenata takođe dovodi do hipertenzije [10]. Chiolero i saradnici su sproveli studiju učestalosti hipertenzije i pokazali da kod osoba sa prekomernom težinom i gojaznih ima 37% pojave hipertenzije [17]. U Švajcarskoj su Maggio i saradnici pokazali pozitivne asocijacije između gojazne dece i sistolne hipertenzije kod 47,6% pacijenata kao i povećanje mase leve komore delom uzrokovane visokim sistemskim krvnim pritiskom [18]. Gojazna deca imaju 10 puta veći rizik od nastanka hipertenzije kad odrastu u odnosu na normalno uhranjenu decu, a takođe je potvrđena i kontinualna veza između BMI i arterijskog pritiska [19,20]. Stabouli i saradnici [21] su pokazali da gojazni adolescenti imaju viši krvni pritisak i veće zadebljanje intime-medie karotidne arterije u poređenju sa normalno uhranjenim adolescentima. Danas se smatra da je inflamatorno stanje povezano sa gojaznošću je verovatno jedan od faktora odgovornih za hipertenziju [22]. Inflamatorno stanje dovodi do hiperinsulinemije, rezistencije na insulin, dislipidemije i oksidativnog stresa sa pratećim ozbiljnim oštećenjem sistema organa [10].

Povećanje nivoa slobodnih masnih kiselina praćeno povećanim nivoom cirkulišuće glukoze pomaže sekreciju insulina iz pankreasa rezultujući hiperinsulinemijom [10]. Ovi događaji mogu uzrokovati povećanu reapsorpciju natrijuma i aktivnost simpatičkog nervnog sistema sa kasnijim razvojem ili pogoršanjem hipertenzije [23]. Aktivacija sistema renin-angiotenzin-aldosteron takođe značajno doprinosi hipertenziji kod gojaznih osoba [12, 24]. Adipozno tkivo je sposobno da sintetiše komponente ovog sistema [12, 24]. U vezi sa tim, stvaranje angiotenzina II u adipoznom tkivu povećava produkciju proinflammatoryh citokina [12, 13] i stimuliše *per se* vazokonstrikciju, proliferaciju glatkomišićnih vaskularnih ćelija i disfunkciju endotela [22]. Pored angiotenzina II, takođe i povećanje nivoa aldosterona može dovesti do rasta tkiva miokarda [24].

Višak telesne težine povezan je sa slabošću srca i smrću [10]. Za svaku vrednost BMI iznad 30 rizik od nastan-

ka slabosti srca se povećava za 5% kod muškaraca i za 7% kod žena [13]. Gojaznost je povezana i sa sistolnom i dijastolnom disfunkcijom srca [10]. U unakrsnoj studiji Ammar i saradnici su pokazali postojanje izrazite korelacije između sistolne i dijastolne disfunkcije leve komore i centralne gojaznosti merene odnosom struk/kuk (WHR, *engl. waist-to-hip ratio*) [25]. Veće šanse za preživljavanje događaja na srcu imaju pacijenti sa smanjenom količinom izbačene krvi iz leve komore i sa većim BMI od onih sa manjim BMI što je poznato kao "paradoks gojaznosti" [10]. "Paradoks gojaznosti" ili "reverzna epidemiologija" se objašnjava povećanjem dokaza da pacijenti sa povećanim BMI imaju bolje šanse od drugih kada razviju kardiovaskularnu bolest ili bolest bubrega [26]. Kapoor i Heidenreich su nedavno pokazali da je stopa mortaliteta kod oboljenja srca povećana kod gojaznih pacijenata sa BMI većim od 45 u poređenju sa normalno uhranjenim osobama [27]. Šta više, u studiji sa 1 790 pacijenata Frankenstein i saradnici su otkrili da "paradoks gojaznosti" kod pacijenata sa stabilnom slabošću srca ne postoji posle poklapanja po kliničkim karakteristikama i težini bolesti [28].

ZAKLJUČAK

Kardiovaskularne bolesti predstavljaju vodeći uzrok mortaliteta kako u savremenom svetu, tako i kod nas. Stoga je upoznavanje mehanizama njihovog nastanka postalo jedna od najvažnijih polaznih tačaka u prevenciji i lečenju KVB. Brojni faktori rizika učestvuju u većoj ili manjoj meri u razvoju KVB, među kojima gojaznost zauzima značajno mesto. Kod gojaznih osoba se češće susreću dobro poznati konvencionalni i nekonvencionalni faktori rizika, a i sama gojaznost *per se* vrši značajan uticaj na promenu unutrašnje sredine, što može dovesti do ranije i ozbiljnije manifestacije KVB. Povećano nakupljanje masnog tkiva oko srca i krvnih sudova, povećani nivo proinflammatoryh citokina i nivoa slobodnih masnih kiselina, kao i povećanje oksidativnog stresa, dovode do ubrzanja procesa ateroskleroze i češće pojave ishemijske bolesti srca. S druge strane, povećanje volumena cirkulišuće tečnosti kod gojaznih osoba, kao i hiperinsulinemija, povećana aktivnost simpatičkog nervnog sistema i povećana aktivacija renin-angiotenzin-aldosteron sistema, uz porast reapsorpcije natrijuma, dovode do češće pojave arterijske hipertenzije. Takođe, dokazano je da stepen gojaznosti značajno korelira sa pojavom sistolne i dijastolne disfunkcije srca i ranijom pojavom kongestivne srčane insuficijencije. Jednostavna modifikacija životnih navika uz smanjenje telesne težine može značajno doprineti smanjenju KVB i njihovih komplikacija.

Literatura

1. www.who.int/topics/obesity.
2. Sudar, E, *et al.* "Gojaznost, rezistencija na insulin i kardiovaskularna oboljenja." *Medicinska istraživanja* (2012) 46 (2): 54-59.
3. Greener, J., Douglas, F., and van Teijlingen, E. "More of the same? Conflicting perspectives of obesity causation and intervention amongst overweight people, health professionals and policy makers." *Soc Sci Med* (2010) 70 (7): 1042-1049.
4. Sudar, M. E., *et al.* "Obesity as a risk factor for cardiovascular diseases: one of the biggest problems in health care today." *Life safety and security* (2013) 1 (2).
5. Schafer, K., and Konstantinides, S. V. "Update on the cardiovascular risk in obesity: endocrine and paracrine role of the adipose tissue." *Hellenic J Cardiol* (2011) 52 (4): 327-336.
6. Mathus-Vliegen, E. M., and Obesity Management Task Force of the European Association for the Study of Obesity. "Prevalence, pathophysiology, health consequences and treatment options of obesity in the elderly: a guideline." *Obes Facts* (2012) 5 (3): 460-483.
7. Grujic, V., *et al.* "Overweight and obesity among adults in Serbia: results from the National Health Survey." *Eat Weight Disord* (2010) 15 (1-2): e34-42.
8. www.who.int/mediacentre/factsheets.
9. Dobutovic, B., *et al.* "Pathophysiology of obesity". *Medicinska istraživanja* (2012) 46 (1): 44-54.
10. Barbosa, J. A., *et al.* "Cardiovascular dysfunction in obesity and new diagnostic imaging techniques: the role of noninvasive image methods." *Vasc Health Risk Manag* (2011) 7: 287-295.
11. Darvall, K. A., *et al.* "Obesity and thrombosis." *Eur J Vasc Endovasc Surg* (2007). 33 (2): 223-233.
12. Wassink, A. M., Olijhoek, J.K., and Visseren, F.L. "The metabolic syndrome: metabolic changes with vascular consequences." *Eur J Clin Invest* (2007) 37 (1): 8-17.
13. Mathew, B., *et al.* "Obesity: effects on cardiovascular disease and its diagnosis." *J Am Board Fam Med* (2008) 21 (6): 562-568.
14. Gustafson, B. "Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis." *J Atheroscler Thromb* (2010) 17 (4): 332-341.
15. Galili, O., *et al.* "Early experimental obesity is associated with coronary endothelial dysfunction and oxidative stress." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* (2007) 292 (2): H904-911.
16. Good, D., *et al.* "Obesity, hypertension, and the heart." *J Cardiometab Syndr* (2008) 3 (3): 168-172.
17. Chiolero, A., *et al.* "Prevalence of hypertension in schoolchildren based on repeated measurements and association with overweight." *J Hypertens* (2007) 25 (11): 2209-2217.
18. Maggio, A. B., *et al.* "Associations among obesity, blood pressure, and left ventricular mass." *J Pediatr* (2008) 152 (4): 489-493.
19. Jolliffe, C. J., and Janssen, I. "Vascular risks and management of obesity in children and adolescents." *Vasc Health Risk Manag* (2006) 2 (2): 171-187.
20. Ippisch, H. M., *et al.* "Reversibility of cardiac abnormalities in morbidly obese adolescents." *J Am Coll Cardiol* (2008) 51 (14): 1342-1348.
21. Stabouli, S., *et al.* "Adolescent obesity is associated with high ambulatory blood pressure and increased carotid intimal-medial thickness." *J Pediatr* (2005) 147 (5): 651-656.
22. Hadi, H. A., Carr, C.S., and Al Suwaidi, J. "Endothelial dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome." *Vasc Health Risk Manag* (2005) 1 (3): 183-198.
23. Aronne, L. J., Nelinson, D. S., and Lillo, J. L. "Obesity as a disease state: a new paradigm for diagnosis and treatment." *Clin Cornerstone* (2009) 9 (4): 9-25; discussion 26-29.
24. Morse, S. A., *et al.* "Hypertension and the metabolic syndrome." *Am J Med Sci* (2005) 330 (6): 303-310.
25. Ammar, K. A., *et al.* "Central obesity: association with left ventricular dysfunction and mortality in the community." *Am Heart J* (2008) 156 (5): 975-981.
26. Morse, S. A., Gulati, R., and Reisin, E. "The obesity paradox and cardiovascular disease." *Curr Hypertens Rep* (2010) 12 (2): 120-126.
27. Kapoor, J. R., and Heidenreich, P.A. "Obesity and survival in patients with heart failure and preserved systolic function: a U-shaped relationship." *Am Heart J* (2010) 159 (1): 75-80.
28. Frankenstein, L., *et al.* "The obesity paradox in stable chronic heart failure does not persist after matching for indicators of disease severity and confounders." *Eur J Heart Fail* (2009) 11 (12): 1189-1194.

LEPTIN AND ITS MECHANISM OF ACTION

LEPTIN I MEHANIZAM DELOVANJA LEPTINA

Anastasija Panić¹, Sanja Soskić¹, Esmā R. Isenović^{1,2,3}

Summary

Leptin is a hormone produced by the adipose tissue, which has effects on the central nervous system. Leptin is bound to its Ob receptor on hypothalamic neurons to inhibit feeding behavior and to increase sympathetically – mediated thermogenesis. In addition to anorexia and thermogenesis, leptin also has direct peripheral and central nervous system – mediated effects on the endocrine, vascular, hematopoietic, immune and musculoskeletal systems. Leptin accomplishes its effects using distributed network of leptin receptors and differential molecular signaling pathways. Leptinemia is increased in obesity because of increased adipocyte mass, but obese subjects exhibit resistance to the anorexic and metabolic effects of leptin. However, multiple studies have shown that leptin can increase sympathetic nerve activity to non – thermogenic tissues in rodents causing obesity – related hypertension. One potential explanation of this paradox is selective leptin resistance. Compared with large and persuasive number of studies on the sympathetic and blood pressure effects of leptin in experimental animals, relatively little attention was given to these effects of leptin in humans. This review article presents recent findings related to leptin and its mechanism of action, and also the role of leptin in pathophysiological conditions.

Key words: *leptin, hypothalamus, molecular signaling, obesity, (selective) leptin resistance, obesity – induced hypertension.*

Sažetak

Leptin je hormon adipoznog tkiva koji svoje efekte ostvaruje delovanjem na centralni nervni sistem. Leptin se vezuje za svoje OB receptore na neuronima hipotalamusa i posledično suprimira unos hrane i povećava aktivnost simpatičkog nervnog sistema čime stimuliše proces termogeneze i potrošnje energije. Osim što suprimira apetit i stimuliše termogenu potrošnju energije, leptin ostvaruje svoje efekte i na druge organske sisteme, kao što su endokrini, vaskularni, hematopoetski, imunski i mišićnoskeletni, delujući bilo direktno na periferiji organizma, bilo posredstvom centralnog nervnog sistema. Svoje efekte leptin ostvaruje putem veoma rasprostranjene mreže leptinskih receptora, preko nekoliko različitih molekularnih signalnih puteva. Stanje gojaznosti je praćeno povećanjem nivoa leptina u cirkulaciji usled povećane količine masnog tkiva, ali i pored toga, gojazne osobe ispoljavaju rezistenciju na anoreksigenične i metaboličke efekte leptina. Izvestan broj studija je pokazao da leptin može povećati aktivnost simpatičkog nervnog sistema i u netermogenim tkivima glodara dovodeći do hipertenzije usled gojaznosti. Koncept selektivne rezistencije na leptin predstavlja moguće objašnjenje ovog paradoksa. Još uvek su malobrojne studije u kojima je ispitivan fenomen selektivne leptinske rezistencije kod ljudi. U okviru ovog preglednog članka, dat je prikaz najnovijih saznanja o leptinu, mehanizmu njegovog delovanja kao i o ulozi leptina u patofiziološkim stanjima.

Ključne reči: *leptin, hipotalamus, molekularna signalizacija, gojaznost, rezistencija na leptin, gojaznošću indukovana hipertenzija*

LEPTIN – OPŠTE OSOBINE I EFEKTI DELOVANJA LEPTINA

Za otkriće hormona leptina (na grčkom *leptos* znači mršav), Coleman-u i Friedman-u je dodeljena nagrada (*engl. Albert Lasker Basic Medical Research Award*) 2010. godine [1]. Leptin je hormon adipocita koji šalje informaciju mozgu o statusu energetskeg balansa u perifernim tkivima organizma [2] [3] [4].

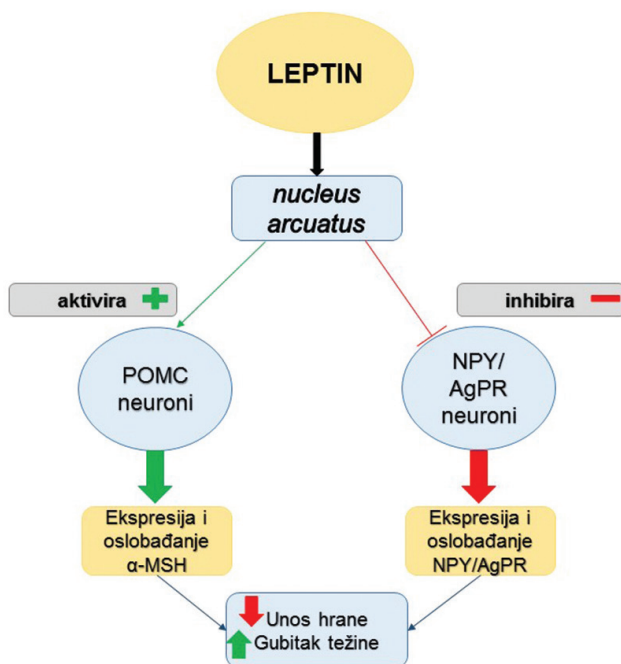
Efekti leptina na hipotalamus zavise od prisustva receptora za leptin [1]. Fei i saradnici su, koristeći tehniku reakcije lančane polimeraze (PCR, *engl. polymerase chain reaction*), otkrili OB-Rb, jedan od receptora koji je odgovoran za *db* fenotip i koji se eksprimira u *nucleus arcuatus* -u (ARC), ventromedijalnom (VMH), dorzomedijalnom (DMH) i lateralnom (LH) hipotalamusnom nukleusu, dok OB-Rb nije detektovan u drugim delovima mozga [5]. Studije na lezijama kod pacova (u nekim slučajevima i humanim) pokazali su prekide u nukleusima ARC, VMH i DMH što rezultuje hiperfagijom i gojaznošću [6-9], dok lezije u LH nukleusu dovode do hipofagije [10]. Model dvojnog centra označava VMH nukleus kao

"centar za sitost" i LH nukleus kao "centar za glad" [11]. Fei i saradnici su, svojim istraživanjima, ukazali na dominantnu ulogu signalizacije leptina u centralnoj regulaciji energetskeg balansa [5, 12-14]. Ubrzo nakon otkrića gena *ob*, Stephens i saradnici su pokazali da leptin reguliše unošenje hrane i metabolizam delom preko inhibicije sinteze i oslobađanja neuropeptida Y (NPY), koji stimuliše unošenje hrane i smanjuje termogenezu [15].

Kasnije studije su pokazale da leptin inhibira neuralne puteve koji stimulišu unošenje hrane (oreksigenični) i smanjuje potrošnju energije, i isto tako aktivira neuralne puteve koji inhibiraju unošenje hrane (anoreksogenični) [4, 16, 17]. Oreksigenični neuropeptidi uključuju NPY i Agouti-sličan peptid (AgRP), dok anoreksogenični signali sadrže α -melanokortin-stimulišući hormon (α -MSH, produkti POMC) [1]. Neuron koji su označeni kao AgRP ili POMC i neuron koji ekspimiraju melanokortinske receptore (MCR) obuhvataju sistem melanokortina koji reguliše energetskeg balans [16, 17].

Atraktivan i jednostavan model koji pokazuje interakciju između signalizacije leptina i centralne regulacije unošenja hrane može se opisati na sledeći način: leptin aktivira neurone POMC preko "firing rates" i genske ekspresije; aktivirani neuroni POMC oslobađaju α -MSH u sinapse što aktivira neurone preko vezivanja za MCR i dovodi do anoreksigeničnih odgovora povećanja potrošnje energije [1]. Istovremeno, leptin inhibira neurone NPY/AgRP poništavajući antagonistički efekat AgRP na MCR (Slika 1.) [18, 19]. Neuroni NPY/AgRP stimulišu oreksigenične odgovore preko direktne sinapse [20, 21]. Nepostojanje povratne sprege između neurona POMC do neurona NPY/AgRP ukazuje da je nedostatak funkcije neuronskog kruga da potpomaže unošenje hrane [16, 17]. Značajnost sistema melanokortina je pokazana ne samo time što leptin direktno deluje na krug u hipotalamusu, već i činjenicom da je gubitak funkcije MC-4R, glavnog MCR, najčešći genetički uzrok gojaznosti kod ljudi i kreće se od 3-5% visoke gojaznosti kod ljudi [22, 23]. Ukratko, leptin reguliše energetske balans moduliranjem aktivnosti i genske ekspresije neurona NPY/AgRP i neurona POMC u nukleusu ARC [1]. Pinto i saradnici su otkrili još jedan nivo regulacije energetskog balansa identifikujući brzo obnavljanje neuralnog kruga ARC nukleusa pomoću leptina [24]. Sinapse projektovane na neurone NPY/AgRP i POMC bile su različite kod *ob/ob* miševa i kod "wild type" miševa [1]. Tretiranje leptinom je normalizovalo gustinu sinapsi tokom šest sati, nekoliko sati pre efekta leptina na unošenje hrane [1]. Ova otkrića ukazuju na to da leptin deluje na hipotalamus i preko neuralne plastičnosti [1].

Slika 1. Regulacija apetita od strane leptina delovanjem na *nucleus arcuatus* hipotalamusa



POMC – proopiomelanokortin (*engl. proopiomelanocortin*), NPY – neuropeptid Y (*engl. neuropeptide Y*), AgRP – peptid „srodan“ aguti proteinu (*engl. agouti-related peptide*), α -MSH – alfa-melanocit-stimulišući hormon (*engl. alpha-melanocyte-stimulating hormone*).

PROTEIN LEPTIN

Protein ob (protein leptin) se kao monomer "pakuje" u heksagonalnu kristalnu formu [25]. Protein leptin čine četiri antiparalelna α -heliksa (A, B, C i D) povezana pomoću dve duge ukrštajuće veze (AB i CD) i jednom kratkom petljom (BC) raspoređena tako da čine ulevo izvijani spiralni paket [25]. Četiri α -heliksa čine sledeći ostaci: A, Pro 2–His 26; B, Leu 51–Ser 67; C, Arg 71–Lys 94; D, Ser 120–Ser 143 [25]. Humani protein leptin dužine je 167 AK i težine 16 kDa [26]. Ispitivanja strukturne sličnosti otkrivaju da protein leptin pokazuje najveću strukturnu sličnost sa citokinima familije IL-6 i G-CSF i u manjem stepenu sa drugim citokinima dugog lanca uključujući GH i laktogen iz placente [27-29].

RECEPTORI ZA LEPTIN

Pleiotropna dejstva leptina omogućena su univerzalnom distribucijom OB-R receptora za leptin [30]. Leptin deluje preko transmembranskih receptora koji pokazuju strukturnu sličnost sa klasom i familije receptora za citokine [31-35], što uključuje receptore za IL-2 (interleukin-2), IL-3, IL-4, IL-6, IL-7, LIF (inhibitorni faktor leukemije), stimulirajući faktor kolonije granulocita (G-CSF), hormon rasta (GH), prolaktin i eritropoetin [36, 37]. Članovi ove familije imaju karakteristične ekstracelularne motive i četiri ostatka cisteina i WSXWS (Trp-Ser-Xaa-Trp-Ser) [38] sadreći različit broj domena fibronektina tipa III [39, 40]. Receptor za leptin OB-R nastaje u formi nekoliko alternativno iskrojenih (splajsovanih) varijanti označenih kao OB-Ra, OB-Rb, OB-Rc, OB-Rd, OB-Re i OB-Rf [32, 41], koji imaju zajednički ekstracelularni domen od preko 800 amino kiselina (AK), transmembranski domen od 34 AK i varijabilni intracelularni domen koji je karakterističan za svaku od izoformi receptora za leptin [30]. Na taj način, izoforme se klasifikuju u tri klase: kratku, dugu i sekretujuću izoformu [30].

TRANSDUKCIJA SIGNALA POD DELOVANJEM LEPTINA

Leptin je kao multifunkcionalni citokin prisutan u svim tkivima i uključen je u brojne ćelijske funkcije u celom organizmu [30]. Da bi ostvario sva svoja dejstva leptin interaguje sa mnogim signalnim faktorima ukrštajući se sa različitim putevima signalne transdukcije preko svojih receptora [30].

Nakon vezivanja leptina za OB-R, koji se prvenstveno nalazi u hipotalamusu, receptor prolazi kroz proces promene konformacije, što dovodi do aktivacije Janus kinase 2 (JAK2) unutar ćelije, i posledične fosforilacije proteina transduktora signala i aktivatora transkripcije proteina tip 3 (*engl. Signal transducer and activator of transcription protein type 3*, STAT3) [42]. Fosforilisani STAT3 formira homodimer i vezuje se za nuklearne promoterske regione [42]. Osim JAK-STAT signalnog

puta, vezivanje leptina za OB-R takođe aktivira signalne kaskade fosfoinozitol 3 kinaze (*engl. phosphoinositol 3 kinase*, PI3K) [43] i mitogenom aktiviranih protein kinaza/vanćelijskim signalima regulisanih kinaza (*engl. mitogen-activated protein kinases/extracellular signal-regulated kinases*, MAPK/ERK) [44]. Aktivacija svakog od ovih puteva doprinosi anoreksigeničnim efektima leptina, odnosno suprimiranju apetita, podsticanju gubitka telesne mase, i povećanju termogeneze [43-45].

Članovi kinaze regulisane vanćelijskim signalom (ERK) koji pripadaju porodici MAPK su komponente dobro definisanog signalnog puta Ras/Raf/MAPK i aktiviraju se širokim opsegom stimulusa uključujući i leptin [30]. Put MAPK može biti stimulisan bilo OB-Ra ili OB-Rb, iako u manjem stepenu ovim drugim [46, 47]. Iako distalni deo OB-R nije esencijalan za signalizaciju MAPK, intaktni intracelularni deo duge forme receptora je potreban da bi se postigla maksimalna aktivacija [30]. Ovo se bazira na činjenici da leptin može biti "okidač" kaskade MAPK na dva različita načina: fosforilacijom tirozina sa aktivacijom asociiranog receptora za JAK2 ili nezavisno od fosforilacije receptora [37, 46]. U oba slučaja nishodna signalizacija zahteva prisustvo intaktnog katalitičkog domena, domena homologije slične Src koji sadrži protein tirozin fosfatazu (SHP-2 domena) [30]. Nedostatak aktivnosti fosfataze uzrokuje nedostatak fosforilacije ERK [48]. Iako još nije u potpunosti rasvetljeno koji su molekuli uključeni u transmisiju signalizacije leptina, aktivirane kinaze MAPK/ERK (MEK kinaze) fosforilišu ERK dovodeći do ekspresije *c-fos* i *egr-1* koji učestvuju u ćelijskoj proliferaciji i diferencijaciji [30].

REZISTENCIJA NA LEPTIN

Termin "rezistencija na leptin" nastao je nedugo po otkriću hormona leptina 1994. godine [49-51]. Koncept rezistencije na leptin podrazumeva da procesi koji izazivaju i/ili rezultuju iz stanja gojaznosti narušavaju efekte leptina i time olakšavaju nastanak gojaznosti kao i ometanje potencijalne efikasnosti terapije primenom egzogenog leptina [51]. Tako je razumevanje mehanizama koji mogu biti u osnovi rezistencije na leptin bitno za determinisanje uzroka gojaznosti i identifikovanje mogućih mehanizama na koje se može delovati terapijom [51].

Koncept selektivne rezistencije na leptin (*engl. selective leptin resistance*, SLR) i njegove potencijalne posledice po gojaznost i hipertenziju bazira se na tome da u stanju gojaznosti postoji rezistencija na efekte leptina na apetit, kao i na redukciju telesne težine, ali su očuvani efekti leptina na simpatički nervni sistem [51]. Ova pojava može delimično objasniti kako hiperleptinemija može pratiti gojaznost (delimični gubitak apetita i metaboličkih dejstava leptina), ali takođe i doprineti prekomernoj simpatičkoj aktivnosti i hipertenziji, očuvanjem simpatičkih dejstava leptina [51].

Pokazano je da Aguti žuti gojazni miševi imaju mutaciju u genu za aguti protein što dovodi do sveprisutne prekomerne ekspresije aguti proteina [52, 53]. Aguti protein blokira receptore za melanokortin-4 i tako doprinosi progresu gojaznosti [54]. Aguti miševi su rezistentni na efekte leptina na sitost i na redukciju telesne težine [55] iako nemaju mutaciju u genu za leptinski receptor. Gojazni aguti miševi imaju viši arterijski pritisak od onih koji su mršavi [56]. Kod aguti miševa postoji kompenzatorna hiperleptinemija [55, 57] i nedavna studija je pokazala da povišena koncentracija leptina doprinosi povišenom arterijskom pritisku [57].

Povišen arterijski pritisak u stanju gojaznosti je praćen hiperleptinemijom koja može delimično poticati od simpatičkih presorskih efekata leptina [51]. Međutim, postavlja se pitanje kako povišene koncentracije leptina dovode do povišenog arterijskog pritiska ako su aguti miševi rezistentni na efekte leptina? [51] Da bi se ovo objasnilo nastao je koncept SLR [51]. Pretpostavlja se da su kod aguti miševa očuvana simpatički ekscitatorski efekti leptina i pored rezistencije na efekte leptina koji obuhvataju sitost i redukciju telesne težine [51]. Correia i saradnici [58] su, u cilju potvrde ove pretpostavke, upoređivali efekte leptina na unošenje hrane, telesnu težinu i renalnu simpatičku nervnu aktivnost kod gojaznih aguti miševa u odnosu na "wild-type" mršave kontrolne miševe. Leptinom indukovano smanjenje unošenja hrane i telesne težine bilo je manje kod gojaznih aguti miševa nego kod mršavih kontrolnih miševa, ali je leptinom indukovano povećanje renalne simpatičke nervne aktivnosti u obe grupe bilo isto [58]. Ova pojava opadanja metaboličke aktivnosti (efekat na sitost i na redukciju telesne težine) i očuvanje simpatičkih efekata leptina takođe su zapaženi tokom cerebroventrikularne primene leptina u mozgu [59]. Dakle, pojava SLR kod aguti miševa odražava promene u centralnim nervnim putevima verovatno nishodno od receptora za leptin u hipotalamusu pošto receptor za leptin nema mutaciju kod aguti miševa [51].

Rahmouni i saradnici su izučavali gojaznošću izazvanu hipertenziju koristeći mišije modele Bardet-Biedl-ovog sindroma (BBS) [60], retkog oblika monogenske gojaznosti koja je često, mada ne uvek, praćena povećanjem krvnog pritiska [61]. Rahmouni i saradnici su u svojim istraživanjima koristili tri različita modela *knockout* BBS-miševa: *knockout* miševe za Bbs 2, Bbs4, odnosno Bbs6 gen. Sva tri modela su bili gojazni miševi sa hiperleptinemijom i rezistencijom na metaboličke efekte leptina [60]. Rezultati ispitivanja su pokazali da je kod dva modela sa ispoljenom SLR (*knockout* Bbs4 i Bbs 6) postojala leptinom izazvana neurogena hipertenzija, dok je kod trećeg modela (*knockout* Bbs2), pored gubitka metaboličkih efekata leptina, postojao i gubitak delovanja leptina na aktivnost simpatičkog nervnog sistema, stoga su ovi miševi imali normalan krvni pritisak [60]. Ovi rezultati su u skladu sa zapažanjima da se kod ljudi koji imaju mutacije u BBS 4 i BBS 6 genima javlja hipertenzija, za razliku od onih pacijenata kod kojih je mutirana BBS 2 varijanta gena [61].

Podudaranje karakterističnih genotipova kod miševa i ljudi sa pojavom povišenog krvnog pritiska ukazuje na mogućnost da se hiperleptinemija praćena SLR verovatno javlja i kod ljudi [61]. Naime, većina gojaznih osoba ispoljava metaboličku rezistenciju na leptin i kompenzatornu hiperleptinemiju [62]. Međutim, dokazi koji bi podržali hipotezu o SLR kod ljudi su ograničeni na nekolicinu studija u kojima je ili korišćen mali broj ispitanika, ili su ispitivanja sprovedena na specifičnim populacionim podgrupama i nedovoljno su generalizovana [63, 64, 65]. Izvestan broj studija u kojima su kako gojazni, tako i ispitanici normalne telesne težine, izlagani bilo akutnom, bilo hroničnom tretmanu leptinom, nisu pokazala povećanje krvnog pritiska, što dovodi u pitanje ulogu leptina u regulaciji krvnog pritiska i patogenezi hipertenzije izazvane gojaznošću kod ljudi [66, 67, 68, 69].

Masuo i saradnici su, u svojoj studiji u kojoj su grupu ispitanika činili beli muškarci sa normalnim krvnim pritiskom i nešto višim indeksom telesne mase (*engl. body mass index*, BMI), zaključili da čak i neznatan gubitak funkcije leptinskog receptora smanjuje aktivnost simpatikusa kod ljudi [70]. Ovi rezultati se podudaraju sa rezultatima koji pokazuju da kod gojaznih db/db miševa, sa mutacijama uzrokovanim nefunkcionalnim receptorom za leptin, nedostaje odgovor simpatičkog nervnog sistema na leptin [71]. Rosmond i saradnici su pokazali da je nekoliko polimorfizama u genu za leptinski receptor povezano sa značajnim razlikama u vrednosti krvnog pritiska kod muškaraca srednjih godina starosti [72]. Njihova istraživanja sugerišu da je leptin uključen u regulaciju krvnog pritiska preko leptinskog receptora, pri čemu je, u slučaju povećanja vrednosti BMI i nivoa leptina, krvni pritisak povišen samo kod onih subjekata sa najzastupljenijom varijantom gena za leptinski receptor [72]. Manje zastupljene varijante gena za leptinski receptor pružale su neku vrstu „zaštite“ od hipertenzije [72].

MOLEKULARNI MEHANIZMI NASTANKA SLR

Molekularni biološki mehanizmi fenomena SLR ostaju za sada nepoznati [51]. Postojanje različitih molekularnih puteva delovanja leptina, kao i različitih specifičnih delova mozga u kojima leptin ostvaruje svoje efekte, ukazuju na moguće mehanizme nastanka SLR. Ekspresija endogenog supresora signalizacije citokina 3 (*engl. suppressor of cytokine signaling 3*, SOCS3) inhibira fosforilaciju na tirozinu OB-R, na taj način obezbeđujući važan mehanizam povratne sprege za signalizaciju receptora na nivou transkripcije [30, 73]. Smatra se, takođe, da promene u ekspresiji SOCS3 leže u osnovi pojave rezistencije na leptin [74]. Iako je danas jasno da prekomerna ekspresija SOCS3 dovodi do inhibicije signalizacije pomoću intracelularnog domena OB-Rb i drugih receptora, još uvek nije pokazano da sam SOCS3 posreduje u inhibiciji povratne sprege signalizacije OB-Rb [30]. Ekspresija *knockdown* SOCS3 (ali ne SHP-2) posre-

dovana interferencijom sa RNK (*engl. RNA interference*, RNA_i) povećava fosforilaciju tirozina JAK2 i STAT3 [75]. Moguće je da je inhibicija od Tyr985-nezavisne, Tyr1138-zavisne povratne sprege signalizacije ERK i verovatno JAK2, u vezi sa akumulacijom SOCS3, pri čemu dolazi do produžene stimulacije intracelularnog domena OB-Rb [74, 75]. Predložen je model gde signalizacija STAT3 pomoću OB-Rb omogućava i efekte leptina na unošenje hrane i kontrolu telesne težine, a istovremeno posreduje i u inhibiciji povratne sprege signalizacije receptora tokom produžene stimulacije preko indukcije ekspresije SOCS3 [30]. Smatra se da učešće SOCS3 u mehanizmu negativne povratne sprege signalizacije leptina leži u osnovi nastanka rezistencije na leptin u odnosu na hiperleptinemiju zapaženu kod većine gojaznih slučajeva [47]. Značaj akumulacije SOCS3 indukovane OB-Rb u osetljivosti na biološka dejstva hormona kasnije je pokazana činjenicom da nedostatak SOCS3 povećava senzitivnost na leptin i potvrđuje rezistenciju na hranom indukovanu gojaznost [30, 76, 77].

Još jedan mogući molekularni mehanizam uspostavljanja leptinske rezistencije podrazumeva učešće proteina tirozin fosfataze 1B (*engl. protein tyrosine phosphatase 1B*, PTP1B). Istraživanja su pokazala da PTP1B reguliše signalizaciju leptina vršeći direktnu i specifičnu defosforilaciju JAK2 i STAT3 [78]. Dodatno, izgleda da PTP1B reguliše ekspresiju gena zavisnu od leptina, s obzirom da je pokazano da prekomerna ekspresija PTP1B u ćelijskim linijama hipotalamusa smanjuje ekspresiju STAT3 i RNK [79]. *In vivo* studije na miševima deficijentnim u protein PTP1B pokazale su da ovi miševi imaju povećanu osetljivost na delovanje leptina koja se ogleda u povećanoj supresiji apetita i gubitku telesne težine [80]. Takođe, tkivo hipotalamusa PTP1B-deficijentnih miševa sadrži povećani nivo fosforilacije STAT3 izazvane leptinom [80]. Ipak, za razliku od SOCS3, u eksperimentalnim modelima gojaznosti nije pokazana disregulacija PTP1B u hipotalamusu [81].

ZAKLJUČAK

Mnogobrojni literaturni podacima ukazuju na veoma bitnu ulogu leptina, kako u normalnim, tako i u patofiziološkim stanjima. Dalja istraživanja u smeru izučavanja molekularnog mehanizma delovanja leptina, kao i mehanizama njegove regulacije, su neophodna kako bi se jasnije sagledali efekti njegovog delovanja u patofiziološkim stanjima.

ZAHVALNICA

Ovaj rad je podržan projektom broj 173033 (E.R.I.) finansiranim od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja.

Literatura

1. Li, M. D. "Leptin and beyond: an odyssey to the central control of body weight." *Yale J Biol Med*, (2011) 84 (1): 1-7.
2. Flier, J. S. i Maratos-Flier, E. "Lasker lauds leptin." *Cell* (2010) 143 (1): 9-12.
3. Friedman, J. M. "A tale of two hormones." *Nat Med* (2010) 16 (10): 1100-1106.
4. Friedman, J. M. "Modern science versus the stigma of obesity." *Nat Med* (2004) 10 (6): 563-569.
5. Fei, H., *et al.* "Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues." *Proc Natl Acad Sci USA* (1997) 94 (13): 7001-7005.
6. Hetherington AW, R. S. "The relation of various hypothalamic lesions to adiposity in the rat." *J Comp Neurol* (1942) 76: 475.
7. Brobeck, J. R. "Mechanism of the development of obesity in animals with hypothalamic lesions." *Physiol Rev* (1946) 26 (4): 541-559.
8. Bray, G. A. i York, D. A. "Hypothalamic and genetic obesity in experimental animals: an autonomic and endocrine hypothesis." *Physiol Rev* (1979) 59 (3): 719-809.
9. Brobeck, J. R., Tepperman, J. i Long, C. N. "The Effect of Experimental Obesity upon Carbohydrate Metabolism." *Yale J Biol Med* (1943) 15 (6): 893-904.
10. Anand, B. K. i Brobeck, J. R. "Localization of a "feeding center" in the hypothalamus of the rat." *Proc Soc Exp Biol Med* (1951) 77 (2): 323-324.
11. Stellar, E. "The physiology of motivation." *Psychol Rev* (1954) 61 (1): 5-22.
12. Huang, X. F., *et al.* "Localization of leptin receptor mRNA expression in mouse brain." *Neuroreport* (1996) 7 (15-17): 2635-2638.
13. Couce, M. E., *et al.* "Localization of leptin receptor in the human brain." *Neuroendocrinology* (1997) 66 (3): 145-150.
14. Mercer, J. G., *et al.* "Localization of leptin receptor mRNA and the long form splice variant (Ob-Rb) in mouse hypothalamus and adjacent brain regions by in situ hybridization." *FEBS Lett* (1996) 387 (2-3): 113-116.
15. Stephens, T. W., *et al.* "The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product." *Nature* (1995) 377 (6549): 530-532.
16. Horvath, T. L., Andrews, Z. B. i Diano, S. "Fuel utilization by hypothalamic neurons: roles for ROS." *Trends Endocrinol Metab* (2009) 20 (2): 78-87.
17. Diano, S. "New aspects of melanocortin signaling: a role for PRCP in alpha-MSH degradation." *Front Neuroendocrinol* (2011) 32 (1): 70-83.
18. Elias, C. F., *et al.* "Leptin differentially regulates NPY and POMC neurons projecting to the lateral hypothalamic area." *Neuron* (1999) 23 (4): 775-786.
19. Cowley, M. A., *et al.* "Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus." *Nature* (2001) 411 (6836): 480-484.
20. Horvath, T. L., *et al.* "Neuropeptide-Y innervation of beta-endorphin-containing cells in the rat mediobasal hypothalamus: a light and electron microscopic double immunostaining analysis." *Endocrinology* (1992) 131 (5): 2461-2467.
21. Horvath, T. L., Garcia-Segura, L. M. i Naftolin, F. "Control of gonadotropin feedback: the possible role of estrogen-induced hypothalamic synaptic plasticity." *Gynecol Endocrinol* (1997) 11 (2): 139-143.
22. Hinney, A., *et al.* "Several mutations in the melanocortin-4 receptor gene including a nonsense and a frameshift mutation associated with dominantly inherited obesity in humans." *J Clin Endocrinol Metab* (1999) 84 (4): 1483-1486.
23. Vaisse, C., *et al.* "Melanocortin-4 receptor mutations are a frequent and heterogeneous cause of morbid obesity." *J Clin Invest* (2000) 106 (2): 253-262.
24. Pinto, S., *et al.* "Rapid rewiring of arcuate nucleus feeding circuits by leptin." *Science* "2004" 304 (5667): 110-115.
25. Zhang, F., *et al.* "Crystal structure of the obese protein leptin-E100." *Nature* (1997) 387 (6629): 206-209.
26. Zhang, Y., *et al.* "Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue." *Nature* (1994) 372 (6505): 425-432.
27. Peelman, F., *et al.* "Mapping of the leptin binding sites and design of a leptin antagonist." *J Biol Chem* (2004) 279 (39): 41038-41046.
28. Holm, L. i Sander, C. "Mapping the protein universe." *Science* (1996) 273 (5275): 595-603.
29. Zabeau, L., *et al.* "The ins and outs of leptin receptor activation." *FEBS Lett* (2003) 546 (1): 45-50.
30. Fruhbeck, G. "Intracellular signalling pathways activated by leptin." *Biochem J* (2006) 393 (Pt 1): 7-20.
31. Tartaglia, L.A., *et al.* "Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R." *Cell* (1995) 83 (7): 1263-1271.
32. Lee, G. H., *et al.* "Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice." *Nature* (1996) 379 (6566): 632-635.
33. Lollmann, B., *et al.* "Detection and quantification of the leptin receptor splice variants Ob-Ra, b, and, e in different mouse tissues." *Biochem Biophys Res Commun* (1997) 238 (2): 648-652.
34. Tartaglia, L. A. "The leptin receptor." *J Biol Chem* (1997) 272 (10): 6093-6096.
35. Myers, M. G., Jr. "Leptin receptor signaling and the regulation of mammalian physiology." *Recent Prog Horm Res* (2004) 59: 287-304.
36. Bazan, J. F. "A novel family of growth factor receptors: a common binding domain in the growth hormone, prolactin, erythropoietin and IL-6 receptors, and the p75 IL-2 receptor beta-chain." *Biochem Biophys Res Commun* (1989) 164 (2): 788-795.
37. Hegyi, K., *et al.* "Leptin-induced signal transduction pathways." *Cell Biol Int* (2004) 28 (3): 159-169.
38. Bazan, J. F. "Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily." *Proc Natl Acad Sci USA* (1990) 87 (18): 6934-6938.
39. van Greevenbroek, M. M., Schalkwijk, C. G. i Stehouwer, C. D. "Obesity-associated low-grade inflammation in type 2 diabetes mellitus: causes and consequences." *Neth J Med* (2013) 71 (4): 174-187.
40. Abate, N., *et al.* "Relationships of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men." *J Clin Invest* (1995) 96 (1): 88-98.
41. Wang, M. Y., *et al.* "A novel leptin receptor isoform in rat." *FEBS Lett* (1996) 392 (2): 87-90.
42. Akira, S. "Functional roles of STAT family proteins: lessons from knockout mice." *Stem Cells* (1999) 17 (3): 138-146.
43. Rahmouni, K., Haynes, W. G., Morgan, D. A. i Mark, A. L. "Intracellular mechanisms involved in leptin regulation of sympathetic outflow." *Hypertension* (2003) 41: 763-767.
44. Rahmouni, K., Sigmund, C. D., Haynes, W. G. i Mark, A. L. "Mitogen activated protein kinase: a newly discovered mediator of selective leptin actions." *Hypertension* (2005) 46: 867.
45. Bates, S.H., Stearns, W. H., Dundon, T. A., Schubert, M., Tso, A.W., Wang, Y., *et al.* "STAT3 signalling is required for leptin regulation of energy balance but not reproduction." *Nature* (2003) 421: 856-859.
46. Bjorbaek, C., *et al.* "Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor." *J Biol Chem* (1997) 272 (51): 32686-32695.
47. Banks, A. S., *et al.* "Activation of downstream signals by the long form of the leptin receptor." *J Biol Chem* (2000) 275 (19): 14563-14572.
48. Bjorbaek, C., *et al.* "Divergent roles of SHP-2 in ERK activation by leptin receptors." *J Biol Chem* (2001) 276 (7): 4747-4755.
49. Frederich, R. C., *et al.* "Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action." *Nat Med* (1995) 1 (12): 1311-1314.
50. Zhang, Y., *et al.* "Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue." *Nature* (1994) 372 (6505): 425-432.
51. Myers, M. G., Jr., *et al.* "Challenges and opportunities of defining clinical leptin resistance." *Cell Metab* (2012) 15 (2): 150-156.
52. Matarese, G., Moschos, S. i Mantzoros, C. S. "Leptin in immunology." *J Immunol* (2005) 174 (6): 3137-3142.
53. Patterson, C. M., *et al.* "Molecular mapping of mouse brain regions innervated by leptin receptor-expressing cells." *Brain Res* (2011) 1378: 18-28.
54. Scott, M. M., *et al.* "Leptin targets in the mouse brain." *J Comp Neurol* (2009) 514 (5): 518-532.
55. Stradecki, H. M. i Jaworski, D.M. "Hyperphagia and leptin resistance in tissue inhibitor of metalloproteinase-2 deficient mice." *J Neuroendocrinol* (2011) 23 (3): 269-281.

56. Elmquist, J. K., *et al.* "Distributions of leptin receptor mRNA isoforms in the rat brain." *J Comp Neurol* (1998) 395 (4): 535-547.
57. Ducy, P., *et al.* "Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass." *Cell* (2000) 100 (2): 197-207.
58. Shimomura, I., *et al.* "Leptin reverses insulin resistance and diabetes mellitus in mice with congenital lipodystrophy." *Nature* (1999) 401 (6748): 73-76.
59. Oral, E. A., *et al.* "Leptin-replacement therapy for lipodystrophy." *N Engl J Med* (2002) 346 (8): 570-578.
60. Rahmouni, K., Fath, M. A., Seo, S., *et al.* "Leptin resistance contributes to obesity and hypertension in mouse models of Bardet-Biedl syndrome." *J Clin Invest* (2008) 118: 1458-1467.
61. Moore, S. J., Green, J. S., Fan, Y., *et al.* "Clinical and genetic epidemiology of Bardet-Biedl syndrome in Newfoundland: A 22-year prospective, population-based, cohort study." *Am J Med Genet Part A* (2005) 132A: 352-360.
62. Lofgren, P., Andersson, I., Adolfsson, B., *et al.* "Long-term prospective and controlled studies demonstrate adipose tissue hypercellularity and relative leptin deficiency in the postobese state." *J Clin Endocrinol Metab* (2005) 90 (11): 6207-6213.
63. Snitker, S., Pratley, R. E., *et al.* "Relationship between muscle sympathetic nerve activity and plasma leptin concentration." *Obes Res* (1997) 5: 338-340.
64. Eikelis, N., Schlaich, M., *et al.* "Interactions between leptin and the human sympathetic nervous system." *Hypertension* (2003) 41: 1072-1079.
65. Grassi, G., Seravalle, G., Cattaneo, B. M., *et al.* "Sympathetic activation in obese normotensive subjects." *Hypertension* (1995) 25 (4 Pt 1): 560-563.
66. Heymsfield, S. B., Greenberg, A. S., Fujioka, K., *et al.* "Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults: a randomized, controlled, dose-escalation trial." *JAMA* (1999) 282: 1568-1575.
67. Zelissen, P. M., Stenlof, K., Lean, M. E., *et al.* "Effect of three treatment schedules of recombinant methionyl human leptin on body weight in obese adults: a randomized, placebo-controlled trial." *Diabetes Obes Metab* (2005) 7: 755-761.
68. Brook, R. D., Bard, R. L., Bodary, P. F., *et al.* "Blood pressure and vascular effects of leptin in humans." *Metab Syndr Relat Disord* (2007) 5: 270-274.
69. Ebihara, K., Kusakabe, T., Hirata, M., *et al.* "Efficacy and safety of leptin-replacement therapy and possible mechanisms of leptin actions in patients with generalized lipodystrophy." *J Clin Endocrinol Metab* (2007) 92: 532-541.
70. Masuo, K., Straznicki, N.E., Lambert, G.W., *et al.* "Leptin-receptor polymorphisms relate to obesity through blunted leptin-mediated sympathetic nerve activation in a Caucasian male population." *Hypertens Res* (2008) 31: 1093-1100.
71. Rahmouni, K., Haynes, W. G., Morgan, D. A., Mark, A. L. "Role of melanocortin-4 receptors in mediating renal sympathoactivation to leptin and insulin." *J Neurosci* (2003) 23: 5998-6004.
72. Rosmond, R., Chagnon, Y.C., Holm, G., *et al.* "Hypertension in obesity and the leptin receptor gene locus." *J Clin Endocrinol Metab* (2000) 85: 3126-3131.
73. Bjorbak, C., *et al.* "SOCS3 mediates feedback inhibition of the leptin receptor via Tyr985." *J Biol Chem* (2000) 275 (51): 40649-40657.
74. Munzberg, H. i Myers, M. G., Jr. "Molecular and anatomical determinants of central leptin resistance." *Nat Neurosci* (2005) 8 (5): 566-570.
75. Dunn, S. L., *et al.* "Feedback inhibition of leptin receptor/Jak2 signaling via Tyr1138 of the leptin receptor and suppressor of cytokine signaling 3." *Mol Endocrinol* (2005) 19 (4): 925-938.
76. Howard, J. K., *et al.* "Enhanced leptin sensitivity and attenuation of diet-induced obesity in mice with haploinsufficiency of Socs3." *Nat Med* (2004) 10 (7): 734-738.
77. Mori, H., *et al.* "Socs3 deficiency in the brain elevates leptin sensitivity and confers resistance to diet-induced obesity." *Nat Med* (2004) 10 (7): 739-743.
78. Lund, I.K., *et al.* "Mechanism of protein tyrosine phosphatase 1B-mediated inhibition of leptin signalling." *J Mol Endocrinol* (2005) 34 (2): 339-351.
79. Kaszubska, W., Falls, H. D., *et al.* "Protein tyrosine phosphatase 1B negatively regulates leptin signaling in a hypothalamic cell line." *Mol Cell Endocrinol* (2002) 195 (1-2): 109-118.
80. Cheng, A., *et al.* "Attenuation of leptin action and regulation of obesity by protein tyrosine phosphatase 1B." *Dev Cell* (2002) 2 (4): 497-503.
81. Munzberg, H. i Myers, M. G., Jr. "Molecular and anatomical determinants of central leptin resistance." *Nat Neurosci* (2005) 8 (5): 566-570.

FUNDAMENTALS OF APOPTOSIS

OSNOVE APOPTOZE

Ivana Resanović¹, Emina Sudar Milovanović¹, Nikola Bogdanović¹, Aleksandra Jovanović¹, Sonja Zafirović¹, Anastasija Panić¹, Esmā R. Isenović^{1,2,3}

Summary

Apoptosis is evolutionary conserved, programmed pattern of cell death with an essential role in various physiological processes, such as normal cell turnover and embryonic development, hormone – regulated cell demise, aging, immune system functioning and development and removal of defective and harmful cells. There are two general pathways for activation of apoptosis: the intrinsic and extrinsic pathways. While the intrinsic apoptotic pathway can be triggered by a cytotoxic accumulation of intracellular Ca^{2+} , followed permeabilization of mitochondrial membrane and release of pro-apoptotic proteins into the cytosol from mitochondria, the extrinsic mechanisms of apoptosis include the participation of death receptors of tumor necrosis factor- α (TNF- α), receptor superfamily such as TNFR-1, Fas, and TNF-related apoptosis – inducing ligand receptors (TRAIL-R) located on the plasma membrane. There is also the perforin – granzyme pathway that involves T-cell mediated cytotoxicity. All three pathways converge on the same execution pathway, resulting in DNA fragmentation, degradation of cytoskeletal and nuclear proteins, cross – linking of proteins, formation of apoptotic bodies, expression of ligands for phagocytic cell receptors and finally uptake by phagocytic cells. In this review we summarize data from recent studies focusing on apoptotic proteins that have been identified and molecular mechanisms of apoptosis. Understanding apoptotic mechanism might provide useful information and a new approach to prevention and development of new therapies for variety of diseases.

Key words: *apoptosis, programmed cell death, intrinsic/extrinsic pathway, perforin-granzyme pathway, caspase.*

Sažetak

Apoptoza je evolutivno očuvan mehanizam programirane ćelijske smrti, koji ima važnu ulogu u fiziološkim procesima, kao što su embrionalno razviće, hormonima regulisana ćelijska smrt, funkcionisanje imunog sistema i uklanjanje oštećenih ćelija. Dva osnovna puta indukcije apoptoze su unutrašnji i spoljašnji. Dok unutrašnji put apoptoze može pokrenuti unutarćelijska akumulacija Ca^{2+} jona, koja je praćena permeabilizacijom membrane mitohondrija i oslobađanjem pro-apoptotskih proteina iz mitohondrija u citoplazmu, spoljašnji put uključuje aktivaciju membranskih receptora za TNF- α (engl. Tumor Necrosis Factor- α), kao što su TNFR-1 (engl. Tumor Necrosis Factor receptor 1), Fas, i TRAIL-R (engl. TNF-related apoptosis-inducing ligand receptors). Pored toga, postoji i perforin-granzim put koji uključuje aktivaciju citotoksičnih T-limfocita. Sva tri puta rezultiraju fragmentacijom DNK, degradacijom citoskela i nuklearnih proteina, unakrsnim povezivanjem proteina, formiranjem apoptotskih tela, ekspresijom liganada za receptore na fagocitima i na kraju fagocitozom. U ovoj reviji su objedinjeni podaci iz nedavno objavljenih studija koje su fokusirane na proteine uključene u proces apoptoze i molekularne mehanizme apoptoze. Razumevanje mehanizama apoptoze može da pruži korisne informacije i nove pristupe u prevenciji i razvoju novih terapija za različite bolesti.

Ključne reči: *apoptoza, programirana ćelijska smrt, unutrašnji/spoljašnji put, perforin-granzim put, kaspaze*

INTRODUCTION

The term apoptosis was first used by Kerr, Wyllie, and Currie in 1972 [1; 2; 3; 4]. Apoptosis is an evolutionary conserved, regulated and programmed pattern of energy – dependent cell death without any following inflammatory reaction [5]. An essential role of apoptosis is well known in various physiological processes, such as normal cell turnover and embryonic development, hormone – regulated cell demise, aging, immune system functioning and development and removal of defective and harmful cells [6]. Apoptotic process is considered to be a homeostatic mechanism and is a defense mechanism when cells are damaged by any disease or harmful agents [6; 7]. Apoptosis includes processes like shrinkage of the cell cytoplasm, cleavage of DNA and condensation of chromatin in the nucleus, consequently forming apoptotic bodies, which all eventually lead to cell death [8].

Two general pathways of apoptosis activation are known: the intrinsic and extrinsic pathways [9]. Extrinsic pathway is regulated through death receptors as opposed to intrinsic pathway, which is regulated by Bcl-2 protein family members. Both pathways are linked and lead to the same result of activation of cascade of proteolytic enzymes and caspase family members [9]. There is also the perforin/granzyme pathway that involves T-cell mediated cytotoxicity [6; 10]. The perforin/granzyme pathway induces apoptosis *via* either granzyme B or granzyme A [6; 10]. The intrinsic, extrinsic and perforin/granzyme pathways converge to the same execution pathway that is initiated by the cleavage of caspase-3 and -7 [6; 10].

INTRINSIC MECHANISM OF APOPTOSIS

The intrinsic apoptotic pathway can be triggered by a cytotoxic accumulation of intracellular Ca^{2+} , followed by changes in the inner mitochondrial membrane, loss of transmembrane potential and release of pro-apoptotic proteins into the cytosol from mitochondria, which triggers an apoptotic cascade [11; 12].

The Bcl-2 family of proteins is critical in the regulation of the intrinsic apoptotic pathway. These proteins include anti-apoptotic (Bcl-2, Bcl-xL, and Bcl-w) and pro-apoptotic (BAX, Bcl-2 homologous antagonist killer (BAK), Bcl-xS and BAD) groups [8]. The anti-apoptotic members of the Bcl-2 family are localized in the outer mitochondrial membrane and play an important role in maintaining cell survival [8]. Conversely, the pro-apoptotic members have a crucial role in cell death induced by trophic factor withdrawal and injury [8].

EXTRINSIC MECHANISM OF APOPTOSIS

Extrinsic mechanisms of apoptosis, also known as the “death receptor pathway”, include the participation of death receptors of tumor necrosis factor- α (TNF- α) receptor superfamily such as TNFR-1, Fas, and TNF-related apoptosis-inducing ligand receptors (TRAIL-R) located on the plasma membrane [4; 11; 13]. These cell surface death receptors bind death ligands such as TNF- α , Fas ligand (FasL), and TRAIL which further result in the activation of initiator caspase-8 and subsequent activation of effector caspase-3 [11]. Namely, a transcription factor forkhead 1 stimulates expression of FasL, resulting in activation of caspase-3 [11]. Furthermore, FasL binds to its receptor and initiates extrinsic mechanisms of apoptosis resulting in recruitment of the cytoplasmic adaptor protein Fas-associated death domain protein (FADD), which binds to procaspase-8 [11]. After just a few seconds of Fas receptor engagement, FasL-Fas-FADD-procaspase-8 complex, also known as death-inducing signaling complex (DISC), is assembled [11]. DISC mediates activation of caspase-8, which is then released into the cytoplasm and initiates activation of caspase-3 by direct or mitochondrial-dependent mechanisms [11], and activated caspase-3 can further cleave procaspase-8 leading to increase of extrinsic cell death [11].

An extrinsic mechanism of apoptosis can also involve the mitochondrial-dependent pathway using an intermediate BH3 interacting-domain death agonist (BID) [8].

CASPASE – DEPENDENT APOPTOSIS

Caspases are the central enzymes of apoptosis involved in processes of initiation and execution [4; 14].

The caspase family is divided into two categories: the caspase-activated DNase (CED) subfamily consisting of caspases-2, 3, 6, 7, 8, 10, which are activated during apoptosis; and the interleukin-1-beta converting enzyme (ICE, also known as caspases-1) subfamily consisting of caspases-1, 4, 5, 11, 12, which undergo activation during inflammatory responses [4]. Caspases can be further divided into initiators (caspases-2, 8, 9, 10, 12) and effectors (caspase-3 and 7) [11]. Initiator caspases cleave inactive pro-forms of other caspases activating them, while effector caspases cleave various cellular proteins to begin apoptosis [8].

Mitochondria play a key role in activation and regulation of apoptosis in mammalian cells [4]. Mitochondria act as a reservoir for multiple apoptogenic proteins such as cytochrome *c* (cyt *c*), small mitochondria-derived activator of caspases/direct IAP-binding protein with low PI (SMAC/DIABLO), apoptosis-inducing factor (AIF), proteases-activating factor-1 (APAF-1), and endonucleases and procaspases-2,3,8,9 [4]. It is believed that Bcl-2 family members regulate the movement of proteins across mitochondrial membranes that once in the cytosol, activate caspase proteases [15]. Cyt *c*, SMAC/DIABLO and the serine protease HtrA2/Omi are the first of pro-apoptotic proteins released from the mitochondrial inner membrane space into the cytosol, followed by procaspase-9, and APAF-1, thus participating in activation of the caspase-dependent mitochondrial pathway [8; 11]. Cyt *c* is able to bind to APAF-1 as well as procaspase-9 to form an “apoptosome” in the presence of deoxy ATP (dATP) or ATP [12], and apoptosome activates procaspase-9, which further activates executor caspase-3 [12]. Caspase-3 can cleave many substrate proteins, like endonucleases, lamin, spectrin, huntingtin, gelsolin, and poly (ADP-ribose) polymerase (PARP), etc. [4; 11; 16]. Inactivation of PARP leads to DNA injury and subsequently to apoptosis, while excessive activation of PARP causes energy depletion and ultimately leads to necrosis [11].

Members of the anti-apoptotic Bcl-2 family as well as anti-apoptotic proteins kinase B (Akt) and extracellular signal-regulated kinase (ERK) are involved in the protection of the mitochondrial integrity by inhibiting pro-apoptotic Bcl-2 family members [11]. On the other hand, these apoptosis inhibitor proteins can be deactivated by the mitochondrial proteins SMAC/DIABLO and OMI/HtrA2, which bind to them and promote apoptosis [12]. Hence, OMI/HtrA2 participates in caspase-dependent cell death, but it can also act as an effector protein in necrosis, using its protease activity [17; 18; 19].

The endonuclease G is also one of mitochondrial proteins that can potentially contribute to both caspase-independent and caspase-dependent apoptosis. Endonuclease G is able to induce DNA fragmentation independent of caspase action in an isolated nucleus [19; 20].

CASPASE – INDEPENDENT APOPTOSIS

Joza et al. [21] first provided genetic evidence of a mitochondria – regulated cell death pathway independent of APAF-1 and caspase-9 [21]. The same authors reported that the first wave of apoptosis in the early mouse embryo requires the AIF, but not caspases [21]. AIF, first described by Susin et al. [22], is localized in the mitochondria inner membrane space acting as oxidoreductase [19; 22; 23]. Yu et al. [24] also showed that AIF can be released from mitochondria in a caspase – independent manner by excessive Ca^{2+} influx resulting in over-activation of PARP-1 and subsequent cell damage [24]. After AIF is translocated to the nucleus, possibly together with endonuclease G, AIF induces peripheral chromatin condensation and DNA fragmentation [19; 24; 25; 26; 27]. Conversely, AIF may interact with heat shock protein 70 and play an important role in protection against apoptogenic effects of AIF [19; 28]. Certain evidence indicates that AIF can perform as an additional response mechanism to facilitate the completion of caspase – dependent apoptosis, whereas it is capable of executing caspase -independent apoptosis in other cell types [19; 29].

Beside the vital role of mitochondria in caspase – independent apoptosis, lysosomes and endoplasmic reticulum (ER) play an essential role in the release and activation of death factors such as cathepsins, calpains,

and other proteases [19]. Additionally, the pro-apoptotic proteins BAX and BID are represented as key participants in caspase – independent apoptosis [30].

CONCLUSION

Apoptosis plays an important role in the maintenance of tissue homeostasis, and it is critically involved in the pathophysiology of variety of diseases such as cancer, neurodegeneration, diabetes mellitus, stroke etc. In this review we focused on apoptotic proteins that have been identified, but the molecular mechanisms of action of these proteins are not fully understood. Understanding apoptotic mechanisms involving these proteins is essential for better understanding of occurrence and development of various diseases. Understanding apoptotic mechanism might provide useful information and new approaches for prevention and development of new therapies for variety of diseases.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work is supported by the grant No.173033 (to E.R.I.) from the Ministry of Education, Science and Technological Development, Republic of Serbia.

References

- Kerr, J. F., Wyllie, A. H. and Currie, A. R. "Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics." *Br J Cancer* (1972) 26 (4): 239-257.
- Degterev, A., Huang, Z., Boyce, M., *et al.* "Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury." *Nat Chem Biol* (2005) 1 (2): 112-119.
- Lin, C. H., Chen, M. and Sun, M. C. "Circulating apoptotic factors in patients with acute cerebral infarction." *Clin Biochem* (2010) 43 (9): 761-763.
- Aggarwal, A., Aggarwal, P., Khatak, M., *et al.* "Cerebral ischemic stroke: Sequels of cascade " *International Journal of Pharma and Bio Sciences* (2010) 1 (3): 1-24.
- Padosch, S. A., Vogel, P. and Bottiger, B. W. "Neuronal apoptosis following cerebral ischemia. Basis, physiopathology and treatment strategies." *Anaesthesist* (2001) 50 (12): 905-920.
- Elmore, S. "Apoptosis: a review of programmed cell death." *Toxicol Pathol* (2007) 35 (4): 495-516.
- Norbury, C. J. and Hickson, I. D. "Cellular responses to DNA damage." *Annu Rev Pharmacol Toxicol* (2001) 41: 367-401.
- Nakka, V. P., Gusain, A., Mehta, S. L., *et al.* "Molecular mechanisms of apoptosis in cerebral ischemia: multiple neuroprotective opportunities." *Mol Neurobiol* (2008) 37 (1): 7-38.
- Igney, F. H. and Krammer, P. H. "Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis." *Nat Rev Cancer* (2002) 2 (4): 277-288.
- Martinvalet, D., Zhu, P. and Lieberman, J. "Granzyme A induces caspase-independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis." *Immunity* (2005) 22 (3): 355-370.
- Broughton, B. R., Reutens, D. C. and Sobey, C. G. "Apoptotic mechanisms after cerebral ischemia." *Stroke* (2009) 40 (5): e331-339.
- Lotocki, G. and Keane, R. W. "Inhibitors of apoptosis proteins in injury and disease." *IUBMB Life* (2002) 54 (5): 231-240.
- Graham, S. H. and Chen, J. "Programmed cell death in cerebral ischemia." *J Cereb Blood Flow Metab* (2001) 21 (2): 99-109.
- Prunell, G. F., Arboleda, V. A. and Troy, C. M. "Caspase function in neuronal death: delineation of the role of caspases in ischemia." *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* (2005) 4 (1): 51-61.
- Wang, C. and Youle, R. J. "The role of mitochondria in apoptosis." *Annu Rev Genet* (2009) 43: 95-118.
- Zhang, F., Yin, W. and Chen, J. "Apoptosis in cerebral ischemia: executional and regulatory signaling mechanisms." *Neurol Res* (2004) 26 (8): 835-845.
- Hegde, R., Srinivasula, S. M., Zhang, Z., *et al.* "Identification of Omi/HtrA2 as a mitochondrial apoptotic serine protease that disrupts inhibitor of apoptosis protein-caspase interaction." *J Biol Chem* (2002) 277 (1): 432-438.
- Verhagen, A. M., Silke, J., Ekert, P. G., *et al.* "HtrA2 promotes cell death through its serine protease activity and its ability to antagonize inhibitor of apoptosis proteins." *J Biol Chem* (2002) 277 (1): 445-454.
- Broker, L. E., Kruyt, F. A. and Giacccone, G. "Cell death independent of caspases: a review." *Clin Cancer Res* (2005) 11 (9): 3155-3162.
- Li, L. Y., Luo, X. and Wang, X. "Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria." *Nature* (2001) 412 (6842): 95-99.
- Joza, N., Susin, S. A., Daugas, E., *et al.* "Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death." *Nature* (2001) 410 (6828): 549-554.
- Susin, S. A., Zamzami, N., Castedo, M., *et al.* "Bcl-2 inhibits the mitochondrial release of an apoptogenic protease." *J Exp Med* (1996) 184 (4): 1331-1341.
- Miramar, M. D., Costantini, P., Ravagnan, L., *et al.* "NADH oxidase activity of mitochondrial apoptosis-inducing factor." *J Biol Chem* (2001) 276 (19): 16391-16398.
- Yu, S. W., Wang, H., Poitras, M. F., *et al.* "Mediation of poly(ADP-ribose) polymerase-1-dependent cell death by apoptosis-inducing factor." *Science* (2002) 297 (5579): 259-263.
- Wang, X., Yang, C., Chai, J., *et al.* "Mechanisms of AIF-mediated apoptotic DNA degradation in *Caenorhabditis elegans*." *Science* (2002) 298 (5598): 1587-1592.

26. Loeffler, M., Daugas, E., Susin, S. A., *et al.* "Dominant cell death induction by extramitochondrially targeted apoptosis-inducing factor." *Faseb j* (2001) 15 (3): 758-767.
27. Susin, S. A., Lorenzo, H. K., Zamzami, N., *et al.* "Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor." *Nature* (1999) 397 (6718): 441-446.
28. Ravagnan, L., Gurbuxani, S., Susin, S. A., *et al.* "Heat-shock protein 70 antagonizes apoptosis-inducing factor." *Nat Cell Biol* (2001) 3 (9): 839-843.
29. Cregan, S. P., Dawson, V. L. and Slack, R. S. "Role of AIF in caspase-dependent and caspase-independent cell death." *Oncogene* (2004) 23 (16): 2785-2796.
30. Constantinou, C., Papas, K. A. and Constantinou, A. I. "Caspase-independent pathways of programmed cell death: the unraveling of new targets of cancer therapy?" *Curr Cancer Drug Targets* (2009) 9 (6): 717-728.

TREATMENT OF "BLUE TOE" SYNDROME WITH HYPERBARIC OXYGEN THERAPY – CASE STUDY

LEČENJE SINDROMA PLAVIH PRSTIJU HIPERBARIČNOM OKSIGENOTERAPIJOM – PRIKAZ SLUČAJA

Davorka M. Milačić¹, Tatjana Matković¹, Anja Lalić¹, Julijana Stanimirović², Zoran Gluvić³, Esma R Isenović^{2,3,4}

Summary

"Blue toe" syndrome is a relatively rare ischemic disorder produced by occlusion of small blood vessels with fragments of atherosclerotic plaques composed of cholesterol crystals, fatty acids and calcium. It can occur as a complication after endovascular procedures, usually performed on the infrarenal segment of abdominal aorta, as well as in the patients who were under treatment with oral anticoagulant therapy. Hyperbaric oxygen therapy (HBOt) is inhaling 100% oxygen under carefully controlled elevated pressure conditions. In Zemun Clinical Hospital, a patient who presented with "blue toe" syndrome, has been treated with HBOt. After the completion of HBOt course, there was an almost complete regression of ischemic changes.

Key words: "Blue toe" syndrome, Hyperbaric oxygen therapy, Abdominal aorta aneurysm

Sažetak

Sindrom plavih prstiju je relativno redak ishemijski poremećaj, nastao usled okluzije malih krvnih sudova fragmentima aterosklerotičnih plakova sačinjenih od kristala holesterola, masnih kiselina i kalcijuma. Može se pojaviti kao komplikacija nakon endovaskularne procedure, najčešće na infrarenalnom delu abdominalne aorte, ali i kod bolesnika koji su na oralnoj antikoagulantnoj terapiji (OAKT). Hiperbarična oksigenoterapija (HBOt) predstavlja udisanje 100% kiseonika u pažljivo kontrolisanim uslovima povišenog pritiska. Prikazan je slučaj primene HBOt u tretmanu bolesnice sa sindromom plavih prstiju, koji se javio nakon endovaskularne procedure na infrarenalnoj aneurizmi abdominalne aorte (AAA). Po završenoj HBOt, došlo je do potpune regresije ishemijskih promena.

Ključne reči: sindrom plavih prstiju, hiperbarična oksigenoterapija, aneurizma abdominalne aorte

Uvod

Sindrom plavih prstiju (engl. "Blue toe" syndrome) je relativno redak ishemijski poremećaj nastao usled okluzije malih krvnih sudova fragmentima aterosklerotičnih plakova sačinjenih od kristala holesterola, masnih kiselina i kalcijuma [1]. Može se pojaviti kao veoma dramatična komplikacija endovaskularne reparacije aneurizme abdominalne aorte (AAA), najčešće njenog infrarenalnog segmenta [2]. Zabeleženi su slučajevi pojave sindroma plavih prstiju i kao prve manifestacije prisustva AAA [3].

Feder i Auerbach [4] su 1961. godine prvi put opisali pojavu tamno prebojenih prstiju na stopalima, tzv. "Purple Toes" kod šest pacijenata, od kojih su trojica bili dijabetičari i pod oralnom antikoagulantnom terapijom (OAKT). Do razvoja karakteristične kliničke slike kod ovih bolesnika je došlo nakon 3-8 nedelja od početka primene OAKT.

Termin "Blue toe" sindrom uvodi Karmody [5] 1976. godine, kod pojave akutnog bola i cijanoze jednog ili više prstiju stopala. Ovaj fenomen nastaje usled sekun-

darne mikroembolizacije iz proksimalnih ateromatoznih plakova smeštenih u ilijačnim, femoralnim ili poplitealnim arterijama, kao i u aorti, a najčešće na mestu aneurizmatiskog proširenja. Obzirom da je abdominalna aorta, a naročito njen infrarenalni deo, najčešći izvor holesterolskih tromboembolusa [6, 7], stoga se sindrom često nazivao holesterol embolizacioni sindrom [2]. Oštećenje cirkulacije nastaje iznenada, nekada spontano, ali daleko češće kod pacijenata koji su u skorijem vremenskom periodu bili podvrgnuti vaskularnim operacijama ili kod pacijenata lečenih OAKT [2]. Manifestacije ovog sindroma nastaju usled višestrukih tromboembolizacija malih krvnih sudova izazvanih kristalima holesterola. Nakon višestruke opstrukcije cirkulacije mikroembolusima u malim krvnim sudovima, razvija se hipoksija. Usled nedostatka kiseonika dolazi do plave prebojenosti jednog ili više prstiju i intenzivnog bola. Loše vaskularizovano tkivo je dobra podloga za nastanak bakterijske infekcije, što dalje komplikuje sam tok bolesti. Ukoliko u kratkom vremenskom periodu ne dođe do revaskularizacije tkiva, dolazi do razvoja gangrene, te je amputacija zahvaćenog prsta neizbežna [2].

Dijagnoza se postavlja na osnovu eventualnih anamnestičkih podataka o korišćenju OAKT i/ili nekoj vaskularnoj proceduri u skorijoj prošlosti i karakteristične kliničke slike i fizikalnog nalaza plavog prsta/iju stopala, uprkos palpabilnim pedalnim pulsevima i urednom protoku verifikovanom Doppler pregledom krvnih sudova donjih ekstremiteta. Definitivnu dijagnozu je moguće postaviti samo biopsijom kože ili mišića, kao i dokazivanjem prisustva kristala holesterola u njima [6].

Terapija sindroma plavih prstiju može biti hirurška (angioplastika ili endoproteza) ili konzervativna u vidu simptomatske terapije (hidrataciona, analgetska terapija, statini, hemoreologici, acetilsalicilna kiselina, lumbalna simpatektomija) [6-8]. S obzirom na činjenicu da pacijenti sa sindromom plavih prstiju često imaju uznapredovalu aterosklerotsku bolest, od velikog je značaja obratiti posebnu pažnju na sekundarnu prevenciju, u smislu eliminacije faktora rizika za dalji razvoj ateroskleroze [7, 8].

HBOt predstavlja udisanje 100% kiseonika u pažljivo kontrolisanim uslovima povišenog pritiska [9]. Glavni efekti HBO terapije jesu povećana rastvorljivost kiseonika u plazmi, povećana doprema kiseonika tkivima, smanjenje edema vazokonstrikcijom bez smanjenja dovođenja kiseonika, stimulisanje formiranja mladih krvnih sudova (angiogeneza), unapređenje baktericidnih sposobnosti leukocita, poboljšanje efekta nekih antibiotika. Sprovodi se u jednomesnim ili višemesnim komorama za terapiju hiperbaričnim kiseonikom. Trajanje HBOt za kliničke potrebe je od 45 do 90 min., na pritiscima od 1,5 do 2,8 atmsfera, sa mogućnošću primene jednom ili više puta u toku dana [9, 10].

OPIS SLUČAJA

Bolesnica starosti 57 godina primljena je u Službu baromedicine Klinike za hirurgiju KBC Zemun zbog sindroma plavih prstiju, koji je nastao nakon operacije infrarenalne AAA. Sindrom plavih prstiju se počeo razvijati trećeg postoperativnog dana, a u Službu baromedicine Klinike za hirurgiju KBC Zemun je primljena dvanaestog postoperativnog dana. Anamnestički, leči

se od hipertenzije. Pri prijemu, bolesnica je bila dobrog opšteg stanja, uredne postoperativne rane sa izvađenim koncima. Obostrano na vrhovima svih prstiju oba stopala prisutne su ishemijske promene u vidu početne suve nekroze i lividiteta. Promene su najizraženije na palcu i petom prstu oba stopala i trećem prstu levog stopala. Pedalne pulzacije su obostrano prisutne, stopala topla. Pri prijemu, bolovi u prstima stopala su bili diskretno slabijeg intenziteta nego na početku razvoja sindroma.

Nakon što je ustanovljeno da nema kontraindikacija, bolesnica je tretirana HBOt jednom dnevno, 60 minuta, na 2,0 atmosfere, ukupno 10 tretmana, sa dobrim neposrednim podnošenjem. Uporedo sa HBOt, lokalne promene na stopalima su svakodnevno previjane, uz antibiotsku i OAKT. Nakon deset tretmana HBOt, bolesnica je otpuštena na kućno lečenje, pri čemu je obostrani lokalni nalaz na stopalima pokazivao znake poboljšanja.



Slika 5 – 6. Obostrano na stopalima znaci poboljšanja



Slika 1 – 4. Obostrano na vrhovima prstiju stopala prisutne ishemijske promene



Slika 7 – 8. Obostrano povlačenje ishemijskih promena na stopalima

Mesec dana kasnije, HBOt je nastavljena po istom protokolu u još 5 tretmana, sa dobrim neposrednim podnošenjem. Nakon ukupno 15 tretmana HBOt, došlo je do potpunog povlačenja ishemijskih promena na oba stopala.

DISKUSIJA

Najčešće zabeleženi slučajevi pojave sindroma plavih prstiju su udruženi sa AAA, pri čemu su retke i jedine manifestacije prisustva AAA. U toku operacije fragmenti aterosklerotičnih plakova budu krvnom strujom otplavljeni distalno u male krvne sudove prstiju stopala, usled čega se javlja ishemija. Ukoliko se komplikacija ne leči, može se razviti gangrena i infekcija, što može voditi amputaciji zahvaćenog dela stopala [1, 3].

Po registrovanju sindroma plavih prstiju, pristupa se pažljivom uzimanju anamnestičkih podataka, fizikalnom pregledu, a potom vizuelizacionim procedurama (Doppler pregled krvnih sudova, ultrazvuk abdomena i srca, CT ili MRI angiografija, odnosno klasična kontrastna angiografija), sa ciljem detekcije potencijalnog ishodišta embolusa. Istovremeno, sprovodi se diferencijalna dijagnostika okluzije distalne mikrocirkulacije (vazospazam, vaskulitis, hiperviskozni sindromi, stanja hiperkoagulabilnosti, kalcifikaksa, embolizacija, toksini, upotreba glikokortikoida, paraneoplastični sindrom) [11-13]. Iako savremen pristup tretmanu sindroma plavih prstiju uključuje suportivnu terapiju i sekundarnu prevenciju uperenu protiv potencijalnih ponavljanih epizoda embolizacije [14], otkrivanje i uklanjanje izvora embolusa je ključno [6, 15]. Endarterektomija sa ili bez angioplastike se smatra zlatnim standardom za lečenje ishemije donjih ekstremiteta [16]. Suportivna terapija se sprovodi u vidu rehidracije, primene analgetika, antibiotika, previjanja [7, 8]. Pojedini autori smatraju da su antitrombocitna, OAKT, kao i terapija heparinom neefikasna [17], a čak može favorizovati re-embolizaciju [18]. Savremen koncept lečenja uključuje tretman statinima [19], kao i vazodilatatornim prostaglandinima – PGI2 i PGE1 [6]. Međutim, u pojedinačnim slučajevima, gde primenjena terapija ne pomaže ili je nemoguće iz nekog razloga primeniti, pribegava se primeni pojedinih nekonvencionalnih modaliteta lečenja, poput lumbalne simpatektomije [14] ili u našem slučaju, pri-

menom HBOt, za koju u pretraženoj literaturi nismo našli da se koristila za tretman sindroma plavih prstiju.

Objasnenje za primenu HBOt treba tražiti u patogenezi sindroma plavih prstiju- mikroembolije fragmentima aterosklerotskog plaka uzrokuju ishemiju distalno [20, 21]. U toku HBOt moguće je dovesti dodatne količine kiseonika rastvorenog u plazmi do ciljnog tkiva, čak iako je krvni sud sužen teoretski toliko, da ne može proći ni eritrocit, ali može proći tečni kompartman krvi, koji je sada višestruko zasićen rastvorenim kiseonikom. U normobaričnim uslovima pO_2 iznosi 97,5 mmHg i daljim dovođenjem kiseonika se ne može povećati. Jasno je da se povećan dotok kiseonika tkivu može ostvariti samo u hiperbaričnim uslovima, kada glavni prenosioč kiseonika nije više hemoglobin u eritrocitu, nego plazma. Ishemično tkivo sada ne zavisi od eritrocita, koji u ishemičnom tkivu često zbog svoje veličine ne može dosegnuti ciljno tkivo. Uzgredno, usled povećane razlike gradijenta pritiska na početku i kraju kapilara, uzrokovane vazokonstrikcijom zbog višestruko povišenog parcijalnog pritiska kiseonika, dolazi do povlačenja edema iz intersticijuma lokalno, što dodatno smanjuje put koji kiseonik i hranjive materije treba da pređu do ciljnog tkiva. Ovim mehanizmima omogućeno je održavanje vitalnosti tkiva, dok ne dođe do reparacije tkiva i ponovnog uspostavljanja krvotoka. Pored toga, HBOt potpomaže proces stvaranja mladih krvnih sudova [9, 10].

U nama dostupnoj literaturi nismo naišli na podatak da je sindrom plavih prstiju lečen HBOt. Lečenje je kod naše bolesnice započeto relativno rano po razvoju ishemije, dok se još nisu razvile ireverzibilne promene, te je tako tretman HBOt doveo do potpune regresije ishemičnih promena na prstima oba stopala. Zbog povećanog parcijalnog pritiska kiseonika u hiperbaričnim uslovima, on je u velikoj količini rastvoren u plazmi, što omogućuje da tkivo koje je reverzibilno oštećeno ishemijom održi vitalnost dok se ne resorbuje nekrotično tkivo i obnovi mikrocirkulacija. Ishemično tkivo je podložnije razvoju infekcije. Obzirom da HBOt unapređuje sposobnost leukocita da ubiju bakterije, ona pomaže lokalnom ishemičnom tkivu da održi pod kontrolom potencijalnu infekciju, koja bi u ovim uslovima dovela do povećanja destrukcije tkiva i smanjila mogućnost restitucije reverzibilno izmenjenog tkiva [9, 10].

ZAKLJUČAK

Nakon srpovedenog dijagnostičkog algoritma za sindrom plavih prstiju i detekcije njegovog uzroka, pristupa se njegovom tretmanu, kako hirurškom (gde je to moguće), tako i etiološkom i simptomatskom. Poseban značaj je u sekundarnoj prevenciji i izbegavanju potencijalnih precipitirajućih faktora, koji favorizuju ponovnu pojavu sindroma plavih prstiju. U uslovima nemogućnosti postavljanja kauzalne dijagnoze sindroma plavih prstiju, kao i iscrpljenih terapijskih algoritama i prisustva faktora koji limitiraju prevashodno vasku-

laro hirurško lečenje (prisustvo komorbiditeta, godine života, loša komplijansa), otvaraju se mogućnosti za primenu drugih terapijskih modaliteta (npr. Lumbalna simpatektomija, primena HBOt). Prikazom ovog slučaja, pokazali smo korisne efekte HBOt, koja je potpomogla restoraciju ishemijskih promena na zahvaćenim delovima stopala.

S obzirom na teoretske osnove i mehanizme dejstva HBOt, kao i na pozitivan rezultat lečenja naše bolesnice, potrebno je nastaviti dalja istraživanja o mogućnosti lečenja sindroma plavih prstiju primenom HBOt.

Literatura

- Chinsakchai, K., et al., *Outcomes of abdominal aortic aneurysm with aortic neck thrombus after endovascular abdominal aortic aneurysm repair*. J Med Assoc Thai, 2014. **97**(5): p. 518-24.
- Quinones, A. and M. Saric, *The cholesterol emboli syndrome in atherosclerosis*. Curr Atheroscler Rep, 2013. **15**(4): p. 315.
- Popov, P., et al., [*"Blue-toe" syndrome as a possible complication of the abdominal aortic aneurysm: a report of two cases*]. Srp Arh Celok Lek, 2014. **142**(3-4): p. 229-32.
- Feder, W. and R. Auerbach, *"Purple toes": an uncommon sequela of oral coumarin drug therapy*. Ann Intern Med, 1961. **55**: p. 911-7.
- Karmody, A.M., et al., *"Blue toe" syndrome. An indication for limb salvage surgery*. Arch Surg, 1976. **111**(11): p. 1263-8.
- Sawalhi, I.S. and H. Hamad, *Etiology of 'blue toe' syndrome: Emboli versus warfarin therapy. Report of a case.*. Journal of Taibah University Medical Sciences. , 2012. **7**(8): p. 41-4.
- Renshaw, A., et al., *Angioplasty with stenting is effective in treating blue toe syndrome*. Vasc Endovascular Surg, 2002. **36**(2): p. 155-9.
- Hirschmann, J.V. and G.J. Raugi, *Blue (or purple) toe syndrome*. J Am Acad Dermatol, 2009. **60**(1): p. 1-20; quiz 21-2.
- Ratzenhofer-Komenda, B., J. Niinikoski, and M. Hamilton-Farell, *Physical and Pathophysiological Bases of Hyperbaric Oxygen Therapy*. , in *Handbook on Hyperbaric Medicine*, D. Mathieu, Editor. 2006, Springer, Dordrecht. p. 15-163.
- Jain, K.K., *Physical, Pysiological, and Biochemical Aspects of Hzperbaric Oxygenation.*, in *Textbook of Hyperbaric Medicine.*, K.K. Jain, Editor. 2004, Hogrefe & Huber Publishers: Gottingen. p. 9-19.
- Nijhof, I.S., et al., [*Blue toe syndrome; a sign of end-arterial occlusion*]. Ned Tijdschr Geneesk, 2007. **151**(23): p. 1261-7.
- Varis, J., et al., [*Blue toe syndrome—a rare but possible complication of anticoagulant therapy*]. Duodecim, 2011. **127**(11): p. 1154-7.
- Begon, E., et al., *Isolated blue toe syndrome as the initial sign of Wegener granulomatosis*. Am J Med, 2010. **123**(7): p. e7-8.
- Kim, M.-G., et al., *Blue toe syndrome treated with sympathectomy in a patient with acute renal failure caused by cholesterol embolization*. Kidney Research and Clinical Practice, 2013. **32**(4): p. 186-189.
- Kaufman JL, K.A., Leather RP, *Atheroembolism and micro-thrombotic syndromes (the blue toe syndrome and disseminated atheroembolism)*, in *Vascular surgery*, R. RB, Editor. 1989, W.B. Saunders: Philadelphia. p. 565-74.
- Brewer, M.L., et al., *Blue toe syndrome: treatment with anticoagulants and delayed percutaneous transluminal angioplasty*. Radiology, 1988. **166**(1 Pt 1): p. 31-6.
- Rauh, G. and F.A. Spengel, *Blue toe syndrome after initiation of low-dose oral anticoagulation*. Eur J Med Res, 1998. **3**(6): p. 278-80.
- Moll, S. and J. Huffman, *Cholesterol emboli associated with warfarin treatment*. Am J Hematol, 2004. **77**(2): p. 194-5.
- Blanco-Colio, L.M., et al., *Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of statins*. Kidney Int, 2003. **63**(1): p. 12-23.
- Akle, C.A. and C.L. Joiner, *Purple toe syndrome*. J R Soc Med, 1981. **74**(3): p. 219.
- Owlia, M.B., et al., *Ischemic toes after venous thromboembolism: a difficult differential diagnosis with good response to combination therapy—a case report*. Case Rep Med, 2012. **2012**: p. 403685.

¹Kliničko-bolnički centar Zemun, Klinika za internu medicinu, Zemun, Srbija

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

³The Pharmaceutical Research Institute at Albany, Albany College of Pharmacy and Health Sciences, New York, USA

⁴Stomatološki fakultet u Pančevu, Univerzitet Privredna Akademija, Novi Sad, Srbija

CORRELATION OF METABOLIC PROFILE AND BONE MINERAL DENSITY IN TREATMENT – NAIVE FEMALES WITH SUBCLINICAL THYROID DYSFUNCTION – A PILOT STUDY

KORELACIJA METABOLIČKOG PROFILA I KOŠTANE GUSTINE KOD NETRETIRANIH ISPITANICA OBOLELIH OD SUPKLINIČKIH TIREOIDNIH DISFUNKCIJA – PILOT STUDIJA

Marija Popin-Tarić¹, Zoran Gluvić¹, Vladimir Samardžić¹, Anita Vasić-Vlaisavljević¹, Jelena Tica Jevtić¹, Anastasija Panić², Emina Sudar Milovanović², Ratko Tomašević¹, Esma R. Isenović^{2,3,4}

Summary

Introduction. It is well-known that overt thyroid dysfunctions have an influence on bone mineral density (BMD). It is noticed as a change in bone turnover and BMD, with subsequent increased risk of fall – induced fractures. Additionally, promoting the lipid profile derangement, subclinical thyroid dysfunction seems to be an important factor of atherosclerosis acceleration and the risk of cerebrovascular and cardiovascular incidents.

In this study we examined the relationship between some of osteoporosis risk factors, metabolic parameters and BMD, in subclinical thyroidopathies.

Material and Methods. Pilot cross – sectional study involved 45 females selected on fulfilled inclusion criteria. Three groups of 15 examinees were formed, based on TSH and fT4 serum levels (SHypo, SHyper, and euthyroid – control). As for risk factors, age, records on menopause and history of past fractures as well as metabolic parameters Body Mass Index (BMI), waist and hip circumference, cholesterol and triglyceride levels were observed. The entire study population was referred to DEXA (Dual Energy X Ray Absorptiometry) scan for BMD measurement on lumbar spine (LS) and left hip (LH), expressed through T scores. The obtained data were analyzed by SPSS for Windows 18.0 statistical package. The level of statistical significance was 0.05.

Results. The groups of patients differed on cholesterol levels and LS/LH T scores. Decreased BMD was detected in 35 (77.4%) patients. Intergroup correlations of LS/LH T scores were registered. A history of past fractures and records on menopause significantly influenced LS/LH T scores, which was not the case with metabolic parameters. Both the lowest T scores and clinically important dyslipidemia were presented in SHypo group.

Discussion. The pilot study pointed out a decrease in BMD (mostly on osteopenia level) in subclinical, presumably hypothyroid disorder. The presence of hypercholesterolemia was detected in the same group. Metabolic parameters and thyroid hormones (TSH and fT4) did not have an effect on BMD.

Conclusion. Subclinical thyroid dysfunctions are associated with a decrease in BMD, mostly presented as osteopenia, with a higher degree of severity in SHypo group. There is no registered influence of metabolic parameters on LS/LH T scores.

It can be possible to slow down progression of decrease in BMD and subsequent fracture risk, with proper diagnostics and management of subclinical thyroid dysfunctions. Additionally, with correction of lipid disorders, cardiovascular and cerebrovascular risk could be minimized.

Key words: subclinical hypothyroidism, subclinical hyperthyroidism, Bone Mineral Density, osteopenia

Sažetak

Uvod: Poznat je uticaj manifestnih tireoidnih disfunkcija na promene u koštanoj masi koji se ispoljava kroz izmene u koštanom prometu, koje dovode do promena koštane gustine i mogućeg povećanog rizika od pada i preloma. Takođe, uticajem na metaboličke parametre, prevashodno na lipide, tireoidne disfunkcije predstavljaju važan uzrok akceleracije ateroskleroze i povećanja cerebrovaskularnog i kardiovaskularnog rizika.

Ovom studijom je ispitivan metabolički profil i koštana gustina kod pacijenata sa dijagnostikovanom supkliničkom tireoidnom disfunkcijom.

Materijal i metode: Pilot studija preseka obuhvatila je 45 selektovanih ispitanica, koje su ispunile inkluzivne kriterijume. Na osnovu nivoa tireostimulišućeg hormona (TSH) i slobodnog tiroksina (fT4) ispitanice su svrstane u 3 grupe, po 15 ispitanica u svakoj grupi: – grupa: supklinička hipotireoza (SHipo), grupa: supklinička hipertireoza (SHiper), i grupa: eutireodna-tj. kontrolna grupa. Od faktora rizika, praćeni su godine života, podaci o menopauzi i prethodnim prelomima, a od metaboličkih parametara indeks telesne mase (engl. Body Mass Index, BMI), obim struka (OS), obim kuka (OK), nivo triglicerida i nivo ukupnog holesterola. Kod svih ispitanica je merena koštana gustina na lumbalnoj kičmi i levom kuku (LK) i izražena u T skorovima. Dobijeni podaci su analizirani korišćenjem statističkog paketa SPSS za Windows. Statistički značajnom je smatrana verovatnoća manja od 0,05 (p<0,05).

Rezultati: Grupe ispitanica su se značajno razlikovale po nivoima ukupnog holesterola, kao i T skorovima lumbalne kičme i LK. Smanjena koštana gustina je registrovana kod 35 (77,8%) ispitanica. Vrednosti T skorova lumbalne kičme i LK su unutargrupno međusobno korelirali. Od faktora rizika, postojanje prethodnih preloma i menopauze, značajno utiču na T skorove, što nije slučaj ni sa jednim metaboličkim parametrom. Najniži T skorovi, kao i sa kliničkog aspekta najznačajnija dislipidemija, su registrovani u grupi SHipo.

Diskusija: U okviru ove pilot studije pokazano je smanjenje koštane gustine u populaciji ispitanica sa supkliničkim tireoidopatijama, najviše izražena u SHipo grupi. U istoj grupi je zabeležen i klinički najaterogeniji lipidni profil (hiperholesterolemija). Metabolički parametri kao i hormoni nisu uticali na T skorove lumbalne kičme i LK.

Zaključak: Supkliničke tireoidne disfunkcije su povezane sa smanjenjem koštane gustine, izražene kroz T skorove na lumbalnoj kičmi i LK, i na njih nisu uticali metabolički parametri. Pravovremenom dijagnostikom i lečenjem tireoidnih disfunkcija, moguće je usporiti gubitak koštane mase, smanjiti rizik kako od pada tako i od preloma, pri čemu korekcijom lipidnog disbalansa se može smanjiti potencijalni cerebrovaskularni i kardiovaskularni rizik.

Gljučne reči: supklinička hipotireoza, supklinička hipertireoza, koštana gustina, osteopenija

UVOD

Osteoporozna (Op) je najčešća metabolička bolest u kojoj su procesi razgradnje intenzivniji od procesa stvaranja nove kosti (1). Osnovna karakteristika Op je narušena mikroarhitektura koštanog tkiva, što ima za posledicu povećanu fragilnost kostiju. Takve kosti se mogu prelomiti nakon padova sa visine koja odgovara visini osobe (engl. *Standing height*) ili niže, ali i nakon minimalnih trauma, koje u uslovima normalne koštane gustine ne bi dovele do mikro ili makrofraktura (2, 3).

Supkliničke tireoidne disfunkcije u osnovi predstavljaju laboratorijsku dijagnozu, bez ili sa minimalno ispoljenim simptomima i kliničkim znacima (4). Značaj ovih disfunkcija je u njihovoj mogućoj progresiji u klinički manifestne oblike bolesti, kao i u uticaju na različite organe i organske sisteme, pre svega na kardiovaskularni, centralni i periferni nervni sistem, uticaj na metabolički status i skeletni sistem, prevashodno kroz uticaj na gustinu koštane mase i rizik od preloma (4, 5).

Supklinička hipotireoza (SHipo) se definiše laboratorijskim nalazom povišenog nivoa tireostimulišućeg hormona (TSH) i normalnih nivoa perifernih tireoidnih hormona (6-8). Prevalenca SHipo u opštoj populaciji, prema različitim studijama, iznosi od 1 do 20% (9-11). Hronični autoimuni tireoiditis se navodi kao najčešći uzrok nastanka SHipo (60-80%). Ostali uzroci perzistentnog SHipo su: nedovoljno supstituisan klinički hipotireoidizam, radioablativna terapija autoimune difuzne strume, suptotalna tireoidektomija u lečenju difuzne ili nodozne strume, prekomerno unošenje jodida, stanja nakon subakutnog, bezbolnog, postpartalnog tireoiditisa ili zračenja vrata, a znatno ređe nedostatak jodida, genetski poremećaji sinteze tireoidnih hormona, kao i infiltrativne bolesti štitaste žlezde (10, 12).

Supklinička hipertireoza (SHiper) se karakteriše sniženim nivoom TSH, uz normalne vrednosti perifernih tireoidnih hormona. Prevalenca u opštoj populaciji iznosi od 0,6% do 16%, i zavisi od donje granice referentnog opsega za TSH. Ukoliko se za donju referentnu granicu uzme vrednost TSH od 0,4 mIU/L, prevalenca iznosi 3,2%, dok u slučaju cut-off vrednosti TSH od 0,1 mIU-

/L, ona iznosi 0,7% (10, 13). SHiper može biti endogena (toksični adenom, polinodozna struma, Grejvs-Bazedovljeva bolest, tiroiditis) ili egzogena (primena supresivne terapije L-tiroksinom nakon totalne tireoidektomije zbog papilarnog/folikularnog karcinoma štitaste žlezde, u tretmanu difuzne i nodozne strume ili jatrogeno-zbog neželjene prekomerne supstitucije hipotireoze) (8, 14, 15).

U regulaciji koštanog metabolizma učestvuju brojni hormoni, među kojima bitnu ulogu imaju i TSH i hormoni štitaste žlezde (tiroksin- T4 i trijodtironin- T3). Efekat TSH hormona se ostvaruje vezivanjem TSH za TSH receptore, koji su detektovani na prekursorima osteoblasta i osteoklasta (16). Pored toga, pokazano je i da periferni tireoidni hormoni mogu direktno uticati na kost, na taj način što utiču na sekreciju ili delovanje drugih hormona, koji ostvaruju svoj efekat i na metabolizam kosti. Hormon TSH, takođe utiče i na remodelovanje kosti na taj način što smanjuje osteoklastnu aktivnost, kao i njihovo preživljavanje, a u manjoj meri na taj način što inhibira diferencijaciju osteoblasta i stvaranje kolagena tipa 1 (16, 17). Periferni tireoidni hormoni deluju na povećanje koštanog prometa, koji vodi ka smanjenju koštane gustine (17, 18).

Iako se zna da klinički hipotireoidizam i hipertireoidizam utiču na smanjenje koštane gustine i tako povećavaju rizik od Op preloma (19-21), uticaj supkliničkih tireoidnih disfunkcija je manje ispitivan, i vrlo često sa divergentnim rezultatima. SHiper, prevashodno zbog povišenih vrednosti T3 i T4, dovodi do ubrzanog koštanog prometa i smanjenja mineralne gustine kosti, češće do nivoa osteopenije, sa posledičnim povećanjem rizika od preloma (22, 23). Nasuprot tome, SHipo usporavanjem remodelovanja kosti dovodi do povećanja koštane gustine, sa manje konzistentnim podacima u pogledu preloma (24-26).

Ciljevi ove pilot studije su bili da se: 1. Prikažu faktori rizika za osteoporozu (godine života, pušenje, prethodni prelomi i menopauza), metabolički parametri (indeks telesne mase (BMI), obim struka (OS), obim kuka (OK),

nivo triglicerida i holesterola) i gustina koštane mase (T skor lumbalne kičme i levog kuka (LK)) po grupama ispitanica (SHipo, SHiper i eutireoidna-kontrolna grupa), 2. da se ispita da li postoji razlika u gustini koštane mase među grupama ispitanica, 3. da se ispita da li postoji uticaj posmatranih faktora rizika za Op, metaboličkih parametara i nivoa TSH i slobodnog tiroksina (fT4) na gustinu koštane mase u ispitivanoj populaciji.

MATERIJAL I METODE

Ova pilot studija preseka sprovedena je na Klinici za internu medicinu KBC Zemun- Službi za endokrinologiju i dijabetes i Službi za gerijatriju, tokom 2013-2014. godine. Kriterijumi za uključivanje ispitanika u studiju bili su postojanje vrednosti nivoa TSH i fT4 u krvi i izmerena koštana gustina DEXA (engl. *Dual Energy X Ray Absorptionmetry*) metodom, sa definisanim T skorom lumbalne kičme i LK. Prvo su iz populacije od interesa isključeni ispitanici muškog pola, da bi se izbegao uticaj pola kao konfundirajuće varijable, a potom i ispitanice sa kliničkim hipotireoidizmom (povišen TSH, nizak fT4), odnosno kliničkim hipertireoidizmom (nizak TSH i povišen fT4). Ostali ekskluzivni kriterijumi su bili: anamnestički podatak o Op u porodici, bolovanje od bolesti ili upotreba lekova koji poznato utiču na smanjenje koštane gustine, prisustvo sistolne i/ili dijastolne hipertenzije (sistolni pritisak ≤ 120 mmHg, a dijastolni pritisak ≤ 80 mmHg) i dijabetesa (anamnestički i merenjem jutarnje glikemije naše na samomeraču za merenje glikemije marke Accu Chek, Roche Diagnostics; studijske inkluzivne vrednosti od 4,0 do 6,0 mmol/L) i rane prirodne ili arteficialne menopauze. Nakon toga su selektovane ispitanice, ukupno 45, klasifikovane u odgovarajuće jednake grupe po 15 ispitanica: grupa: SHipo (TSH=4-15 mIU/ml, fT4=10-22 pmol/L), grupa: SHiper (TSH<0,4 mIU/ml, fT4=10-22 pmol/L) i eutireoidnu, kontrolnu grupu (TSH=0,4-4,0 mIU/ml, fT4=10-22 pmol/L). Nivoi TSH i fT4 određivani su na automatskim analizatorima Immulite 2000. Referentan opseg za TSH je 0,4-4,0 mIU/ml, dok za fT4 iznosi 10-22 pmol/L.

Od faktora rizika za smanjenu koštanu gustinu, analizirani su postojanje menopauze, prethodnih preloma i navike pušenja.

Od metaboličkih parametara praćeni su BMI, OS, OK, kao i nivo ukupnog holesterola i triglicerida.

BMI predstavlja odnos telesne težine i kvadrata telesne visine, izražen u kg/m². OS i OK su mereni metrom, a izraženi u cm. OS >88 cm za žene, tj. odnos OS i OK (engl. waist/hip ratio) >0,9 za žene, su markeri centralne gojaznosti i insulinske rezistencije kao i povećanog kardiovaskularnog rizika.

Nivo holesterola i triglicerida određivan je aparatom Ilab 650 u istoj laboratoriji. Referentne vrednosti za ukupni holesterol su 3,6-5,1 mmol/L, a za trigliceride <1,7 mmol/L.

Koštana gustina je merena uređajem Hologic Discovery QDR-C, koji radi po DEXA principu. Merenje absorpcije X zraka vršeno je nad lumbalnom kičmom i LK i izraženo T skorovima. Potom su ispitanice klasifikovane po grupama na osnovu lošijeg T skora: manje od -2,5 je osteoporozna, između -2,5 i -1,0 je osteopenija, dok je između -1,0 i +1,0 normalna koštana gustina. Osteopenija i osteoporozna su definisane kao smanjena koštana gustina.

STATISTIČKA OBRADA REZULTATA

U statističkoj obradi rezultata korišćene su metode deskriptivne i analitičke statistike. Od metoda deskriptivne statistike korišćeni su relativni brojevi, mere centralne tendencije i mere varijabiliteta. Od mera centralne tendencije korišćena je aritmetička sredina, a od mera varijabiliteta standardna devijacija, interval i koeficijent varijacije. Za testiranje normalne raspodele numeričkih obeležja posmatranja korišćen je Kolmogorov Smirnov test.

Od metoda analitičke statistike korišćeni su testovi za procenu značajnosti povezanosti i razlike. Od testova za procenu značajnosti povezanosti korišćen je Spearmanov test korelacije ranga, dok je za procenu značajnosti razlike korišćen χ^2 test. U slučajevima gde je ispitivana značajnost razlike među tri grupe ispitanica, korišćena je jednofaktorska parametarska analiza varijanse (ANOVA).

Nivo statističke značajnosti je bio 0,05, a visoke statističke značajnosti 0,01. U obradi podataka korišćen je statistički paket SPSS for Windows, verzija 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

REZULTATI

Pilot-studijom je obuhvaćeno 45 ispitanica, prosečne životne dobi 54 ± 9 (32-72 godina) godina, koja se nije razlikovala među grupama ispitanica ($F=1,511$, $df_1=2$, $df_2=42$; $p>0,05$). Od ukupnog broja, 18 (40%) ispitanica su pušači, dok je primarna menopauza registrovana kod 37 (82,2%) ispitanica. Prethodni prelomi su registrovani kod 4 (8,9%) ispitanice. Tabelom br. 1 i Tabelom br. 2 su prikazani antropometrijski i metabolički parametri u ispitivanoj populaciji i po grupama ispitanica.

Posthoc analizom statistički značajnih razlika u T skorovima na lumbalnoj kičmi (LS) i levom kuku (LK), najveći doprinos statističkoj značajnosti dala je razlika u T skorovima među grupama supkliničke hipotireoze i eutireoidne grupe (T skor LS kičma/LK SCHipo: kontrolna grupa, $p<0,01$).

Tabela 1. Deskriptivna statistika numeričkih parametara ispitivane populacije

Varijabla	Aritm. sredina ± SD (min-max)	ANOVA [F; df1=2, df2=42]	P
BMI (kg/m ²)	26,1±4,9 (17,5-37,1)	1,052	ns
OS (cm)	84±13 (60-110)	0,927	ns
OK (cm)	104±10 (88-135)	2,210	ns
TSH (mIU/ml)	3,9±4,5 (0,0-10,6)	35,266	p<0,01
fT4 (pmol/L)	15,8±4,3 (7,2-25,2)	10,464	p<0,01
Trigliceridi (mmol/L)	1,64±0,64 (0,6-4,2)	1,026	ns
Holesterol (mmol/L)	5,2±1,2 (3,3-8,0)	3,129	p<0,05
T skor, LS	-1,2±1,1 (-3,6-0,8)	4,585	p<0,05*
T skor, LK	-0,8±1,0 (-4,4-0,8)	6,430	p<0,01*

BMI- indeks telesne mase; OS- obim struka; OK- obim kuka; TSH- tirostimulišući hormon; fT4- slobodni tiroksin, p- statistička značajnost

Klasifikovanjem T skorova po kategorijama, normalna koštana gustina, osteopenija i osteoporozna su registrovane kod 17 (37,8%), 18 (40%), odnosno kod 10 (22,2%) ispitanica. Patološki nalaz osteopenije/osteoporoze po grupama ispitanica (SHipo kod 14, SHiper kod 9, Eutireoidna grupa kod 5 ispitanica) se statistički značajno razlikovao ($\chi^2=13,776$, p<0,01).

Registrovana je statistički značajna korelacija između T skorova lumbalne kičme i LK (r=0,616, p<0,01). Uticaj godina života i metaboličkih parametara na T skor lumbalne kičme i LK prikazan je na Tabeli br. 3. Od posma-

Tabela 3. Koeficijenti korelacije posmatranih metaboličkih parametara i T skorova lumbalne kičme (LS) i levog kuka (LK)

Varijabla	r _{T skor LS}	r _{T skor LK}	P
BMI (kg/m ²)	0,18	0,27	>0,05, ns
OS (cm)	0,01	0,01	>0,05, ns
OK (cm)	0,11	0,19	>0,05, ns
Trigliceridi (mmol/L)	0,01	0,20	>0,05, ns
Holesterol (mmol/L)	-0,04	-0,07	>0,05, ns

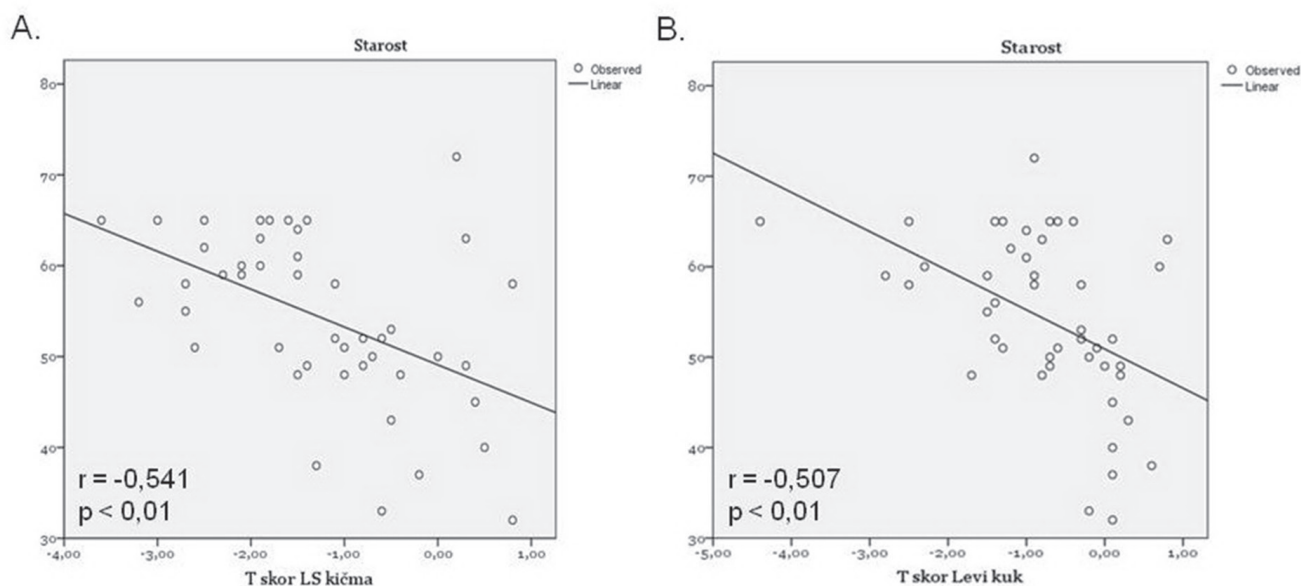
BMI- indeks telesne mase; OS – obim struka; OK- obim kuka; r- koeficijent korelacije; p- statistička značajnost

Tabela 2. Antropometrijski i metabolički parametri po grupama ispitanica

Varijabla	SHipo	SHiper	Eutireoidna
Godine života [X±SD (min-max)]	55±7 (38-65)	57±10 (33-72)	51±10 (32-65)
BMI [X±SD (min-max)]	26,5±5,8 (18,8-37,0)	24,7±4,2 (17,5-34,7)	27,2±4,5 (19,8-37,1)
Pušenje [da (%)]	5 (33,3)	7 (46,7)	6 (40)
Prethodni prelomi [da (%)]	3 (20)	1 (6,7)	0
Menopauza [da (%)]	14 (93,3)	14 (93,3)	9 (60)
OS (cm) [X±SD (min-max)]	87,5±11,5 (66-102)	82±11 (60-103)	82±15 (60-110)
OK (cm) [X±SD (min-max)]	106±9 (97-126)	100±8 (88-117)	107±12 (89-135)
TSH (mIU/ml) [X±SD (min-max)]	8,6±4,8 (5,1-20,6)	0,1±0,1 (0,0-0,39)	3,0±0,7 (1,9-4,0)
fT4 (pmol/L) [X±SD (min-max)]	12,4±3,7 (7,2-19,4)	18,2±4,3 (11-25,2)	16,7±2,6 (12,1-21,2)
Trigliceridi (mmol/L) [X±SD (min-max)]	1,7±0,9 (0,6-4,2)	1,4±0,3 (0,9-2,0)	1,7±,5 (0,9-2,8)
Holesterol (mmol/L) [X±SD (min-max)]	5,7±1,5 (3,4-8,0)	4,7±0,8 (3,3-6,7)	5,2±0,9 (3,4-7,2)
T skor LS [X±SD (min-max)]	-1,7±0,8 (-3,2-0,0)	-1,4±1,2 (-3,6-0,8)	-0,6±0,9 (-1,9-0,8)
T skor LK [X±SD (min-max)]	-1,3±0,7 (-2,8-0,6)	-0,9±1,3 (-4,4-0,7)	-0,1±0,5 (-0,9-0,8)

BMI- indeks telesne mase; OS- obim struka; OK- obim kuka; TSH- tirostimulišući hormon; fT4- slobodni tiroksin; LS- lumbalna kičma, od eng. lumbal spine; LK- levi kuk; SHipo- grupa pacijenata sa subklinikim hipotiroidizmom; SHiper- grupa pacijenata sa subklinikim hipertiroidizmom; X- srednja vrednost; SD- standardna devijacija

Grafik 1. Uticaj godina života na T skor lumbalne kičme (A.) i T skor levog kuka (B.)



LS – lumbalna kičma; r – koeficijent korelacije; p – statistička značajnost

tranih faktora rizika za smanjenje koštane gustine u ovoj studiji, postojanje prethodnih preloma ($\rho_{\text{TskorLkičma/prethodni prelom}} = 0,29$, $\rho_{\text{TskorLK/prethodni prelom}} = 0,33$; $p < 0,05$) i menopauza ($\rho_{\text{TskorLkičma/menopauza}} = 0,53$, $\rho_{\text{TskorLK/menopauza}} = 0,55$; $p < 0,01$) su uticali na T skorove lumbalne kičme i LK, dok u slučaju pušenja taj uticaj nije dostigao statističku značajnost ($\rho_{\text{TskorLkičma/pušenje}} = -0,068$, $\rho_{\text{TskorLK/pušenje}} = 0,159$; $p > 0,05$).

DISKUSIJA

Pilot studija preseka, koja je obuhvatila 45 ispitanica podeljenih na osnovu nivoa TSH i fT4 na tri jednake grupe po 15 ispitanica (SHipo, SHiper, eutireoidna-kontrolna grupa), ukazala je na smanjenu koštanu gustinu na nivou osteopenije što ukazuje da se koštana gustina značajno razlikovala među grupama ispitanica. Proaterogeni lipidni profil je prevashodno izražen u obolelih od SHipo. Prosečna koštana gustina, izražena kroz T skor na lumbalnoj kičmi i LK, je bila niža kod obolelih sa SHipo u odnosu na one sa SHiper i eutireoidne. Godine života ispitanica, prethodni prelomi i postojanje menopauze utiču na pomenute pokazatelje koštane gustine, dok taj uticaj nisu ostvarili navika pušenja, posmatrani metabolički parametri (BMI, OS, OK, nivo triglicerida i holesterola), kao i nivoi serumskog TSH i fT4. T skorovi lumbalne kičme i LK su međusobno pozitivno korelirali u ispitivanim grupama ispitanica.

Među poznatim faktorima rizika koji dovode do smanjenja koštane gustine, kako u našoj tako i studijama drugih autora, (1, 2, 27, 28), je ukazano na uticaj godina života, postojanja menopauze i podataka o prethodnim prelomima na vrednosti T skorova. U poređnom analizom sve tri grupe ispitanica u pogledu vrednosti T skorova, iako ta razlika nije dostigla statističku značajnost, oni su bili najniži u grupi ispitanica sa SHipo. Iako je

broj ispitanica najvažnija limitacija naše studije, ovaj rezultat nije očekivan i razlikuje se od dosad objavljenih rezultata u literaturi (1, 2, 27, 28).

Studije na animalnim modelima su pokazale da izmenjeni nivoi TSH i perifernih tireoidnih hormona mogu nezavisno uticati na arhitekturu kosti uticajem na koštano remodelovanje (16, 18, 29). Kod nokaut miševa za TSH receptor, pokazano je da je smanjen koštani promet rezultat povećanja resorpcije, koja nadilazi koštano formiranje (16). Takođe, primena TSH kod kastriranih ženki pacova dovela je do smanjenja koštanog gubitka što je doprinelo poboljšanju mikroarhitekture kosti (30).

Dobro je dokumentovana povezanost kliničkih oblika disfunkcije štitaste žlezde sa poremećajima koštanog metabolizma (4, 5, 13, 21, 31). Klinička hipertireoza udružena je sa povećanom koštanom resorpcijom, smanjenom gustinom koštane mase i povećanim rizikom od preloma (21, 31), dok je klinička hipotireoza (31, 32) povezana sa sporijim koštanim prometom i povećanjem koštane gustine. Takođe su oscilacije izmerenih nivoa TSH u okviru referentnog opsega, udružene sa promenama u vrednostima koštane gustine. U studiji Morrisa i saradnika (33, 34) pokazano je da osobe, čiji je nivo TSH bliži donjim granicama referentnih vrednosti, imaju povećan rizik od osteopenije/ osteoporozе u odnosu na one čiji je nivo TSH bliži gornjim granicama referentnih vrednosti. Klinički hipertireoidizam je rizični faktor za prelome kostiju (21). Rizik od preloma kostiju je veći što je nivo TSH niži (35), a normalizuje se godinu dana nakon započinjanja tretmana tireostaticima (21). Iako je klinička hipertireoza značajan faktor rizika za Op i prelome (21, 36), rezultati studija koje su ispitivale uticaj SHiper na koštanu gustinu i rizik od preloma su manje konzistentni. SHiper utiče na smanjenje koštane gustine (23, 37, 38), kao i na povećanje rizika od preloma (39), što

delom može biti povezano sa smanjenom snagom natkolenih mišića sto predstavlja i rizik od pada (40). Kod postmenopauzalnih žena sa egzogenim SHiper pokazano je sniženje koštane mase za 0,91% na godišnjem nivou (37). Takođe, sniženje koštane gustine kod osoba sa endogenim SHiper uzrokovanog nodoznom strumom je na godišnjem nivou oko 2% niže nego kod postmenopauzalnih žena lečenih tireostaticima ili radiojodom (41, 42). Aktuelni vodič za tretman SHiper savetuje tretman obolelih starijih od 65 godina života, kada je i rizik od pada i preloma daleko veći (43). Do sada nema sprovedenih studija koje su izučavale uticaj antitireoidnog tretmana i smanjenja rizika od preloma (44).

U dve sprovedene meta-analize (23, 42) pokazano je da smanjenje koštane gustine u slučajevima jatrogenog SHiper izazvanog primenom L-tiroksina u tretmanu hipotireoze kod postmenopauzalnih žena, ali ne i kod žena pre menopauze. U suprotnom, objavljeni rezultati pojedinačnih studija su kontroverzni. Tako, studije Belaya i sar. (45), Lee i sar. (46), Jamal i sar. (47), kao i Rosaria (48) pokazuju značajnu povezanost niskih vrednosti TSH kod ispitanika sa SHiper i gubitka koštane gustine, pri čemu studija Belaya i saradnika (45) tu povezanost nalazi samo kod endogenog SHiper, dok studija Rosaria (48) pokazuje sniženu koštanu gustinu vrata butne kosti kod žena pre menopauze, a kod menopauzalnih žena i na vratu butne kosti i na lumbalnoj kičmi. Studije Fabera i saradnika (42) i Greenlunda i saradnika (49) su ukazale na na pozitivan efekat u pogledu smanjenja remodelovanja kosti kod žena u menopauzi sa SHiper tretiranih radioablacijom ili tireosupresivima u odnosu na ispitanice koje nisu bile podvrgnute tretmanu. S druge strane, studijama Bauera (50) i Leesea (51) nije pokazana povezanost niskog serumskog TSH i smanjenja koštane gustine i povećanog rizika od preloma. Sa kliničkog aspekta važno je istaći da kod obolelih od SHiper postoji značajnije smanjenje gustine kortikalne u odnosu na trabekularnu kost, što predstavlja objašnjenje za registrovanje nižih T skorova vrata butne kosti u odnosu na lumbalnu kičmu i sledstveno veći rizik od preloma kuka nego kičmenih pršljenova (23, 42, 48). U našoj studiji, mi smo registrovali suprotno od pomenu-tog, kako u grupi sa SHiper, tako i u ostalim grupama – koštana gustina je niža na lumbalnoj kičmi nego na LK.

Objavljeni literaturni podaci koji se odnose na uticaj SHipo na koštanu gustinu su kontroverzni (23, 44). Pojedine studije su ukazale da SHipo nema uticaja na koštanu gustinu, tj. da se koštana gustina obolelih od SHipo ne razlikuje od eutireoidnih (52), pa time i rizik od preloma (44).

Studija Lee i saradnika (53) ukazuje na negativan uticaj SHipo na kvalitet kosti i/ili neuromišićnu aktivnost, što zajednički doprinosi povećanom riziku od padova i sledstvenim frakturama, iako sam mehanizam i dalje ostaje nepoznat (53). Iako u dostupnoj literaturi postoji relativno mali broj studija koje su se bavile ispitivanjem povezanosti SHipo, koštane gustine i rizika od preloma, rezultati većine studija ukazuju na direktnu povezanost nivoa TSH i koštane gustine, odnosno negativnu korelaciju nivoa TSH i rizika od preloma (24, 54-56). Studija Lee i saradnika (46) sprovedena na 413 žena u menopauzi, ukazala je na postojanje sniženih vrednosti koštane gustine merene na vratu butne kosti u grupama ispitanica sa SHipo i SHiper u odnosu na eutireoidne kontrole. Slične rezultate koji pokazuju postojanje negativne korelacije između nivoa TSH i koštane gustine, objavljuju Nagata i saradnici (25). Ovi autori su na uzorku od 22 menopauzalne žene sa SHipo ukazali na značajnu negativnu korelaciju između vrednosti TSH i T skorova (25). Studijom Marawaha i saradnika (26), koja je sprovedena na 1290 premenopauzalnih ispitanica, među kojima je 175 ispitanica sa SHipo, nije pokazana povezanost nivoa TSH sa markerima koštane gustine kod obolelih od SHipo.

ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata pilot studije prikazanih u ovom radu, može se zaključiti da su supkliničke tireoidne disfunkcije povezane sa smanjenjem koštane gustine. Naši rezultati zajedno sa rezultatima iz literature (52-58) ukazuju na vezu koja postoji između SHiper i sniženih vrednosti pokazatelja koštane gustine, ali takođe, naši rezultati ukazuju da i SHipo može dovesti do gubitka koštane mase, sto sugerira da se oba poremećaja mogu uzeti u obzir kao dodatni faktori rizika za Op, posebno kod žena u menopauzi. Blagovremeno dijagnostikovanje i tretman bolesnika sa supkliničkim tireoidopatijama, posebno starijih ispitanika, bi mogli da doprinesu usporavanju gubitka koštane gustine, a time i smanjenju rizika od preloma. Međutim, odnos koristi i rizika mora biti dokazan dugoročnijim, prospektivnim, randomizovanim studijama, čime bi se anulirali ili smanjili osnovni nedostaci ove pilot-studije (veličina uzorka, pol, godine života, menopauza).

ZAHVALNICA

Ovaj rad je podržan projektom broj 173033 (E.R.I.) finansiranim od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja.

Literatura

1. Watts NB, Bilezikian JP, Camacho PM, Greenspan SL, Harris ST, Hodgson SF *et al.* "American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis." *Endocr Pract* (2010) 16(suppl 3): 1-37.
2. Cooper C, Melton LJ. "The third epidemiology of osteoporosis." *Trends Endocrinol Metab* (1992) 3: 224-9.
3. Bonjour JP, Theintz G, Buchs B, Słoman D, Rizzoli R. "Critical years and stages of puberty for spinal and femoral bone mass accumulation during adolescence." *J Clin Endocrinol Metab* (1991) 73: 555-63.
4. Surks MI, Ortiz E, Daniels GH, Sawin CT, Col NF, Cobin RH *et al.* "Subclinical thyroid disease: scientific review and guidelines for diagnosis and management." *JAMA* (2004) 291: 228-38.

5. Biondi B, Cooper DS. "The clinical significance of subclinical thyroid dysfunction." *Endocr Rev* (2008) 29: 76–131.
6. Imaizumi M, Akahoshi M, Ichimaru S, Nakashima E, Hida A, Soda M *et al*. "Risk of ischaemic heart disease and all-cause mortality in subclinical hypothyroidism." *JCEM* (2004) 89: 3365–70.
7. Surks MI, Ocampo E. "Subclinical thyroid disease." *Am J Med* (1996) 100: 217–22.
8. Canaris GJ, Manowitz NR, Mayor G, Ridgway EC. "The Colorado Thyroid Disease Prevalence Study." *Arch Intern Med* (2000) 160: 526–34
9. Sawin CT, Castelli WP, Hershman JM, McNamara P, Bacharach P. "The aging thyroid. Thyroid deficiency in the Framingham Study." *Arch Intern Med* (1985) 145: 1386–8.
10. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA *et al*. "Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III)." *JCEM* (2002) 87: 489–99.
11. Helfand M. "Screening for subclinical thyroid dysfunction in non-pregnant adults: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force." *Ann Intern Med* (2004) 140: 128–41.
12. Cooper DS, Biondi B. "Subclinical thyroid disease." *Lancet* (2012) 379: 1142–54.
13. Wilson GR, Curry RW Jr. "Subclinical Thyroid Disease." *Am Fam Physician* (2005) 72(8): 1517–24.
14. Marqusee E, Haden ST, Utiger RD. "Subclinical thyrotoxicosis." *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* (1998) 27(1): 37–49.
15. Samuels MH. "Subclinical thyroid disease in the elderly." *Thyroid* (1998) 8: 803–13.
16. Abe E, Mariani RC, Yu W, Wu XB, Ando T, Li Y *et al*. "TSH is a negative regulator of skeletal remodeling." *Cell* (2003) 115: 151–62.
17. Waung JA, Bassett JH, Williams GR. "Thyroid hormone metabolism in skeletal development and adult bone maintenance." *Trends Endocrinol Metab* (2012) 23: 155–62.
18. Bassett JH, Williams GR. "The molecular actions of thyroid hormone in bone." *Trends Endocrinol Metab* (2003) 14(8): 356–64.
19. Roberts CG, Ladenson PW. "Hypothyroidism." *Lancet* (2004) 363:793–803.
20. Lakatos P. "Thyroid hormones: beneficial or deleterious for bone?" *Calcif Tissue Int* (2003) 73(3): 205–9.
21. Vestergaard P, Mosekilde L. "Hyperthyroidism, bone mineral, and fracture risk- a meta-analysis." *Thyroid* (2003) 13: 585–93.
22. Faber J, Jensen IW, Petersen L, Nygaard B, Hegedüs L, Siersbaek-Nielsen K. "Normalization of serum thyrotrophin by means of radioiodine treatment in subclinical hyperthyroidism: effect on bone loss in postmenopausal women." *Clin Endocrinol (Oxf)* (1998) 48: 285–90.
23. Uzzan B, Campos J, Cucherat M, Nony P, Boissel JP, Perret GY *et al*. "Effects on bone mass of long term treatment with thyroid hormones: a meta-analysis." *J Clin Endocrinol Metab* (1996) 81: 4278–89.
24. Grimnes G, Emaus N, Joakimsen RM, Figenschau Y, Jorde R. "The relationship between serum TSH and bone mineral density in men and postmenopausal women: The Tromsø study." *Thyroid* (2008) 18: 1147–55.
25. Nagata M, Suzuki A, Sekiguchi S, Ono Y, Nishiwaki K, Itoi T *et al*. "Subclinical hypothyroidism is related to lower heel QUS in postmenopausal women." *Endocr J* (2007) 54(4): 625–30.
26. Marwaha KR, Garg MK, Tandon N, Kanwar R, Narang A, Sastry A *et al*. "Thyroid function and bone mineral density among Indian subjects." *Indian J Endocrinol Metabol* (2012) 16(4): 575–9.
27. Khosla S, Riggs BL. "Pathophysiology of age-related bone loss and osteoporosis." *Endocrinol Metab Clin N Am* (2005) 34: 1015–30.
28. Berry SD, Kiel DP, Donaldson MG, Cummings SR, Kanis JA, Johanson H *et al*. "Application of the National Osteoporosis Foundation Guidelines to postmenopausal women and men: the Framingham Osteoporosis Study." *Osteoporos Int* (2010) 21: 53–60.
29. Abe E, Sun L, Mechanick J, Iqbal J, Yamoah K, Baliram R *et al*. "Bone loss in thyroid disease: role of low TSH and high thyroid hormone." *Ann N Y Acad Sci* (2007) 1116:383–91.
30. Sampath TK, Simic P, Sendak R, Draca N, Bowe AE, O'Brien S *et al*. "Thyroid-stimulating hormone restores bone volume, microarchitecture, and strength in aged ovariectomized rats." *J Bone Miner Res* (2007) 22(6): 849–59.
31. Vestergaard P, Mosekilde L. "Fractures in patients with hyperthyroidism and hypothyroidism: a nationwide follow-up study in 16,249 patients." *Thyroid* (2002) 12: 411–9.
32. Solomon BL, Wartofsky L, Burman KD. "Prevalence of fractures in postmenopausal women with thyroid disease." *Thyroid* (1993) 317–23.
33. Morris MS. "The association between thyroid-stimulating hormone in its reference range and bone status in postmenopausal American women." *Bone* (2007) 40: 1128–34.
34. Baqi L, Payer J, Killinger Z, Susienkova K, Jackuliak P, Cierny D *et al*. "The level of TSH appeared favourable in maintaining bone mineral density in postmenopausal women." *Endocr Regul* (2010) 44: 9–15.
35. Taylor PN, Razvi S, Pearce SH, Dayan CM. "Clinical review: a review of the clinical consequences of variation in thyroid function within the reference range." *JCEM* (2013) 98: 3562–71.
36. Akalin A, Colak O, Alatas O, Efe B. "Bone remodeling markers and serum cytokines in patients with hyperthyroidism." *Clin Endocrinology (Oxf)* (2002) 57: 125–9.
37. Faber J, Galloe AM. "Changes in bone mass during prolonged subclinical hyperthyroidism due to L-thyroxine treatment: a meta-analysis." *EJE* (1994) 130: 350–6.
38. Toft AD. "Clinical practice: subclinical hyperthyroidism." *NEJM* (2001) 345(7): 512–6.
39. Biondi B, Palmieri EA, Klain M, Schlumberger M, Filetti S, Lombardi G. "Subclinical hyperthyroidism: clinical features and treatment options." *EJE* (2005); 152: 1–9.
40. Morrison A, Fan T, Sen SS, Weisenfluh L. "Epidemiology of falls and osteoporotic fractures: a systematic review." *Clinicoecon Outcomes Res* (2013) 5: 9–18.
41. Mudde AH, Houben AJ, Nieuwenhuijzen Kruseman AC. "Bone metabolism during anti-thyroid drug treatment of endogenous subclinical hyperthyroidism." *Clin Endocrinol (Oxf)* (1994) 41: 421–4.
42. Faber J, Jensen IW, Petersen L, Nygaard B, Hegedüs L, Siersbaek-Nielsen K. "Normalization of serum thyrotrophin by means of radioiodine treatment in subclinical hyperthyroidism: effect on bone loss in postmenopausal women." *Clin Endocrinol (Oxf)* (1998) 48(3): 285–90.
43. Bahn RS, Burch HB, Cooper DS, Garber JR, Greenlee MC, Klein I *et al*. "American Thyroid Association. Hyperthyroidism and other causes of thyrotoxicosis: management guidelines of American Thyroid Association and American Association of Clinical Endocrinologists." *Endocr Pract* (2011) 17: 456–520.
44. Wirth CD, Blum MR, da Costa BR, Baumgartner C, Collet T-H, Medici M *et al*. "Subclinical thyroid dysfunction and the risk for fractures. A systematic review and meta-analysis." *Ann Intern Med* (2014) 161: 189–99.
45. Belaya ZE, Melnichenko GA, Buzhinskaya LY, Fadeev VV, Alekseeva TM, Dorofeeva OK *et al*. "Subclinical hyperthyroidism of variable etiology and its influence on bone in postmenopausal women." *Hormones* (2007) 6(1): 62–70.
46. Lee WY, Oh KW, Rhee EJ, Jung CH, Kim SW, Yun EJ *et al*. "Relationship between subclinical thyroid dysfunction and femoral neck bone mineral density in women." *J Arch Med Res* (2006) 37: 511–6.
47. Jamal SA, Leiter RE, Bayoumi AM, Bauer DC, Cummings SR. "Clinical utility of laboratory testing in women with osteoporosis." *Osteoporos Int* (2005) 16(5): 534–40.
48. Rosario PW. "Bone and heart abnormalities of subclinical hyperthyroidism in women below the age of 65 years." *Arq Bras Endocrinol Metabol* (2008) 52(9): 1448–51.
49. Greenlund LJ, Nair KS, Brennan MD. "Changes in body composition in women following treatment of overt and subclinical hyperthyroidism." *Endocr Pract* (2008) 14(8): 973–8.
50. Bauer DC, Nevitt MC, Ettinger B, Stone K. "Low thyrotropin levels are not associated with bone loss in older women: a prospective study." *J Clin Endocrinol Metab* (1997) 82: 2931–6.
51. Leese GP, Jung RT, Guthrie C, Waugh N, Browning MC. "Morbidity in patients on L-thyroxine: a comparison of those with a normal TSH to those with a suppressed TSH." *Clin Endocrinol (Oxf)* (1992) 37(6): 500–3.

52. Kim K-C, Lee Y-K, Lee YJ, Ha Y-C, Koo K-H. "Bone health and Clinical Results after Hip fracture surgery in patients with subclinical hypothyroidism." *J Bone Metab* (2014) 21: 213-6.
53. Lee JS, Bužkova P, Fink HA, Vu J, Carbone L, Chen Z et al. "Subclinical thyroid dysfunction and incident hip fracture in older adults." *Ann Intern Med* (2010) 170(21): 1876-83.
54. Vestergaard P, Rejnmark L, Weeke J, Mosekilde L. "Fracture risk in patients treated for hyperthyroidism." *Thyroid* (2000) 10: 341-8.
55. Arata N, Momotani N, Maruyama H, Saruta T, Tsukatani K, Kubo A *et al.* "Bone mineral density after surgical treatment for Graves' disease." *Thyroid* (1997) 7: 547-54.
56. Bertoli A, Fusco A, Andreoli A, Magnani A, Tulli A, Lauro D *et al.* "Effect of subclinical hypothyroidism and obesity on whole-body and regional bone mineral content." *Horm Res* (2002) 57: 79-84.
57. Dhanwal DK. "Thyroid disorders and bone mineral metabolism." *Indian J Endocrinol Metab.* (2011) 15(Suppl2): S107-S112.
58. Colaianni G, Cuscito C, and Colucci S. "FSH and TSH in the Regulation of Bone Mass: The Pituitary/Immune/Bone Axis." *Clin Dev Immunol* (2013) Article ID 382698:1-6.

STANDARDS AND NEEDS OF A NEWLY FORMED VASCULAR SURGERY CENTER

STANDARDI I POTREBE NOVOFORMIRANOG CENTRA ZA VASKULARNU HIRURGIJU

Vladimir Popović¹, Nenad Đorđević¹, Nenad Ilijevski^{2,3}, Petar Popov², Slobodan Tanasković²

Summary

Defining standards for establishing a new vascular surgery center is very important in order to ensure its proper functioning. Multidisciplinary approach is crucial for optimal functionality of the center. Organizational and technical guidelines should be based on the experience of well – established and recognized vascular surgery centers. The aim of this paper is to highlight the basic needs and requirements for the creation of a vascular center with special emphasis on the quality of cooperation between different specialties.

Key words: *vascular surgery, vascular center, establishing.*

Sažetak

Definisanje standarda za formiranje novog centra za vaskularnu hirurgiju je veoma važno u cilju njegovog pravilnog funkcionisanja. Multidisciplinarni pristup je neophodan za optimalno funkcionisanje centra. Organizacione i tehničke smernice bi trebalo da budu bazirane na iskustvima renomiranih savremenih centara za vaskularnu hirurgiju. Cilj ovog rada je da istakne osnovne potrebe i uslove za kreiranje vaskularnog centra sa posebnim akcentom na kvalitet i vrstu saradnje medju stručnjacima različitih specijalnosti.

Ključne reči: *vaskularna hirurgija, vaskularni centar, formiranje*

Vascular centers have been proposed to integrate the optimal care of patients with vascular diseases. The concept of a vascular center was initially suggested by Elkin and Debakey, who described the benefits of concentration of resources, personnel and data collection for patients with vascular diseases.[1] The term “Vascular Center” began to appear in the professional literature in the mid 90’s, predominantly in American publications. [2]

The key word that most accurately defines the term “center” is interdisciplinarity. Multidisciplinary approach to a patient with vascular disease refers not only to optimal diagnosis and initial therapy but also to the treatment of possible future complications. [2] One of the major advantages of close interdisciplinary working relationship is a development of better understanding of each specialty’s knowledge and skills and consequently higher efficiency in mutual communication. The essence of an effective vascular center largely depends on a high level of inter-speciality communication, mutual respect and sharing responsibilities and resources. [3] Since there is no established template for the creation of a successful vascular center, each institution must address key questions about the current state of the vascular service, possibilities for development and the means of achievement. Individual situation in each institution determines the course of a vascular center development. [4] Various factors may affect the utilization of the newly formed vascular center.

Demographic factors and provider – specific factors, such as a history of specialist utilization are very important. [1]

Despite the fact that there is unique and specific situation in terms of creating vascular center for every individual institution, efforts have been made in order to establish some guidelines and criteria.

In 2002, German Society for vascular surgery published standards for the foundation and certification of vascular centers. [2] According to their standards, vascular center should fulfill the following criteria:

1. Ability to deal with emergency cases
2. Required specialties: vascular surgery, interventional radiology, angiology
3. Adequate number of cases per year
4. Technology-aided diagnostics (computerized tomography (CT), magnetic resonance (MR), intra – arterial angiography, Duplex ultrasonography)
5. Adequate operative case numbers
6. Sufficient medical therapy case numbers
7. Training licenses for vascular surgery (since 2006 vascular surgery has been a separate specialty with a minimum of 4 years of training). [2]

Vascular surgery unit in newly formed vascular centers could be established as an independent department or as a part of the general surgical department. [2] As seen

above, close cooperation between vascular surgeons and interventional radiologists is considered to be essential for optimal management of patients with vascular disease. These two specialties share common patient data base, complementary skills and common interest for emerging technologies like endovascular procedures. Angiologists contribute to the team as a part of the internal medicine department. In the centers where there are no specialized angiologists available, internal physicians or vascular surgeons should be responsible for the conservative treatment of patients with vascular diseases. [2]

Among disciplines which should also be present in vascular centers, neurology should occupy a significant place. A neurologist, as a member of a vascular team, gives an important contribution regarding the criteria of operability for carotid stenosis. Immediate postoperative treatment in vascular surgery involves mandatory neurological monitoring. [8]

Anesthesia specialization on vascular surgical procedures is associated with improved outcomes. As in any surgical endeavor, the obvious goal in anesthesia for vascular surgical procedures is to minimize morbidity and maximize the surgical benefit. [5] As shown by Walsh in retrospective cohort study, vascular anesthesia specialization reduced early (within 30 days of surgery) and medium – term (within two years of surgery) mortality rates following both elective and emergency vascular surgeries. [6]

Cooperation with other specialties, such as cardiology, diabetology or nephrology is very important, particularly in cases where co – existing diseases may cause complications, thus influencing the final outcome of the treatment.

Another important service of the vascular center is vascular diagnostic laboratory. Noninvasive vascular diagnosis is an area of rapidly growing clinical applications and expanding technology. It is a specialized clinical activity requiring a unique background and special skills.

The physician in charge of the vascular diagnostic laboratory should:

1. Understand the instrumentation (and even be able to “troubleshoot” it).
2. Be able to perform and instruct others to perform all non – invasive tests.
3. Obtain and practice a thorough knowledge of the clinical aspects of those vascular diseases being studied in the laboratory.
4. Understand the true meaning, accuracy, and limitations of test results and be able to interpret them in concordance with the other tests and the clinical setting. [7]

Formation, updating and interpretation of the database as a tool used to store and keep track of information relative to activities of the vascular center are significant. Observational data from databases have provided and will continue to provide important findings in the field of vascular surgery. Important findings regarding the incidence or prevalence of vascular disease in the population, mortality, surgery outcomes, national trends, disparities in healthcare delivery, and other insights are valuable source and can be used to improve the quality of the vascular center. [9]

After the consideration of the most important components of the ideal vascular center, another crucial question rises – how should these components merge in one harmonious and efficient assembly?

Organizing and improving the performance of a newly formed vascular center through multidisciplinary approach is a “trial and error” process distinctive for each institution individually. Guidelines in that process should follow the experience of recognized centers whose functionality is well – established. Educational resources (lectures, communication between individuals and institutions, joint projects) are an important link in the chain of forming a respectable vascular center as well.

References

1. Karamanlou, T., Laudry, G., Sexton, G., Chan, B., Moneta, G., and Taylor, L. Creating a useful vascular center: a statewide survey of what primary care physicians really want. *J Vasc Surg.* apr. 2004;39(4):763-770.
2. Eckstein H.-H, Niedermeier H.-P, T. Noppeney, T. Umscheid, H. Wenk, H. Imig. Certification of Vascular Centers – A Project of the German Society for Vascular Surgery. *J Vasc Surg.* sept.2006;32(3): 279–285.
3. Becker G.J, Katzen B.T. The vascular center: A model for multidisciplinary delivery of vascular care for the future. *J Vasc Surg.* may.1996;23(5):907–912
4. www.advisory.com, Vascular Centers of Excellence: A Tactical Approach
5. www.link.springer.com. Roizen M.F. Anesthesiology and the Heart-Anesthesia for Vascular Surgery. 1990;305-346
6. www.lf.upjs.sk/ceea/doc2/9_Klima_periferne_cievny.pdf. Klima R. Anesthesia for Vascular Surgery.
7. Rutherford R.B. Qualifications of the physician in charge of the vascular diagnostic laboratory. *J Vasc Surg.* dec.1988
8. Radak Dj. Karotidna Hirurgija, Beograd 2012;97-98,129
9. Nguyen L., Barshes N. Analysis of large databases in vascular surgery. *J Vasc Surg.* sept. 2010. UPUTSTVO NAŠIM SARADNICIMA

INDEKS AUTORA

Aleksandra Jovanović 42
Anastasija Panić 33, 36, 42, 50
Anita Vasić-Vlaisavljević 50
Anja Lalić 46
Branislava Milenković 12
Branko Jakovljević 23
Davorka M. Milačić 46
Dejan Stojakov 1
Đorđe Radak 29
Dragana Vujović 1
Dragica Pešut 12
Dragoslava Đerić 8
Dušica Simić 1
Emina Sudar Milovanović 42, 50
Esma R Isenović 33, 36, 42, 46, 50
Goran Belojević 23
Ivana Resanović 42
Jelena Ilić Živojinović 23
Jelena Tica Jevtić 50
Julijana Stanimirović 46
Katarina Paunović 23
Ljudmila Nagorni Obradović 12
Marija Lukač 1
Marija Popin-Tarić 50
Marina Roksandić Milenković 12
Marko Stojanović 18
Milica Prostran 18
Miloš Maksimović 29
Miroslav Radenković 18
Nađa Vasiljević 29
Nenad Arsović 8
Nenad Đorđević 58
Nenad Ilijevski 58
Nikola Bogdanović 42
Nikola Krcunović 29
Petar Popov 58
Ratko Tomašević 50
Sanja Sinđić-Antunović 1
Sanja Soskić 33, 36
Slobodan Tanasković 58
Sonja Zafirović 42
Srbislav Blažić 8
Tatjana Matković 46
Vesna Slepčević 23
Vesna Stojanov 23
Vladimir Popović 58
Vladimir Samardžić 50
Vladimir Žugić 12
Zoran Gluvić 46, 50

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 skraćenica. Imena pisana u tekstu rada moraju biti pisana izvorno.

Uvodni deo treba da sadrži kratko 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 posebnom listu na kraju rada treba ispisati literaturu na izvornom jeziku po abecednom redu.

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

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

U podatke o radovima iz časopisa i zbornika treba uneti 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 piložene 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 poleđini treba ispisati prezime i ime autora, naslov rada i njihov redni broj. U tekstu rada treba označiti mesto slike, crteža i tabele (bez ostavljanja praznog prostora), a na posebnom listu treba ispisati i tekstove koji dolaze iznad ili ispod njih, na srpskom i na engleskom jeziku.

Rad treba dostaviti odštampan na papiru i snimljen na 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 RADAK

Sekretar - Secretary: Prof. dr ZVEZDANA KOJIĆ

Sekretar redakcije: Mr VIKTORIJA JOKSIMOVIĆ

Tehnički urednik: RADEVIĆ VLADIMIR

Lektor za srpski jezik: NATAŠA MICIĆ

Lektor za engleski jezik: DANKA SINADINOVIĆ

Izdavač i vlasnik: MEDICINSKI FAKULTET UNIVERZITETA U BEOGRADU

Uredništvo i administracija: 11105 Beograd, Dr Subotića br. 8, soba 327

Realizacija: SPRINT, BEOGRAD

Tiraž: 500 primeraka