

YU ISSN 0042-8450

ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

Часопис лекара и фармацеутика Војске Србије

Military Medical and Pharmaceutical Journal of Serbia



Vojnosanitetski pregled

Vojnosanit Pregl 2009; June vol. 66 (No. 6): pp. 415-506.



ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

Први број *Војносанинетског прегледа* изашао је септембра месеца 1944. године

Часопис наставља традицију *Војно-санинетског гласника*, који је излазио од 1930. до 1941. године

ИЗДАВАЧ

Управа за здравство Сектора за материјалне ресурсе МО Србије

ИЗДАВАЧКИ САВЕТ

Савет за издавачку делатност УЗ СМР МО
Доц. др **Вељко Тодоровић**, бригадни генерал (председник)

УРЕЂИВАЧКИ САВЕТ

проф. др sc. med. **Бранко Глигић**, пук.
проф. др sc. med. **Миодраг Јевтић**, генерал-мајор
др **Мирослав Радовановић**, пук.
проф. др sc. med. **Небојша Станковић**, пук.
доц. др sc. med. **Вељко Тодоровић**, бригадни генерал
Prof. др sc. med. **Никола Филиповић**, пук.

МЕЂУНАРОДНИ УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР

Prof. **Andrej Aleksandrov** (Russia)
Assoc. Prof. **Kiyoshi Ameno** (Japan)
Prof. **Rocco Bellantone** (Italy)
Prof. **Hanoch Hod** (Israel)
Prof. **Abu-Elmagd Kareem** (USA)
Prof. **Hiroshi Kinoshita** (Japan)
Prof. **Celestino Pio Lombardi** (Italy)
Prof. **Philippe Morel** (Switzerland)
Prof. **Kiyotaka Okuno** (Japan)
Assoc. Prof. **Branislav Radovančević** (USA)
Prof. **Stane Repše** (Slovenia)
Prof. **Mitchell B. Sheinkop** (USA)
Prof. **Hitoshi Shiozaki** (Japan)
Prof. **H. Ralph Schumacher** (USA)
Prof. **Miodrag Stojković** (UK)
Assist. Prof. **Tibor Tot** (Sweden)

УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР

Главни и одговорни уредник
проф. др sc. pharm. **Силва Добрић**

Уредници:

проф. др sc. med. **Бела Балинт**
проф. др sc. med. **Дубравко Боковић**
доц. др sc. med. **Драган Динчић**, пук.
доц. др sc. med. **Бранка Ђуровић**
проф. др sc. med. **Мирјана Животић-Вановић**
проф. др sc. med. **Небојша Јовић**, пук.
академик **Владимир Кањух**
академик **Владимир Костић**
проф. др sc. med. **Ђоко Максић**, пук.
доц. др sc. med. **Гордана Мандић-Гајић**
проф. др sc. stom. **Марјан Марјановић**, пук. у пензији
академик **Миодраг Остојић**
проф. др sc. med. **Љиљана Павлица**
академик **Сава Перовић**
проф. др sc. med. **Предраг Пешко**, FACS
проф. др sc. med. **Ранко Ранчевић**, пук.
проф. др sc. med. **Зоран Рогановић**, пук.
проф. др sc. med. **Војкан Станић**, пук.
доц. др sc. med. **Дара Стефановић**
проф. др sc. stom. **Љубомир Тодоровић**
доц. др sc. med. **Снежана Церовић**
проф. др sc. psych. **Миланко Чабаркапа**
академик **Миодраг Чолић**, пук.
академик **Радоје Чоловић**
проф. др sc. med. **Владимир Тук**
доц. др sc. med. **Весна Шуљагић**

Технички секретар уређивачког одбора
др Маја Марковић

РЕДАКЦИЈА

mg sc. med. др Соња Андрић-Кривокућа, др Снежана
Јанковић, др Маја Марковић, mg sc. Александра Гогић

Технички уредник: Милан Перовановић

Редактор за српски и енглески језик:

Драгана Мучибабић, проф.

Коректор: Љиљана Николић

Компјутерско-графичка обрада:

Светлана Стајић, Весна Тотић, Јелена Васил



Адреса редакције: Војномедицинска академија, Институт за научне информације, Црнобравска 17, поштански фах 33–55, 11040 Београд, Србија. Телефони: главни и одговорни уредник 3609 311, технички секретар 3608 943, редакција 3609 902 и 3609 179, претплата 3608 997. Факс 2669 689. E-mail: vmainil@EUnet.yu (главни и одговорни уредник) и vmaini@hotmail.com (редакција).

Радове објављене у „Војносанинетском прегледу“ индексирају: Science Citation Index Expanded (SCIE), Journal Citation Reports/Science Edition, Index Medicus (Medline), Excerpta Medica (EMBASE), EBSCO, Biomedicina Serbica. Садржаје објављују Giornale di Medicina Militare и Revista de Medicina Militara. Приказе оригиналних радова и извода из садржаја објављује International Review of the Armed Forces Medical Services.

Часопис излази дванаест пута годишње. Претплате: жиро рачун код Управе за јавна плаћања у Београду бр. 840-941621-02 – ВМА (за Војносанинетски преглед), ПИБ 102116082, или на девизни рачун код Народне банке број: 54104-ознака валуте-549. Годишња претплата: 4 000 динара за грађане Србије, 8 000 динара за установе из Србије и 150 € (у динарској противвредности на дан уплате) за претплатнике из иностранства. Копију уплатнице доставити на горњу адресу.

VOJNOSANITETSKI PREGLED

The first issue of *Vojnosanitetski pregled* was published in September 1944
The Journal continues the tradition of *Vojno-sanitetski glasnik* which was published between 1930 and 1941

PUBLISHER

Health Department, Sector for Material Resources, Ministry of Defence, Serbia

PUBLISHER'S ADVISORY BOARD

Brigadier General Assist. Prof. **Veljko Todorović**, MD.
(Chairman)

EDITOR'S ADVISORY BOARD

Col. Assoc. Prof. **Nikola Filipović**, MD, PhD
Col. Assoc. Prof. **Branko Gligić**, MD, PhD
Major-general, Assoc. Prof. **Miodrag Jevtić**, MD, PhD
Col. **Miroslav Radovanović**, MD
Col. Prof. **Nebojša Stanković**, MD, PhD
Brigadier General Assist. Prof. **Veljko Todorović**, MD, PhD

INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

Prof. **Andrej Aleksandrov** (Russia)
Assoc. Prof. **Kiyoshi Ameno** (Japan)
Prof. **Rocco Bellantone** (Italy)
Prof. **Hanoch Hod** (Israel)
Prof. **Abu-Elmagd Kareem** (USA)
Prof. **Hiroshi Kinoshita** (Japan)
Prof. **Celestino Pio Lombardi** (Italy)
Prof. **Philippe Morel** (Switzerland)
Prof. **Kiyotaka Okuno** (Japan)
Assoc. Prof. **Branislav Radovančević** (USA)
Prof. **Stane Repše** (Slovenia)
Prof. **Mitchell B. Sheinkop** (USA)
Prof. **Hitoshi Shiozaki** (Japan)
Prof. **H. Ralph Schumacher** (USA)
Prof. **Miodrag Stojković** (UK)
Assist. Prof. **Tibor Tot** (Sweden)

EDITORIAL BOARD

Editor-in-chief

Prof. **Silva Dobrić**, BPharm, PhD

Co-editors:

Prof. **Bela Balint**, MD, PhD
Prof. **Dubravko Bokonić**, MD, PhD
Assist. Prof. **Snežana Cerović**, MD, PhD
Assoc. Prof. **Milanko Čabarkapa**, BPs, PhD
Col. Prof. **Miodrag Čolić**, MD, PhD, MSAAS
Prof. **Radoje Čolović**, MD, PhD, MSAAS
Assoc. Prof. **Vladimir Ćuk**, MD, PhD
Col. Assist. Prof. **Dragan Dinčić**, MD, PhD
Assist. Prof. **Branka Đurović**, MD, PhD
Col. Prof. **Nebojša Jović**, MD, PhD
Prof. **Vladimir Kanjuh**, MD, PhD, MSAAS
Prof. **Vladimir Kostić**, MD, PhD, MSAAS
Col. Prof. **Đoko Maksić**, MD, PhD
Assist. Prof. **Gordana Mandić-Gajić**, MD, PhD
Ret. col. Assoc. Prof. **Marjan Marjanović**, MD, PhD
Prof. **Miodrag Ostojić**, MD, PhD, MSAAS
Assoc. Prof. **Ljiljana Pavlica**, MD, PhD
Prof. **Sava Perović**, MD, PhD, MSAAS
Prof. **Predrag Peško**, MD, PhD, FACS
Col. Assoc. Prof. **Ranko Raičević**, MD, PhD
Col. Prof. **Zoran Roganović**, MD, PhD
Col. Assoc. Prof. **Vojkan Stanić**, MD, PhD
Assist. Prof. **Dara Stefanović**, MD, PhD
Assist. Prof. **Vesna Šuljagić**, MD, PhD
Prof. **Ljubomir Todorović**, DDM, PhD
Prof. **Mirjana Životić-Vanović**, MD, PhD

Editorial staff

Sonja Andrić-Krivokuća, MD, MSc; Snežana Janković, MD;
Maja Marković, MD; Dragana Mučibabić, BA,
Aleksandra Gogić, MSc

Technical editor

Milan Perovanović

Proofreading

Ljiljana Nikolić

Technical editing

Svetlana Stajić, Vesna Totić, Jelena Vasilj



Editorial Office: Military Medical Academy, INI; Crnotravska 17, PO Box 33–55, 11040 Belgrade, Serbia. Tel: +381–11–3609–179; +381–11–3609–902, subscription 3608–997; Fax: +381–11–2669–689; E-mail: vmaini1@EUnet.yu and vmaini@hotmail.com

Papers published in the *Vojnosanitetski pregled* are indexed in: Science Citation Index Expanded (SCIE) Journal Citation Reports/Science Edition, Index Medicus (Medline), Excerpta Medica (EMBASE), EBSCO, Biomedicina Serbica. Contents are published in *Giornale di Medicina Militare* and *Revista de Medicina Militara*. Reviews of original papers and abstracts of contents are published in *International Review of the Armed Forces Medical Services*.

The Journal is published monthly. Subscription: account with Uprava za javna plaćanja in Belgrade. Giro Account No. 840-941621-02 – VMA (za Vojnosanitetski pregled), PIB 102116082 to the foreign currency account with Narodna banka No: 54104-currency-549. Subscription prices per year: individuals 4 000.00 Din, and institutions 8 000,00 Din in Serbia, and foreign subscribers 150€.



SADRŽAJ / CONTENTS

UVODNIK / EDITORIAL

Nada Kuljić-Kapulica

Izazovi virusa influence

The challenges of influenza viruses 419

ORIGINALNI ČLANCI / ORIGINAL ARTICLES

Biljana Stošić, Miroslav Stojanović, Radmilo Janković, Milan Radojković, Nebojša Ignjatović

Uticaj tehnika anestezije na oporavak bolesnika kod laparoscopske holecistektomije

Implications of anesthetic techniques on patients' recovery in laparoscopic cholecystectomy 421

*Milan Višnjić, Predrag Kovačević, Ljiljana Paunković, Goran Đorđević, Dragana Buđevac,
Aleksandar Višnjić*

Rekonstrukcija dojke posle amputacije zbog karcinoma

Breast reconstruction following amputation for cancer..... 427

*Ljiljana Kesić, Radmila Obradović, Dragan Mihailović, Goran Radičević, Saša Stanković,
Kosta Todorović*

Incidence and treatment outcome of oral lichen planus in southeast Serbia in a 10-year period (1997–2007)

Incidencija i ishod lečenja oralnog lihena planusa u jugoistočnoj Srbiji u desetogodišnjem periodu (1997–2007) 435

*Miroslav Bročić, Ružica Kozomara, Snežana Cerović, Nebojša Jović, Slobodanka Vukelić-Marković,
Srboљub Stošić*

Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression in patients with carcinoma of the mouth floor and tongue

Klinički značaj ekspresije vaskularnog endotelnog faktora rasta kod bolesnika sa karcinomom poda usne duplje i jezika 440

Leposava Sekulović, Slobodan Sekulović, Goran Kronja

Efekti ligature rano otkrivenih insuficijentnih perforantnih vena nogu kao uzročnika varikoznog sindroma

Significance of ligature of early detected insufficient perforated lower extremities viens as a cause of the varicous syndrome..... 449

Dušica Stojanović, Aleksandar Višnjić, Vladimir Mitrović, Miodrag Stojanović

Faktori rizika od nastanka oboljenja kardiovaskularnog sistema u studentskoj populaciji

Risk factors for the occurrence of cardiovascular system diseases in students 453

Nada Kostić, Zorica Čaparević, Đorđe Marina, Sanja Ilić, Jana Radojković, Zoran Ćosić, Vera Bakić-Ćelić
Clinical evaluation of oxidative stress in patients with diabetes mellitus type II – impact of acute exercise

Uticaj fizičke aktivnosti na kliničku procenu oksidativnog stresa kod bolesnika sa dijabetesom melitusom tip 2 459

Aleksandra Jovelić, Slavica Rađen, Zoran Hajduković, Tibor Čanji

Povezanost nivoa C-reaktivnog proteina i prekliničke karotidne arterioskleroze kod vojnih pilota

The relationship between C-reactive protein and subclinical carotid arteriosclerosis in military pilots 465

Vladimir Nešić, Sandra Šipetić, Hristina Vlajinac, Dragan Miljuš, Svetlana Stošić-Divjak, Snežana Ješić

Incidence of nasopharyngeal carcinoma in Belgrade during the period 1991–2005

Incidencija karcinoma nazofarinksa u Beogradu za period 1991–2005. godine 473

KAZUISTIKA / CASE REPORTS

Jasmina Jović-Stošić, Gordana Babić, Veljko Todorović

Fatal diquat intoxication

Fatalno trovanje dikvatom 477

Dominik Faust, Bora Akoglu, Gordana Ristić, Vladan Milović

Ursodeoxycholic acid for treatment of cholestasis in patients with hepatic amyloidosis

Ursodeoksiholna kiselina za lečenje holestaze kod bolesnika sa amiloidozom jetre 482

Predrag Jovanović, Paraskeva Hentova-Senčanić, Lepša Žorić, Maja Petrović, Marija Trenkić Božinović

Unilateral iris plateau sindrom nakon upotrebe ekstazija

Unilateral iris plateau syndrome after the use of ecstasy 487

ISTORIJA EDICINE / HISTORY OF MEDICINE

Mile Ignjatović

Medicina u Rembrantovim delima

Medicine in Rembrandt's works 491

IN MEMORIAM 501

UPUTSTVO AUTORIMA / INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS 503



Rembrandt Harmenszoon van Rijn (1606–1664):
Čas anatomije dr Nicolaesa Tulpa (vidi str. 491–500)

Rembrandt Harmenszoon van Rijn (1606–1664):
The anatomy lesson of Dr Nicolaes Tulp
(see page 491–500)



Izazovi virusa influence

The challenges of influenza viruses

Nada Kuljić-Kapulica

Vojnomedicinska akademija, Institut za mikrobiologiju, Beograd, Srbija

Grip je bio poznat ljudima od davnih vremena. Naziv influenza (lat. *influenza*) potiče iz prošlosti i verovanja da ovu bolest uzrokuju nepoznate ili natprirodne pojave. Infekcije kod ljudi koje traju godinama povremene epidemije kod svinja i konja, sporadični slučajevi kod morskih sisara, i razarajuće epidemije kod pernatih životinja stalno podsećaju da je influenza bolest koja se ne može iskoreniti.

Virusi influence pripadaju familiji *Orthomyxoviridae* (grč. *orthos*, pravi i *myxo*, mukus), imaju osobinu da se vežu za mukus, i razlikuju se od druge slične familije RNK virusa sa negativnim lancem, *Paramyxoviridae*. Postoje tri tipa virusa influence: A, B i C.

Najveći značaj u patologiji ljudi ima virus influence A zbog sposobnosti da izazove pandemiju.

Virus influence A deli se u podtipove na osnovu antigenske prirode površnih proteina hemaglutinina (HA) i neuraminidaze (NA). Do sada je poznato 16 različitih hemaglutinina i 9 neuraminidaza. U humanoj populaciji cirkuliše samo određeni broj podtipova virusa influence A, dok se ostali nalaze kod životinja.

Vodne ptice su rezervoari virusa influence A. Povremeno, virus prelazi i na druge životinje, kod kojih izaziva teške epidemije i, čak, pandemije.

U 20. veku, kod ljudi su opisane tri pandemije gripa. Najteža pandemija bila je 1918. tzv. „španski grip“, od koga je umrlo 20-40 miliona ljudi.

Virus influence vrlo je promenljiv. Postoje dve vrste promena, manje – antigenski drift i veće – antigenski šift. Antigenski drift ili antigenska pomeranja su blage promene u sekvencama amino kiselina koje se stalno događaju i rezultat su tačkastih mutacija.

Antigenski šift su drastičnije promene u genomu virusa, pri čemu se mogu javiti novi HA ili NA, odnosno novi podtip virusa. Najčešće nastaju kao posledica rekombinacije između dva soja virusa u dualno inficiranim ćelijama.

Virus influence sa segmentiranim genom ima sposobnost da rearanžira svoju RNK mešanjem (kombinovanjem) sa dugim virusima influence, tako da se stvara hibridni virus

koji ima nove antigene. Pošto su ptice rezervoar virusa, ptičji virus inficira novog domaćina, npr, svinju, pri čemu dolazi do reasortimana genomske RNK i stvaranja promenjenog virusa.

Nagle promene antigena raznih sojeva virusa influence kod čoveka (antigenski šift) događaju se pomoću tri mehanizma: direktni transfer virusa između različitih specijesa, kao što je bilo kod H1N1 virusa 1918. godine, kod pojave pandemije španskog gripa i genetskim izmenama kada animalni (najčešće ptičji) i humani virusi influence A inficiraju istog domaćina. Pošto je virusni genom segmentiran može doći do izmene genskih segmenata, što se desilo kod virusa azijskog gripa H2N2 1957. godine, kada su HA, NA, PB1 genski segmenti ptičjeg virusa preneti u humani, ili kod virusa hongkoškog gripa-H3N2 1968. godine koji je primio HA i PB1 segment od ptičjeg gripa. Do ovih promena može doći i ponovnom pojavom virusa koji je izazvao epidemiju mnogo godina ranije.

Svinjski grip je respiratorna bolest svinja koju izaziva virus influence A. Bolest je ponovo postala aktuelna od marta 2009. godine kada su registrovani prvi slučajevi svinjskog gripa kod ljudi u Meksiku. Bolest se, potom, velikom brzinom prenela i u druge krajeve sveta s tendencijom nastanka pandemije. Virus je kontagiozan i dolazi do interhumanog prenošenja bolesti.

Godinama se pojavljuju različite varijacije svinjskog gripa. Dokazano je da kod svinja cirkulišu četiri podtipa virusa. Najnoviji izolovani virus svinjskog gripa, iz epidemije koja je u toku kod ljudi, okarakterisan je kao H1N1 virus. Virus H1N1 cirkuliše kod svinja od 1930. godine, kada je prvi put izolovan. Istraživanja na molekularnom nivou potvrđuju da se trenutno radi o novom i promenjenom virusu, da postoje razlike u HA, NA i M genima virusa. Novoizolovni virus influence ima karakteristike svinjskog virusa, ali sadrži i genske segmente ptičjih i humanih virusa.

Genetski reasortiman virusa influence često se događa kod svinja. Svinje imaju ulogu posrednog domaćina ili „sredine mešanja“ za genetske izmene između humanih i ptičjih

sojeva virusa. Osim toga poznato je da svinje imaju ćelijske receptore i za humane i za ptičje viruse. Razlike u receptorima su važne za stvaranje humanog pandemijskog soja virusa.

Pojava novog promjenjenog virusa životinjskog porekla, koji se može prenositi na ljude uz visoku virulentnost i interhumano prenošenje uvek su mogući uslov za nastanak pandemije (npr. ptičji grip 1997).

Pojava nove pandemije gripa je preteča i stalna. I pored intenzivnih istraživanja uključujući proučavanje gena koji kodiraju različite proteine virusa još uvek nisu poznati svi molekularni aspekti koji omogućavaju virusu influence A da dovede do pandemije. Zbog toga će virus influence i ubuduće predstavljati opasnost i izazov za istraživače iz različitih oblasti medicine.



Uticaj tehnika anestezije na oporavak bolesnika kod laparoscopske holecistektomije

Implications of anesthetic techniques on patients' recovery in laparoscopic cholecystectomy

Biljana Stošić*, Miroslav Stojanović†, Radmilo Janković*, Milan Radojković†, Nebojša Ignjatović*

Klinički centar Niš, Hirurška klinika, *Odeljenje za anesteziju i intenzivnu terapiju,

†Odeljenje za hepatobilijarnu hirurgiju, *Odeljenje za abdominalnu hirurgiju, Niš, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Za izvođenje laparoscopske holecistektomije (LH) koriste se razne tehnike opšte anestezije. Cilj našeg rada bio je da se utvrdi kojom tehnikom anestezije se postižu bolji rezultati tokom buđenja, što značajno utiče ne samo na oporavak bolesnika već i na angažovanost celokupnog anesteziološkog tima. **Metode.** Ispitivanje je sprovedeno kao prospektivna komparativna klinička studija. Devedeset ispitanika bilo je podeljeno u dve grupe u zavisnosti od primenjene tehnike anestezije: uvod i održavanje anestezije inhalacionim anestetikom (sevofluran) *Volatile Induction and Maintenance Anaesthesia* (VIMA) i tehnika ciljane kontrolisane infuzije – *Target Controlled Infusion* (TCI). Analizirani su sledeći parametri: demografske karakteristike bolesnika, trajanje anestezije, vreme do otvaranja očiju, vreme do izvršavanja naredbi, vreme ekstubacije, vreme do postizanja orijentacije, vreme od poslednjeg davanja anestetika do odlaska na odeljenje – *Post Anesthesia Discharge* (PAD), učestalost postoperativne nauzeje, vomitusa i agitacije (PONVA). **Rezultati.** Kod ispitivanih grupa nije zabeležena statistički značajna razlika u trajanju anestezije ($68,29 \pm 6,47$ vs $66,29 \pm 11,97$ min, $p = 0,327$). Vreme do otvaranja očiju bilo je statistički značajno kraće kod grupe VIMA u odnosu na grupu TCI ($4,49 \pm 1,20$ vs $7,42 \pm 1,25$ min, $p = 0,000$), kao i vreme do izvršavanja naredbi ($5,93 \pm 1,12$ vs $8,47 \pm 1,08$ min, $p = 0,000$). Bolesnici anestezirani tehnikom VIMA bili su statistički značajno ranije ekstubirani ($6,84 \pm 1,19$ vs $9,69 \pm 1,31$ min, $p = 0,000$). Kada je vreme do postizanja orijentacije u pitanju postojala je takođe statistički značajna razlika između grupa VIMA i TCI ($7,51 \pm 0,97$ vs $11,60 \pm 1,75$ min, $p = 0,000$). Nije bilo statističke značajne razlike u trajanju PAD ($19,42 \pm 5,99$ vs $20,80 \pm 1,59$ min, $p = 0,142$), kao ni u pojavi PONVA između ispitivanih grupa ($p = 1,000$). **Zaključak.** Ovo ispitivanje pokazalo je da VIMA tehnika sevofluranom kod LH dovodi do bržeg i kvalitetnijeg oporavaka bolesnika. Zato se njena primena preporučuje u svakodnevnoj anesteziološkoj praksi kod LH, kao i kod drugih procedura koje spadaju u grupu minimalno invazivne videoendoscopske hirurgije.

Ključne reči:

anestezija, inhalaciona; anestezija, intravenska; anestezija, period buđenja; holecistektomija, laparoscopska; postoperativni period.

Abstract

Background/Aim. Different techniques of general anesthesia are used for laparoscopic cholecystectomy (LC). The aim of the study was to establish the best anesthetic technique for achieving better results during awakening affecting not only patient's recovery, but activities of anesthesiological team, as well. **Methods.** The study was conducted as a prospective comparative clinical trial. The patients ($n=90$) were classified according to the applied anesthetic technique into two groups: Volatile Induction and Maintenance Anaesthesia (VIMA) with sevofluran and Target Controlled Infusion (TCI). The results relating to parameters of recovery after anesthesia and surgery were compared between these two groups. The following parameters were analysed: demographic patients' characteristics, duration of anesthesia, the times to eye opening, to respond to a command, to extubation, and to orientation, from the last anesthetic dose receiving until post anesthesia discharge (PAD), frequency of postoperative nausea, vomiting and agitation (PONVA). **Results.** In the examined groups there were no statistically significant differences in the duration of anesthesia (68.29 ± 6.47 vs 66.29 ± 11.97 min, $p = 0.327$). The time to eye opening was significantly shorter in the group VIMA compared to the group TCI (4.49 ± 1.20 vs 7.42 ± 1.25 min, $p = 0.000$), as well as the time to respond to a command (5.93 ± 1.12 vs 8.47 ± 1.08 min, $p = 0.000$). The patients anesthetised with VIMA technique were statistically significantly extubated earlier (6.84 ± 1.19 vs 9.69 ± 1.31 min, $p = 0.000$). Considering orientation time, there was also statistically significant difference between the two groups (7.51 ± 0.97 vs 11.60 ± 1.75 min, $p = 0.000$). There was no statistically significant difference in PAD time duration (19.42 ± 5.99 vs 20.80 ± 1.59 min, $p = 0.142$). There were no statistically significant differences in PONVA events between the examined groups. **Conclusion.** This study showed that VIMA technique with sevofluran in LC provides faster and more qualitative recovery of patients. Thus this technique should be applied in everyday anesthesiological procedures in LC, as well as in other minimally invasive videoendoscopic surgical procedures.

Key words:

anesthesia, inhalation; anesthesia, intravenous; anesthesia recovery period; cholecystectomy, laparoscopic; postoperative period.

Uvod

Laparoskopska holecistektomija (LH) najčešća je operacija koja se izvodi laparoskopskom hirurškom tehnikom za operativno lečenje nekomplikovane hronične holelitijaze. Krajem osamdesetih godina XX veka uveli su je u hiruršku praksu nemački i francuski hirurzi. Phillipe Mouret 1987. godine opisao je prvu LH. Po svojim rezultatima, ona je identična najboljim svetskim serijama klasične holecistektomije¹. Spada u onu grupu hirurških procedura kojima se najbolje sagledavaju prednosti minimalno invazivne videoendoskopske hirurgije: manja traumatičnost tkiva, višestruko smanjen bol, kraća hospitalizacija, ekonomičnije bolničko lečenje, skraćeni period postoperativne životne i radne nesposobnosti².

Treba napomenuti da pored ovih značajnih prednosti, LH nameće i određene probleme vezane za specifične patofiziološke promene. Položaj bolesnika na operacionom stolu (anti-Trendelburgov i levi dekubitusni), kreiranje povećanog intraabdominalnog pritiska i jatrogeno nastali pneumoperitoneum insuflacijom CO₂, mogu imati značajne negativne reperkusije na kardiovaskularne efekte i disajnu funkciju². Međutim, sve te patofiziološke promene kardiovaskularne i respiratorne funkcije tokom LH, kod bolesnika grupe I i II prema ASA (American Society of Anesthesiologies) klasifikaciji, ne utiču bitno na klinički tok anestezije i oporavak.

Za izvođenje LH koristi se opšta endotrahejna anestezija sa kontrolisanom ventilacijom tipa intermitentnog pozitivnog pritiska (IPPV). Tom prilikom, primenjuju se razne tehnike opšte anestezije: balansirana, inhalaciona, totalna intravenska anestezija (TIVA).

Totalna intravenska anestezija je tehnika anestezije kojom se primenjuju samo intravenski anestetici i ona je omogućila da se u kontinuiranoj infuziji kombinuju opšti intravenski anestetici nebarbituratnog tipa (propofol, etomidat) i sintetski opioidni analgetici kratkog dejstva (remifentanil, alfentanil). Farmakokinetički i farmakodinamski profil kratkodelujućih intravenskih anestetika i analgetika, omogućava brzu titraciju doze leka koja je potrebna da bi se ostvario određeni efekat. Time je povećana stabilnost anestezije, kao i brz oporavak bolesnika. Uvođenjem tehnike *Target Controlled Infusion* (TCI) u anesteziološku praksu, napravljen je veliki iskorak u anesteziji. Jedna od najsavremenijih infuzionih pumpi je „Diprifusor TCI“. To je sofisticirani infuzioni sistem koji omogućuje anesteziologu da odabere ciljnu koncentraciju – *target concentration* (CT) leka u krvi, kojom želi da ostvari određeni efekat, a zatim da kontroliše dubinu anestezije podešavanjem CT prema jačini hirurškog nadražaja.

Inhalaciona anestezija zadržala se do danas kao najčešći sastavni deo opšte anestezije. Tehnika uvođa i održavanja anestezije sa inhalacionim anestetikom poznata je po akronimu VIMA od engleskog *Volatile Induction and Maintenance Anaesthesia*. Sevofluran je anestetik izbora za ovu tehniku anestezije zbog svojih neiritirajućih osobina, prijatnog mirisa i male rastvorljivosti. Potencija inhalacionih anestetika se uobičajeno izražava kroz minimalnu alveolarnu koncentraciju – *minimal alveolar concentration* (MAC)^{3,4}. Minimalna alveolarna koncentracija je koncentracija anestetika na pritisku od 1 atmosfere koja sprečava odgovor na bolni hirurški nadražaj.

Većina modernih inhalacionih anestetika praktično bi se veoma teško koristila bez mogućnosti kontrole inspiratorne i krajnje ekspiratorne – *End Tidal* (ET) koncentracije anestetika⁵. Na mnogim monitorima i aparatima za anesteziju, pored prethodnih, moguće je i praćenje MAC vrednosti.

Cilj ovog rada bio je da se utvrdi kojom tehnikom anestezije se postižu bolji rezultati tokom buđenja, što značajno utiče ne samo na oporavak bolesnika, već i na angažovanost celokupnog anesteziološkog tima.

Metode

Ispitivanje je bilo sprovedeno kao prospektivna komparativna klinička studija u kojoj su ispitanici bili podeljeni u dve grupe, zavisno od primenjene tehnike anestezije. Podela ispitanika u grupe obavljena je metodom slučajnog izbora, neposredno po pozivanju bolesnika u operacionu salu. Ispitivanje je obavljeno na Odeljenju za anesteziju i intenzivnu terapiju u saradnji sa Odeljenjem za hepatobilijarnu hirurgiju, Hirurške klinike Kliničkog centra u Nišu, na ukupno 90 ispitanika, oba pola, kod kojih je postavljena indikacija za hirurško lečenje hronične holelitijaze laparoskopskom hirurškom tehnikom. Kriterijumi za izbor ispitanika bili su dijagnostikovana hronična holelitijaza i postavljena indikacija za hirurško lečenje laparoskopskom tehnikom, pripadnost ispitanika grupi I i II prema ASA klasifikaciji na osnovu prethodno izvršene procene njihovog opšteg zdravstvenog stanja. Kriterijumi za isključivanje ispitanika iz studije bili su hipersenzitivnost na opioide ili bilo koje druge psihoaktivne supstance, korišćenje droge, alkohola, trudnoća, morbidna gojaznost.

Svi ispitanici premedicirani su midazolamom u dozi od 0,1 mg/kg i atropinom 0,5 mg *im* pola sata pre početka intervencije.

Jedna grupa ispitanika anestezirana je sevofluranom – VIMA tehnikom, u kombinaciji sa opioidnim analgetikom kratkog dejstva, remifentanilom. Za uvod u anesteziju korišćena je tehnika pojedinačnog udaha (tehnika vitalnim kapacitetom) sa protokom svežih gasova od 8 L/min i isporukom sevoflurana 8 vol%. Princip tehnike je sledeći: najpre se rukom zatvori otvor maske da bi se u njoj povećala koncentracija sevoflurana i izjednačila u disajnom sistemu. Bolesniku se kaže da duboko udahne i izdahne dva do tri puta (denitrogenacija), pa mu se pre sledećeg udaha stavi maska na lice i kaže da duboko udahne i zadrži dah. Ovaj manevar može se ponavljati do gubitka svesti. Obično se gubitak svesti postiže za oko 1 min. Za održavanje anestezije inspiratorna koncentracija sevoflurana smanjuje se na 1,5–2,5 vol%, tako da ET koncentracija iznosi \approx 1,7 vol%. Bolesnici su mehanički ventilisani mešavinom kiseonika i azot-oksidula u odnosu 50% : 50% (FiO₂ od 0,5). Protok svežih gasova (O₂ i N₂O) na uvodu bio je 8 L/min, a tokom održavanja anestezije 1 L/min (anestezija niskog protoka). Za postizanje analgezije korišćen je remifentanil, kompjuterski kontrolisanom infuzijom u dozi od 0,25 μ g/kg/min. Druga grupa anestezirana je TCI tehnikom uz primenu propofola u kombinaciji sa remifentanilom. Zabeleženi su podaci o starosti i težini bolesnika da bi se omogućilo određivanje ciljne koncentracije propofola. Za indukciju je izabrana CT propofola od 5 μ g/mL. Za održavanje anestezije ona se smanjila na 3 μ g/mL, a prilikom bude-

nja na 1,5 µg/mL. Za uvod u anesteziju dat je popofol u bolus dozi od 1,5 mg/kg i remifentanil u dozi od 0,5 µg/kg/min. Za održavanje anestezije doza propofola iznosila je 100–200 µg/kg/min, a remifentanila 0,25 µg/kg/min.

Kod obe grupe korišćen je isti nedepolarizujući mišićni relaksant rokuronijum bromid u dozi od 0,6 mg/kg za relaksaciju glasnica i izvođenje intubacije, a kasnije za održavanje relaksacije u toku operacije u dozi od 0,15 mg/kg. Na kraju operacije rezidualni neuromuskularni blok je antagonizovan neostigminom (1,5 mg) i atropinom (0,6 mg).

Za izvođenje mehaničke ventilacije pluća u anesteziji korišćen je aparat *Drager Fabius*, a za praćenje inspiratorne i ET koncentracije svežih gasova (O₂ i N₂O) i sevoflurana, korišćen je Vamos analizator; TCI tehnika primenjena je uz pomoć Diprifusora fm *controller B/Braun*.

Pored osnovnog monitoringa (elektrokardiogram, krvni pritisak, respiratorni parametri – inspiratorni pritisak u disajnim putevima-*Paw*, disajni tidal volumen, minutni volumen respiracije i frekvencija disanja) korišćen je i ciljani monitoring: pulsna oksimetrija (SaO₂) i kapnometrija (ETCO₂).

Analizirani su sledeći parametri: demografske karakteristike, vreme trajanja anestezije, vreme ranog buđenja – do otvaranja očiju, vreme do ekstubacije, vreme do orijentacije (ime i prezime, datum rođenja, soba u kojoj leži), vreme od prestanka davanja anestetika do odlaska na odeljenje *Post Anesthesia Discharge* (PAD vreme), kao i učestalost postoperativne nauzeje, vomitusa i agitacije (PONVA).

Analiza dobijenih podataka vršena je programom SPSS 15,0. Korišćene su metode deskriptivne i kvantitativne analize. Studentovim *t* testom nezavisnih uzoraka vršeno je testiranje statističke značajnosti razlike srednjih vrednosti ispitivanih parametara između grupa, a poređenje učestalosti atributivnih numeričkih parametara χ^2 testom. Vrednosti $p < 0,05$ uzimane su kao granica statističke značajnosti.

Rezultati

U odnosu na demografske podatke, ispitivane grupe bile su komparabilne. Prosečna starost bolesnika u grupi anesteziranoj VIMA tehnikom bila je 47,11 ± 2,20 god., a u grupi anesteziranoj TCI tehnikom 47,53 ± 2,03 god., bez statistički značajne razlike $p = 0,346$. Odnos muškaraca i žena bio je, takođe, bez statistički značajne razlike (37,78/62,22% u grupi koja je dobijala sevofluran i 42,22/57,78% u grupi koja je dobijala propofol, $p = 0,829$). Takođe, nije bilo statistički značajne razlike između grupa u pogledu telesne mase, telesne visine i indeksa telesne mase (tabela 1).

Rezultati koji se odnose na parametre buđenja iz anestezije ukazuju na sledeće: nije bilo statistički značajne razlike u trajanju anestezije između ispitanika anesteziranih TCI tehnikom (66,29 ± 1,97 min) u odnosu na ispitanike anestezirane VIMA tehnikom, (68,29 ± 6,47 min) ($p = 0,327$). Vreme do otvaranja očiju bilo je statistički značajno duže nakon primene TCI tehnike (7,42 ± 1,25 min) u odnosu na VIMA tehniku (4,49 ± 1,20 min) ($p = 0,000$). Vreme do izvršavanja naredbi bilo je statistički i klinički značajno duže u grupi TCI, (8,47 ± 1,08 min) u odnosu na grupu VIMA (5,93 ± 1,12 min) ($p = 0,000$). Kada je vreme ekstubacije u pitanju, postojala je takođe, statistički značajna razlika između ispitanika grupe TCI, (9,69 ± 1,31 min) i grupe VIMA (6,84 ± 1,19 min) ($p = 0,000$). Vreme do postizanja orijentacije, takođe, bilo je statistički značajno duže kod grupe TCI, (1,60 ± 1,75 min) u odnosu na grupu VIMA (7,51 ± 0,97 min) ($p = 0,000$). Nije bilo statistički značajne razlike u trajanju PAD vremena između ispitanika obe grupe, ($p = 0,142$), mada je kod VIMA grupe bilo nešto kraće (19,42 ± 5,59 min) u odnosu na TCI grupu (20,80 ± 1,59 min) (tabela 2).

Tabela 1

Demografske karakteristike bolesnika

Demografske karakteristike	VIMA* tehnika (n = 45)	TCI† tehnika (n = 45)	χ^2	<i>p</i>
Starost (god) $\bar{x} \pm SD$	47,11 ± 2,20	47,53 ± 2,03	0,95	0,346
Pol [broj (%)]				
Ženski	28 (62,22)	26 (57,78)	0,05	0,829
Muški	17 (37,78)	19 (42,22)		
Telesna težina (kg), $\bar{x} \pm SD$	84,49 ± 3,54	85,40 ± 3,06	1,31	0,195
Telesna visina (m), $\bar{x} \pm SD$	1,75 ± 0,04	1,76 ± 0,05	1,24	0,217
Indeks telesne mase (m), $\bar{x} \pm SD$	27,24 ± 1,41	27,62 ± 1,46	1,25	0,213

* Volatile Induction and Maintenance Anaesthesia; †Target Controlled Infusion

Tabela 2

Parametri oporavka nakon anestezije i operacije kod ispitivanih grupa

Ispitivani parametri (min)	VIMA* tehnika (n = 45)	TCI† tehnika (n = 45)	χ^2	<i>p</i>
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$		
Trajanje anestezije	68,29 ± 6,47	66,29 ± 11,97	0,99	0,327
Vreme do otvaranja očiju	4,49 ± 1,20	7,42 ± 1,25	11,35	0,000
Vreme do izvršavanja naredbi	5,93 ± 1,12	8,47 ± 1,08	10,95	0,000
Vreme ekstubacije	6,84 ± 1,19	9,69 ± 1,31	10,79	0,000
Vreme do postizanja orijentacije	7,51 ± 0,97	11,60 ± 1,75	13,71	0,000
PAD‡ vreme	19,42 ± 5,99	20,80 ± 1,59	1,49	0,142

* Volatile Induction and Maintenance Anaesthesia; †Target Controlled Infusion; ‡Post Anesthesia Discharge

Postoperativna nauzeja evidentirana je kod osam bolesnika (17,78%) grupe VIMA i kod četiri bolesnika (8,89%) grupe TCI. Postoperativna nauzeja bila je zastupljena kod dva bolesnika (4,44%) grupe VIMA, dok ga nije bilo kod ispitanika grupe TCI. Postoperativna nauzeja javila se kod tri bolesnika (6,67%) grupe VIMA i kod dva bolesnika (4,44%) grupe TCI. Nije bilo statistički značajne razlike u pojavi PONVA između ispitivanih grupa (tabela 3).

Prema podacima iz literature, još ne postoji saglasnost autora o tome koja tehnika anestezije obezbeđuje brže buđenje i kvalitetniji oporavak. Nakon izvršene analize rezultata u našoj studiji, ustanovljeno je da je oporavak bolesnika koji su anestezirani sevofluranom znatno brži i kvalitetniji.

To je u skladu i sa drugim studijama koje su upoređivale propofol i sevofluran i njihov uticaj na brzinu oporavka pacijenata^{12,13}. Zbog niskog koeficijenta rastvorljivosti

Tabela 3
Zastupljenost nauzeje, vomitusa i agitacije kod ispitivanih grupa

Ispitivani parametri	Grupa		χ^2	p
	VIMA* tehnika n (%)	TCI† tehnika n (%)		
Nauzeja	8 (17,78)	4 (8,89)	0,87	0,352
Vomitus	2 (4,44)	0 (0,00)	0,51	0,494
Agitacija	3 (6,67)	2 (4,44)	0,00	1,000

* Volatile Induction and Maintenance Anaesthesia; † Target Controlled Infusion

Diskusija

Podaci iz literaturi ukazuju da se za izvođenje LH koriste razne tehnike opšte anestezije: balansirana, inhalaciona, intravenska⁶⁻⁸. Međutim, u svetu nema generalno usvojenog konsenzusa o ovome. Mogućnost primene novih tehnika anestezije krajem XX i početkom XXI veka značajno se povećavala, kako po broju, tako i po kvalitetu i sigurnosti. Razvijanjem novih tehnika anestezije menjao se i konceptualni pristup hirurgiji⁹. Minimalno invazivna hirurgija, gde spada i LH, dobija veliki značaj u lečenju hirurških bolesnika.

Kako je LH operacija sa čestim promenama intenziteta hirurških nadražaja, a cilj svakog anesteziologa je da obezbedi kvalitetno buđenje i oporavak bolesnika, treba izabrati one anestetičke agense koji svojim farmakokinetičkim profilom odgovaraju takvom zahtevu. Intenzitet hirurških stimulusa na kraju LH, po vađenju žučne kese iz trbušne duplje je minimalan. Trajanje intervencije od momenta vađenja žučne kese uslovljeno je potrebom da se abdominalna duplja aspirira, kao i veštinom hirurga da zatvori rez na umbilikusu (što može produžiti operaciju i do 10 min). U takvoj situaciji potrebno je držati bolesnika u adekvatnoj hipnozi da bi se izbeglo prisustvo svesti i produženo buđenje usled dejstva primenjenih anestetika i analgetika.

Odsustvo kumulativnog efekta remifentanila, kao korišćenog opioidnog analgetika, dozvoljava čak i unapred nepredviđena dodavanja ovog leka. Za razliku od drugih opioida, remifentanil se metaboliše hidrolizom metil-estra propanoične kiseline, nespecifičnim krvnim i tkivnim esterazama. Kontekst senzitivno poluvreme remifentanila (pad koncentracije remifentanila za 50% posle kontinuirane infuzije) izuzetno je kratko. Posle četiri sata infuzije remifentanila ono je svega 3,7min, dok je kod drugih opioida znatno duže¹⁰. Dokazano je da čak i male doze remifentanila koje se dodaju inhalacionim anestetima za postizanje adekvatne analgezije, značajno smanjuju ET koncentraciju anestetika, koja je potrebna za kontrolu reakcije na stres, ubrzavajući postoperativni oporavak i minimizirajući depresivne efekte na respiratornu funkciju¹¹.

krv : gas (0,69), buđenje iz anestezije nakon primene sevoflurana je brzo, i zato je izuzetno korisna njegova primena kod bolesnika kod kojih se hirurške operacije završavaju brzo¹⁴. Na postizanje ranog buđenja bolesnika koji su anestezirani sevofluranom značajno utiče i mogućnost kontinuiranog praćenja ET koncentracije¹⁵. Adekvatnom titracijom volatilnog anestetika prema ET koncentraciji, može se efikasno obezbediti rano buđenje, što je u ovom ispitivanju i dokazano.

U jednoj studiji operacije supratentorijalne neoplazme, autori su podelili bolesnike u dve grupe (n = 90, ASA I i II) prema načinu anesteziranja (remifentanil i sevofluran, remifentanil). Analiza dobijenih vrednosti posmatranih parametara pokazala je da je vreme od otvaranja očiju (3,7 min vs 5,0 min) i vreme do ekstubacije (6,6 min vs 8,1 min) statistički značajno kraće trajalo u sevofluranskoj grupi (p < 0,01)¹⁶.

U drugom istraživanju sa 120 bolesnika dečijeg uzrasta, ustanovljeno je da su postoperativno buđenje (9,0 min vs 11,6 min) i vreme ekstubacije (11,8 min vs 15,5 min) značajno kraće trajali u grupi koja je dobijala propofol¹⁷.

U randomizovanoj studiji koja je obuhvatila 103 ispitanika ASA klase I i II u toku dugotrajnih abdominalnih i uroloških operacija, rezultati su pokazali da je vreme ekstubacije značajno kraće trajalo u grupi koja je dobijala propofol u odnosu na grupu koja je anestezirana sevofluranom (8,3 min vs 10,8 min, p = 0,0024), bez razlike u učestalosti PONVA¹⁸.

Vraćanje kongitivnih funkcija kod bolesnika ASA klase I i II u toku elektivnih hirurških procedura značajno je brže kod bolesnika koji su dobijali propofol u odnosu na sevofluran: otvaranje očiju (3,7 ± 2,6 min vs 7,8 ± 2,9 min), stezanje šake (4,6 ± 2,5 min vs 7,8 ± 2,5 min), spontano disanje (5,5 ± 2,2 min vs 6,9 ± 3,1 min), orijentacija-ime, datum rođenja (6,6 ± 2,4 min vs 9,6 ± 3,7 min), (p < 0,05)¹⁹.

U uslovima jednodnevne hirurgije kod operacija biopsije dojke, na ukupno 42 ispitanice ženskog pola podeljenih u dve grupe i anesteziranih propofolom i sevofluranom, pokazano je da je vreme verbalnog odgovora (10,6 min vs 3,7 min), vreme do ekstubacije (11,8 min vs 4,0 min) i vreme do postizanja orijentacije (14,7 min vs 4,8 min) statistički zna-

čajno kraće trajalo u grupi koja je dobijala propofol i remifentanil ($p < 0,05$)²⁰.

Primena TCI tehnike uz primenu propofola u našoj studiji dala je nešto slabije rezultate prilikom buđenja. Bolesnik se budi iz anestezije propofolom kada koncentracija leka u mozgu padne na nivo od 1–2 $\mu\text{g/mL}$. Ta koncentracija zavisi od više faktora (intenzitet stimulacije, nivo analgetika u momentu buđenja).

Uprkos brzom postoperativnom oporavku kod bolesnika koji su anestezirani sevofluranom, nije bilo statistički značajne razlike između grupa u pogledu trajanja PAD vremena, što je dokazano i u drugim studijama^{21,22}.

U studiji sa 50 ispitanika dečijeg uzrasta gde su primenjivani sevofluran i propofol, autori su ustanovili da nije bilo statistički značajne razlike u praćenim vrednostima parametara oporavka iz anestezije između ispitivanih grupa: vreme ekstubacije (14,0 min vs 15,0 min), vremenu odgovora na verbalne komande (21,0 min vs 21,0 min), PAD vreme (45,0 min vs 50,0 min)²³.

Vreme od prestanka davanja anestetika do dolaska na odeljenje veoma je važno, pošto utiče na angažovanost anesteziološkog tima. Zbog manjeg broja sestara na odeljenju, nadzor nije isti kao u Jedinici intenzivne terapije (JIT), a kako u tom periodu postoji opasnost od *rest* efekta anestezije, presudna je važnost primena adekvatne tehnike anestezije.

Među najčešćim neželjenim događajima na koje se bolesnici žale nakon LH su nauzeja i vomitus. Uzrok ovih tegoba je neurogeni efekat, nastao sekundarno usled trakcije celijačnog stabla, peritonealne distenzije zbog pneumoperitoneuma, kao i splahničke manipulacije. Pošto se u svetskoj literaturi nalaze podaci da čak 42% laparoskopski operisanih bolesnika ima nauzeju i povraćanje, na smanjenje tih neže-

ljenih efekata može se uticati ne samo davanjem antiemetika već i prilagođavanjem tehnika anestezije zahtevima operativne procedure i minimiziranjem uslova koji pogoduju njihovoj pojavi. Oporavak od anestezije propofolom prati smanjenje incidencije PONVA.

U ovoj studiji, predstavljeno je da nema statistički značajne razlike između ispitivanih grupa u pojavi PONVA, mada je zabeleženo nešto više slučajeva ove pojave, kod ispitanika anesteziranih sevofluranom, što je dokazano i u literaturi²⁴.

Slični rezultati nađeni su i u drugim studijama, koji ukazuju da ne postoji statistički značajna razlika u pojavi PONVA i vremena oporavka iz anestezije između grupa koje su primale propofol i sevofluran²⁵.

I pored toga što sevofluran, kao i drugi inhalacioni anestetici, izaziva PONVA (zašto se u poslednje vreme najviše okrivljuje azot-oksidul), smatra se da je on najbolji volatilni anestetik, do sada u upotrebi^{26,27}.

Zaključak

Tehnike anestezije koje obezbeđuju brzo i kvalitetno buđenje imaju veliki značaj u kliničkoj praksi. Ovo ispitivanje pokazalo je da primenjena VIMA tehnike sevofluranom kod LH utiče na brži i kvalitetniji oporavak bolesnika (kraće vreme do otvaranja očiju, izvršavanja naredbi, ekstubacije, postizanja orijentacije, PAD vreme). Zato se njena primena preporučuje u svakodnevnoj anesteziološkoj praksi kod LH, kao i kod drugih procedura koje spadaju u grupu minimalno invazivne videoendoskopske hirurgije, kod koje je bolničko lečenje ekonomičnije, a period životne i radne nesposobnosti znatno skraćen.

L I T E R A T U R A

1. *Nezhat C.* Operative endoscopy will replace almost all open procedures. *JLS* 2004; 8(2): 101–2.
2. *Calland JF, Tanaka K, Foley E, Bovbjerg VE, Markey DW, Blome S,* et al. Outpatient laparoscopic cholecystectomy: patient outcomes after implementation of a clinical pathway. *Ann Surg* 2001; 233(5): 704–715.
3. *Azharov N, Buron N, Kornienko AN.* Genesis of cardiorespiratory dysfunction at laparoscopic cholecystectomy. 12th World Congress of Anaesthesiologists. Canada: Book of Abstracts; 2000. p. 40.
4. *Sonner JM, Antognini JF, Dutton RC, Flood P, Gray AT, Harris RA,* et al. Inhaled anesthetics and immobility: mechanisms, mysteries, and minimum alveolar anesthetic concentration. *Anesth Analg* 2003; 97(3): 718–40.
5. *Cros AM, Lopez C, Kandel T, Szark F.* Determination of sevoflurane alveolar concentration for tracheal intubation with remifentanil, and no muscle relaxant. *Anaesthesia* 2000; 55(10): 965–9.
6. *Coloma M, Zhou T, White PF, Markowitz SD, Forestner JE.* Fast-tracking after outpatient laparoscopy: reasons for failure after propofol, sevoflurane, and desflurane anesthesia. *Anesth Analg* 2001; 93(1): 112–5.
7. *Fanelli G, Berti M, Casati A.* Fast-track anaesthesia for laparoscopic cholecystectomy: a prospective, randomized, multicentre, blind comparison of desflurane-remifentanil or sevoflurane-remifentanil. *Eur J Anaesthesiol* 2006; 23(10): 861–8.
8. *Grundmann U, Silomon M, Bach F, Becker S, Bauer M, Larsen B,* et al. Recovery profile and side effects of remifentanil-based anaesthesia with desflurane or propofol for laparoscopic cholecystectomy. *Acta Anaesthesiol Scand* 2001; 45(3): 320–6.
9. *Eger EI, White PF, Bogetz MS.* Clinical and economic factors important to anaesthetic choice for day-case surgery. *Pharmacoeconomics* 2000; 17(3): 245–62.
10. *Westmoreland CL, Hoke JF, Sebel PS, Hug CC Jr, Muir KT.* Pharmacokinetics of remifentanil (GI87084B) and its major metabolite (GI90291) in patients undergoing elective inpatient surgery. *Anesthesiology* 1993; 79(5): 893–903.
11. *Glass PS, Gan TJ, Howell S.* A review of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of remifentanil. *Anesth Analg* 1999; 89(4 Suppl): S7–14.
12. *Caffiero T, Cavallo LM, Frangiosa A, Burrelli R, Gargiulo G, Cappabianca P,* et al. Clinical comparison of remifentanil-sevoflurane vs. remifentanil-propofol for endoscopic endonasal transphenoidal surgery. *Eur J Anaesthesiol* 2007; 24(5): 441–6.
13. *Gupta A, Stierer T, Zuckerman R, Sakima N, Parker SD, Fleisher LA.* Comparison of recovery profile after ambulatory anaesthesia with propofol, isoflurane, sevoflurane and desflurane: a systematic review. *Anesth Analg* 2004; 98(3): 632–41.
14. *Ian S.* Inhalation versus intravenous anaesthesia for day surgery. *J of Ambulatory Surgery* 2003; 10: 89–94.
15. *Kimura T, Watanabe S, Asakura N, Inomata S, Okada M, Taguchi M.* Determination of end-tidal sevoflurane concentration for

- tracheal intubation and minimum alveolar anesthetic concentration in adults. *Anesth Analg* 1994; 79(2): 378–81.
16. *Hernández PJ, Doménech AP, Burguillos LS, Segura PB, Sánchez RL, López HF.* Comparison of anesthetic maintenance and recovery with propofol versus sevoflurane combined with remifentanyl in craniotomy for supratentorial neoplasm. *Rev Esp Anesthesiol Reanim* 2006; 53(2): 88–94. (Spanish)
 17. *Schmidt J, Fechner J, Fritsch B, Schmitz B, Carbon R, Rösch W,* et al. Propofol-remifentanyl versus sevoflurane-remifentanyl for anesthesia for pediatric procedures in infants, children and adolescents. *Anaesthesist* 2001; 50(10): 757–66. (German)
 18. *Höcker J, Tonner PH, Böllert P, Paris A, Scholz J, Meier-Paikea C,* et al. Propofol/remifentanyl vs sevoflurane/remifentanyl for long lasting surgical procedures: a randomised controlled trial. *Anaesthesia* 2006; 61(8): 752–7.
 19. *Larsen B, Seitz A, Larsen R.* Recovery of cognitive function after remifentanyl-propofol anesthesia: a comparison with desflurane and sevoflurane anesthesia. *Anesth Analg* 2000; 90(1): 168–74.
 20. *Hong JY, Kang YS, Kil HK.* Anaesthesia for day case excisional breast biopsy: propofol-remifentanyl compared with sevoflurane-nitrous oxide. *Eur J Anaesthesiol* 2008; 25(6): 460–7.
 21. *Loop T, Priebe HJ.* Recovery after anesthesia with remifentanyl combined with propofol, desflurane, or sevoflurane for otorhinolaryngeal surgery. *Anesth Analg* 2000; 91(1): 123–9.
 22. *Raeder J, Gupta A, Pedersen FM.* Recovery characteristics of sevoflurane- or propofol-based anaesthesia for day-care surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 1997; 41(8): 988–94.
 23. *Picard V, Dumont L, Pellegrini M.* Quality of recovery in children: sevoflurane versus propofol. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000; 44(3): 307–10.
 24. *Mikawa K, Nishina K, Shiga M.* Prevention of sevoflurane-induced agitation with oral clonidine premedication. *Anesth Analg* 2002; 94(6): 1675–6.
 25. *Yang H, Choi PT, McChesney J, Buckley N.* Induction with sevoflurane-remifentanyl is comparable to propofol-fentanyl-rocuronium in PONV after laparoscopic surgery. *Can J Anaesth* 2004; 51(7): 660–7.
 26. *Apfel CC, Stoocklein K, Lipfert P.* PONV: a problem of inhalational anaesthesia?. *Best Pract Res Clin Anaesth* 2005; 19(3): 485–500.
 27. *Philip LC.* Sevoflurane the best volatile anaesthetic ever developed. *Curr Rev Nurs Anaesth* 2005; 27(25): 293–304.

Rad primljen 16. IX 2008.



Rekonstrukcija dojke posle amputacije zbog karcinoma

Breast reconstruction following amputation for cancer

Milan Višnjić*, Predrag Kovačević*, Ljiljana Paunković*, Goran Đorđević*,
Dragana Buđevac*, Aleksandar Višnjić†

Klinički centar Niš, *Hirurška klinika, †Zavod za javno zdravlje, Niš, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Rekonstrukcija dojke danas je široko prihvaćena metoda u lečenju karcinoma dojke nakon modifikovane radikalne mastektomije. Metode rekonstrukcije prati prihvatljiv broj komplikacija, ali rekonstrukcija dojke pozitivno utiče na kvalitet života bolesnica. Cilj ovog rada bio je da ukaže na naša iskustva u rekonstrukciji dojke. **Metode.** Prikazano je četvorogodišnje iskustvo sa 84 bolesnice kod kojih je rađena rekonstrukcija dojke posle modifikovane radikalne mastektomije. **Rezultati.** Najčešće je rekonstrukcija rađena implantatima i to kod 44 (52,3%) bolesnice, a od toga primarna rekonstrukcija kod 31 (70,4%) bolesnice, a sekundarna kod 13 bolesnica (29,5%). *Latissimus dorsi* režanj (LDR) i implantat korišćeni su kod 32 (38%) bolesnice, s tim što je primarna rekonstrukcija rađena kod 24 (75%), a sekundarna kod 8 (25%) bolesnica. Transverzalni *rectus abdominis* miokutani režanj (TRAM) retko je korišćen, samo kod osam (9,5%) bolesnica i to samo za sekundarnu rekonstrukciju dojke. U postoperativnom toku registrovane su rane komplikacije, poput hematoma, seroma, infekcije i parcijalne nekroze reznja kod 10 (11,9%) bolesnica. Kasne komplikacije, poput odbacivanja implantata, hipertrofičnih ožiljaka i stvaranje hernija na mestu podizanja reznja, registrovane su kod 10 (11,9%) bolesnica. Gubitak implantata registrovan je kod pet (5,9%) bolesnica. Sve komplikacije uspešno su rešene. Četrdeset devet (59%) bolesnica ocenilo je uspeh rekonstrukcije odličnim, vrlo dobrim 20 (24%), a dobrim 14 (16,8%). Kod jedne bolesnice registrovana je progresija bolesti 6 meseci nakon primarne rekonstrukcije dojke. **Zaključak.** Rekonstrukcija dojke predstavlja prihvatljivu metodu u lečenju karcinoma dojke kod bolesnica kod kojih je indikovana ili je već urađena mastektomija. Izbor metode rekonstrukcije zavisi od veličine dojki, želje bolesnice i iskustva hirurške ekipe. Naši rezultati daju prednost rekonstrukciji dojke LDR sa implantatom, jer je tehnika rekonstrukcije jednostavna i sigurna, komplikacije relativno retke i lako rešive, a rezultati rekonstrukcije odlični ili vrlo dobri kod svih bolesnica.

Ključne reči:

dojka, neoplazme; hirurgija, rekonstruktivna, procedure; reznjevi, hirurški; lečenje, ishod.

Abstract

Background/Aim. Today, breast reconstruction is a widely accepted method in the treatment of breast cancer after modified radical mastectomy. Reconstruction methods are associated with an acceptable number of complications and reconstruction favourably impacts quality of life. The aim of the study was to present our experience in breast reconstruction. **Methods.** We presented here a four-year experience with 84 patients with breast reconstruction after modified radical mastectomy. **Results.** Implant reconstructions were most common, 44 (52.3%), with primary reconstruction in 31 (70.4%) and secondary in 13 (29.5%) women. *Lattissimus dorsi* flap (LDF) and implant were utilized in 32 (38%) of the patients, with primary reconstruction in 24 (75%) and secondary in 8 (25%) women. Transversal rectus abdominis myocutaneous (TRAM) flap was rarely used – just in 8 (9.5%) patients and only for secondary breast reconstruction. Postoperatively, some early complications such as hematoma, seroma, infections and partial flap necrosis were observed in 10 (11.9%) patients. Late complications, such as implant rejection, hypertrophic scarring and hernias at the flap elevation site, were noted in 10 (11.9%) cases. Implant loss occurred in 5 (5.9%) cases. All the complications were successfully managed, and patients rated their reconstruction as follows: excellent, 49 (59%) cases; very good, 20 (24%), and good, 14 (16.8%). In one case, disease progression was observed 6 months after the primary breast reconstruction. **Conclusion.** Breast reconstruction is an acceptable method in the treatment of breast cancer in patients in the need for or with already performed mastectomy. The choice of reconstruction approach depends on the breast volume, patient's wish and experience of surgical team. Our results suggest the advantage of breast reconstruction with LDF with implant, since the technique is safe, complications relatively rare and easily manageable, and the results are excellent or very good in each woman.

Key words:

breast neoplasms; reconstructive surgical procedures; surgical flaps; treatment outcome.

Uvod

Rekonstrukcija dojke danas sve češće predstavlja sastavni deo multidisciplinarnog plana lečenja karcinoma dojke kod bolesnica kod kojih je konzilijarno indikovana mastektomija, jer se tom procedurom poboljšava njihov kvalitet života. Hirurška rekonstrukcija vrši se sve složenijim tehnikama da bi se dobio što bolji rezultat sa što manje komplikacija i sekvela. Rekonstrukcija dojke se može uraditi implantatima (implantat stalne zapremine, tkivni ekspander sa implantatima, Bekerov implantat), autolognim tkivom (peteljkašti i slobodni reznjevi), i kombinacijom implantata i autolognog tkiva.

Rekonstrukcija dojke ugradnjom implantata jednostavna je operacija indikovana kod srednje uhranjenih bolesnica sa malim dojkama bez ptoze, sa dobrom kožom i muskulaturom zida grudnog koša. Proteza se obično postavlja ispod *pectoralis major – seratus anterior* muskulofascijalnog kompleksa¹.

Rekonstrukcija dojke tkivnim ekspanderom indikovana je kod bolesnica sa malim dojkama i dobrim kvalitetom kože grudnog koša. Tkivni ekspander implantira se submuskularno (*pectoralis major – seratus anterior* muskulofascijalni kompleks) i jednom nedeljno se vrši ekspanzija ubacivanjem tečnosti u ekspander. Nakon dobijanja adekvatne ekspanzije, ekspander se zamenjuje implantatom odgovarajućeg oblika i veličine. Da bi se izbegla dvofazna rekonstrukcija ekspanderom, koriste se tzv. trajni ekspanderi po tipu Bekerovog implantata¹.

Najozbiljnija komplikacija posle rekonstrukcije dojke implantatima je pojava kapsularne kontraktura i ekstruzija implantata. Tako, veći broj autora navodi pojavu kapsularnih kontraktura od nekoliko procenata, pa čak do 60%. Savremena tehnologija proizvodnje implantata i njihovo plasiranje ispod muskulofascijalnog kompleksa smanjili su broj ovih komplikacija^{1,2}.

Rekonstrukcija dojke autolognim tkivom daje najposlojanije rezultate. Prednosti rekonstrukcije autolognim tkivom nad rekonstrukcijama implantatima su: dostupnost dovoljne mase autolognog tkiva; implantati nisu neophodni, a time su izbegnute komplikacije vezane za njihovo korišćenje; dobri estetski rezultati; autologno tkivo može dobro da podnese postoperativnu radioterapiju; odlična vaskularizacija autolognog tkiva poboljšava zarastanje rana, što predstavlja prednost u rekonstrukciji dojke kod bolesnica koje su prethodno tretirane radioterapijom¹.

Autologno tkivo koristi se za formiranje peteljkaštih i slobodnih reznjeva. Najčešće korišćeni peteljkašti reznjevi su: *latissimus dorsi* reznjanj (LDR) i transverzalni *rectus abdominis* mišićnokožni reznjanj (TRAM)^{1,3-5}.

Latissimus dorsi reznjanj može se koristiti za rekonstrukciju malih dojki, jer reznjanj nije toliko masivan pa mu je to i najveći nedostatak. Prednost korišćenja ovog reznja je u sigurnosti metode i relativno jednostavnoj operativnoj tehnici, naravno za dobro uvežbanu ekipu hirurga. Danas se češće koristi u kombinaciji sa implantatima^{1,4}.

Dobar izbor autolognog tkiva predstavlja TRAM reznjanj, jer daje dovoljno tkiva za adekvatnu rekonstrukciju umereno velikih i velikih dojki. Nedostaci ove tehnike su kompleksnost operacije, rizici parcijalnog ili totalnog gubitka reznja, kao i rizici nastanka postoperativne kile u donornom regionu^{1,3,6}.

Najčešće korišćeni slobodni (mikrovaskularni) reznjevi su TRAM, duboki donji epigastrični perforator reznjanj (DIEP), LDR, gornji glutealni reznjanj, donji glutealni reznjanj, *gracilis* reznjanj, skapularni reznjanj i dr.^{1,3,6-10}

Slobodni reznjevi daju veliki izbor donornih regija, dovoljno autolognog tkiva i dobre estetske rezultate. Nedostaci ovih operacija su dugo trajanje operacije, neophodnost dobro uvežbanog tima mikrovaskularnih hirurga, i česte postoperativne komplikacije, kao tromboza mikrovaskularnih anastomoza i nekroza reznjeva^{1,6,11}.

Kombinacijom autolognog tkiva i implantata postižu se dobri rezultati u rekonstrukciji dojke. Od autolognog tkiva koriste se peteljkašti mišićnokožni, fasciokutani reznjevi i slobodni reznjevi (TRAM, DIEP, LDR, *gracilis* reznjanj i dr.)^{12,13}.

Cilj rada je da se prikažu sopstvena iskustva u rekonstrukciji dojke posle mastektomije zbog karcinoma.

Metode

U periodu od 2004. do 2008. godine u Klinici za plastičnu i rekonstruktivnu hirurgiju Kliničkog centra u Nišu urađena je primarna i sekundarna rekonstrukcija dojke kod 84 bolesnice nakon modifikovane radikalne mastektomije po Madden-u zbog karcinoma dojke.

Rezultati

Starosna struktura bolesnica sa primarnom i sekundarnom rekonstrukcijom data je u tabeli 1.

Indikacije za primarnu rekonstrukciju kod naših bolesnica bile su veličina tumora (T1–T2), status regionalnih (aksilarnih) limfnih čvorova (N0 – N1), odsustvo udaljenih metastaza (M0), (TNM klasifikacija, AJCC, 2005. god), dobro opšte stanje bolesnice bez prisustva drugih bolesti, starost bolesnice, tj. bolesnice mlađeg životnog doba, i motivisanost bolesnice za predloženu operaciju – amputacija dojke sa tačno definisanom metodom primarne rekonstrukcije.

Tabela 1

Starosna struktura bolesnica sa primarnom i sekundarnom rekonstrukcijom dojke

Godine starosti	Primarna rekonstrukcija	Sekundarna rekonstrukcija	Ukupan broj bolesnica (%)
20–30	2 (2,4%)	0 (0,0%)	2 (2,4%)
31–40	15 (17,8 %)	4 (4,8%)	19 (22,6%)
41–50	28 (33,3%)	13 (15,5%)	41 (48,8%)
51–60	8 (9,5%)	11 (13,1%)	19 (22,6%)
Preko 60	2 (2,4%)	1 (1,2%)	3 (3,6%)
Ukupno	55 (65,4%)	29 (34,6%)	84 (100%)

Indikacije za sekundarnu rekonstrukciju bile su odsustvo lokalnih recidiva bolesti i udaljenih metastaza, dobro opšte stanje bolesnice bez prisustva drugih bolesti, starost bolesnice, tj. bolesnice mlađeg životnog doba, motivisanost bolesnice za rekonstrukciju dojke i za prihvatanje predložene tehnike rekonstrukcije.

Primarna rekonstrukcija rađena je kod 55 (65,4%) bolesnica, i to implantatom kod 31 (36,8%), a LDR implantatom kod 24 (28,5%) bolesnice.

Sekundarna rekonstrukcija rađena je kod 29 (34,5%) bolesnica, i to implantatom kod 12 (14,2%), tkivnim ekspanderom i implantatom kod jedne bolesnice (1,1%), LDR i implantatom kod osam (9,5%) i TRAM režnjem kod osam (9,5%) bolesnica.

Sve rekonstrukcije dojki rađene su u opštoj anesteziji, a postoperativno su tretirane antibioticima (cefalosporinima) pet dana.

Rekonstrukcija implantatima rađena je kod 44 (52,3%) bolesnice, a od toga kod 31 (70,4%) primarna, a kod 13 (29,5%) sekundarna (slike 1a i 1b). Korišćeni su implantati

operativnom aktu zajedno sa rekonstrukcijom mamiloalveolarnog kompleksa rekonstruisane dojke nakon završenog onkološkog tretmana. Kod jedne bolesnice korišćen je tkivni ekspander i implantat za sekundarnu rekonstrukciju dojke. Ekspander, a potom i implantat, postavljeni su ispod kože.

Od neposrednih komplikacija registrovana je infekcija kod tri (6,8%) bolesnice sa primarnom rekonstrukcijom, te je implantat izvađen, i u drugom operativnom aktu urađena je rekonstrukcija implantatom. Neadekvatno postavljen implantat (lateralno prema aksilarnoj jami) registrovan je kod jedne (2,2%) bolesnice sa sekundarnom rekonstrukcijom, te je u drugom operativnom aktu urađena korekcija položaja implantata. Kod jedne bolesnice (2,2%) došlo je do ispuštanja tečnosti iz implantata, deformacije rekonstruisane dojke i bolova u toj dojci, pa je implantat zamenjen. Kod jedne (2,2%) bolesnice, kod koje je rekonstrukcija dojke urađena tkivnim ekspanderom i implantatom, stvorena je kapsularna kontraktura IV stepena (po Bekeru), pa je implantat odstranjen, a rekonstrukcija potom urađena TRAM peteljkastim režnjem. Ekstruzija implantata nije registrovana (tabela 2).



a) Ugrađen implantat – leva dojka



b) Definitivni rezultat – urađena suspenzija desne dojke i rekonstruisan mamiloareolarni kompleks na levoj, rekonstruisanoj dojci

Sl. 1a i b – Rezultat rekonstrukcije dojke implantatom

Tabela 2

Komplikacije rekonstrukcije dojke nakon amputacije zbog karcinoma

Metoda rekonstrukcije dojke	Primarna rekonstrukcija	Sekundarna rekonstrukcija	Ukupan broj komplikacija
Implantat	31	12	5 (11,6%)
Tkivni ekspander i implantat	0	1	1 (100%)
LDR* i implantat	24	8	10 (31,2%)
TRAM [†] režanj	0	8	5 (62,5%)
Ukupno	55	29	21 (25%)

**Latissimus dorsi* režanj; [†]transverzalni *rectus abdominis* mišićnokožni

„Mentor“ profilnog oblika veličine od 350 do 550 mL. Implantati su postavljeni submuskularno, tj. ispod *pectoralis major-seratus anterior* miofascijalnog kompleksa. Rekonstrukcija mamilo-areolarnog kompleksa rađena je kod 28 bolesnica u drugom operativnom aktu u lokalnoj anesteziji, slobodnim transplantatom kože sa unutrašnje strane nadlaktice i lokalnim tkivom rekonstruisane dojke. Korekcija druge zdrave dojke bila je indikovana kod 16 bolesnica (36,3%) i kod svih je u opštoj anesteziji urađena suspenzija u drugom

Sve bolesnice sa rekonstrukcijom dojke implantatom anketirane su u periodu od 6 do 12 meseci nakon operacije i estetski uspeh operacije ocenjivale su ocenom od 1 do 10. Dvadeset (45,4%) bolesnica ocenilo je rezultat rekonstrukcije brojem 9 ili 10 (slike 1a i 1b), 10 (22,7%) bolesnica 7 ili 8, a 14 (31,8%) bolesnica dalo je ocenu 5 ili 6 (tabela 3).

Rekonstrukcija dojke LDR i implantatom rađena je kod 32 (38%) bolesnice, od toga primarna kod 24 (75%), a sekundarna kod 8 (25%) bolesnica (slike 2a i 2b).

Tabela 3

Estetski rezultat rekonstrukcije dojke po oceni bolesnica

Metode	Ocena 1–4	Ocena 5–6	Ocena 7–8	Ocena 9–10
Implantat	0 (0,0%)	14 (31,8%)	10 (22,7%)	20 (45,5%)
Tkivni ekspander i implantat	1 (100%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
LDR* i implantat	0 (0,0%)	0 (0,0%)	10 (32,3%)	21 (67,7%)
TRAM [†] režanj	0 (0,0%)	0 (0,0%)	4 (50%)	4 (50%)
Ukupno	1 (1,2%)	14 (16,7%)	24 (28,6%)	45 (53,6%)

**Latissimus dorsi* režanj; [†] transversalni *rectus abdominis* mišićnokožni



a) „en face“



b) profil

Sl. 2a i b – Rekonstrukcija dojke *latissimus dorsi* režnjem (LDR) sa implantatom

Kod primarne rekonstrukcije, LDR planiran je tako da su veličina i oblik kožnog dela režnja bili identični veličini i obliku kože amputirane dojke, a za mišićni deo režnja korišćen je ceo mišić. Tokom podizanja režnja sačuvani su svi elementi neurovaskularne peteljke. Ovako planirani i podignuti režanj omogućavao je da sa mišićnim delom režnja formiramo ležište za implantat ispred pektoralnih mišića, a kožnim delom režnja rekonstruišemo tačno nedostajući deo kože uz očuvanje inframamarne brazde. Korišćeni su implantati „Mentor“ profilnog oblika veličine 150–350 mL. Rekonstrukcija mamiloareolarnog kompleksa rađena je u lokalnoj anesteziji u drugom aktu slobodnim transplantatom kože sa unutrašnje strane nadlaktice i lokalnim tkivom rekonstruisane dojke. Korekcija druge, zdrave dojke bila je indikovana kod samo četiri bolesnice (16,6%). Kod njih je u opštoj anesteziji rađena korekcija (augmentaciona mamoplastika kod dve, a suspenzija sa augmentacionom mamoplastikom kod još dve bolesnice). U istom operativnom aktu rađena je rekonstrukcija mamiloareolarnog kompleksa prethodno rekonstruisane dojke.

Sekundarnoj rekonstrukciji pored konzilijarne provere statusa bolesti i opšteg stanja bolesnice, prethodila je procena validnosti, tj. očuvanosti vaskularne peteljke u prethodnoj operaciji – mastektomiji (ultrazvučnom Kolor dopler tehnikom). Planiranje režnja i formiranje ležišta za implantat rađeno je na isti način kao kod primarne rekonstrukcije dojki, s tim što su veličina i oblik kožnog dela režnja planirani na osnovu oblika i veličine druge zdrave dojke. Korišćeni su isti implantati kao kod primarne rekonstrukcije. Korekcija druge,

zdrave dojke rađena je u drugoj operaciji u opštoj anesteziji kod svih osam (100%) bolesnica, i to augmentacija kod dve, suspenzija kod dve i redukcija kod četiri bolesnice. U istom aktu rekonstruisan je i mamiloareolarni kompleks prethodno rekonstruisane dojke istom tehnikom kao kod primarne rekonstrukcije.

Od neposrednih komplikacija, registrovan je serom kod četiri (12,5%) bolesnice, i to na mestu donornog regiona. Komplikacije, kao što su nekroza režnja, infekcija, intolerancija na augmentat i sl. nisu registrovane. Kod šest (18,7%) bolesnica registrovani su hipertrofični ožiljci na mestu podizanja režnja (donorna regija) (tabela 2). Kod svih je rađena sekundarna korekcija i postignut je solidan rezultat.

Postoperativno, su praćene sve bolesnice u periodu od 8 do 24 meseca. Ekstruzija implantata i kapsularne kontrakture III i IV stepena nisu registrovane. Kod jedne (3,1%) bolesnice sa primarnom rekonstrukcijom, osam meseci nakon operacije zabeležena je progresija bolesti, multiple metastaze u jetri.

Trideset jedna bolesnica sa rekonstrukcijom dojke sa LDR i implantatom anketirana je u periodu od 6 do 12 meseci nakon operacije, a estetski uspeh ocenjivale su ocenom od 1 do 10; 21 (67,7%) bolesnica ocenila je rezultat rekonstrukcije brojem 9 ili 10 (slike 2a i 2b), a 10 (23,2%) bolesnica dalo je ocenu 7 ili 8 (tabela 3).

Rekonstrukcija dojke autolognim tkivom (*TRAM peteljkastim režnjem*) rađena je kod osam (9,5%) bolesnica, kod svih (100%) kao sekundarna rekonstrukcija (slike 3a i 3b). Režanj je podizan sa peteljkom na suprotnoj strani od ampu-



a) Rezultati rekonstrukcije

b) Davajući region direktno suturiran

Sl. 3a i b – Rekonstrukcija dojke transverzalnim *rectus abdominis* mišićnokožnim (TRAM) režnjem

tirane dojke koju je trebalo rekonstruisati. Rekonstrukcija mioaponeurotičnog defekta davajućeg regiona urađena je direktnom suturom kod četiri bolesnice, a kod četiri je korišćena monofilamentna polipropilenska hirurška mrežica (*hernia mesh*).

Rekonstrukcije mamiloareolarnog kompleksa rađene su slobodnim transplantatom kože uzetim sa unutrašnje strane nadlaktice i lokalnim tkivom rekonstruisane dojke. Operacije su rađene mesec dana nakon prve operacije u lokalnoj anesteziji.

Od neposrednih komplikacija registrovana je parcijalna nekroza režnja kod dve (25,0%) bolesnice, a od kasnih komplikacija registrovana je hernijacija na mestu davajućeg regiona kod tri (37,5%) bolesnice (tabela 2).

Sve bolesnice sa rekonstrukcijom dojke TRAM režnjem anketirane su u periodu 6–12 meseci nakon operacije čiji uspeh su ocenjivale ocenom od 1 do 10. Četiri (50%) bolesnice su rezultat rekonstrukcije ocenile brojem 9 ili 10, a četiri (50%) bolesnice dale su ocenu 7 ili 8 (tabela 3).

Diskusija

Karcinom dojke najčešće je maligno oboljenje žena u Srbiji, pa i najčešći uzrok smrti. Standardizovana stopa incidencije u Srbiji je 56 novoobolelih na 100 000 žena¹⁴. Incidencija ovog oboljenja nije specifičnost za žene u Srbiji, pa slična saopštenja navode i drugi autori. Serletti³, tako, navodi da jedna od sedam žena dobije karcinom.

Rekonstrukcija dojke, nakon mastektomije, u proteklj deceniji postala je sastavni deo terapije karcinoma dojke, s obzirom da je onkološki bezbedna, na šta ukazuje veliki broj saopštenja^{2,3,11}. Rekonstrukcija dojke u Kliničkom centru u Nišu radi se od 1984. godine. Prva rekonstrukcija urađena je sa LDR bez korišćenja implantata. Rezultati rekonstrukcije ovom tehnikom bili su odlični, ali je indikacija za ovu tehniku strogo definisana za rekonstrukcije malih dojki. U daljem radu, počev od 1990. godine, korišćen je implantat, potom LDR sa implantatom za rekonstrukciju manje voluminoznih dojki, a TRAM peteljkastran režanj za sekundarnu rekonstrukciju velikih dojki.

Rekonstrukcija dojke slobodnim mikrovaskularnim režnjemima u našoj klinici nije rađena.

U ovom radu prikazana su iskustva u primarnoj i sekundarnoj rekonstrukciji dojke u periodu od 2004. do 2008. godine kod 84 bolesnice. U navedenom periodu, najčešće rekonstrukcija dojke rađena je implantatima (52,3%), potom sa LDR i implantatom (38%), a najmanje rekonstrukcija urađeno je TRAM peteljkastran režnjem (9,5%). Slične tehnike rekonstrukcije navode i Chang i sar.¹² na seriji od 1000 bolesnica: 77,6% rekonstrukcija je urađeno implantatima, 14,6% sa LDR i implantatom, a 7,8% TRAM režnjem i implantatom.

Primarna rekonstrukcija rađena je kod 65,4%, a sekundarna kod 34,5% bolesnica, mada je u literaturi sve prisutnija tendencija primarne rekonstrukcije dojke^{3,11}.

Rane komplikacije, kao infekcija, parcijalna nekroza režnja, stvaranje seroma i pomeranje implantata registrovane su kod 10 (11,9%) bolesnica, a kasne, kao odbacivanje implantata, stvaranje hipertrofičnih ožiljaka i pojava hernijacija pri korišćenju TRAM režnja u davajućem regionu, registrovane su kod 10 (11,9%) bolesnica. Gubitak implantata verifikovan je kod pet (5,9%) bolesnica. Kod jedne bolesnice (1,1%) registrovana je progresija bolesti, metastaze u jetri. Rane i kasne komplikacije opisuju i drugi autori i navode razlike u komplikacijama zavisno od tehnike kojom je urađena rekonstrukcija^{2,3,5,6,12}.

U periodu od 6 do 12 meseci nakon operacije anketirane su 83 bolesnice sa rekonstrukcijom dojke: 49 (59%) ocenilo je uspeh operacije odličnom ocenom, 20 (24%) vrlo dobrom ocenom, a 14 (16,8%) dobrom ocenom. Preko 83% naših bolesnica bilo je veoma zadovoljno rezultatom rekonstrukcije, a slične rezultate navode i drugi autori^{2-4,12,13}.

Rekonstrukcija dojke korišćenjem implantata tehnički je najjednostavnija metoda rekonstrukcije sa prihvatljivim procentom komplikacija. Ukupan broj komplikacija u našoj seriji od 44 (13,6%) bolesnice nije visok. Drugi autori navode nešto veći broj komplikacija. Tako, Chang i sar.¹² navode 15,2%, a Stralman i sar.² čak 23% komplikacija. Gubitak implantata verifikovan je samo u ovoj grupi bolesnica, i to kod pet (11,3%) slučajeva. Ove komplikacije rešavane su operativno, odstranjenjem implantata i ponovnom rekonstrukcijom dojke. Slične procenite gubitka implantata opisuju i drugi autori^{2,12}. Takođe, samo u ovoj grupi, pored odličnih i vrlo dobrih rezultata, dobili smo i dobre ocene rekonstrukcije

dojke kod 14 (31,8%) bolesnica, što čini 16,6% bolesnica cele serije.

Latissimus dorsi režanj pogodan je za rekonstrukciju dojke jer ima dobru i jasno definisanu vaskularnu peteljku, metoda podizanja reznja je sigurna, a implantat povećava volumen rekonstruisane dojke, tako da se ovom tehnikom postižu odlični rezultati. Odlične rezultate ovom tehnikom opisuju i drugi autori^{5, 12, 15-19}.

Ukupan broj komplikacija u našoj seriji registrovan je kod 10 (31,2%) bolesnica. Neposredne komplikacije, kao hematoma, infekcija i nekroza reznja, u našoj seriji nisu registrovane, a stvaranje seroma registrovano je kod četiri (12,5%) bolesnice, i to na mestu davajućeg regiona. Disa i sar.²⁰ opisuju 22% manjih postoperativnih komplikacija, Chang i sar.¹² 15,2%, a Eriksen i sar.⁵ 21%. Mali broj neposrednih komplikacija u našoj seriji posledica je dobre uvežbanosti hirurškog tima, dobre drenaže i primene antibiotika. Nekroza reznja kod naših bolesnica nije registrovana jer je tehnika podizanja reznja jasno definisana, a i drugi autori opisuju preživljavanje reznja od 100%^{4, 5, 20}. Pomeranje implantata u našoj seriji nije registrovano, jer smo ušivanjem mišićnog dela reznja po celom obodu tačno definisali ležište za implantat, mada drugi autori opisuju sekundarne korekcije položaja implantata zbog pomeranja istog, najčešće prema aksili kod 3-5% bolesnica^{4, 20}.

Kasne komplikacije (hipertrofični ožiljci u predelu davajućeg regiona reznja) registrovane su kod šest (18,7%) bolesnica. Korekcije ožiljaka posle rekonstrukcije LDR opisuju i drugi autori kod 9,3-12% bolesnica^{2, 5}. Ove komplikacije uspešno su rešavane manjim hirurškim korekcijama, tako da nisu uticale na konačni rezultat rekonstrukcije.

U periodu od 5 do 6 meseci nakon završenog hirurškog lečenja anketirana je 31 bolesnica u pogledu uspeha rekonstrukcije i sve su dale vrlo dobru i odličnu ocenu. Ovako ocenjene rezultate smatramo odličnim i vrlo dobrim, posebno zato što nismo imali ekstruziju implantata i kapsularnu kontrakturu III i IV stepena. Chang i sar.¹² opisuju rekonstrukciju dojke LDR i implantatom kod 146 bolesnica i navode da autogni režanj u kombinaciji sa implantatom redukuje komplikacije vezane za korišćenje implantata. McKeown i sar.²¹ navode seriju od 42 bolesnice kod kojih je rađena rekonstrukcija dojke LDR i implantatom, a potom je aplikovana zračna terapija. Sve bolesnice su u sprovedenom istraživanju izjavile da su vrlo zadovoljne rezultatom rekonstrukcije.

Progresija bolesti evidentirana je kod jedne bolesnice, sa smrtnim ishodom godinu dana nakon amputacije i neposredne rekonstrukcije LDR i implantatom.

Rekonstrukcija dojke TRAM peteljkastim reznjem najređe je korišćena u prikazanoj seriji bolesnica. Ukupan broj komplikacija bio je 62,5%, što svakako predstavlja visok procenat i to je uticalo da ovaj režanj nije češće korišćen, mada većina autora navodi znatno češće korišćenje ovog reznja u rekonstrukciji dojke^{2, 12}. Interesantna je konstatacija da je ovaj režanj korišćen samo za sekundarne rekonstrukcije i da su sve bolesnice (kod kojih nisu evidentirane komplikacije i bolesnice sa komplikacijama koje su uspešno rešene) definitivni rezultat rekonstrukcije ocenile vrlo dobrom i odličnom ocenom.

Poslednjih godina opisuju se *skin-sparing* mastektomije sa neposrednom rekonstrukcijom. Ova metoda postaje sve popularnija jer čuva kožu dojke i inframamarnu brazdu²²⁻²⁶. Većina autora navodi da je izbor bolesnica za ovu operativnu tehniku vrlo bitan i preporučuju bolesnice u 0 i I stadijumu bolesti po AJCC²³⁻²⁵. U našoj klinici, *skin-sparing* mastektomija (supkutana mastektomija) rađena je samo kod šest bolesnica i to obostrano, zbog jako izražene displastične bolesti i pozitivne porodične anamneze. Te bolesnice nisu obuhvaćene prikazanom serijom. Bolesnice sa dijagnostikovanim karcinomom dojke insistirale su na radikalnosti operacije sa primarnom ili sekundarnom rekonstrukcijom. Slične komentare iznose i drugi autori²³.

Zaključak

Rekonstrukcija dojke danas je sastavni deo lečenja i rehabilitacije žena sa karcinomom dojke. Neposredna rekonstrukcija daje bolje estetske rezultate, smanjuje troškove lečenja, operacija se izvodi u jednom operativnom aktu i ima psihološke prednosti kod bolesnica. Izbor tehnike rekonstrukcije zavisi od veličine dojki, želje bolesnice i iskustva hirurške ekipe. Rekonstrukcija implantatima najjednostavnija je metoda, ali zato sa velikim brojem komplikacija i gubitkom implantata. Korišćenje TRAM peteljkastog reznja za rekonstrukciju dojke kompleksna je hirurška procedura sa čestim komplikacijama, poput parcijalne nekroze reznja, s obzirom na vaskularizaciju reznja. Tehnika rekonstrukcije LDR sa implantatom sigurna je metoda sa retkim komplikacijama i daje odlične estetske rezultate kod primarne i sekundarne rekonstrukcije. Naša iskustva preporučuju ovu tehniku kao izuzetno dobru alternativu rekonstrukcije autogenim tkivom tipa peteljkastih i slobodnih reznjeva.

L I T E R A T U R A

1. Malata CM, McIntosh SA, Purushotham AD. Immediate breast reconstruction after mastectomy for cancer. *Br J Surg* 2000; 87(11): 1455-72.
2. Strålman K, Mollerup CL, Kristoffersen US, Elberg JJ. Long-term outcome after mastectomy with immediate breast reconstruction. *Acta Oncol* 2008; 47(4): 704-8.
3. Serletti JM. Breast reconstruction with the TRAM flap: pedicled and free. *J Surg Oncol* 2006; 94(6): 532-7.
4. Kim J, Bullock J, Armenta A. Latissimus Dorsi Breast Reconstruction. In: *Section on Plastic and Reconstructive Surgery*. Medicine; 2007. pp. 1-14.
5. Eriksen C, Stark B. The latissimus dorsi flap-still a valuable tool in breast reconstruction: Report of 32 cases. *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery* 2008; 42: 132-7.
6. Nababedian MY, Momen B, Galdino G, Manson PN. Breast Reconstruction with the free TRAM or DIEP flap: patient selection, choice of flap, and outcome. *Plast Reconstr Surg* 2002; 110(2): 466-75.
7. Guerra AB, Metzinger SE, Bidros RS, Gill PS, Dupin CL, Allen RJ. Breast reconstruction with gluteal artery perforator (GAP) flaps: a critical analysis of 142 cases. *Ann Plast Surg* 2004; 52(2): 118-25.

8. *Feller AM, Richter-Heine I, Rudolf KD.* The superior gluteal artery perforator flap (S-GAP-Flap). *Handchir Mikrochir Plast Chir* 2002; 34(4): 257–61. (German)
9. *Allen RJ, Levine JL, Granzow JW.* The in-the-crease inferior gluteal artery perforator flap for breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 2006; 118(2): 333–9.
10. *Wechselberger G, Schoeller T.* The transverse myocutaneous gracilis free flap: a valuable tissue source in autologous breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 2004; 114(1): 69–73.
11. *Knight MA, Nguyen DT 4th, Kobayashi MR, Evans GR.* Institutional review of free TRAM flap breast reconstruction. *Ann Plast Surg* 2006; 56(6): 593–8.
12. *Chang DW, Barnea Y, Robb GL.* Effects of an autologous flap combined with an implant for breast reconstruction: an evaluation of 1000 consecutive reconstructions of previously irradiated breasts. *Plast Reconstr Surg* 2008; 122(2): 356–62.
13. *Rezaei M, Darsow M, Kummel S, Kramer S.* Autologous and alloplastic breast reconstruction-overview of techniques, indications and results. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch* 2008; 48(2): 68–75.
14. *Hospital Center for Cancer.* Report for 2003. Belgrade: Department for Epidemiology and Prevention, Institute for Oncology and Radiology; 2004. (Serbian)
15. *Olivari N.* Use of thirty latissimus dorsi flaps. *Plast Reconstr Surg* 1979; 64(5): 654–61.
16. *Bostwick J.* 3rd. Latissimus dorsi flap: current applications. *Ann Plast Surg* 1982; 9(5): 377–80.
17. *Modena S, Mangiante G, Querci della Rovere G.* Breast reconstruction with the latissimus dorsi myocutaneous flap. *Oncoplastic and Reconstructive Surgery of the Breast* 2004; 11(3): 63–76.
18. *Yildirim S, Calikapan GT, Akoç T.* Reconstructive microsurgery in pediatric population-a series of 25 patients. *Microsurgery* 2008; 28(2): 99–107.
19. *Serletti JM, Higgins J, Carras AJ.* Free latissimus dorsi myocutaneous flap for secondary breast reconstruction after partial loss of a TRAM flap. *Plast Reconstr Surg* 1997; 100(3): 690–4.
20. *Disa JJ, McCarthy CM, Mebrara BJ, Pusic AL, Cordeiro PG.* Immediate latissimus dorsi/prosthetic breast reconstruction following salvage mastectomy after failed lumpectomy/irradiation. *Plast Reconstr Surg* 2008; 121(4): 159e–64e.
21. *McKeown DJ, Hogg FJ, Brown IM, Walker MJ, Scott JR, Weiler-Mithoff EM.* The timing of autologous latissimus dorsi breast reconstruction and effect of radiotherapy on outcome. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2009; 62(4): 488–93.
22. *Foster RD, Esserman LJ, Anthony JP, Hwang ES, Do H.* Skin-sparing mastectomy and immediate breast reconstruction: a prospective cohort study for the treatment of advanced stages of breast carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2002; 9(5): 462–6.
23. *Sotheran WJ, Rainsbury RM.* Skin-sparing mastectomy in the UK-a review of current practice. *Ann R Coll Surg Engl* 2004; 86(2): 82–6.
24. *Downes KJ, Glatt BS, Kanchwala SK, Mick R, Fraker DL, Fox KR, et al.* Skin-sparing mastectomy and immediate reconstruction is an acceptable treatment option for patients with high-risk breast carcinoma. *Cancer* 2005; 103(5): 906–13.
25. *Omrani-pour R, Bobin JY, Esouyeh M.* Skin sparing mastectomy and immediate breast reconstruction (SSMIR) for early breast cancer: eight years single institution experience. *World J Surg Oncol* 2008; 6: 43.
26. *Yano K, Hosokawa K, Masuoka T, Matsuda K, Takada A, Taguchi T, et al.* Options for immediate breast reconstruction following skin-sparing mastectomy. *Breast Cancer* 2007; 14(4): 406–13.

Rad primljen 25. IX 2008.

Zymbaktar

klaritromicin

125 mg/5 ml, 100 ml

sirup

JKL 3 32 5 057

250 mg/5 ml, 100 ml

sirup

JKL 3 32 5 058

ATC: J01FA09

- **Sirup sa ukusom vanile**
„Taste masking“ granule - prikriven neprijatan miris i gorak ukus klaritromicina
- **Doziranje 2x dnevno**
Precizno odmeravanje sa kašičicom oblika menzure
- **Indikovani kod:**
 - Infekcija gornjeg i donjeg respiratornog trakta
 - Infekcija kože i mekih tkiva
 - Akutnog zapaljenja srednjeg uha





Incidence and treatment outcome of oral lichen planus in southeast Serbia in a 10-year period (1997–2007)

Incidencija i ishod lečenja oralnog lihen planusa u jugoistočnoj Srbiji u desetogodišnjem periodu (1997–2007)

Ljiljana Kesić*, Radmila Obradović*, Dragan Mihailović†, Goran Radičević‡, Saša Stanković¶, Kosta Todorović§

School of Medicine, *Department for Oral Medicine and Periodontology, †Department for Pathology; Dental Clinic, ‡Department for Endodontics, ¶Department for Prosthetic Dentistry, §Department of Oral Surgery, Niš, Serbia

Abstract

Background/Aim. Lichen planus is a chronic, immunologic, mucocutaneous disease with a wide range of clinical manifestations. The aim of this retrospective study was to evaluate the most common forms of oral lichen planus (OLP) and its symptoms and to describe treatment responses in patients during 10-year period. **Methods.** The study was conducted on 163 OLP patients who came in the Department of Oral medicine and Periodontology between 1997 and September 2007. Each case was classified into one of four clinical subtypes: reticular, atrophic, erosive-ulcerative, bullous. **Results.** There was no significant difference in patients age. Women were found to be significantly more likely to have OLP ($p < 0.001$). Corticosteroids were effective in reducing symptoms, erythema and healing ulcers. Improvement was shown over a long term in 61.35% patients. Over the long term 38.65% patients maintained the same type of OLP or it became a more severe type. Two patients (1.22%) developed oral carcinoma during the follow-up period. **Conclusion.** The response of patients with erosive OLP to a short course of systemic corticosteroids often was quite remarkable. However, symptoms and signs tended to recur after this treatment. Periodic examinations, patient education, medical treatment, monitoring of side-effects as well as follow-up biopsies are necessary for management of OLP patients.

Key words:

lichen planus, oral; mouth neoplasms; drug therapy; treatment outcome.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Lihen planus je hronično, imunološko, mukokutano oboljenje sa brojnim kliničkim manifestacijama. Cilj ovog retrospektivnog istraživanja bio je da se utvrde najučestaliji oblici oralnog lihen planusa (OLP) i njegovih simptoma, te opišu reakcije na primenjenu terapiju kod bolesnika u periodu od 10 godina. **Metode.** Istraživanjem je obuhvaćeno 163 bolesnika sa OLP koji su se javili u Odeljenje za oralnu medicinu i parodontologiju u vremenskom periodu od 1997. godine do septembra 2007. godine. Svaki slučaj klasifikovan je u jedan od četiri klinička oblika: retikularni, atrofični, erozivnoulcerozni i bulozni. **Rezultati.** Nije postojala statistički značajna razlika u starosti bolesnika. Uočeno je da žene češće imaju OLP ($p < 0,001$). Primena kortikosteroida uspešno je smanjivala simptome, eritem i ulceracije. Poboljšanje stanja uočeno je kroz duži vremenski period kod 61,35% bolesnika. Kroz isti vremenski period 38,65% bolesnika zadržalo je isti oblik OLP ili je on prešao u teži oblik. Kod dva (1,22%) bolesnika razvio se karcinom. **Zaključak.** Reakcija bolesnika sa erozivnim OLP na kratkotrajnu sistemsku primenu kortikosteroida veoma je dobra. Ipak, simptomi i znaci oboljenja imaju tendenciju ponovnog pojavljivanja nakon prestanka terapije. Kako bi se pravilno lečili bolesnici sa OLP, neophodno je primeniti periodična ispitivanja, edukaciju bolesnika, medicinsku terapiju, praćenje pojave neželjenih efekata i, kada je potrebno, uzeti biopsiju tkiva.

Ključne reči:

lihen planus, oralni; usta, neoplazme; lečenje lekovima; lečenje, ishod.

Introduction

Lichen planus is a chronic, immunologic, mucocutaneous disease with a wide range of clinical manifestations^{1,2}. The oral mucosa commonly is involved and may be the only

site of involvement. Oral lichen planus (OLP) is a relatively common disorder, estimated to affect 0.5% to about 4.0% of the general population³⁻⁸. Oral lichen planus is found more frequently in women, and the onset occurs often after the fourth decade of life⁹. The major types of OLP are the fol-

lowing: reticular, atrophic, erosive-ulcerative, bullous and pigmentosus form^{10,11}.

Oral lichen planus can develop on any mucosal surface, including the lips, but most frequently develops on the buccal mucosa. The lesions are often bilateral and develop on more than one mucosal surface. However, the presentation can be limited to one site. Although OLP seldom goes into remission, progression of erosive-ulcerative form to cancer is infrequent.

Many retrospective and prospective studies, have suggested that OLP has potential for malignant development^{12-22, 23-25}. Since OLP is considered a premalignant condition, a recall system for OLP patients has been recommended to facilitate the early diagnosis of oral cancer. (The aim of this recall system was to reduce morbidity and mortality from oral cancer arising in OLP patients).

Treatment is administered primarily to control symptoms, since there is no established cure. Symptoms can range from none, with the patient being unaware of the presence of intraoral lesions, to extremely painful lesions, which may interfere greatly with eating and thus significantly affect the quality of life. Close follow-up is suggested, not only to monitor medications for discomfort, but because of an established risk of squamous-cell carcinoma developing in areas of OLP^{24, 26}. Systemic and topical corticosteroids have been the most reproducibly effective medications to control symptoms and signs of the disease²⁷. Localized oral lesions are treated with topical corticosteroids, applied two or four times daily after meals. Generalized oral lesions are often treated effectively with a steroid mouth rinse twice daily after meals. *Candida albicans* superinfection, which may accompany any immunosuppressive therapy, should be controlled with topical antimycotics, especially in risk groups such as xerostomics²⁸. Treatment of OLP with cyclosporin, azathioprine, levamisole, griseofulvin, retinoids, hydroxychloroquine sulphate, dapson and psoralen/UVA, topical vitamin A, laser/surgical removal has been reported²⁹⁻³³. Twice daily topical application of compounded 0.1% tacrolimus ointment was recently reported to be effective in controlling symptoms, as well as clearing lesions of OLP^{10, 34, 35}. Tacrolimus is a macrolide immunosuppressant with a mechanism of action similar to that of cyclosporine, but is 10 to 100 times more potent and is better able to penetrate the mucosal surface^{10, 35}.

The aim of this retrospective study was to evaluate the most common forms of OLP and its symptoms and describe treatment responses in patients with OLP who were referred and examined in our oral medicine department during a 10-year period.

Methods

A total of 163 OLP patients were seen by the two doctors in the Department of Oral medicine and Periodontology, Dental Clinic, School of Medicine Niš, Serbia, between 1997 and 2007. The examined patients originated from southeast Serbia which includes Vranje, Leskovac, Pirot, Dimitrovgrad, Prokuplje and smaller towns and villages in this

area. The group included patients who were being seen for the first time, as well as the patients attending for a follow-up visit.

At the first clinic visit, the following information from each patient were collected: age, sex, medical history, family history and social history, initial clinical presentation, treatments rendered, responses to treatment, side effects and changes in clinical presentation over time. Each case was classified into one of four clinical subtypes: reticular, atrophic, erosive-ulcerative, bullous.

The OLP diagnosis was based on clinical (Figures 1 and 2) and histopathologic findings (Figure 3). The histopathologic features of OLP include several epithelial changes: epithelial hyperkeratosis, atrophy or hyperplasia, acantosis, saw-toothed rete ridges, liquefaction degeneration of basal cells, and single-cell keratinization. A homogeneous cell-free zone is frequently present in the basement membrane zone. The subepithelial connective tissue shows a band-like inflammatory infiltrate dominated by lymphocytes and macrophages. Biopsy is an important tool in the diagnostic process for OLP, but a diagnosis of OLP based solely on histopathology in some cases leads to wrong results. Due to this we combined biopsy (histopathologic results) and clinical criteria.



Fig. 1 – Oral lichen planus reticular form.



Fig. 2 – Oral lichen planus erosive-ulcerative form (ulcerative lesion surrounded with reticular white striations, on the left buccal mucosa).

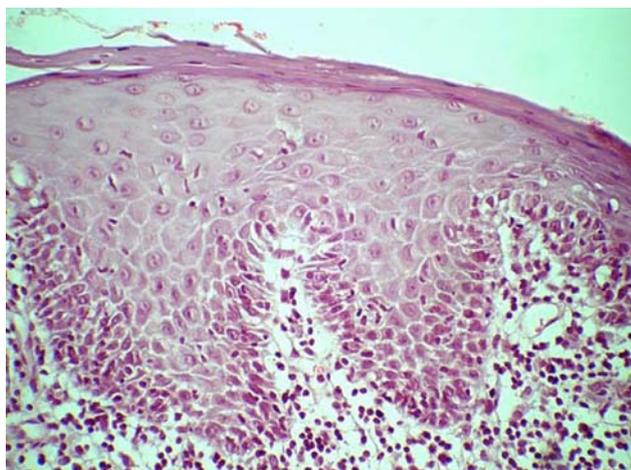


Fig. 3 – Lichen planus: acanthosis, parakeratinization and degeneration of basal cells; HE, ×100.

Results

All the patients with the diagnosis of OLP who were seen between 1997 and September 2007 were included in the study.

There was no significant difference in patients age between clinical subtypes. Women were found to be significantly more affected by OLP than men ($p < 0.001$). Especially, the reticular ($p < 0.05$) and atrophic ($p < 0.01$) types of OLP were predominant in women (Table 1). Overall, the

topical corticoid application we used a liquid medicament form (solution Dexason-Neomycin®) or spray (spray Kenalog S®, spray Geocorton®). The patients were instructed to apply this medicament to the lesions three to four times daily for 7–14 days (depending on severity of lesions). Prednisone was a systemic corticosteroid used, which we administered in one or two doses a day, for a total daily dosage ranging from 20 to 80 milligrams. These were administered primarily for erosive-ulcerative OLP and severe pain.

We followed short-term and long-term responses to treatment. Short-term response (one or two weeks after starting the treatment) was: treatment was effective in reducing symptoms of OLP and in healing ulcers and reducing enanthema. However, symptoms and signs tended to recur after this treatment. Improvement was shown over long term in 61.35% of the patients, especially in reducing symptoms of OLP. The patients emphasized the improved quality of life during medicament therapy (topical steroids occasionally). Complete spontaneous remission (no symptoms and no clinical evidence of disease) without treatment was not noticed. Over a long term 38.65% patients maintained the same type of OLP or it became a more severe type. Namely, 24 (15.12%) patients had the same reticular type of OLP, 22 (13.86%) showed the atrophic type, as well as 15 (9.45%) had a more severe type – erosive-ulcerative. Two patients (1.22%) developed oral carcinoma during the follow-up period. The sites of oral carcinoma were at buccal mucosa in OLP lesions.

Table 1

Distribution of age and sex for patients with each type of oral lichen planus (OLP)

OLP type at first clinical visit	Women n (%)	Age (year) $\bar{x} \pm SD$	Men n (%)	Age (year) $\bar{x} \pm SD$	All patients n (%)	Age (year) $\bar{x} \pm SD$
Reticular	56 (70.00)	52.44 ± 16.78	24 (30.00)	50.95 ± 17.23	80 (49.08)	51.70 ± 16.24
Atrophic	32 (80.00)	56.24 ± 12.89	8 (20.00)	55.95 ± 13.61	40 (24.54)	56.10 ± 14.60
Erosive-ulcerative	25 (59.52)	55.64 ± 14.80	17 (40.48)	55.96 ± 16.22	42 (25.77)	55.80 ± 15.20
Bullous	1 (100.00)	58.00 ± 0.00	0 (0.00)	–	1 (0.61)	58.00 ± 0.00
Total	114 (69.94)	54.26 ± 13.61	49 (30.06)	53.50 ± 15.20	163 (100.00)	53.90 ± 15.36

reticular type of OLP was dominant, significantly more than atrophic, erosive-ulcerative and bullous type of OLP ($p < 0.001$). Both men and women, were found to be significantly more likely to have the reticular type of OLP than atrophic ($p < 0.01$) and bullous types ($p < 0.001$).

Associated diseases at the initial clinic visit were as follows: diabetes 4.9%, history of hypertension 22%, immunopathic diseases 2%. Family history was known for 28% patients; of these 3% had blood relatives with known OLP, and the rest did not know of any relatives who had OLP.

The patients reported taking the following medications: 3.8% anti-diabetic drugs, 22% antihypertensive drugs, 9% antidepressants. Totally 48% of the patients reported in their medical history that they had some type of allergy, including sensitivities to foods, drugs, pollen, gold, iodine, nickel.

The treatment was offered to control the symptoms, and in the case of erosive-ulcerative OLP, to heal ulcers. For

Discussion

In the last decade, there have been a number of follow-up OLP studies. In 1991, Silverman et al.²² reported a series of 214 patients with OLP followed up a mean period of 7.5 years, during which time 5 patients had developed squamous cell carcinoma in the OLP site. In 1993, Barnard et al.³⁶ reported on a series of 241 patients with OLP followed up for 10 years, with 8 patients developing squamous cell carcinoma and another developing carcinoma in situ. In 1997, Silverman and Bahl¹³ reported that 3 of 95 patients followed up for a mean of 6.1 years developed squamous cell carcinoma. In another study, Silverman²⁶ reported malignant transformation in 3.2% of patients with OLP. Gandolfo et al.³⁷ reported that 9 of 402 patients followed up for a mean of 4.9 years developed squamous cell carcinoma. Our findings are in accordance with these reports.

Our findings are in accordance with those of several authors who reported that malignant transformations are more

likely to occur in atrophic and erosive-ulcerose lesions, because all the malignancies in the present study developed in erosive and atrophic lesions. Because of all these reasons, periodic follow-up examinations (2–4 times annually) are important²². Early detection of premalignant lesions and small oral cancers will allow patients to be treated earlier³⁸. Also, OLP patients should be instructed to report clinical changes in the condition and to come to regular follow-up appointments³⁹.

Because OLP is an incurable disease, treating symptoms is extremely important in addressing quality-of-life issues. Use of the required potent medications always involves a consideration of drug benefits weighed against potential adverse side effects. Therefore, systemic corticosteroids were used cautiously and with discretion. However, according to our objective assessments, the combination of systemic and topical corticosteroid regimens over time can offer significant benefits with minimal risk of unpleasant side effects.

The choice of treatment obviously depends on the severity of discomfort, the patient's overall health and compliance issues. However, initial short course of systemic corticosteroids had the advantages of predictability, ease of compliance and patient optimism necessary for a positive long-term outlook in regard to living with erosive OLP. In some patients (17%), occasional short-term daily dosages of systemic prednisone were sufficient for adequate clinical control of symptoms⁴⁰. In other patients (83%), fairly regular topical applications were both necessary and effective for the desired control of discomfort³⁷. The schedule for using topical steroids in our study varied between patients since the goal of treatment was acceptable comfort and compliance with application regimens. Drug tolerance and eventual therapeutic ineffectiveness with daily use of topical steroids have not been found.

Medical considerations in patients receiving long-term systemic prednisone include calcium supplements to minimize bone loss, potassium for diuresis, glucose control, monitoring blood pressure and ophthalmogenic examinations. In this study, fungal overgrowth of normal oral flora

by *Candida* leading to candidiasis was infrequent (24%), and was associated primarily with the use of topical corticosteroids. This can be explained by the local conversion of epithelial cell glycogen to glucose, which selectively nurtures candidal proliferation. Topical antifungals controlled this occasional problem.

Following the long-term outcomes for patients with OLP, it is clear that symptoms persist indefinitely. However, it is also evident that judicious use of systemic corticosteroids, topical steroids or both are more beneficial than detrimental in improving patients' quality of life, which is often so diminished by pain and uncertainty associated with OLP. For example, after a long-term follow-up of our patients with the most severe form of OLP (erosive-ulcerative), the percentage with moderate-to-severe pain was reduced from 90 to 35%. It is also apparent that in 61.35% patients, the signs and form of OLP were reduced to less severe types as a result of corticosteroid treatment. Erosive-ulcerative and atrophic lesions can be converted into reticular lesions using topical steroids. Hence, treatment of erosive and atrophic lesions with topical steroids may reduce the risk of oral cancer. OLP patients should be advised that a nutritious diet including fresh fruit and vegetables (antioxidants) may help reduce the risk of oral cancer. Due to the potential role of *Candida albicans* in the development of oral cancer, fungal superinfection should be eliminated with topical antimycotics^{5, 9, 14, 18, 23, 27, 28, 33, 40}.

Conclusion

The response of patients with erosive OLP to a short course of systemic corticosteroids often was quite remarkable. However, symptoms and signs tended to recur after this treatment. Periodic examinations, patient education, medical treatment, monitoring of side-effects as well as follow-up biopsies are necessary for management of OLP patients.

R E F E R E N C E S

1. Porter SR, Kirby A, Olsen I, Barrett W. Immunologic aspects of dermal and oral lichen planus: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997; 83(3): 358–66.
2. Eisen D. The evaluation of cutaneous, genital, scalp, nail, esophageal, and ocular involvement in patients with oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999; 88(4): 431–6.
3. Miller CS, Epstein JB, Hall EH, Sirois D. Changing oral care needs in the United States: the continuing need for oral medicine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 91(1): 34–44.
4. McCreary CE, McCartan BE. Clinical management of oral lichen planus. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1999; 37(5): 338–43.
5. Axéll T, Rundquist L. Oral lichen planus—a demographic study. *Community Dent Oral Epidemiol* 1987; 15(1): 52–6.
6. Bowers KE, Sexton J, Sugarman PB. Commentary. *Clin Dermatol* 2000; 18(5): 497–8.
7. Lodi G, Scully C, Carrozzzo M, Griffiths M, Sugarman PB, Thongprasom K. Current controversies in oral lichen planus: report of an international consensus meeting. Part 1. Viral infections and etiopathogenesis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 100(1): 40–51.
8. Scully C, Beyli M, Ferreira MC, Ficarra G, Gill Y, Griffiths M, et al. Update on oral lichen planus: etiopathogenesis and management. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9(1): 86–122.
9. Edwards PC, Kelsch R. Oral lichen planus: clinical presentation and management. *J Can Dent Assoc* 2002; 68(8): 494–9.
10. Thorn JJ, Holmstrup P, Rindum J, Pindborg JJ. Course of various clinical forms of oral lichen planus. A prospective follow-up study of 611 patients. *J Oral Pathol* 1988; 17(5): 213–8.
11. Sugarman PB, Savage NW, Walsh LJ, Zhao ZZ, Zhou XJ, Khan A, et al. The pathogenesis of oral lichen planus. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13(4): 350–65.
12. Brown RS, Bottomley WK, Puente E, Lavigne GJ. A retrospective evaluation of 193 patients with oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1993; 22(2): 69–72.
13. Silverman S Jr, Babl S. Oral lichen planus update: clinical characteristics, treatment responses, and malignant transformation. *Am J Dent* 1997; 10(6): 259–63.

14. Rajentheran R, McLean NR, Kelly CG, Reed MF, Nolan A. Malignant transformation of oral lichen planus. *Eur J Surg Oncol* 1999; 25(5): 520–3.
15. Katz RW, Ibrahim JS, Travis WD. Oral squamous cell carcinoma arising in a patient with long-standing lichen planus. A case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 70(3): 282–5.
16. Porter SR, Lodi G, Chandler K, Kumar N. Development of squamous cell carcinoma in hepatitis C virus-associated lichen planus. *Oral Oncol* 1997; 33(1): 58–9.
17. Chainani-Wu N, Silverman S Jr, Lozada-Nur F, Mayer P, Watson JJ. Oral lichen planus: patient profile, disease progression and treatment responses. *J Am Dent Assoc* 2001; 132(7): 901–9.
18. Rode M, Kogoj-Rode M. Malignant potential of the reticular form of oral lichen planus over a 25-year observation period in 55 patients from Slovenia. *J Oral Sci* 2002; 44(2): 109–11.
19. Eisen D. The clinical features, malignant potential, and systemic associations of oral lichen planus: a study of 723 patients. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46(2): 207–14.
20. Rödström PO, Jontell M, Mattsson U, Holmberg E. Cancer and oral lichen planus in a Swedish population. *Oral Oncol* 2004; 40(2): 131–8.
21. Mignogna MD, Lo Muzio L, Lo Russo L, Fedele S, Ruoppo E, Bucchi E. Clinical guidelines in early detection of oral squamous cell carcinoma arising in oral lichen planus: a 5-year experience. *Oral Oncol* 2001; 37(3): 262–7.
22. Silverman S Jr, Gorsky M, Lozada-Nur F, Giannotti K. A prospective study of findings and management in 214 patients with oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 72(6): 665–70.
23. van der Meij EH, Schepman KP, Smeets LE, van der Wal JE, Bezemer PD, van der Waal I. A review of the recent literature regarding malignant transformation of oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999; 88(3): 307–10.
24. Holmstrup P, Thorn JJ, Rindum J, Pindborg JJ. Malignant development of lichen planus-affected oral mucosa. *J Oral Pathol* 1988; 17(5): 219–25.
25. Silverman S Jr. Oral lichen planus: a potentially premalignant lesion. *J Oral Maxillofac Surg* 2000; 58(11): 1286–8.
26. Silverman S Jr, Lozada-Nur F, Migliorati C. Clinical efficacy of prednisone in the treatment of patients with oral inflammatory ulcerative diseases: a study of fifty-five patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1985; 59(4): 360–3.
27. Sugarman PB, Savage NW. Oral lichen planus: causes, diagnosis and management. *Aust Dent J* 2002; 47(4): 290–7.
28. Taneja A, Taylor CR. Narrow-band UVB for lichen planus treatment. *Int J Dermatol* 2002; 41(5): 282–3.
29. Schoelch ML, Sekandari N, Regezi JA, Silverman S Jr. Laser management of oral leukoplakias: a follow-up study of 70 patients. *Laryngoscope* 1999; 109(6): 949–53.
30. Zouboulis CC. Retinoids-which dermatological indications will benefit in the near future?. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2001; 14(5): 303–15.
31. White JM, Chaudhry SI, Kudler JJ, Sekandari N, Schoelch ML, Silverman S Jr. Nd:YAG and CO₂ laser therapy of oral mucosal lesions. *J Clin Laser Med Surg* 1998; 16(6): 299–304.
32. Epstein JB, Wan LS, Gorsky M, Zhang L. Oral lichen planus: progress in understanding its malignant potential and the implications for clinical management. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 96(1): 32–7.
33. Rozycki TW, Rogers RS 3rd, Pittelkow MR, McEvoy MT, el-Azhary RA, Bruce AJ, et al. Topical tacrolimus in the treatment of symptomatic oral lichen planus: a series of 13 patients. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46(1): 27–34.
34. Pindborg JJ, Reichart PA, Smith CJ, van der Waal I. Adenoid squamous cell carcinoma. In: Pindborg JJ, Reichart PA, Smith CJ, van der Waal I, editors. WHO histological typing of cancer and precancer of the oral mucosa. 2. New York: Springer, Heidelberg; 1997. p. 15.
35. Kaliakatsou F, Hodgson TA, Lewsey JD, Hegarty AM, Murphy AG, Porter SR. Management of recalcitrant ulcerative oral lichen planus with topical tacrolimus. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46(1): 35–41.
36. Barnard NA, Scully C, Eveson JW, Cunningham S, Porter SR. Oral cancer development in patients with oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1993; 22(9): 421–4.
37. Gandolfo S, Richiardi L, Carrozzzo M, Broccoletti R, Carbone M, Pagano M, et al. Risk of oral squamous cell carcinoma in 402 patients with oral lichen planus: a follow-up study in an Italian population. *Oral Oncol* 2004; 40(1): 77–83.
38. Zakrzewska JM. Fortnightly review: oral cancer. *BMJ* 1999; 318(7190): 1051–4.
39. Mattsson U, Jontell M, Holmstrup P. Oral lichen planus and malignant transformation: is a recall of patients justified?. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13(5): 390–6.
40. McCartan B, McCreary C. What is the rationale for treating oral lichen planus. *Oral Dis* 1999; 5(3): 181–2.

The paper received on October 21, 2008.



Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression in patients with carcinoma of the mouth floor and tongue

Klinički značaj ekspresije vaskularnog endotelnog faktora rasta kod bolesnika sa karcinomom poda usne duplje i jezika

Miroslav Bročić*, Ružica Kozomara*, Snežana Cerović†, Nebojša Jović*,
Slobodanka Vukelić-Marković*, Srboljub Stošić*

Military Medical Academy, *Clinic for Maxillofacial, Oral Surgery and Implantology,

†Institute of Pathology, Belgrade, Serbia

Abstract

Background/Aim. Although there are several types of malignant oral cancers, more than 90% of all diagnosed oral cancers are squamous cell carcinoma (OSCC). Angiogenesis is a cascade-like mechanism which is essential for tumor growth and metastasis. Therefore, vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in OSCC and its effect on clinicopathological characteristics and prognosis is of major interest. So far researches have shown that increased expression of this gene, in other words enhanced synthesis of this protein (VEGF), independently on other factors, increases a chance for local relapse, and distant metastasis. Consequently, patients with OSCC have poor disease-free survival, as well as poor overall survival. The aim of the study was to determine clinical significance of VEGF expression in patients with stage II and III OSCC. **Methods.** This retrospective study analysed 40 patients who had been operated for OSCC of their tongue and the mouth floor. Of these patients, some had stage II and III OSCC with histological grade, G1-G3 and nuclear grade Ng1-Ng3. Two high quality tissue samples were obtained and immunohistochemical expression of VEGF was quantitatively determined by using high microscope amplification. The value of VEGF expression of 20% was rated as significant expression, whereas tumor cells reactivation less than 20% was considered very low or no expression at all. The patients were followed up for a 3-year period. **Results.** The obtained results showed that 11 (17.5%) patients had VEGF expression less than 20% and 29 (82.5%) above 20%. A statistical significance was immanent with positive nodal status ($p < 0.05$) and disease stage ($p < 0.05$). No statistical correlation was found between the level of VEGF expression and histological and nuclear grade, tumor size, disease relapse or patients overall survival. **Conclusion.** In spite of the controversy about the prognostic relevance of VEGF our results as well as the results of previous studies, suggest that the expression of VEGF is not reliable as a clinical parameter for the prognosis and disease outcome but it is one of the important factors for the disease progression.

Key words:

vascular endothelial growth factors; carcinoma, squamous cell; disease progression; prognosis.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Iako postoji nekoliko vrsta malignih oralnih tumora, više od 90% svih dijagnostikovanih oralnih karcinoma čini karcinom skvamoznih ćelija (*oral squamous cell carcinoma* – OSCC). Angiogenezu predstavlja kaskadni mehanizam koji je važan za razvoj tumora i metastaza. Stoga, ekspresija vaskularnog endotelnog faktora rasta (*vascular endothelial growth factor* – VEGF) kod OSCC i njegov uticaj na kliničkopatološke karakteristike i prognozu imaju poseban značaj. Dosadašnja istraživanja pokazala su da povećana ekspresija ovog gena, tj. povećana sinteza ovog proteina (VEGF) uvećava šanse za lokalnim relapsom i udaljenim metastazama nezavisno od ostalih faktora. Sledstveno tome, bolesnici sa OSCC imaju lošu prognozu preživljavanja. Cilj studije bio je da utvrdi klinički značaj ekspresije VEGF kod bolesnika sa OSCC stadijuma bolesti II i III. **Metode.** Ovom retrospektivnom studijom analizirano je 40 bolesnika operisanih zbog OSCC jezika i poda usne duplje. Neki od njih bili su stadijuma bolesti II i III OSCC histološkog stepena G1-G3 i nuklearnog Ng1-Ng3. Dobijena su dva visokokvalitetna uzorka tkiva, te je kvantitativno utvrđena imunohistoheimijska ekspresija VEGF uz primenu uvećanja mikroskopom. Vrednost ekspresije VEGF od 20% rangirana je kao značajna, dok je reaktiviranje ćelija tumora ispod 20% smatrano veoma niskim ili se uopšte nije smatralo ekspresijom. Bolesnici su praćeni tri godine. **Rezultati.** Analizom parametara utvrđeno je da je 11 (17,5%) bolesnika imalo ekspresiju VEGF ispod 20%, dok je 29 (82,5%) imalo iznad 20%. Statistička značajnost postojala je kod pozitivnog nodusnog statusa ($p < 0,05$) i stadijuma bolesti ($p < 0,05$). Nije nađena statistički značajna korelacija između stepena ekspresije VEGF i histološkog i nuklearnog gradusa, veličine tumora, relapsa bolesti, niti ukupnog preživljavanja bolesnika. **Zaključak.** Iako je prognostički značaj VEGF kontroverzan, rezultati ove studije, kao i prethodnih ukazuju da ekspresija VEGF nije klinički pouzdan parametar prognoze i ishoda bolesti, ali jeste važan faktor progresije bolesti.

Ključne reči:

vaskularni endotelni faktori rasta; karcinom, skvamocelularni; usta, neoplazme; bolest, progresija; prognoza.

Introduction

The etiology of oral squamous cell carcinoma (OSCC) is not well known. Major risk factors for OSCC are smoking, alcohol use, poor oral hygiene, oral human papillomavirus (HPV), AIDS and any other chronic irritation, such as chronic infections, dental caries, etc¹⁻⁴. The hallmark of squamous cell carcinoma is its fast and infiltrative growth, invasion and destruction of adjacent structure, and very high potential for metastatic lymphatic and haematogenous spread.

There is a widespread opinion that malignancy development is multifactorial in which environmental and genetic cofactors influence on molecular and genetic alterations of the cell⁵⁻⁷.

Despite advancement in diagnostics, surgical technique and postsurgical oncologic protocols, it is shown in the past thirty years that a 5-year survival rate in patients with OSCC is approximately 50%². Therefore, ongoing efforts to answer the questions regarding biological effect of this malignant tumor still persist.

The main goals of up-to-date research are to find the algorithm that will help in understanding process of cancerogenesis and to find specific biomarkers which will facilitate accurate identification of disease progression and outcome, as well as specific agents that will help in treatment of OSCC. A number of genetic and genetically regulatory factors have been recognized showing important roles in cancerogenesis and regulated by a balance between angiogenic stimulators and inhibitors. Among them, there are multiple growth factors and their receptors⁸. It is well known that neovascularization is the main contributory factor for tumor growth.

One of the most potent proangiogenic factors is vascular endothelial growth factor (VEGF). VEGF and its receptors play important role in both pathological and normal angiogenesis.

Activation of VEGF and its receptors promote a cascade in intracellular signaling to stimulate endothelial cell mitogenesis, cell migration and differentiation, vascular permeability and enhancing mobilisation of endothelial progenitor cells from the bone marrow to peripheral circulation⁹⁻¹¹.

VEGF family consists of seven different types: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F placental growth factor – 1 and – 2 (PlGF).

VEGF mediates their angiogenic effects by binding to specific VEGF receptors. VEGF receptors vary among the three primary receptors; VEGFR-1, -2, -3. All of them are type III receptor tyrosine kinases¹². VEGF has an important role in neovascularization of oral carcinoma, and its metastasis being a potent predictor in disease progression¹³⁻²⁹.

Based on previous acknowledgement regarding VEGF role in molecular cancerogenesis in OSCC, we hypothesized that patients with carcinoma of the mouth floor and tongue stage II and III an increased VEGF expression could have frequent local and/or regional disease relapse and shorter overall survival as compared to patients with no evidence of VEGF expression.

The aim of this study was to assess the level of VEGF expression in tumor tissues in all patients with OSCC of the mouth floor and tongue stage II and III, to evaluate the rate of VEGF expression in correlation with local and regional disease relapse, and incidence of distant metastasis, as well as a 3-year survival rate, and to investigate a relationship between the level of VEGF expression with histological type and tumor grading.

Methods

In the retrospective study we analysed 40 patients operated on in a period between July 2001 and May 2003 at the Maxillofacial Clinic in the Clinic for Oral and Maxillofacial Surgery, Military Medical Academy, Belgrade. All of those patients were operated for OSCC of their tongue and the mouth floor (stage II and III OSCC with histological grade G1-G3 and nuclear grade Ng1-Ng3).

Each of them underwent postsurgical radiation therapy according to the protocol for this type of cancer and had a regular 3-year follow-up. The patients were analysed based on their age, sex, their general well-being (Karnofsky scale), cigarette smoking, alcohol consuming, and oral hygiene status.

Clinical parameters relevant for the disease course follow-up included identification of cancer staging (TNM), tumor characteristics (size, location, histological and nuclear grading), type of surgical procedure and postoperative period. Regarding the therapy effectiveness in terms of the appearance of local recidives, regional and/or distant metastasis, as for length of disease remission and patients overall survival, we compared two categories: patients with VEGF expression of $\leq 20\%$, and another with VEGF expression $> 20\%$ in their tumor tissue.

Pathohistological parameters

All tissue samples were processed by using the macroscopic topographic method for diagnosing a type, grade and postoperative-pathologic staging based on TNM classification³⁰. The tissue specimens obtained from tumor resection and from lymphatic nodes were fixed by 5% puffer formalin, inserted into paraffin blocks and sliced to 4 μm . Tissue specimens were processed in a Sakura V.I.P. machine apparatus designed for automatic fixation, dehydration, clearing and impregnation. For tissue preparation the standard hematoxylin-eosin color (H&E) was used.

According to the WHO classification tumor was staged from 1–3.

Keratin type of squamous cell carcinoma was marked as G1 (Figure 1), squamous carcinoma composed of cohesive mildly polymorphic tumor cells as G2 (Figure 2) and as G3 tumor in trabecular or solid layers characterized with polymorphic nucleus and multiple mitotic figures (Figures 3 and 4).

Immunohistochemical analysis of VEGF

Epitop demasking was performed by using microwave pretreatment and immersing slides in the Target Retrieval Solution – Solution pH 9.0 (Dako S 2367). As primary anti-

gen, we used commercial mouse monoclonal antihuman antibody – VEGF (DAKO M7273), concentration VG1 with dilution of 1:25. For visualization, LSAB+(DAKO K0690) system and chromogen DAB Liquid (K3466) were used.

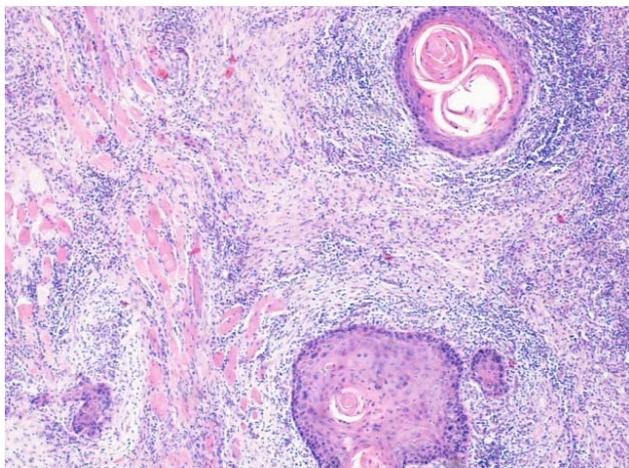


Fig. 1 – Well differentiated squamous cell carcinoma (H&E ×40)

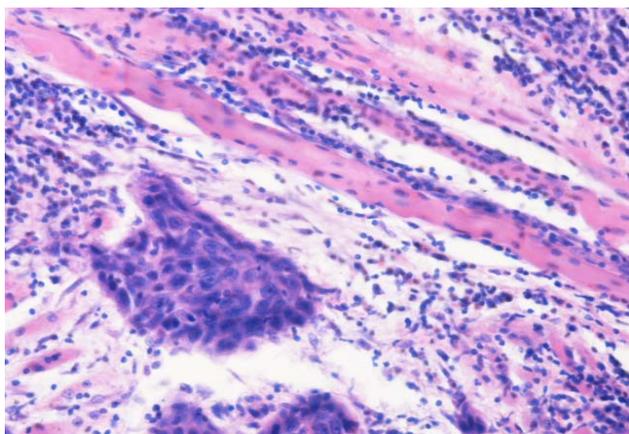


Fig. 2 – Middle differentiated squamous cell carcinoma (H&E ×75)

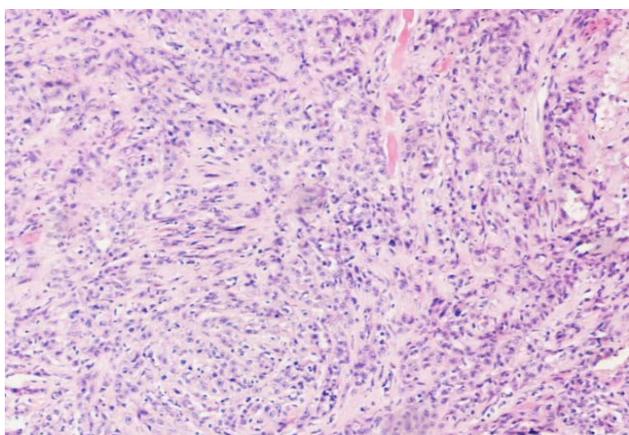


Fig. 3 – Irregular arrangement of tumor cells of low differentiated squamous cell carcinoma (H&E ×75)

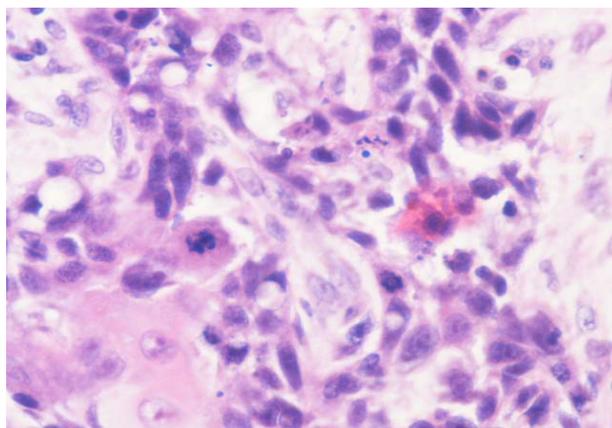


Fig. 4 – Large number of mitotic figures of low differentiated squamous cell carcinoma (H&E ×100)

Immunohistochemical (IMH) reaction of VEGF was performed on two tumor tissue specimens, one of them obtained from the central area without necrosis and the other one from the periphery, close to the nontumor edge.

Under a high resolution microscope (×100), marginal value of 20% immunoreactive cells (total of 1 000 analyzed cancerous cells) was identified. This model was characterized as a significant level of expression, while a value of 20% immunoreactive cells showed very low or no expression at all³¹. In our study we specified significant level of VEGF expression above > 20% (VEGF > 20%) as VEGF 2, and level below 20% for VEGF < 20% as (VEGF 1).

Statistical analysis was done by using nonparametric methods. Level of VEGF expression in relation to the known risk factors for developing oral planocellular cell carcinoma of tongue and the mouth floor and in relation to tumor parameters was analysed with χ^2 (chi-square) test with Yates' Correction Factor and Fisher's exact test. A period without disease relapse and overall survival rate was calculated by the Kaplan-Meier method. A period without disease relapse and overall survival rate between two groups was compared by the Log-Rank test.

Results

Our study included 40 patients of which 36 were males, aged between 43 and 77, mean age 60.6 years, median 55.4 years. According to sex, median age for the males was 59.6 years and for the women 54 years. The majority of those patients (80%) were long-term smokers – consumed more than 20 cigarettes per day, and 60% of them had long-term alcohol intake.

According to the TNM system we identified that 7/40 (17.5%) patients were with stage II disease and 33/40 (82.5%) with stage III. Clinicopathological parameters of the patients are shown in Table 1, size of regional metastasis in Table 2, and primary tumor location in Table 3. Dispersion of parameters specific for primary tumor with different disease stages are illustrated in Figure 5. This indicates that 18 (45%) patients had poor oral hygiene, but 22 (55%) had adequate one at the time of their first physical exam. Of all

Table 1
Primary tumor characteristics in patients with oral squamous cell carcinoma

Tumor characteristics	Number of patients
Tumor size (T)	2
T1	28
T2	10
T3	
Tumor growth	
Infiltrative	32
Exophytic	8
Histological grade (G)	
G1	14
G2	24
G3	2
Nuclear grade (Ng)	
Ng1	18
Ng2	8
Ng3	14

Table 2
Frequency of regional/neck metastatic lymph node

Regional neck metastatic lymph node	Number of patients
N0	10
N+	30
Total	40

Table 3
Primary tumor localisation

Primary tumor of tongue and mouth floor localisation	Number of patients
Lateral edge of tongue – middle third	25
Lateral edge of tongue – back third	9
Lateral edge of tongue – front third and mouth floor	4
Mouth floor	2
Total	40

above, 50% patients (20/40) had disease relapse, local recurrence in 55% (11/20), whereas local and regional relapse observed in 45% patients (9/20). Twenty-three tumors (41%) were positive for VEGF expression.

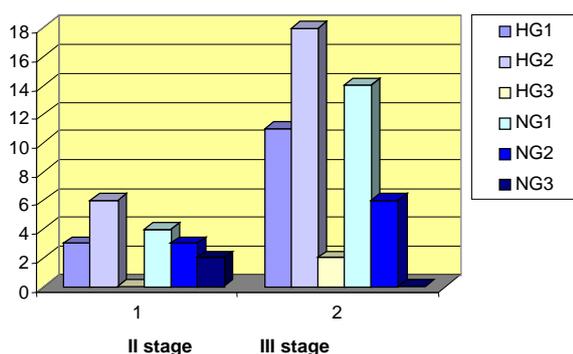


Fig. 5 – Frequency of histological (H) and nuclear (N) grade of II and III disease (oral squamous cell carcinoma) stage

Regarding location for primary tumor relapse, 45% of the patients had relapse at the edge of the anterior two-thirds of tongue, 36% on posterior one third, and 18% had primary cancer at the floor of the mouth. The appearance of local and regional relapse was noticed in 45% surgically treated patients, mainly where primary cancer involved edge of the

posterior third tongue (55%). We did not find a significant statistical correlation between location of disease relapse and site of primary resected tumor (χ^2 test, $p > 0.05$), nor a connection between frequency of relapse and onset of occurrence time interval (χ^2 test, $p > 0.05$). In our specific group of patients a 3-year-disease-free survival were identified in 42% (17/40) patients, while 82% (14/17) stage III and 18% (3/17) patients at stage II died in a 3-year follow-up period.

By analyzing tumor specimens we obtained that 11 of 40 tumors (28%) were positive for VEGF 1 expression (Figures 6 and 7) and 29/40 (72%) positive for VEGF 2 (Figures 8 and 9).

Statistical data analysis did not reveal any significant correlation between patients age and VEGF expression (χ^2 test, $p > 0.05$). Although VEGF 2 expression was found in 22 nonsmokers and 7 smokers no statistical connection was estimated in terms of this risk factor and VEGF expression (Fisher test, $p > 0.05$).

In addition, alcohol consumption, smoking or poor oral hygiene did not demonstrate any close correlation with VEGF expression (Fisher test, $p > 0.05$).

Further statistical analysis did not show VEGF expression of any significance in relation to tumor size (χ^2 test, $p > 0.05$) or histological parameters, or nuclear gradus and VEGF expression (Fisher test, $p > 0.05$).

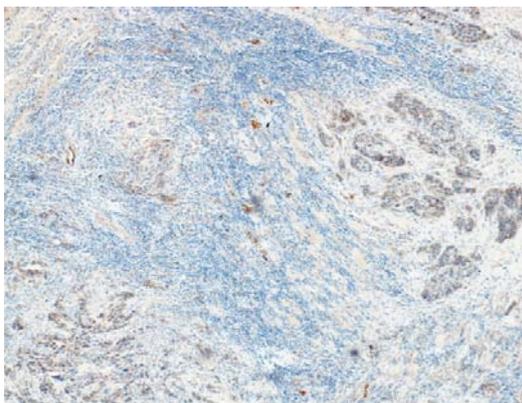


Fig. 6 – Low immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor in squamous cell carcinoma (LCA x40)

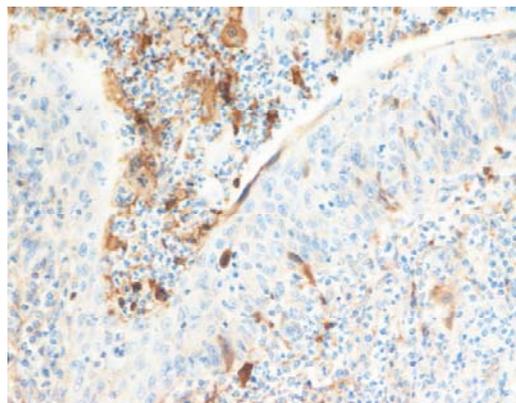


Fig. 7 – Low immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in squamous cell carcinoma (LCA x70)

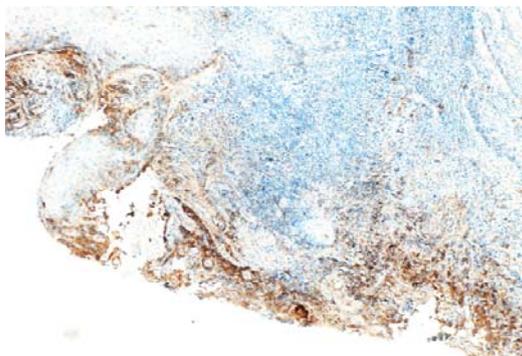


Fig. 8 – Significant immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in squamous cell carcinoma (LCA x40)

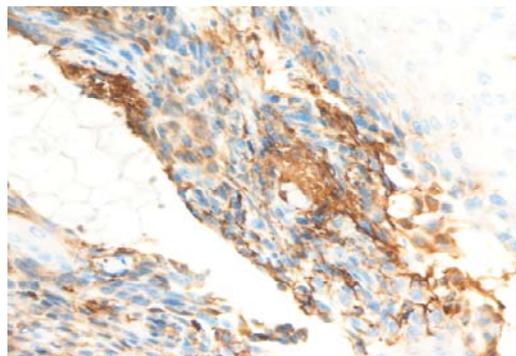


Fig. 9 – Significant immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in squamous cell carcinoma (LCA x100)

This study showed that the percentage of patients with lymphadenopathy on initial physical exam was 75%. Analysis concluded that there was a significantly high difference between VEGF 2 expression in the patients with metastatic neck lymph node involvement (in 26 of 40 patients or 65%), as compared to the patients without neck involvement (26 vs 3, Fisher test, $p < 0.05$) (Table 4).

Our results also demonstrate important statistical difference in VEGF 2 expression between the disease stage II and III. Of 40 patients, 8 (20%) were at the stage II, while 32 (80%) were at the stage III. Our study revealed that 27 patients with stage III had VEGF expression $> 20\%$ (VEGF

2 and only two with stage II (27 vs 2, Fisher test, $p < 0.05$) (Table 5).

In the study and during the regular follow-up we noticed that 50% of the patients with OSCC had disease relapse. Comparing two groups of patients, one with relapse and other without, there was no statistical significance in frequency of VEGF expression (Fisher test, $p > 0.05$).

Following patient's disease-free interval (DFI) we have not observed dissimilarity among the subjects with type VEGF 1 expression and the group of patients with VEGF expression above 20% (VEGF 2) (Log Rank test, $p > 0.05$). This analysis was complemented by Hazard Ratio (HR) test for DFI with 95% CI.

Table 4
Frequency of vascular endothelial growth factor (VEGF) expression level of metastatic lymph node

Nodal status	VEGF1	VEGF2	Number of patients
N+	7	3	10
N-	4	26*	30
Total	11	29	40

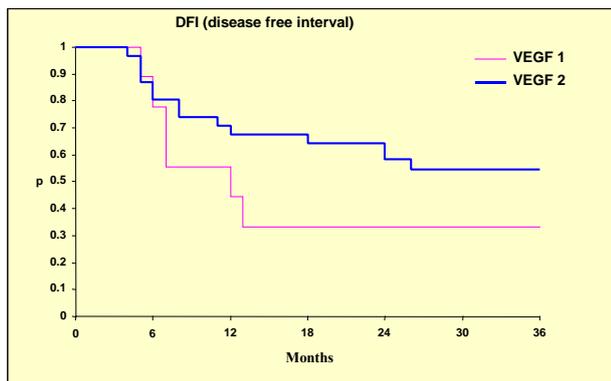
* $p < 0.05$

Table 5
Correlation of disease stage and frequency of vascular endothelial growth factor (VEGF) expression level

Disease stage	VEGF1	VEGF2	Number of patients
II	6	2	8
III	5	27*	32
Total	11	29	40

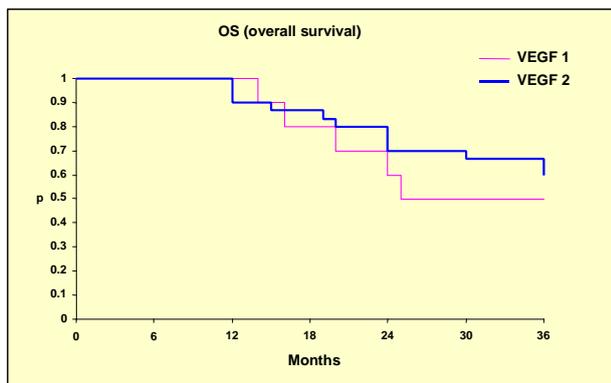
* $p < 0.05$

The results obtained in this study showed that patients with VEGF 1 expression had 30% less risk of having disease reactivation (Figure 10).



**Fig. 10 – Disease free interval in patients with vascular endothelial growth factor 1 (VEGF 1) (n=11) and vascular endothelial growth factor 2 (VEGF 2) (n=29)
Log Rank test ($p > 0.05$)**

In this study, no statistical correlation between VEGF expression and the length of overall survival was observed in patients with OSCC (Log Rank test, $p > 0.05$). This test was supplemented, as well, by HR analysis which concluded that patients with VEGF 1 expression had more than double length of overall survival (Figure 11).



**Fig. 11 – Overall survival in patients with vascular endothelial growth factor 1 (VEGF 1) (n = 11) and vascular endothelial factor 2 (VEGF 2) (n = 29),
Log Rank test, ($p > 0.05$)**

Discussion

Oral squamous cell carcinoma is the most common malignancy of the upper aerodigestive tract. The most commonly affected organs are the mouth floor and the tongue rendering about 90% of all malignant tumors in this regional distribution. It is estimated that around 350 000 people worldwide are newly diagnosed with OSCC each year.

Oral squamous cell cancer consistently ranks as one of the top eleven cancers worldwide^{31–33}.

So far, TNM clinical classification and pathohistological findings were essential parameters of the disease progn-

osis and outcome; however, there is a limit in understanding the evolution of this malignancy.

Application of molecular biology and genetics has significantly advanced the field of human cancer research in OSCC.

This explosion in technology has fueled the current expansion of knowledge into the working of the human cell. Clinical data so far have demonstrated that genetic and molecular cells alteration has been caused by multiple factors².

A combination of surgery radiation therapy and/or chemotherapy are the mainstay of OSCC therapy.

Despite advancement in diagnostics, surgical technique and postsurgical oncologic protocols a 5-year survival rate in patients with OSCC is approximately 50%, in the past thirty years². Thus, ongoing efforts to answer the questions regarding biological effect of this malignant tumor have been subject to numerous studies.

The main goals of many studies last years have been to understand the process of malignant transformation and to establish an algorithm that explains the transformation of normal cell to cancer one under specific conditions. A number of genetic and genetically regulated factors have been recognized showing important role in cancerogenesis and regulated by a balance between angiogenic stimulators and inhibitors, such are multiple growth factors and their receptors.

One of the most potent proangiogenic factor is vascular VEGF. Among the factors causing tumor angiogenesis, VEGF is considered crucial for both the growth of the primary tumor and the development of metastases.

For the past three decades VEGF has been investigated and research has shown its crucial contribution to carcinogenesis. Vasculogenesis is the key factor for almost all malignancy development, so as for OSCC. Multiple studies have investigated a correlation between VEGF and its receptors with OSCC development. The aim of numerous studies was to point out the association of VEGF and OSCC, including tumor incidence, growth, progression, metastatic potential, invasion, recurrence and overall patient's survival.

VEGF has been tested as an isolated factor or in combination with others such as growth factors, multiple gene alterations, as well as molecular changes in patients who were diagnosed with oropharyngeal squamous cell carcinoma. There has been tendency to find highly specific biomolecular markers as valuable prognostic relevance of this malignancy.

The aim of that study was also to review the current knowledge on the prognostic value of tumor marker in the treatment of OSCC. The literature of the past 5 years (1997–August 2002) was screened. One hundred and sixty-nine articles were included in this review, that analyzed markers of relevance for OSCC.

Twenty-nine molecular markers of relevance were identified. Tumor markers were allocated to four groups according to their function: the first group included markers responsible for enhancement of tumor growth, in other words cell cycle acceleration and proliferation; the second group – tumor suppression and anti-tumor defence with the role in immune response and apoptosis; the third one were factors that influence angiogenesis, and the forth group constituted

markers for tumor invasion and metastatic potential such as adhesion molecules and matrix degradation.

The data showed that the prognostic relevance of most tumor markers still remains not quite clear. Only 12 of 23 reports on the prognostic relevance of markers from the first group indicated a significant association with prognosis while 20 of 29 studies on markers from the second group showed a prognostic relevance. Based on the majority of the previous studies, markers of angiogenesis exhibited only minor importance for the prognosis and treatment of OSCC. The results on markers of tumor invasion and metastatic potential appeared not to be enough valuable indices for a statement regarding their prognostic value. This analysis stipulated that the role of isolated molecular markers within the tumor was not significant for prognosis of OSCC. On the other hand, molecular markers together with histopathological results are of great importance for prognosis and follow-up of patients outcome.

So far, no specific marker has been discovered any as an important prognostic indicator of squamous cell carcinoma or for follow disease outcome in patients with OSCC.

Therefore, our study as many previous ones used standardized, well known parameters and criteria that are important in application for diagnosis, prognosis and disease progression in the head and neck planocellular carcinoma. We observe the same with the level of expression by using only one biomolecular marker that is VEGF responsible for angiogenesis.

There was no statistical significance between VEGF expression and patient's age (χ^2 test, $p > 0.05$), cigarette smoking, alcohol consuming, and poor oral hygiene (Fisher test, $p > 0.05$).

Tumor size is one of the crucial parameters defying disease progression, outcome and treatment modalities in patients with OSCC, but tumor dimension is not always a valid index of behaviour of planocellular carcinoma. Tumor biology is very complex process and tumor size is compared with other factors that have significant role in OSCC pathogenesis. In our study we compared tumor size with VEGF expression. The results obtained from this analysis did not showed significant correlation between of VEGF expression level and tumor size (χ^2 test, $p > 0.05$). The same results were revealed by Shintani et al.¹³ in their study from 2004. On the contrary, Shang et al.³⁴, in their study from 2006, describing negative correlation between tumor size (T stage) and VEGF expression showed a significant relationship between VEGF expression and size of the tumor.

A degree of differentiation of planocellular carcinoma is the most important parameter for clinical course of disease, and treatment modalities of OSCC depend on histological and nuclear grading.

Significance, VEGF expression in relation to the stated histological parameters is controversial. A study done by Kyzasa et al. in 2005 did not show a significant statistical relevance between VEGF expression and histologic grade. Opposed to that, Johnstone and Logan in 2007 signified a correlation between the degree of tumor differentiation and VEGF expression.

In our study, 20 patients with histological grade G2 showed high level of VEGF expression (VEGF 2), 7 patients with histological grade G1 had level VEGF 1 and VEGF2 expression. Also, the group with histological grade G3 revealed VEGF 2 expression or rather $> 20\%$.

Nuclear grade is the parameter which we have also analyzed in comparison with VEGF expression. In our study, there were 16 patients with Ng1, level VEGF 2 expression; 4 patients with Ng2 and 9 with Ng3 also showed VEGF2. Statistical analysis observing histological and nuclear grading did not provide any connection with VEGF expression (Fisher test, $p > 0.05$).

The presence of enlarged regional lymph nodes (LN), observed on the first physical exam confirmed and metastasis in the same region were reliable signs of disease advancement, and very important factor that treatment success depends on. A previous opinion was that metastatic lymphatic spread was a result of tumor cells penetration into nearest lymphatic nodes. Recent studies show that this process is in relationship with lymphangiogenesis, which promotes metastatic spread. It has been confirmed that lymphangiogenesis persist in the nearest tumor location or in tumor itself and influence metastatic lymphatic node spread. Therefore, lymphangiogenesis has been the subject of numerous studies in the past several years and VEGF is characterized as a key factor in that process.

VEGF-C is the cardinal member of the VEGF family and plays an important role in the complexity of lymphangiogenesis^{17,18}. The studies done by Shintani et al.¹³, Sauter et al.¹⁶, Siriwardena et al.¹⁷, O-charoenrat¹⁸ have shown significant association between lymph nodes metastasis and VEGF expression from a certain members of VEGF family.

As distinct from above studies, the results obtained by Kyzas et al.²⁹, Tsea et al.³⁵ did not releave statistically significant connection between lymph nodes metastasis and VEGF expression. Our study showed that 75% patients had enlarged LN on initial physical examination.

Our analysis shows a significant statistical difference between two groups of patients in terms of the level of VEGF 2 expression. The first group with the lymph nodes metastasis, 26 of 40 (65%), showed VEGF 2 expression as compared with group of patients without neck LN metastasis (26 vs 3, Fisher test, $p < 0.05$).

Disease stage is an important parameter for disease follow-up and prognosis and TNM classification is used as a basic tool¹³. The TNM staging, as well as other factors that represent disease progression in patients with OSCC were compared in regards to the level of VEGF expression. Numerous studies indicate a significant connection between disease stage and excessive expression of VEGF^{28,36}.

Our results also demonstrate an important statistical difference in VEGF 2 expression between disease stage II and III. Of 40 patients, 8 (20%) were at stage II, while 32/40 (80%) at stage III. Our study revealed that 27 patients with stage III had VEGF expression $> 20\%$ (VEGF 2), whereas only two patients with stage II (27 vs 2, Fisher test, $p < 0.05$) (Table 5).

During the regular patients follow-ups we noticed that 50% of the patients with OSCC had disease relapse. Comparing two groups, one with relapse and the other without there was no statistical significance in frequency of VEGF expression (Fisher test, $p > 0.05$).

Some studies indicate that excessive VEGF expression is in correlation with the length of disease-free-interval³⁷⁻⁴¹. In our study, we did not observe dissimilarity among the subjects with type VEGF 1 expression and the group of patients with VEGF expression above 20% (VEGF 2) (Log Rank test, $p > 0.05$). This analysis was complemented by Hazard Ratio test for DFI with 95% CI.

The results obtained in this study show that the patients with VEGF 1 expression have 30% less risk of having the disease reactivation (Figure 9).

Overall survival (OS) in OSCC patients lies between 50–55%⁵. There are multiple factors that affect overall survival in patients with OSCC and one of them is excessive VEGF expression, according to numerous studies^{29, 35, 37, 38, 42}. Our study showed no statistical correlation between VEGF expression and length of overall survival in the patients with OSCC (Log Rank test, $p > 0.05$). This test was supplemented by HR analysis which concluded that the patients with VEGF 1 expression have more than a double length of overall survival.

Comparing the results of our study with the results of other ones we observed certain differences of importance in VEGF expression related to tumor size, incidence of lymph nodes metastasis, disease stage, disease free interval and overall survival.

In our study we found a significant correlation with high level of VEGF expression (VEGF 2) disease stage and the presence of lymph nodes metastasis. Other studies^{13, 17, 18, 28, 34} showed the same connection between the increased VEGF expression and metastatic LN in patients suffering from OSCC. Our study as well as other studies^{28, 35, 36} confirmed that the disease stage is in correlation to VEGF expression. The rest of the clinical and pathohistologic parameters did not have statistical significance in linking it with level of VEGF expression. Although we contemplated a correlation of enhanced VEGF expression with DFI^{19, 28, 29, 34, 35, 36} and OS, our results were negative, which was contradictory to some other studies. One

of the reasons for negative results could be explained by a small number of patients analysed.

Angiogenesis is an essential requirement for tumor growth, invasion and metastasis⁴¹. Tumor angiogenesis is controlled by angiogenic factors directly induced by tumor cell itself or indirectly induced from surrounding stromal tissue. There are several factors that have angiogenic activity, such as basic fibroblast growth factor (bFGF), platelet-derived endothelial growth factor (PDGF) and vascular endothelial growth factor (VEGF). They are highly specific for endothelial tissue and have a significant role as vascular permeability factor (VPF)³⁶. It is well known for VEGF to be one of the most potent promoter of tumor angiogenesis³⁵. The contribution of VEGF to the development of the head and neck squamous cell carcinomas and its role in angiogenesis was analyzed and confirmed on several occasions.

Due to controversy regarding VEGF effect, conflicting results within the literature still persist¹³.

The majority of authors emphasize VEGF role in OSCC angiogenesis, most importantly its effect in tumor aggressiveness, local and regional spreading, as well as overall survival. VEGF is believed to be a reliable marker for the outcome in many cancers, thus in OSCC.

Negative results obtained in certain studies²⁰ confirm that there is no highly specific marker which would assure adequate prognosis and disease outcome for OSCC.

Conclusion

In spite the controversy about the prognostic relevance of VEGF, our results as well as the results of previous studies suggest that the expression of VEGF is not reliable as a clinical parameter for the prognosis and disease outcome but it is one of the important factors for the disease progression.

Understanding the development and progression of oral cancer is critical in the quest for a successful therapeutic intervention. Therefore, further studies aimed at finding a highly specific and sensitive marker and its application in OSCC are necessary.

R E F E R E N C E S

1. Llevellyn CD, Linklater K, Bell J, Johnson NW, Warnakulasuriya S. An analysis of risk factors for oral cancer in young people: a case-control study. *Oral Oncol* 2004; 40(3): 304–13.
2. Neville BW, Day TA. Oral cancer and precancerous lesions. *CA Cancer J Clin* 2002; 52(4): 195–215.
3. Kozomora R. Importance of p53 antioncogene and human papilloma virus for radioresistance of oral squamous cell carcinoma of tongue and floor of the mouth [dissertation]. Belgrade: Military Medical Academy; 2003. p. 1-146. (Serbian)
4. Ha PK, Pai SI, Westra WH, Gillison ML, Tong BC, Sidransky D, et al. Real-time quantitative PCR demonstrates low prevalence of human papillomavirus type 16 in premalignant and malignant lesions of the oral cavity. *Clin Cancer Res* 2002; 8(5): 1203–9.
5. Bishop JM. The molecular genetics of cancer. *Science* 1987; 235(4786): 305–11.
6. Cockerell GL, Cooper BJ. Disorders of cell growth and cancer biology. In: *Slauson DO, Cooper BJ*, editors. *Mechanisms of disease – a textbook of comparative general pathology*. St. Louis: Mosby a Harcourt Health Sciences Company; 2002. p. 299–377.
7. Cowell JK. Basic principles in cancer genetics. In: *Cowell JK*, editor. *Molecular Genetics of Cancer*. 2nd ed. Oxford: Academic Press; 2001. p. 1–32.
8. Schliephake H. Prognostic relevance of molecular markers of oral cancer—a review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2003; 32(3): 233–45.
9. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 2000; 6(4): 389–95.
10. Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; 407(6801): 249–57.
11. Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996; 86: 353–64.

12. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997; 18(1): 4–25.
13. Shintani S, Li C, Ishikawa T, Mibara M, Nakashiro K, Hamakawa H. Expression of vascular endothelial growth factor A, B, C, and D in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2004; 40(1): 13–20.
14. Bikfalvi A. Angiogenesis: health and disease. *Ann Oncol* 2006; 10(17 Suppl): x65–70.
15. Sasahira T, Kirita T, Bhawal UK, Ikeda M, Nagasawa A, Yamamoto K, et al. The expression of receptor for advanced glycation end products is associated with angiogenesis in human oral squamous cell carcinoma. *Virchows Arch* 2007; 450(3): 287–95.
16. Sauter ER, Nesbit M, Watson JC, Klein-Szanto A, Litwin S, Herlyn M. Vascular endothelial growth factor is a marker of tumor invasion and metastasis in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Clin Cancer Res* 1999; 5(4): 775–82.
17. Sirivardena BS, Kudo Y, Ogawa I, Udagama MN, Tilakaratne WM, Takata T. VEGF-C is associated with lymphatic status and invasion in oral cancer. *J Clin Pathol* 2008; 61(1): 103–8.
18. O-charoenrat P, Rblys-Evans P, Eccles SA. Expression of vascular endothelial growth factor family members in head and neck squamous cell carcinoma correlates with lymph node metastasis. *Cancer* 2001; 92(3): 556–68.
19. Smith BD, Smith GL, Carter D, Sasaki CT, Haffty BG. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein levels in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2000; 18(10): 2046–52.
20. Schliephake H. Prognostic relevance of molecular markers of oral cancer—a review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2003; 32(3): 233–45.
21. Kishimoto K, Sasaki A, Yoshibama Y, Mese H, Tsukamoto G, Matsumura T. Expression of vascular endothelial growth factor-C predicts regional lymph node metastasis in early oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2003; 39(4): 391–6.
22. Lalla RV, Boissonneau DS, Spiro JD, Kreutzer DL. Expression of vascular endothelial growth factor receptors on tumor cells in head and neck squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 129(8): 882–8.
23. Mineta H, Miura K, Ogino T, Takebayashi S, Misawa K, Ueda Y, et al. Prognostic value of vascular endothelial growth factor (VEGF) in head and neck squamous cell carcinomas. *Br J Cancer* 2000; 83(6): 775–81.
24. Schimming R, Reusch P, Kuschnierz J, Schmelzisen R. Angiogenic factors in squamous cell carcinoma of the oral cavity: do they have prognostic relevance?. *J Craniomaxillofac Surg* 2004; 32(3): 176–81.
25. Uehara M, Sano K, Ikeda H, Sekine J, Irie A, Yokota T, et al. Expression of vascular endothelial growth factor and prognosis of oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2004; 40(3): 321–5.
26. López de Cicco R, Watson JC, Bassi DE, Litwin S, Klein-Szanto AJ. Simultaneous expression of furin and vascular endothelial growth factor in human oral tongue squamous cell carcinoma progression. *Clin Cancer Res* 2004; 10(13): 4480–8.
27. Arora S, Kaur J, Sharma C, Mathur M, Bahadur S, Shukla NK, et al. Stromelysin 3, Ets-1, and vascular endothelial growth factor expression in oral precancerous and cancerous lesions: correlation with microvessel density, progression, and prognosis. *Clin Cancer Res* 2005; 11(6): 2272–84.
28. Kyzas PA, Stefanou D, Batistatou A, Agnantis NJ. Prognostic significance of VEGF immunohistochemical expression and tumor angiogenesis in head and neck squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2005; 131(9): 624–30.
29. Kyzas PA, Cunha IW, Ioannidis JP. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor immunohistochemical expression in head and neck squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *Clin Cancer Res* 2005; 11(4): 1434–40.
30. Patel SG, Shah JP. TNM staging of cancers of the head and neck: striving for uniformity among diversity. *CA Cancer J Clin* 2005; 55(4): 242–58.
31. Kyzas PA, Stefanou D, Batistatou A, Agnantis NJ. Potential autocrine function of vascular endothelial growth factor in head and neck cancer via vascular endothelial growth factor receptor-2. *Mod Pathol* 2005; 18(4): 485–94.
32. Tang XH, Knudsen B, Bemis D, Tickoo S, Gudas LJ. Oral cavity and esophageal carcinogenesis modeled in carcinogen-treated mice. *Clin Cancer Res* 2004; 10(1 Pt 1): 301–13.
33. Ahrendt SA, Decker PA, Doffek K, Wang B, Xu L, Demeure MJ, et al. Microsatellite instability at selected tetranucleotide repeats is associated with p53 mutations in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2000; 60(9): 2488–91.
34. Shang ZJ, Li ZB, Li JR. VEGF is up-regulated by hypoxic stimulation and related to tumour angiogenesis and severity of disease in oral squamous cell carcinoma: in vitro and in vivo studies. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2006; 35(6): 533–8.
35. Tse GM, Chan AW, Yu KH, King AD, Wong KT, Chen GG, et al. Strong immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor predicts overall survival in head and neck squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2007; 14(12): 3558–65.
36. Li C, Shintani S, Terakado N, Klosek SK, Ishikawa T, Nakashiro K, et al. Microvessel density and expression of vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor, and platelet-derived endothelial growth factor in oral squamous cell carcinomas. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005; 34(5): 559–65.
37. Li YH, Hu CF, Shao Q, Huang MY, Hou JH, Xie D, et al. Elevated expressions of survivin and VEGF protein are strong independent predictors of survival in advanced nasopharyngeal carcinoma. *J Transl Med* 2008; 6: 1.
38. Smith BD, Smith GL, Carter D, DiGiovanna MP, Kasonitz KM, Sasaki CT, et al. Molecular marker expression in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 127(7): 780–5.
39. Matsuo K, Shintani S, Tsuji T, Nagata E, Lerman M, McBride J, et al. p12(DOC-1), a growth suppressor, associates with DNA polymerase alpha/primase. *FASEB J* 2000; 14(10): 1318–24.
40. Shintani S, Mibara M, Terakado N, Nakabara Y, Matsumura T, Kobno Y, et al. Reduction of p12DOC-1 expression is a negative prognostic indicator in patients with surgically resected oral squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001; 7(9): 2776–82.
41. Ng IO, Lam KY, Ng M, Regezi JA. Expression of p21/waf1 in oral squamous cell carcinomas—correlation with p53 and mdm2 and cellular proliferation index. *Oral Oncol* 1999; 35(1): 63–9.
42. Shang ZJ, Li JR. Expression of endothelial nitric oxide synthase and vascular endothelial growth factor in oral squamous cell carcinoma: its correlation with angiogenesis and disease progression. *J Oral Pathol Med* 2005; 34(3): 134–9.

The paper received on October 21, 2008.



Efekti ligature rano otkrivenih insuficijentnih perforantnih vena nogu kao uzročnika varikoznog sindroma

Significance of ligature of early detected insufficient perforated lower extremities veins as a cause of the varicous syndrome

Leposava Sekulović*, Slobodan Sekulović†, Goran Kronja‡

Vojnomedicinska akademija, *Institut za radiologiju, †Klinika za vaskularnu hirurgiju, Beograd, Srbija; ‡Medicor poliklinika, Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Perforantne vene (PV) spajaju površnu i duboku vensku mrežu. Insuficijentne perforantne vene (IPV) jedan su od uzročnika nastanka sindroma venske staze i varikoznog sindroma. Ligiranjem IPV otklanja se prenošenje povećanog pritiska iz dubokih vena u površni venski sistem i sprečava nastanak varikoziteta. Cilj rada bio je održavanje prečnika površnih vena pre i nakon operativnog zahvata na IPV i potvrda uspešnosti ove metode lečenja u otklanjanju uzroka nastanka varikoziteta u površnim venama. **Metode.** Ispitivanjem je bilo obuhvaćeno 30 ispitanika oba pola (25 muškaraca i pet žena), prosečne starosti $30,10 \pm 10,24$ godina. Svi ispitanici bili su svrstani po CEAP (klinička težina bolesti, etiologija ili uzrok, anatomija, patofiziologija) klasifikaciji, kao osobe sa početnim varikoznim sindromom na bazi IPV. Kod svih ispitanika učinjen je kolor dopler ehosonografski pregled PV i u svim slučajevima kada je prečnik PV bio $\geq 3,5$ mm, iste su obeležene kao IPV. Insuficijentne perforantne vene svrstane su u dve grupe: grupa I, sa ostijumom na stablu vene safene magne (VSM) ili vene safene parve (VSP), i grupa II sa ostijumom na venskim tributorima. Prečnik VSM i VSP u visini ostijuma PV, kao 1 cm ispod i iznad ostijuma meren je pre ligature PV i 30 dana nakon hirurške intervencije. **Rezultati.** Poređenjem dobijenih nalaza najveći efekat ligature bio je u nivou ostijuma PV na stablu VSM i VSP kod obe grupe ispitanika ($p < 0,0001$), gde se registruje najveće smanjenje prečnika. U manjoj meri prečnik se smanjio u proksimalnom i distalnom segmentu od ostijuma u grupi I, dok se prečnik nije promenio u distalnom segmentu od ostijuma u grupi II. **Zaključak.** Smanjenje prečnika safenskog stabla u nivou ostijuma, proksimalno i distalno od ušća, potvrđuje značaj ligature IPV, kada još nije došlo do izraženih varikoziteta.

Ključne reči:

vene, varikozne; noga; ultrazvuk; flebografija; ligiranje.

Abstract

Background/Aim. Perforated veins (PV) connect surface and deep veins net. Insufficient perforated veins (IPV) are considered to be one of the causes of the venous stasis syndrome. Ligating IPV removes increased pressure transmission from the deep veins to the surface veins system and prevents the occurrence of varicosis, as well. The aim of the study was to determine surface veins diameters prior and after the surgical operation on IPV, and to confirm good results of the treatment with this method in removing causes of the surface veins varicosis. **Methods.** The study included 30 patients of both sexes (25 males and 5 females), mean age 30.10 ± 10.24 years. The patients were classified in accordance with CEAP (clinical severity, ethiology or cause, anatomy, pathophysiology) classification as those with the initial varicous syndrome based on IPV. Any of the patients were submitted to color Doppler echoplebography. In case of diameter ≥ 3.5 mm PV were marked as IPV. All of the IPV were divided into two groups, the group I being with ostium in the stem of *Vena Saphena Magna* (VSM) or *Vena Saphena Parva* (VSP), while the group II was with ostium in the venous tributors. VSM and VSP diameters at the level of IPV ostium, below and above (1 cm) the ostium were measured prior to IPV ligation, and 30 days after the surgical intervention. **Results.** Comparing the results the highest ligation effects were shown at the level of IPV ostium in the stem of VSM and VSP of both groups ($p < 0.0001$) with the highest diameter reduction. There was a smaller reduction of diameter in the proximal and distal segment of ostium in the group I, while there was no diameter change in the distal segment of ostium in the group II. **Conclusion.** Saphenous stem diameter reduction at the level of ostium, proximally and distally of the confluence, confirms the significance of IPV ligation before pronounced varicosis appears.

Key words:

varicose veins; leg; ultrasonics; phlebography; ligation.

Uvod

Bolesti vena nogu i karlice danas spadaju u najrasprostranjenije bolesti savremenog čoveka. U okviru patologije venskog sistema nogu, u širem smislu, posebno mesto zauzima prisustvo varikoznog sindroma, svakako jednog multidisciplinarnog problema koji pored medicinskog, predstavlja i ozbiljan socijalni problem¹. Pod varikoznim sindromom podrazumevaju se proširene vene nastale kao posledica hronične venske staze, što u daljem toku može da bude uzrok nastanka hronične venske insuficijencije u širem smislu. Klasifikacija uzroka venske insuficijencije donjih ekstremiteta zasnovana je na lokalizaciji onog nivoa venske cirkulacije na kojem se nalazi i uzrok venskoj stazi. Po tom kriterijumu uzročnici su sistematizirani u tri grupe: insuficijentne površne vene donjih ekstremiteta (posledica oštećenih ili nepostojećih valvula), opstrukcija i/ili insuficijencija dubokih vena i insuficijentne perforantne vene (IPV)². Perforantne vene (PV) ili komunikantne vene su one koje spajaju površnu i duboku vensku mrežu i ima ih, u proseku, oko 30 konstantnih na jednoj nozi. Njihova uloga je da vensku krv iz površnih vena dreniraju u duboke vene i obrnuto, zavisno od biomehaničkih uslova venske cirkulacije i od orijentacije valvularnog aparata. Poznato je da IPV stvara uslove za razvoj sindroma venske staze, a povećan pritisak u površnim venama nastanak varikoznog sindroma³. Ligiranjem IPV otklanja se prenošenje povećanog pritiska iz dubokih vena u površni venski sistem, a time i jedan od uzroka nastanka varikoziteta u površnim venama⁴⁻⁷.

Metode

Ispitivanjem je bilo obuhvaćeno 30 ispitanika oba pola (25 muškaraca – 83,34% i 5 žena – 16,66%) prosečne starosti $30,10 \pm 10,24$ godina. Najmlađi bolesnik imao je 17, a najstariji 52 god. Vodeći simptomi kod bolesnika bili su prisustvo noćnih grčeva u listu, osećaj „težine“ u nogama i po-

(A) natkolenica ili potkolenica; patofiziološki nalaz (P), bliža odrednica refluks (r).

Na osnovu ovako razvrstanih kliničkih nalaza i simptoma, CEAP profil za sve naše ispitanike bio je C (0-3s), E (p), A (p17,18), P (r).

Kolor dopler ehosonografski pregledi (KDE) obavljani su aparatom visoke rezolucije SEQUOIA 512 ACUSON, linearnom sondom od 7,5–10 MHz.

Kod svih bolesnika učinjen je pregled KDE vene *saphenae magna* (VSM) od safenofemoralnog ušća duž natkolenice, sa procenom funkcionalnog i morfološkog stanja kao i u kruralnom delu VSM i vene *saphenae parvae* (VSP).

Svaka nađena PV procenjivana je morfološki – merenjem prečnika u nivou mišićne fascije kao i funkcionalno. U svim slučajevima kada je prečnik PV bio $\geq 3,5$ mm, iste su obeležene kao IPV, a prečnik je meren po 1 cm iznad i ispod, kao i u visini ostijuma iste u VSM ili VSP. Insuficijentne perforantne vene svrstane su u dve grupe: grupa I, sa ostijumom na stablu VSM ili VSP i grupa II, sa ostijumima na venskim tributorima VSM ili VSP.

Ovi podaci upoređeni su sa postoperativnim nalazima trideset dana nakon ligiranja IPV, a podrazumevali su isti postupak pri merenju promera VSM ili VSP kao što je urađeno preoperativno radi procene efekta operativnog zahvata.

U statističkoj obradi podataka korišćen je kompjuterski program SPSS. Rezultati su testirani primenom parametrijskih (Studentov *t*-test) i neparametrijskih testova (χ^2 test i Spirmanov koeficijent korelacije rangova).

Rezultati

U tabeli 1 prikazani su rezultati merenja IPV sa ostijumom na stablu, odnosno na venskim tributorima VSM ili VSP. Preoperativno, kao i postoperativno, vršena su merenja 1cm ispod i iznad, kao i u visini ostijuma IPV u VSM ili VSP.

Tabela 1
Prečnik vene safene magne (VSM) i vene safene parve (VSP) pre i posle ligature insuficijentne perforantne vene (IPV)

Grupa bolesnika	Vreme merenja	Prečnik VSM ili VSP (mm)		
		$(\bar{x} \pm SD)$		
		proksimalno	u nivou ostijuma	distalno
Sa ostijumom na stablu VSM ili VSP	preoperativno	3,42 ± 0,52	4,14 ± 0,58	3,63 ± 0,60
	postoperativno	3,29 ± 0,50**	3,49 ± 0,47**	3,48 ± 0,57**
Sa ostijumom na venskim tributorima	preoperativno	3,18 ± 0,52	3,45 ± 0,49	3,19 ± 0,57
	postoperativno	3,15 ± 0,53*	3,22 ± 0,56**	3,18 ± 0,58

* $p < 0,004$; ** $p < 0,0001$ prema preoperativnoj vrednosti

java otoka u potkolenicama. Da bi se izbegle zamke sa, na prvi pogled, sličnim patološkim stanjima iz oblasti patologije venskog sistema nogu, kao što je slučaj sa „hipotonom flebopatijom“, svi ispitanici bili su svrstani po CEAP (Klinika težina bolesti, Etiologija i uzrok, Anatomija, Patofiziologija) klasifikaciji kao osobe sa početnim varikoznim sindromom na bazi IPV^{8,9}. Ova klasifikacija podrazumeva: klinički nalaz (C) u rasponu od 0 (odsustvo vidljivih ili palpabilnih znakova) do 3 (prisustvo edema); etiološki nalaz (E), kod naših ispitanika bilo je primarno poreklo (p); anatomske nalaz

Iz prikazanih rezultata jasno se zapaža da je u grupi I najveći efekat nakon ligature IPV bio u nivo ostijuma (pre operacije $14 \pm 0,52$ mm, posle operacije $3,49 \pm 0,47$ mm, $p < 0,0001$), a manji na distalnom (pre operacije $3,63 \pm 0,60$ mm, i posle operacije $3,48 \pm 0,57$ mm, $p < 0,0001$) i proksimalnom segmentu od ostijuma (pre operacije $3,42 \pm 0,52$ mm posle operacije $3,29 \pm 0,52$ mm $p < 0,0001$).

Merenja za drugu grupu bila su, takođe, na navedenim lokalizacijama, ali u odnosu na nivo ostijuma tributora sa IPV, a na stablu VSM ili preoperativno i postoperativno.

U ovoj grupi došlo je do izvesnog pomaka u smanjenju u proksimalnom segmentu (pre operacije $3,18 \pm 0,52$ mm, posle operacije $3,15 \pm 0,53$ mm $p < 0,004$) i nivou ostijuma (pre operacije $3,45 \pm 0,49$ mm i posle operacije $3,22 \pm 0,57$ mm $p < 0,0001$), dok je distalno prečnik ostao isti (pre operacije $3,19 \pm 0,57$ mm, posle operacije $3,18 \pm 0,58$ mm).

Sve IPV, registrovane pomoću KDE, potvrđene su tokom ligiranja istih. U ovom slučaju direktna i statistički značajna korelacija registrovana je između broja operativno nadenih IPV i broja istih, dijagnostikovanih pomoću KDE ($r = 0,981$).

Diskusija

U toku prethodne dve decenije, pre svega u Evropi, ali i u SAD, sve više zamaha dobija stav da se maksimalno čuva VSM od često nepotrebnih hirurških zahvata, a na bazi toga razvija se čitava paleta različitih oblika minimalno traumatizujućih postupaka. Početkom devedesetih godina prošlog veka, Hammarsten i Campanello¹⁰ objavljuju rad u kome navode da su selektivnim pristupom uspeali da otklanjanjem varikoziteta i IPV, bez „strippinga“ VSM, istu sačuvaju funkcionalno korektnom do 78% slučajeva, pet godina nakon intervencije. Do sličnih rezultata dolaze u svom radu Christensen i Rasmaussen¹¹ i Mellièe¹². U današnje vreme metoda izbora je subfascijalna endoskopska hirurgija (SEPS) IPV naročito na terenu trofičkih promena¹³⁻¹⁷.

U dostupnoj literaturi objavljenoj do danas, izdvojili smo rad Cretona¹⁸ koji je merio VSM pre i 30–45 dana posle operacije IPV tributorne grane kod 12 ispitanika i registrovao smanjenje razlike poprečnog prečnika safenske vene proksimalno i distalno od tributornog ostijuma sa $1,59$ mm na $0,39$ mm ($p < 0,0033$), bez podatka o etiologiji insuficijencije tributorne grane¹⁸.

Kolor dopler ehoflebografija (KDE), kao metoda u proceni IPV, dugo je bila u senci ascendentne flebografije kao „zlatnog“ standarda¹⁹. Cilj ove studije bio je da se potvrdi da

je KDE pouzdana u ranom otkrivanju IPV kao uzročnika varikoznog sindroma, ali i da se da doprinos u proceni efekata ligature IPV u odnosu na prečnik safenskog stabla i potvrde ovog operativnog zahvata kao dovoljnog da „sačuva“ VSM.

U grupi I (ostijumi IPV bili su direktno na stablu VSM ili VSP), rezultati pri merenju prečnika safenskog stabla pre i nakon ligature bili su najevidentniji u nivou ostijuma jer se u toj visini javljao efekat „jet“ fenomena na suprotni zid safenske vene u toku refleksa. Manji efekat u odnosu na prethodni, bio je na distalnom i proksimalnom segmentu u odnosu na ostijum.

U grupi II (ostijumi IPV ulivali su se u tributore VSM ili VSP), merenjem promera stabla VSM i VSP pre i posle ligature IPV bilo je izvesnog pomaka u popravljaju prečnika safenskog stabla, ali slabijeg inteziteta nego u grupi I. Refluks koji postoji kod IPV u ovom slučaju bio je ublažen tokom krvi kroz tributornu granu do safenskog stabla, pa je „jet“ efekat na zid safene bio manji, a u distalnom nivou neznanat²⁰.

Zaključak

Smatramo da je KDE pouzdana neinvazivna, lako izvodljiva i pristupačna metoda u dijagnostikovanju IPV donjih ekstremiteta, kao i u praćenju postoperativnih rezultata i stanja safenskog stabla. Efekat hirurške intervencije, procenivan operativnim nalazima i kontrolom KDE ispitanika nakon 30 dana, pokazao se potpunim jer su sve IPV registrovane kao ligirane. Takođe, smanjenje promera safenskog stabla u nivou ostijuma, proksimalno i distalno od ušća IPV potvrđuje značaj hirurške intervencije kod IPV, pre nego što dođe do izraženih varikoziteta VSM i VSP. Terapeutski efekat predstavlja posebno zadovoljstvo jer odsustvo noćnih grčeva u listovima ispitanika postoperativno, drži nas u uverenju da rano otkrivanje IPV i njihovo ligiranje može ne samo da eliminiše početne, relativno podnošljive simptome, već i da spreči nastanak varikoznog sindroma kod značajnog broja potencijalnih bolesnika.

L I T E R A T U R A

1. Callam MJ. Epidemiology of varicose veins. Br J Surg 1994; 81(2): 167–73.
2. Schanzer H, Peirce EC 2nd. A rational approach to surgery of the chronic venous stasis syndrome. Ann Surg 1982; 195(1): 25–9.
3. Clerici T, Sege D. Perforating veins and venous insufficiency. Zentralbl Chir 1999; 124(6): 525–9. (German)
4. Juban C, Alimi Y, Di Mauro P. Surgery of the perforating veins of the leg: open and endoscopic techniques J Mal Vasc 1997; 22(5): 348–51. (French)
5. Albanese AR. Escoplage: new surgical technique for the treatment of varicose veins in the legs. J Cardiovasc Surg 1965; 6(6): 491–4.
6. Edwards JM. Shearing operation for incompetent perforating veins. Br J Surg 1976; 63(11): 885–6.
7. Sybrandy JE, van Gent WB, Pierik EG, Wittens CH. Endoscopic versus open subfascial division of incompetent perforating veins in the treatment of venous leg ulceration: long-term follow-up. J Vasc Surg 2001; 33(5): 1028–32.
8. Andreozzi GM, Signorelli S, Di Pino L, Garozzo S, Cacciaguerra G, Leone A, et al. Varicose symptoms without varicose veins: the hypotonic phlebopathy, epidemiology and pathophysiology. Minerva Cardioangiol 2000; 48(10): 277–85.
9. Kistner RL, Eklof B, Masuda EM. Diagnosis of chronic venous disease of the lower extremities: the "CEAP" classification. Mayo Clin Proc 1996; 71(4): 338–45.
10. Hammarsten J, Pedersen P, Cederlund CG, Campanello M. Long saphenous vein saving surgery for varicose veins. A long-term follow-up. Eur J Vasc Surg 1990; 4(4): 361–4.
11. Christensen A, Rasmussen A. Should the great saphenous vein be stripped in routine surgery for uncomplicated varicose veins? Ugeskr Laeger 1994; 156(38): 5494–7. (Danish)
12. Mellièe D. Why and when to preserve the saphenous veins of varicose patients to serve as an arterial bypass? J Mal Vasc 1994; 19(3): 216–21. (French)
13. Meyer T, Cavallaro A, Lang W. Duplex ultrasonography in the diagnosis of incompetent Cockett veins. Eur J Ultrasound 2000; 11(3): 175–80.

14. *Proebstle TM, Weisel G, Voit C, Peter RU*. Endoscopic fasciotomy and subfascial perforator division for chronic stasis ulcers. *Hautarzt* 1999; 50(8): 566–71. (German)
 15. *Van Damme H, Quaniers J, Lambert J, Limet R*. Resurgence of vein perforation surgery: SEPS (subfacial endoscopic perforator surgery) *Rev Med Liege* 2001; 56(7): 511–20 (French)
 16. *Rhodes JM, Glowiczki P, Canton LG, Rooke T, Lewis BD, Lindsey JR*. Factors affecting clinical outcome following endoscopic perforator vein ablation. *Am J Surg* 1998; 176(2): 162–7.
 17. *Fölsch C, Rauber K, Langer C*. Arteriovenous fistula after endoscopic dissection of the perforant vein of the lower leg with the neodymium: YAG laser in chronic venous stasis syndrome. *Vasa* 1998; 27(1): 43–5. (German)
 18. *Creton D*. Diameter reduction of the proximal long saphenous vein after ablation of a distal incompetent tributary. *Dermatol Surg* 1999; 25(5): 394–7.
 19. *Mantoni M*. Ultrasound of limb veins. *Eur Radiol* 2001; 11(9): 1557–62.
 20. *Sekulović S*. Color Doppler ehoflebografija u ranom otkrivanju isuficijencije perforantnih vena nogu kao uzročnika varikoznog sindroma. [Disertation]. Belgrade, 2002. (Serbian)
- Rad primljen 20. X 2008.



Faktori rizika od nastanka oboljenja kardiovaskularnog sistema u studentskoj populaciji

Risk factors for the occurrence of cardiovascular system diseases in students

Dušica Stojanović*, Aleksandar Višnjić*, Vladimir Mitrović*, Miodrag Stojanović†

Medicinski fakultet Niš, *Katedra za socijalnu medicinu i higijenu,

†Katedra opšteobrazovnih predmeta, Niš, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Kardiovaskularne bolesti vodeći su uzrok umiranja u većini razvijenih zemalja i u mnogim zemljama u razvoju. Cilj ovog istraživanja bio je utvrđivanje faktora rizika od nastanka oboljenja kardiovaskularnog sistema kod studentske populacije i predlaganje preventivnih mera. **Metode.** Istraživanje je sprovedeno u periodu od 2007. do 2008. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Nišu. Istraživanjem su bila obuhvaćena 824 studenta (220 muškog i 604 ženskog pola) poslednje godine studija. **Rezultati.** Nije utvrđena značajna razlika u učestalosti hipertenzije kod studenata (1,81%) i studentkinja (0%). Gojaznost je bila značajno više zastupljena ($p < 0,001$) kod studenata (7,27%), nego kod studentkinja (1,32%). Abdominalna gojaznost bila je, takođe, značajno ($p < 0,01$) češća kod studenata (9,09%), nego kod studentkinja (1,32%). Svaki četvrti student pušio je cigarete i u tome nije utvrđena značajna razlika među polovima. Alkohol su značajno češće ($p < 0,001$) konzumirali studenti (18,18%) nego studentkinje (2,65%). Utvrđena je značajno češća fizička neaktivnost ($p < 0,001$) kod studentkinja (66,90%), nego kod studenata (36,32%). Kod studenata je utvrđena statistički značajna korelacija između sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska, indeksa telesne mase (BMI) i obima struka, a godine života korelirale su sa sistolnim krvnim pritiskom, obimom struka i pušenjem. Sistolni krvni pritisak kod studentkinja korelirao je sa dijastolnim pritiskom, BMI i obimom struka, dijastolni krvni pritisak sa BMI i fizičkom neaktivnošću, a pušenje sa konzumiranjem alkohola i životnom dobi. **Zaključak.** Kardiovaskularni faktori rizika kod studenata medicine poslednje godine na niškom Univerzitetu razlikuju se u odnosu na pol. Neophodno je insistirati na smanjenju gojaznosti, pušenja cigareta i konzumiranja alkohola kao i na povećanoj fizičkoj aktivnosti kod studenata u cilju prevencije kardiovaskularnih bolesti.

Ključne reči:

kardiovaskularne bolesti; faktori rizika; studenti medicine; hipertenzija; gojaznost; pušenje; alkohol, pijeње.

Abstract

Background/Aim. Cardiovascular diseases are a leading cause of death in the majority of developed, as well as in many developing countries. The aim of this study was to determine cardiovascular risk factors in student population and to suggest possible measures for prevention. **Methods.** The study was carried out during 2007–2008 at the School of Medicine, University of Niš. It included 824 students in their final year (220 males, 604 females). **Results.** There was no significant difference in prevalence of hypertension among the male (1.81%) and female students (0%). The prevalence of obesity (Body Mass Index – BMI > 30 kg/m²) was significantly higher ($p < 0.001$) in the male (7.27%) than in the female population (1.32%). Abdominal obesity was also more frequently encountered ($p < 0.01$) in the male (9.09%) than in female population (1.32%). Every fourth student smoked cigarettes with no significant difference between the male and female students. Alcohol consumption was a significantly higher problem ($p < 0.001$) in the male population (18.18%) than in the female one (2.65%). Physical inactivity was more often found ($p < 0.001$) in the female students (66.90%), than in male ones (36.32%). By the bivariate correlation of cardiovascular risk factors, it was determined that in the male student population systolic blood pressure correlated significantly with diastolic blood pressure, BMI and waist size, whereas age correlated with systolic blood pressure, waist size and smoking. In the female students systolic blood pressure correlated with diastolic blood pressure, BMI and waist size; diastolic blood pressure correlated with BMI and physical inactivity; cigarette smoking correlated with alcohol consumption and age. **Conclusion.** Cardiovascular risk factors are present in the final-year students of the School of Medicine, University of Niš. It is necessary to insist on decreasing obesity prevalence, cigarette and alcohol consumption, and on increasing physical activity of students in order to prevent cardiovascular diseases.

Key words:

cardiovascular diseases; risk factors; students, medical; hypertension; obesity; smoking; alcohol drinking.

Uvod

Kardiovaskularne bolesti vodeći su uzrok umiranja u većini razvijenih zemalja, kao i u mnogim zemljama u razvoju. One predstavljaju značajan uzrok invalidnosti, smanjene radne sposobnosti, kao i rastućih troškova zdravstvene zaštite. U zemljama kao što je Srbija, u kojima je u visokom procentu zastupljeno staro stanovništvo, ovaj problem dobija poseban značaj.

Kardiovaskularne bolesti nastaju kao rezultat delovanja mnogobrojnih faktora rizika (gojaznost, visok krvni pritisak, nedovoljna fizička aktivnost, hiperlipoproteinemija, neadekvatna ishrana i nezdrav način života)¹⁻³. Socioekonomske promene u društvu, migracija stanovništva i dr. mogu uticati na veću prevalenciju pojedinih faktora rizika, pa samim tim i na veću prevalenciju kardiovaskularnih bolesti⁴⁻⁶.

Epidemiološka ispitivanja pokazala su da postoji visoka korelacija između morbiditeta i mortaliteta od kardiovaskularnih bolesti odraslih osoba sa ranim aterosklerotičnim lezijama i prisustvom kardiovaskularnih faktora rizika kod mladih ljudi. Većina faktora rizika kod mladih ljudi ima tendenciju održavanja na istom nivou i u starijem uzrastu. Efekat svakog od tih faktora je kumulativan, a kombinacija faktora kao i njihovo udruženo prisustvo dovode do multipliciranja i povećavanja rizika sa porastom godina, a posebno nakon druge, odnosno treće decenije života. Mladi ljudi koji se nalaze u rizičnoj grupi u pogledu kardiovaskularnih faktora rizika zadržavaju se najčešće u toj grupi i u kasnijem životnom dobu, što ukazuje na neophodnost ranog prepoznavanja i preventivnog delovanja. Preventivno i profilaktičko delovanje u smislu snižavanja i ublažavanja kardiovaskularnih faktora rizika pokazalo se uspešnim u velikom broju slučajeva kod različitih populacionih grupa, a posebno kod mladih^{7,8}.

Cilj ovog istraživanja bio je da se utvrde kardiovaskularni faktori rizika kod studentske populacije, da se utvrde razlike među polovima u pogledu istih faktora i predlože preventivne mere.

Metode

Ovu analitičku studiju, tipa studije prevalencije odobrio je Etički komitet Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu. Sprovedena je u periodu od 2007. do 2008. godine. Na početku studije istraživanjem je obuhvaćeno 876 studenata završnih godina Medicinskog fakulteta, ali su 52 ispitanika isključena iz studije zbog nekompletnosti podataka. Konačni broj ispitanika bio je 824 (220 muškog i 604 ženskog pola). Studenti su imali od 22 do 30 godina (muškarci prosečno $25,3 \pm 1,52$ godine, a žene $25,1 \pm 1,44$ godine). Ispitivanje je sprovedeno anketiranjem studenata od strane lekara, merenjem antropometrijskih karakteristika i merenjem krvnog pritiska. Pre ispitivanja studenti su bili upoznati sa ciljevima i metodom ispitivanja.

Informacije o polu, životnom dobu, fizičkoj aktivnosti, navikama pušenja cigareta i konzumiranja alkohola dobijeni su putem anonimne ankete. Anketni upitnik i rezultati merenja ispitanika bili su zavedeni pod istim šifriranim brojem.

U pogledu navika pušenja cigareta studenti su se izjašnjavali na sledeći način: nikad nije pušio, bivši pušač i puši redovno.

Na pitanje o konzumiranju alkohola student je mogao da odgovori: ne konzumira alkohol, radi to povremeno ili svakodnevno.

Fizička neaktivnost bila je definisana kao bavljenje umerenom fizičkom aktivnošću (ubrzan hod, poslovi u kući, rekreativni sportovi) i manje od 3,5 h/nedeljno.

Krvni pritisak meren je pomoću živinog manometra na desnoj nadlaktici pri položaju ispitanika u sedećem položaju i nakon odmora od najmanje 10 min. Srednja vrednost dva uzastopna merenja korišćena je kao rezultat ispitivanja. Hipertenzija je definisana kao sistolni krvni pritisak ≥ 140 mmHg i/ili dijastolni krvni pritisak ≥ 90 mmHg. Prehipertenzija je definisana kao: sistolni krvni pritisak 130–140 mmHg i/ili dijastolni krvni pritisak 85–90 mmHg.

Telesna masa i visina ispitanika merena je antropometrom sa tačnošću od 0,1 kg, odnosno 0,1 cm. Indeks telesne mase (*Body Mass Index* – BMI) bio je računat prema formuli: telesna masa (kg)/visina² (m²). Gojaznost je definisana kao BMI ≥ 30 kg/m², a predgojaznost ukoliko je BMI bio 25–29,9 kg/m².

Obim struka meren je santimetrom tačnosti 0,1 cm. Abdominalna gojaznost bila je definisana obimom struka kod muškaraca ≥ 102 cm, a kod žena ≥ 88 cm.

Parametrijska obeležja predstavljena su srednjom vrednošću (\bar{x}) i standardnom devijacijom (SD), a kategorijska procentualnom strukturom. U cilju upoređivanja incidencije pojedinih faktora rizika korišćeni su Fischerov test egzaktno verovatnoće nulte hipoteze i Pearsonov χ^2 test. Za utvrđivanje korelacije između pojedinih faktora rizika (kod ženskog i muškog pola pojedinačno) korišćena je *Pearsonov* i *Spearmanov* rang korelacija. Granica statističke značajnosti definisana je na nivou $p < 0,05$. Podaci su analizirani korišćenjem programskog paketa SPSS za Windows (Verzija 15.0).

Rezultati

Rezultati ispitivanja pokazali su da je incidencija hipertenzije kod studenata bila veoma mala (kod četiri studenta ili 1,81% utvrđen je povišen krvni pritisak, dok nijedna studentkinja nije imala hipertenziju) (tabela 1). Incidencija prehipertenzije, takođe, bila je mala: samo četiri studentkinje (0,66%) svrstane su u grupu sa prehipertenzijom.

Analiza BMI (tabela 2) pokazala je da je svaki treći student svrstan u grupu predgojaznih, dok je 7,27% studenata bilo gojazno. Prosečna vrednost BMI kod studenata bila je iznad 25 kg/m² što se, inače, smatra graničnom vrednošću normalne uhranjenosti. Kod studentkinja gojaznost se značajno ređe sretala ($p < 0,001$): 1,32% studentkinja bilo je gojazno, a 7,95% svrstano u grupu predgojaznih.

Abdominalna gojaznost (tabela 3), takođe, bila je značajno veći problem među studentima nego među studentkinjama ($p < 0,01$). Svaki deseti student imao je obim struka koji se smatra rizičnim od nastanka kardiovaskularnih bolesti, dok je kod studentkinja zastupljenost abdominalne gojaznosti bila 1,32%.

Tabela 1
Krvni pritisak i učestalost prehipertenzije i hipertenzije kod ispitivanih studenata medicine (n = 824)

Studenti	Sistolni krvni pritisak (mmHg)	Dijastolni krvni pritisak (mmHg)	Učestalost prehipertenzije	Učestalost hipertenzije
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	(%)	(%)
Muškarci	125,0 ± 12,6	72,0 ± 8,8	0	1,81
Žene	112,3 ± 12,1	67,3 ± 7,5	0,66	0,00
Svi studenti	115,7 ± 13,5	68,6 ± 8,1	0,49	0,49

Tabela 2
Indeks telesne mase (BMI) i učestalost gojaznosti kod ispitivanih studenata medicine (n = 824)

Pol	Indeks telesne mase (kg/m ²)			Učestalost predgojaznosti	Učestalost gojaznosti	p*
	$\bar{x} \pm SD$	Min	Max	(%)	(%)	
Muški	25,2 ± 3,29	17,8	35,6	38,18	7,27	< 0,001
Ženski	21,3 ± 2,53	16,8	30,8	7,95	1,32	
Svi studenti	22,3 ± 3,23	16,8	35,6	16,02	2,91	

*Pearsonov χ^2 test za poređenje učestalosti gojaznosti

Tabela 3
Obim struka i učestalost abdominalne gojaznosti kod ispitivanih studenata medicine (n = 824)

Pol	Obim struka (cm)			Učestalost abdominalne gojaznosti	p*
	$\bar{x} \pm SD$	Min	Max	(%)	
Muški	89,15 ± 8,79	70	114	9,09	< 0,01
Ženski	68,60 ± 6,55	58	93	1,32	
Svi studenti	74,08 ± 11,61	58	114	3,39	

*Pearsonov χ^2 test za poređenje učestalosti abdominalne gojaznosti

Statistički značajna razlika u pogledu pušenja cigareta među polovima nije utvrđena. Svaki četvrti ispitanik, bez obzira na pol, pušio je cigarete (tabela 4), i to među studentima bilo je 14,5% bivših pušača, a među studentkinjama 10,6%. Konzumiranje alkohola bilo je značajno češće kod studenata u odnosu na studentkinje ($p < 0,001$). Utvrđeno je da 18,18% studenata i 2,65% studentkinja redovno konzumiraju alkoholno piće. Pri tome, svaka druga studentkinja (48,34%) i

18,2% studenata uopšte ne konzumiraju alkohol. Studenti su značajno više fizički aktivni od studentkinja ($p < 0,001$). Čak 66,9% studentkinja istaklo je da se bave umerenom fizičkom aktivnošću (brzo hodaње, umereno teški kućni poslovi, plivanje i drugi sportovi) manje od 3,5 časa nedeljno. Incidenca fizičke neaktivnosti kod studenata bila je 36,32%.

Bivarijantnom korelacijom kardiovaskularnih faktora rizika (tabela 5) utvrđeno je da je kod studenata sistolni krvni

Tabela 4
Navika pušenja cigareta, konzumiranja alkohola i fizičke neaktivnosti kod ispitivanih studenata medicine (n = 824)

Navike	Pol	Učestalost (%)	p*
Pušenje cigareta	muški	25,42	< 0,001
	ženski	25,23	
Konzumiranje alkohola	muški	18,18	
	ženski	2,65	
Fizička neaktivnost (< 3,5 sati/nedeljno)	muški	36,32	< 0,001
	ženski	66,90	

*Pearsonov χ^2 test za poređenje analiziranih varijabli između polova

Tabela 5
Korelacija kardiovaskularnih faktora rizika kod ispitivanih studenata medicine muškog (ispod dijagonale) i ženskog pola (iznad dijagonale)

Muški pol	Ženski pol							
	Sistolni krvni pritisak	Dijastolni krvni pritisak	Indeks telesne mase	Obim struka	Pušenje cigareta	Konzumiranje alkohola	Fizička neaktivnost	Uzrast
Sistolni krvni pritisak	1,0	0,59 [†]	0,24 [†]	0,20*	0,07	0,07	0,01	0,05
Dijastolni krvni pritisak	0,63 [†]	1,0	0,17*	0,15	0,13	0,04	-0,17*	0,11
Indeks telesne mase	0,42 [†]	0,37 [†]	1,0	0,78 [†]	0,12	0,07	-0,05	-0,02
Obim struka	0,37*	0,28*	0,78 [†]	1,0	-0,03	0,04	-0,26	-0,03
Pušenje cigareta	0,08	0,07	-0,26	0,01	1,0	0,39 [†]	-0,15	0,22 [†]
Konzumiranje alkohola	0,21	-0,03	-0,09	-0,08	0,13	1,0	0,01	-0,13
Fizička neaktivnost	0,16	-0,02	-0,20	-0,23	-0,04	-0,04	1,0	-0,08
Uzrast	0,29*	0,25	0,10	0,29*	0,31*	0,115	0,14	1,0

* $p < 0,05$; [†] $p < 0,01$

pritisak pozitivno korelirao sa dijastolnim krvnim pritiskom ($r = 0,63, p < 0,01$), sa BMI ($r = 0,42, p < 0,01$), sa obimom struka ($r = 0,37, p < 0,05$), a dijastolni krvni pritisak sa BMI ($r = 0,37, p < 0,01$) i obimom struka ($r = 0,28, p < 0,05$). Kod studenata, godine starosti bile su u pozitivnoj korelaciji sa sistolnim pritiskom ($r = 0,29$), obimom struka ($r = 0,29$) i pušenjem ($r = 0,31$), uz nivo statističke značajnosti od $p < 0,05$. Kod studentkinja sistolni krvni pritisak je pozitivno korelirao sa dijastolnim krvnim pritiskom ($r = 0,59, p < 0,1$), BMI ($r = 0,24, p < 0,01$) i obimom struka ($r = 0,21, p < 0,05$). Dijastolni krvni pritisak kod ispitanica je pozitivno korelirao sa BMI ($r = 0,17, p < 0,05$), a negativno sa fizičkom neaktivnošću ($\rho = -0,17, p < 0,05$). Veći BMI pratio je veći obim struka kod studentkinja ($r = 0,78, p < 0,01$). Kod ove populacione grupe pušenje cigareta pozitivno je koreliralo sa životnom dobi ($\rho = 0,22, p < 0,01$).

Diskusija

Povišen arterijski pritisak je često oboljenje, kako u razvijenim zemljama, tako i u zemljama u tranziciji. Njegova učestalost zavisi od demografskih karakteristika: kod muškaraca češće u prvoj polovini života, češće se javlja kod migranata, a etnička pripadnost može biti precipitirajući faktor^{9,5}. Hipertenzija se javlja i kod mladih ljudi, ali je obično praćena oskudnom i nespecifičnom simptomatologijom, tako da se najčešće ne prepoznaje⁶. Rezultati naše studije pokazali su da je zastupljenost hipertenzije zanemarljiva kod ispitanice grupe studenata. Studija, sprovedena u Španiji¹, pokazala je da je hipertenzija značajno češća pojava kod univerzitetskih studenata muškog pola (19,4%), u odnosu na ženski pol (1,4%). Pri tome treba istaći da je učestalost povišenog krvnog pritiska kod ispitanika pomenute studije daleko veća (19,4%), nego kod studenata u našoj studiji (1,8%).

Prema rezultatima naše studije ispitanici muškog pola bili su značajno češće gojazni nego osobe ženskog pola, što je u skladu sa rezultatima drugih autora^{10,11}. Pretpostavka je da studentkinje značajno više pažnje posvećuju svom izgledu, više brinu o vrsti namirnica i količinu unete hrane¹². One su uglavnom manje zadovoljne svojom telesnom masom i više se trude da budu vitke¹³. Podaci iz literaturne ukazuju na to da mlade osobe imaju niži BMI i da su ređe gojazne u odnosu na starije^{1,13,14}.

Abdominalna gojaznost predstavlja direktan pokazatelj rizika od pojave kardiovaskularne bolesti. Prema našoj studiji ovom riziku posebno su izloženi studenti, a studentkinje su u znatno manjem procentu imale obim struka iznad preporučenih vrednosti. Rezultati ispitivanja sličnih uzrastnih grupa iz Sjedinjenih Država i Kine delimično se razlikuju^{15,16}.

Loše zdravstvene navike prisutne su kod pojedinih studenata ispitanice populacione grupe, iako su, kao studenti poslednjih godina medicine, vrlo dobro upoznati sa svim njihovim štetnim efektima. Cigarete svakodnevno puši četvrtina studentske populacije oba pola, što je u skladu sa rezultatima ispitivanja mladih ljudi iz drugih delova sveta^{17,18}. Prema podacima iz literature u pojedinim delovima sveta prevalencija pušenja cigareta daleko je manja kod mladih osoba žen-

skog pola, nego kod njihovih vršnjaka muškog pola¹⁹. U starijem uzrastu, prema podacima iz literature, ona ostaje na istom nivou ili se može povećati, na šta mogu uticati mnogobrojni faktori iz spoljašnje sredine^{5,14,20}.

Prema našoj studiji, konzumiranje alkohola posebno je karakteristično za ispitanike muškog pola, što je u skladu sa podacima iz literature ili se delimično razlikuje od njih^{5,21,22}. Ispitivanja drugih autora ukazuju na to da na konzumiranje alkohola kod mladih ljudi najčešće utiču mnogobrojni faktori iz životne sredine, kao što su tradicionalni običaji na određenom geografskom području, zatim socioekonomski status i navike u porodici, ali i edukativni nivo i psihičke karakteristike svakog pojedinca²²⁻²⁴.

Studije koje ukazuju na važnost umerene fizičke aktivnosti za očuvanje i unapređenje zdravlja, ali i za prevenciju mnogih bolesti savremenog doba, mnogobrojne su^{11,25}. Prema rezultatima naše studije, fizička neaktivnost daleko je veći problem među ispitanicima nego među studentima. Moglo bi se očekivati da studenti medicine, kao mladi ljudi koji dobro poznaju prednosti svakodnevnice umerene fizičke aktivnosti, provode znatno više vremena baveći se nekim sportom ili umerenom fizičkom aktivnošću. Rezultati ispitivanja drugih autora ukazuju na to da kod mladih ljudi nema razlike među polovima u pogledu fizičke aktivnosti, odnosno neaktivnosti²³.

U ispitivanoj populacionoj grupi kod studenata muškog pola utvrđeno je da je gojaznost, pre svega abdominalna, povezana sa višim vrednostima i sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska. Izmerene vrednosti krvnog pritiska još uvek nisu u okvirima „hipertenzivnih“, ali se može reći da su već u ovim godinama gojazni studenti u većem riziku od kardiovaskularnih bolesti. Stariji studenti su u većem riziku od kardiovaskularnih bolesti, pošto su izloženi faktorima rizika (veće vrednosti sistolnog krvnog pritiska, izraženija abdominalna gojaznost i pušenje).

Gojazne studentkinje u većem su riziku od kardiovaskularnih bolesti, jer su kod njih faktori rizika prisutniji (abdominalna gojaznost, više vrednosti sistolnog i dijastolnog pritiska). Kod studentkinja se kardiovaskularni rizik povećava sa godinama života zbog veće učestalosti pušenja. Interesantno je da su studentkinje koje konzumiraju alkohol vrlo često i pušači.

Korelacija između životnog doba ispitanika i njihovih ostalih analiziranih varijabli, uslovljena je dosta heterogenim stratumom po starosnoj strukturi. Zapravo, životno doba ispitanika u našem uzorku bila je od 22 do 30 godina i predstavlja varijaciju koja je dovoljno velika da bude razlog jedne ovakve analize. Pozitivna korelacija između životnog doba i sistolnog pritiska, obima struka i pušenja cigareta ima veoma veliki preventivno medicinski značaj, u smislu razumevanja međusobnih veza i kretanja učestalosti pojedinih faktora rizika. Dobijene korelacije ukazuju na to da se sa godinama prisustvo faktora rizika povećava i, uzevši u obzir biološko opterećenje, povećava šansu za nastajanje bolesti kardiovaskularnog sistema. Ovako dobijeni podaci omogućavaju nam blagovremeno i pravilno planiranje zdravstveno vaspitnog rada u cilju prevencije kardiovaskularnih oboljenja.

Podaci iz literature ukazuju na to da navike u ishrani, ali i druge zdravstvene navike i običaji u studentskoj populaciji mogu predstavljati rizik po zdravlje ove populacije²⁶. Kod odraslih ispitanika u Kini utvrđena je značajna korelacija BMI i obima struka sa sistolnim i dijastolnim krvnim pritiskom kod ispitanika oba pola^{2, 15}. U pojedinim studijama utvrđena je povezanost BMI i hipertenzije, a u Sjedinjenim Državama utvrđeno je da je smanjena fizička aktivnost značajan prediktor gojaznosti kod opšte populacije^{9, 27}.

Ovo istraživanje pokazalo je da su pojedini faktori rizika od nastanka kardiovaskularnih bolesti prisutni kod studenata Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu (povišene vrednosti BMI, abdominalna gojaznost, pušenje, konzumiranje alkohola, nedovoljna fizička aktivnost), dok su kod studentkinja posebno izraženi faktori rizika pušenja i nedovoljna fizička aktivnost. Zbog ekonomskih problema, istraživanjem nisu bila obuhvaćena laboratorijska ispitivanja, što bi omogućilo utvrđivanje učestalosti dijabetesa i hiperlipoproteinemija u ovoj populaciji. Buduća istraživanja treba da obuhvate i ove parametre, kako bi se i sa ovog aspekta sagledao problem kardiovaskularnih faktora rizika.

Zaključak

Rezultati istraživanja pokazuju da su kod studenata poslednjih godina na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Nišu prisutni kardiovaskularni faktori rizika, i pre svega povišen BMI, abdominalna gojaznost, pušenje, konzumiranje alkohola, i nedovoljna fizička aktivnost. Izraženi faktori rizika kod studentkinja su pušenje i, posebno, nedovoljna fizička aktivnost. Visok edukativni nivo ove populacione grupe očigledno nije bio dovoljan razlog da faktori rizika budu prisutni u manjem obimu. Navike u ishrani stečene u ranijem periodu, tradicionalni običaji u porodici, uobičajeno ponašanje i odnos prema zdravlju u široj socijalnoj sredini, verovatno su uticali na to da se mnoge loše navike zadrže bez obzira na visok stepen obrazovanja. Zbog toga je neophodno da se započne sa preventivnim programom za pravilnu ishranu i promociju zdravog načina života i da se on permanentno sprovodi od detinjstva, jer se navike u tom uzrastu najlakše usvajaju i održavaju tokom čitavog života.

Zahvalnost

Autori se zahvaljuju svim nastavnicima, saradnicima i studentima Medicinskog fakulteta u Nišu koji su doprineli da ovo istraživanje bude sprovedeno.

L I T E R A T U R A

1. *Irazusta A, Hoyos I, Irazusta J, Ruiz F, Diaz E, Gil J.* Increased cardiovascular risk associated with poor nutritional habits in first-year university students. *Nutr Research* 2007; 27(7): 387–94.
2. *Wildman RP, Gu D, Reynolds K, Duan X, Wu X, He J.* Are waist circumference and body mass index independently associated with cardiovascular disease risk in Chinese adults?. *Am J Clin Nutr* 2005; 82(6): 1195–202.
3. *Hooper L, Summerbell CD, Higgins JP, Thompson RL, Capps NE, Smith GD, et al.* Dietary fat intake and prevention of cardiovascular disease: systematic review. *BMJ* 2001; 322(7289): 757–63.
4. *Janssen I, Boyce WF, Simpson K, Pickett W.* Influence of individual- and area-level measures of socioeconomic status on obesity, unhealthy eating, and physical inactivity in Canadian adolescents. *Am J Clin Nutr* 2006; 83(1): 139–45.
5. *Bjerregaard P, Jørgensen ME, Borch-Johnsen K.* Cardiovascular risk amongst migrant and non-migrant Greenland Inuit in a gender perspective. *Scand J Public Health* 2007; 35(4): 380–6.
6. *Rogacheva A, Laatikainen T, Tossavainen K, Vlasoff T, Pantelev V, Vartiainen E.* Changes in cardiovascular risk factors among adolescents from 1995 to 2004 in the Republic of Karelia, Russia. *Eur J Public Health* 2007; 17(3): 257–62.
7. *Qian J, Wang B, Dawkins N, Gray A, Pace R.* Reduction of risk factors for cardiovascular diseases in African Americans with a 12-week nutrition education program. *Nutr Research* 2007; 27(5): 252–57.
8. *Panunzio M, Antoniciello A, Pisano A, Dalton S.* Nutrition education intervention by teachers may promote fruit and vegetable consumption in Italian students. *Nutr Research* 2007; 27(9): 524–28.
9. *Rampal L, Rampal S, Azhar MZ, Rahman AR.* Prevalence, awareness, treatment and control of hypertension in Malaysia: a national study of 16,440 subjects. *Public Health* 2008; 122(1): 11–8.
10. *Satalic Z, Baric IC, Keser I.* Diet quality in Croatian university students: energy, macronutrient and micronutrient intakes according to gender. *Int J Food Sci Nutr* 2007; 58(5): 398–410.
11. *Brown A, Siabpush M.* Risk factors for overweight and obesity: results from the 2001 National Health Survey. *Public Health* 2007; 121(8): 603–13.
12. *Malinauskas BM, Raedeke TD, Aeby VG, Smith JL, Dallas MB.* Dieting practices, weight perceptions, and body composition: a comparison of normal weight, overweight, and obese college females. *Nutr J* 2006; 5: 11.
13. *Cuadrado C, Carbajal A, Moreiras O.* Body perceptions and slimming attitudes reported by Spanish adolescents. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54 Suppl 1: S65-8.
14. *Pilav A, Nissinen A, Haukkala A, Niksic D, Laatikainen T.* Cardiovascular risk factors in the Federation of Bosnia and Herzegovina. *Eur J Public Health* 2007; 17(1): 75–9.
15. *Bei-Fan Z.* Cooperative Meta-Analysis Group of Working Group on Obesity in China. Predictive values of body mass index and waist circumference for risk factors of certain related diseases in Chinese adults: study on optimal cut-off points of body mass index and waist circumference in Chinese adults. *Asia Pac J Clin Nutr* 2002; 11 Suppl 8: S685–93.
16. *Flegal KM.* Waist circumference of healthy men and women in the United States. *Int J Obes (Lond)* 2007; 31(7): 1134–9.
17. *Kima MH, Chungb YS, Sungc JC.* Negative effects of alcohol consumption and tobacco use on bone formation markers in young Korean adult males. *Nutr Research* 2007; 27: 104–8.
18. *Song AV, Ling PM, Neilands TB, Glantz SA.* Smoking in movies and increased smoking among young adults. *Am J Prev Med* 2007; 33(5): 396-403.
19. *Mao Z, Wu B.* Urban-rural, age and gender differences in health behaviours in the Chinese population: findings from a survey in Hubei, China. *Public Health* 2007; 121(10): 761–4.
20. *Janzon E, Engström G, Hedblad B, Berglund G, Janzon L.* Smoking as a determinant of the geographical pattern of cardiac events among women in an urban population. *Scand J Public Health* 2007; 35(3): 272–7.
21. *Kern J, Strnad M, Coric T, Vuletic S.* Cardiovascular risk factors in Croatia: struggling to provide the evidence for developing policy recommendations. *BMJ* 2005; 331(7510): 208–10.

22. *Engels RC, Knibbe RA.* Young people's alcohol consumption from a European perspective: risks and benefits. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54 Suppl 1: S52–5.
 23. *Mikkilä V, Lahti-Koski M, Pietinen P, Virtanen SM, Rimpelä M.* Associates of obesity and weight dissatisfaction among Finnish adolescents. *Public Health Nutr* 2003; 6(1): 49–56.
 24. *MacDonald I.* Health issues related to alcohol consumption. *IL-SI Europe*; 1999.
 25. *Branca F.* Physical activity, diet and skeletal health. *Public Health Nutr* 1999; 2(3A): 391–6.
 26. *Sakamaki R, Toyama K, Amamoto R, Liu CJ, Shinfuku N.* Nutritional knowledge, food habits and health attitude of Chinese university students—a cross sectional study. *Nutr J* 2005; 4: 4.
 27. *Liebman M, Pelican S, Moore SA, Holmes B, Wardlaw MK, Melber LM.* Dietary intake, eating behavior, and physical activity-related determinants of high body mass index in rural communities in Wyoming, Montana, and Idaho. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27(6): 684–92.
- Rad primljen 20. X 2008.



Clinical evaluation of oxidative stress in patients with diabetes mellitus type II – impact of acute exercise

Uticaj fizičke aktivnosti na kliničku procenu oksidativnog stresa kod bolesnika sa dijabetesom melitusom tip 2

Nada Kostić*, Zorica Čaparević*, Đorđe Marina*, Sanja Ilić*,
Jana Radojković*, Zoran Čosić†, Vera Bakić-Čelić†

University Clinical Center “Dr Dragiša Mišović – Dedinje“, *Department of
Endocrinology, †Department of Cardiology, Belgrade, Serbia

Abstract

Background/Aim. Exercise is a well recognized model of oxidative stress and, also, an important tool in diabetes management. The aim of our study was to evaluate oxidative stress in patients with diabetes mellitus type 2 and to determine influence of acute exercise training on the investigated parameters. **Methods.** To evaluate oxidative stress in the patients, we determined following parameters: triglycerides (TG), total cholesterol, low density lipoprotein cholesterol (LDL), oxidized LDL cholesterol (Ox LDL), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), plasminogen activator inhibitor (PAI) which were measured at rest and immediately after the acute bout of cardiopulmonary exercise cycle-ergometer test. **Results.** In basal condition, diabetic patients compared to controls have significant higher values of TG (3.12 ± 1.09 vs 1.74 ± 0.9 mmol/L, $p < 0.01$), Ox LDL (84.73 ± 16.90 vs 79.00 ± 29.26 mmol/L, $p < 0.05$) and SOD enzyme activity (913.38 ± 120.36 vs 877.14 ± 153.18 U/g Hb, $p < 0.05$). During the acute exercise test, there was significant increase of Ox LDL in both the study patients (from 84.73 ± 16.90 to 92.33 ± 23.29 mmol/L, $p < 0.05$) and in the control group (from 79.00 ± 29.26 to 89.30 ± 29.07 mmol/L, $p < 0.05$). SOD activity was significantly increased in both groups during

exercise, in diabetic patients from 913.38 ± 120.36 to 921.50 ± 130.03 U/gHb, $p < 0.05$, and in the controls from 877.14 ± 153.18 to 895.00 ± 193.49 U/gHb, $p < 0.05$. GSH-Px activity was significantly increased only in the diabetic patients after the acute exercise (from 45.04 ± 11.19 to 51.81 ± 15.07 U/gHb, $p < 0.01$), but not in the controls (from 44.63 ± 13.73 to 43.97 ± 25.97 U/gHb, $p = ns$). PAI significantly decreased during the exercise test, only in the healthy subjects (from 2.60 ± 0.35 to 2.22 ± 0.65 , $p < 0.05$). Type 2 diabetic patients with complications had only significant increase in GSH-Px activity (from 47.10 ± 7.37 to 54.52 ± 11.97 U/gHb, $p < 0.01$). **Conclusion.** Elevated Ox LDL, SOD and GSH-Px levels are associated with acute exercise in type 2 diabetic patients. We suggest that it could be a compensatory mechanism to preventing free radicals tissue damage. We hypothesize that a physical training program induces an enhance of muscular and liver antioxidant enzymes activity and reduces oxidative stress. Further studies are needed to explore the relationship between exercise and antioxidant system in diabetic patients with and without complications.

Key words:
diabetes mellitus, type 2; oxidative stress;
oxidoreductases; exercise.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Poznato je da fizička aktivnost prouzrokuje oksidativni stres, ali i da predstavlja važan element u tretmanu dijabetesa. Cilj ove studije bio je da se proceni oksidativni stres kod bolesnika sa dijabetes melitusom tip 2 i da se ustanovi uticaj fizičke aktivnosti na ispitivane parametre. **Metode.** Kako bi se izvršila evaluacija oksidativnog stresa kod bolesnika, određivani su sledeći parametri: trigliceridi (TG), ukupni holesterol, lipoproteini male gustine (LDL), oksidovani LDL holesterol (Ox LDL), superoksid dismutaza

(SOD), glutation peroksidaza (GSH-Px), inhibitor aktivatora plazminogena (PAI). Parametri su mereni u vreme mirovanja i odmah nakon aerobnog treninga (ergometrijskog testa). **Rezultati.** U bazalnim uslovima bolesnici oboleli od dijabetesa, u odnosu na kontrolnu grupu imali su značajno više vrednosti TG ($3,12 \pm 1,09$ prema $1,74 \pm 0,9$ mmol/L, $p < 0,01$), Ox LDL ($84,73 \pm 16,90$ prema $79,00 \pm 29,26$ mmol/L, $p < 0,05$) i aktivnosti SOD ($913,38 \pm 120,36$ prema $877,14 \pm 153,18$ U/g Hb, $p < 0,05$). Tokom ergometrijskog testa uočen je statistički značajan porast koncentracije Ox LDL u ispitivanoj grupi bolesnika (sa $84,73 \pm 16,90$ na

92,33 ± 23,29 mmol/L, $p < 0,05$) i u kontrolnoj grupi (sa 79,00 ± 29,26 na 89,30 ± 29,07 mmol/L, $p < 0,05$). Uočeno je statistički značajno povećanje SOD aktivnosti u obe grupe tokom vežbe: kod obolelih od dijabetesa sa 913,38 ± 120,36 na 921,50 ± 130,03 U/gHb, $p < 0,05$, i u kontrolnoj grupi sa 877,14 ± 153,18 na 895,00 ± 193,49 U/gHb, $p < 0,05$. Do statistički značajnog povećanja GSH-Px aktivnosti došlo je kod obolelih od dijabetesa nakon fizičke aktivnosti (sa 45,04 ± 11,19 na 51,81 ± 15,07 U/gHb, $p < 0,01$), ali ne i u kontrolnoj grupi (sa 44,63 ± 13,73 na 43,97 ± 25,97 U/gHb, $p = ns$). Koncentracija PAI statistički je značajno opala tokom ergometrijskog testa samo u kontrolnoj grupi (sa 2,60 ± 0,35 na 2,22 ± 0,65, $p < 0,05$). Oboleli od dijabetesa tip 2 sa postojećim komplikacijama imali su samo značajan porast aktivnosti GSH-Px (sa 47,10 ± 7,37 na

54,52 ± 11,97 U/gHb, $p < 0,01$). **Zaključak.** Povišene vrednosti Ox LDL, SOD i GSH-Px udružene su sa povećanjem fizičke aktivnosti kod bolesnika sa tipom 2 dijabetesa melitusa. Ovakav rezultat mogao bi biti kompenzatorni odgovor organizma u prevenciji oštećenja tkiva od slobodnih radikala. Pretpostavlja se da određeni program fizičke aktivnosti podstiče i pojačava dejstvo antioksidativnih enzima jetre i mišića i smanjuje nivo oksidativnog stresa. Potrebno je uraditi još studija u cilju ispitivanja odnosa između fizičke aktivnosti i antioksidativnog sistema kod obolelih od dijabetesa melitusa sa komplikacijama i bez njih.

Ključne reči:
dijabetes melitus, tip-2; stres, oksidativni; oksidoreduktaze; vežbanje.

Introduction

Oxidative stress has been involved in the pathogenic process of a variety of diseases including diabetes mellitus (DM). The products of an oxidative stress could play an important role in diabetic complications which involve micro and macroangiopathic processes through lipid peroxidation (low density lipoprotein oxidation) and the production of advanced glycosylation end-products (AGEs), which are responsible for producing fragmentation, cross-linking and damage of basic structures, carbohydrates, lipids, proteins and DNA^{1,2}.

Hyperglycemia leads to metabolic disorders and various complications. An enhanced oxidative stress has been observed in diabetics as indicated by increased free radicals production, lipid peroxidation and diminished antioxidant stress^{3,4}. Oxidative stress, as well as non-enzymic glycosylation, is now considered as a major factor contributing to the extent of chronic diabetes complication. Diabetes produces disturbances of lipid profiles, especially an increased susceptibility to lipid peroxidation, which is responsible for increased incidence of atherosclerosis, a major complication of diabetes mellitus^{5,6}. Experimental and clinical evidence has demonstrated impairment of endothelium function caused by oxidative products in diabetic patients.

Growing evidences indicate that oxidative stress is increased in diabetes due to overproduction of reactive oxygen species (ROS) and decreased efficiency of antioxidant defences⁷. Antioxidant system, which includes enzymic and non-enzymatic components, consists of antioxidant molecules such as glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT).

We can provide evidence for oxidative stress by measuring markers of this stress or antioxidant molecules. Many studies have been done with contradictory results about changing levels of antioxidative substances. Unchanged, elevated or decreased levels of SOD and GSH-Px, have been reported in diabetic patients compared to healthy subjects⁸⁻¹².

Exercise, paradoxically, is a well recognized model of oxidative stress and also an important therapeutic tool in diabetes management¹³. There is a little evidence about the role

of physical exercise as a promoter of oxidative stress and antioxidant status in diabetics. Physical exercise is associated with a significant increase of oxygen uptake both in the whole body level and at skeletal muscle. A small fraction of oxygen (2–5%) is converted into intermediate oxidative products and biochemical changes and tissue damage are produced. Reduced activity of antioxidant system could be a cause of increased oxidative state during exercise. Since physical activity protects against the development of cardiovascular disease (CVD) and modifies risk factors, a regular exercise program seems to be desirable. There is a biochemical paradox: considerable amounts of oxygen are necessary to obtain a good performance and a satisfactory cardiopulmonary status, while an excess of oxygen with altered metabolism could be harmful^{13,14}.

In relation to antioxidant enzymes, an increase of SOD and GSH-Px activity has been observed in skeletal muscle, heart and liver during a single bout of acute exercise¹⁵. It is important that physical training induces an increase of muscular and liver antioxidant enzymes activity, facilitating the removal of reactive oxygen species and the reduction of oxidative stress levels.

The aim of our study was to estimate the oxidative stress and antioxidant status in patients with type 2 diabetes mellitus compared to the control group at rest and during acute physical exercise. We also investigated if there was any difference of changes in antioxidant parameters during exercise test between patients with and without diabetic complications.

Methods

The study population was consisted of consecutive outpatients from the Endocrinology and Cardiology Departments of the University Clinical Centre "Dr Dragiša Mišović" Belgrade. We evaluated 50 patients with type 2 diabetes mellitus: 20 males, aged 50.47 ± 17.1 and 30 females aged 56.09 ± 15.6 years, and 20 age matched controls. Exclusion criteria were secondary arterial hypertension, coronary artery disease, rhythm disturbances, cerebrovascular disease chronic obstructive lung disorder or severe renal failure. All

patients included were treated with oral antidiabetics. Selection criteria for poor glycemic control was a level of glycosylated hemoglobin (HbA1c) higher than 6.5%.

The patients with DM were divided into groups using several criteria such as the presence of diabetic microangiopathic complications, level of metabolic control and body mass index (BMI).

For providing an objective assessment of exercise capacity and impairment we applied cardiopulmonary exercise cycle ergometer test (Jaeger Oxycon Delta ER – 900). All the study subjects underwent the symptom-limited incremental test protocol with 25 W increment per each 3 minutes. Test was designed to be progressive and incremental in order to elicit the important parameters: VO_2 max (mL/min) – maximal O_2 uptake; FAI index (%) – maximal O_2 uptake compared to predictive value; VO_2/kg (mL/kg/min) – uptake related to body weight; VE (L/min) – ventilation per minute; RER – respiratory exchange ratio, anaerobic threshold; T – time to anaerobic threshold (min). Heart rate and rhythm were continuously monitored using a 12 lead electrocardiogram. Blood pressure was measured before each load change. Gas analyses and flow probes were calibrated before each test. Gas exchange data was collected in a breath by breath manner and averaged into 30 – second time periods. All parameters were calculated as highest 30 – second time period recorded before volitional fatigue was reached.

This investigation was approved by the Ethical Committee of the University Clinical Centre “Dr Dragiša Mišović”.

Biochemical analyses included lipid parameters: triglycerides (TG), total cholesterol, high density lipoprotein (HDL) and low density lipoprotein (LDL) cholesterol, oxidized LDL cholesterol (OxLDL); glucose, glycosylated hemoglobin (HbA1c), plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1), and antioxidant enzymes: SOD and GSH-Px.

Triglycerides were measured with an enzymatic colorimetric method-Elitech.

LDL-cholesterol was calculated according to the Friedwald formula.

Oxidized LDL-cholesterol was measured by Elisa method (Mercodia).

HbA1c was measured by immunoturbidometric method using commercially available kit (Roche). Hitachi 902 ana-

lyser system was used. Glucose were determined using GOD-PAP method.

Plasminogen activator inhibitor type 1 was measured by spectrophotometric method using commercially kit (Behring).

The activity of SOD was measured from serum by testing the inhibition degree of tetrazolium salt oxidation reaction at 500 nm sample with a commercially available kit (Randox Laboratories, kit Ransod superoxide dismutase). The coefficient of variability between assays was 4.2%.

The erythrocyte activity of GSH-Px was determined by a commercial kit (Ransel glutathione peroxidase, Randox Laboratories) in erythrocytes at 340 nm by measuring the decrease of NADPH absorbency. The coefficient of variability between assays was 4%.

All data were expressed as mean \pm standard deviations (SD).

Statistical analysis was done by a statistical program called Statistical Package for the Social Sciences Program (SPSS). Comparisons of all measurements were made with paired Student's *t*-test and Mann-Whitney *U*-test. Simple and multiple linear regression analysis determined all correlations.

The *p* values were considered significant at $p < 0.05$.

Results

All demographics and biochemical parameters are shown in Table 1. The mean duration of diabetes was 7.18 years, body mass index (BMI) was $27.7 \pm 7.3 \text{ kg/m}^2$ in the diabetic group and 27.10 ± 8.1 in the controls. Twenty patients were with poor metabolic control (HbA1c: $8.14 \pm 1.4\%$) and 20 were well regulated (HbA1c: $3.54 \pm 0.8\%$). All diabetic patients were divided into two groups according to the occurrence of diabetic complications (29 without complications and 21 with complications).

HbA1c ($p < 0.01$) was significantly higher at rest in the diabetic patients compared to the controls.

Table 2 shows that VO_2 peak was significantly greater in the healthy group ($p < 0.01$) and VE was significantly higher in the diabetic group ($p < 0.05$).

Table 1

Clinical and biochemical parameters in all subjects at rest

Parameters	Diabetic patient (n = 50)	Controls (n=20)
Female/Male	30/20	10/10
Body mass index (kg/m^2)	27.27 ± 7.3	27.16 ± 8.1
Duration of diabetes (years)	7.18 ± 1.1	
Glycosilated hemoglobin – HbA1c (%)	$8.03 \pm 2.95^*$	5.34 ± 0.59

* $p < 0.01$

Table 2

Values of cardiopulmonary parameters in the patients with Diabetes mellitus and the controls

Variable	Diabetic patients	Controls
RER max (arbitrary units)	1.21 ± 0.25	1.14 ± 0.20
VO_2 peak (mL/min)	21.09 ± 4.40	$26.35 \pm 10.53^\dagger$
VE (L/min)	57.37 ± 17.15	$52.00 \pm 9.89^*$
T-time (min)	11.23 ± 2.27	11.05 ± 1.48

* $p < 0.05$; $^\dagger p < 0.01$; RER max – maximal respiratory exchange ratio; VO_2 peak – peak oxygen uptake; VE – ventilation per minute; T – time to anaerobic threshold in minutes

Table 3 shows that the patients with poor metabolic control had significantly increased levels of Ox LDL, SOD and GSH-Px after exercise. After exercise in both groups (control and diabetics) significantly higher levels of Ox LDL and SOD ($p < 0.05$) were found. GSH-Px was significantly higher only in patients with DM type 2 after exercise ($p < 0.01$). PAI-1 significantly decreased during the exercise test only in healthy subjects ($p < 0.05$), but there was no change in the patients with DM.

Our results showed that after the acute exercise, Ox LDL and SOD activity were significantly increased only in type 2 diabetic patients without complications ($p < 0.01$) (Table 4). In patients with diabetic complications we found a decreased value of Ox LDL and SOD activity after the exercise test, but the difference was not statistically significant. GSH-Px activity was higher after acute exercise in the both groups of diabetic patients (with and without complications) ($p < 0.01$).

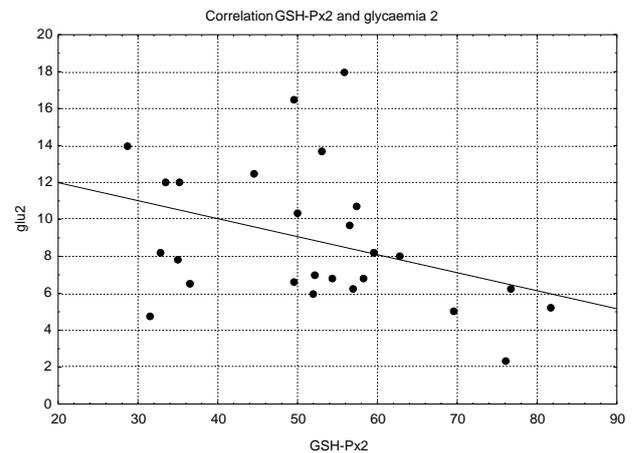


Fig. 1 – Correlation analysis of GSH-Px and glycemia values in diabetic patients

Table 3

Values of biochemical and antioxidant parameters before and after the exercise in patients with Diabetes mellitus with poor control and controls subjects

Parameters	Controls		Diabetic patients with poor control	
	rest	exercise	rest	exercise
Glycaemia (mmol/L)	5.26 ± 0.86	5.35 ± 0.96	9.79 ± 4.25	7.71 ± 3.83 [†]
TG (mmol/L)	1.74 ± 0.9	1.98 ± 1.0	3.12 ± 1.09	3.13 ± 1.74
LDL (mmol/L)	3.61 ± 1.56	3.55 ± 1.55	3.58 ± 0.72	3.84 ± 0.97
Total cholesterol (mmol/L)	5.57 ± 1.67	5.9 ± 1.88	5.63 ± 0.98	5.95 ± 1.12
Ox LDL (mmol/L)	79.00 ± 29.26	89.3 ± 29.07*	84.73 ± 16.9	92.33 ± 23.29*
SOD (U/g Hb)	877.14 ± 153.18	895.0 ± 193.49*	913.38 ± 120.36	921.50 ± 130.03*
GSH-Px (U/gHb)	44.63 ± 13.73	43.97 ± 25.97	45.04 ± 11.19	51.81 ± 15.07 [†]
PAI-1 (mg/mL)	2.60 ± 0.35	2.22 ± 0.65*	2.97 ± 1.08	2.99 ± 1.02

* $p < 0.05$; [†] $p < 0.01$ vs values before the acute exercise

TG – triglycerides, LDL – low density lipoprotein cholesterol, OxLDL – oxidized LDL, SOD – superoxide dismutase, GSH-Px – glutathione peroxidase, PAI – plasminogen activator inhibitor.

Table 4

Values of biochemical and antioxidant parameters before and after the exercise in diabetic patients with and without complications

Parameters	Diabetic patients without complications (n = 29)		Diabetic patients with complications (n = 21)	
	rest	exercise	rest	exercise
TG (mmol/L)	3.78 ± 1.74	3.85 ± 1.96	1.80 ± 0.58	1.82 ± 0.88
LDL (mmol/L)	3.34 ± 0.77	3.44 ± 0.92	3.74 ± 0.66	4.03 ± 0.98
Ox LDL (mmol/L)	87.86 ± 16.23	107.4 ± 7.82 [†]	80.72 ± 22.05	78.5 ± 29.32
SOD (U/g Hb)	895.0 ± 162.85	929.3 ± 147.02 [†]	917.0 ± 66.8	915.5 ± 105.47
GSH-Px (U/gHb)	43.60 ± 13.24	49.54 ± 17.84 [†]	47.10 ± 7.37	54.52 ± 11.97 [†]
PAI-1 (mg/mL)	2.78 ± 1.25	3.00 ± 0.95*	3.10 ± 1.21	2.96 ± 0.96

* $p < 0.05$; [†] $p < 0.01$

TG – triglycerides, LDL – low density lipoprotein cholesterol, OxLDL – oxidized LDL, SOD – superoxide dismutase, GSH-Px – glutathione peroxidase, PAI – plasminogen activator inhibitor.

Correlation analysis shown in Figure 1 revealed a significant negative correlation between GSH-Px and glycemia ($r = -0.6336$, $p < 0.01$) in diabetic patients. There was also significant correlation between GSH-Px and TG ($r = -0.5899$, $p < 0.05$), GSH-Px and PAI-1 ($r = -0.5337$, $p < 0.05$) and Ox LDL and PAI-1 after exercise ($r = 0.524$, $p < 0.05$).

Discussion

The oxidation of LDL cholesterol is considered a key event in the initiation of arteriosclerosis. In our study Ox LDL was significantly increased in diabetes mellitus type 2 in basal conditions compared to the control group. Diabetics

with complications had significantly lower level of Ox LDL compared to DM patients without complications at rest. We found changes in LDL cholesterol after the exercise test in the both group (diabetics and controls). But, significantly higher level of Ox LDL was seen only in the diabetics without complications after the exercise test. Positive correlation between Ox LDL and PAI-1 after the exercise was found. Our results are consistent with those of other studies on oxidative stress^{13,14}. It has been proposed that oxidative stress may be associated with the pathogenesis of the complications of diabetes mellitus type 2, particularly vascular disease¹⁵.

Hyperglycemia is a main stimulus to overproduce oxidative species or free radicals in the plasma of diabetic patients through the polyol pathway and protein glycosylation.

There are reports on both increased and decreased SOD and GSH-Px activity in diabetic patients at rest^{10,16}, while a few studies could not find any significant changes between diabetics and healthy subjects^{17,18}.

In our study we observed an increase in SOD activity in DM type 2 patients compared to the controls, particularly those diabetics with complications. This finding is in accordance with that of Palanduz et al¹⁹. In relation to acute exercise, an increase of SOD was observed in type 2 diabetic patients, but only in the group without complications.

There was no significant change in GSH-Px activity in basal condition, in both groups (diabetics and controls). However, we found a decrease in GSH-Px activity in diabetic patients with poor metabolic control compared to those well regulated, which is in accordance with some studies¹⁹. GSH-Px was increased only in the group of diabetic patients with complications. An increase of GSH-Px activity was found in all diabetic patients (with and without complications) during a single bout of acute exercise which is in accordance with the literature data¹³. We found no changes in the GSH-Px activity after the exercise test in the control group.

The possible explanation for this finding is that the rise in some enzyme activities in the patients with diabetes mellitus type 2, particularly with complications, could be a compensatory response of the body to prevent tissue damage.

Our results suggest that there seems to be an imbalance between plasma oxidant and antioxidant systems in patients with type 2 diabetes mellitus. We have found elevated concentrations of PAI-1 in the plasma only in patients with diabetic complications, in basal condition. An acute exercise significantly decreased the level of PAI-1 only in the healthy subjects, but not in the diabetic patients. We hypothesized that an increased PAI-1 may contribute to acceleration of atherosclerosis in this condition characterised by insulin resistance¹⁰.

The evidence of a high oxidative profile during exercise in diabetes type 2 has not been directly related to an increase risk of CVD²⁰. An increase of antioxidant enzyme activity, related to the intensity of exercise after different levels of training has also been described²¹. We summarized that acute exercise induces a sudden increase of oxidative stress levels, an effect well counterbalanced in both type 2 diabetic patients and the healthy subjects. After a physical training program an improvement on the counterbalance of the oxidative stress could be expected^{22,23}.

Conclusion

Elevated Ox LDL, SOD and GSH-Px levels are associated with acute exercise in type 2 diabetic patients. We suggest that it could be a compensatory mechanism against free radicals tissue damage. We hypothesize that a physical training program induces an enhance of muscular and liver antioxidant enzymes activity and reduces oxidative stress.

Further human studies are needed to explore the role of lipid peroxidation and altered antioxidant defence mechanisms in patients with DM, effect of exercise, and the occurrence of complications in these patients.

R E F E R E N C E S

1. *Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G.* Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996; 19(3): 257–67.
2. *Baynes JW.* Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40(4): 405–12.
3. *Lyons TJ.* Oxidized low density lipoproteins: a role in the pathogenesis of atherosclerosis in diabetes? *Diabet Med* 1991; 8(5): 411–9.
4. *Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G.* Diabetes mellitus, hypertension, and cardiovascular disease: which role for oxidative stress? *Metabolism* 1995; 44(3): 363–8.
5. *Steiner G.* Atherosclerosis, the major complication of diabetes. *Adv Exp Med Biol* 1985; 189: 277–97.
6. *Hiramatsu K, Arimori S.* Increased superoxide production by mononuclear cells of patients with hypertriglyceridemia and diabetes. *Diabetes* 1988; 37(6): 832–7.
7. *Mohan IK, Das UN.* Oxidant stress, anti-oxidants and nitric oxide in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Med Sci Res* 1997; 25: 55–7.
8. *Memisoğullari R, Taysi S, Bakan E, Capoglu I.* Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus. *Cell Biochem Funct* 2003; 21(3): 291–6.
9. *Ceriello A, Bortolotti N, Pirisi M, Crescentini A, Tonutti L, Motz E, et al.* Total plasma antioxidant capacity predicts thrombosis-prone status in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1997; 20(10): 1589–93.
10. *Ruiz C, Alegria A, Barberá R, Farré R, Lagarda MJ.* Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in patients with type 1 diabetes mellitus. *Scand J Clin Invest* 1999; 59(2): 99–105.
11. *Tribe RM, Poston L.* Oxidative stress and lipids in diabetes: a role in endothelium vasodilator dysfunction? *Vasc Med* 1996; 1(3): 195–206.
12. *Aydin A, Orhan H, Sayal A, Ozgata M, Sabin G, İşimer A.* Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clin Biochem* 2001; 34(1): 65–70.
13. *Villa-Caballero L, Nava-Ocampo AA, Frati-Munari A, Ponce-Monter H.* Oxidative stress, acute and regular exercise: are they really harmful in the diabetic patient? *Med Hypotheses* 2000; 55(1): 43–6.
14. *Sen CK.* Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol* 1995; 79(3): 675–86.
15. *Ji LL.* Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med Sci Sports Exerc* 1993; 25(2): 225–31.

16. *Astley S, Langrish-Smith A, Southon S, Sampson M.* Vitamin E supplementation and oxidative damage to DNA and plasma LDL in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22(10): 1626–31.
17. *Nuttall SL, Dunne F, Kendall MJ, Martin U.* Age-independent oxidative stress in elderly patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *QJM* 1999; 92(1): 33–8.
18. *Matkovic B, Varga SI, Szabó L, Witas H.* The effect of diabetes on the activities of the peroxide metabolism enzymes. *Horm Metab Res* 1982; 14(2): 77–9.
19. *Peuchant E, Delmas-Beauvieux MC, Couchouron A, Dubourg L, Thomas MJ, Perromat A, et al.* Short-term insulin therapy and normoglycemia. Effects on erythrocyte lipid peroxidation in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1997; 20(2): 202–7.
20. *Laaksonen DE, Atalay M, Niskanen L, Uusitupa M, Hänninen O, Sen CK.* Increased resting and exercise-induced oxidative stress in young IDDM men. *Diabetes Care* 1996; 19(6): 569–74.
21. *Mena P, Maynar M, Gutierrez JM, Maynar J, Timon J, Campillo JE.* Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle professional racers. Adaptation to training. *Int J Sports Med* 1991; 12(6): 563–6.
22. *Wang JS, Lee T, Chow SE.* Role of exercise intensities in oxidized low-density lipoprotein-mediated redox status of monocyte in men. *J Appl Physiol* 2006; 101(3): 740–4.
23. *Matsuura E, Hughes GR, Khamashta MA.* Oxidation of LDL and its clinical implication. *Autoimmun Rev* 2008; 7(7): 558–66.

The paper received on october 28, 2008.



Povezanost nivoa C-reaktivnog proteina i prekliničke karotidne arterioskleroze kod vojnih pilota

The relationship between C-reactive protein and subclinical carotid arteriosclerosis in military pilots

Aleksandra Jovelić*, Slavica Rađen†, Zoran Hajduković‡, Tibor Čanji*

Institut za kardiovaskularne bolesti Vojvodine, *Klinika za kardiologiju, Sremska Kamenica, Srbija; Vojnomedicinska Akademija, †Institut za higijenu, ‡Klinika za endokrinologiju, Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod/Cilj. Inflamacija ima ključnu ulogu u procesu arterioskleroze. C-reaktivni protein (CRP) i debljina intime i medije zajedničkih karotidnih arterija nezavisni su prediktori rizika od kardiovaskularnih događaja i šećerne bolesti kod zdravih ljudi; međutim, njihova povezanost nije razjašnjena. Cilj ove studije bio je da se proceni povezanost C-reaktivnog proteina sa faktorima rizika i debljinom intime i medije zajedničkih karotidnih arterija kod vojnih pilota, kao predstavnika zdravih osoba. **Metode.** U studiju preseka bio je uključen 161 vojni pilot, starosti 38 ± 6 godina, bez kardiovaskularnih bolesti, šećerne bolesti i aktivne inflamacije. Svima su određeni tradicionalni i metabolički faktori rizika. C-reaktivni protein meren je imunonefelometrijskom metodom, a debljina intime i medije zajedničkih karotidnih arterija ultrazvučno. **Rezultati.** Debljina intime i medije zajedničkih karotidnih arterija $> 0,90$ mm zabeležena je kod 66,5% ispitanika ($p < 0,01$). Univarijantnom linearnom regresionom analizom pokazano je da postoji povezanost CRP, kontrolisanog za godine starosti, sa debljinom intime i medije zajedničkih karotidnih arterija ($\beta = 0,285$, $p < 0,01$). Povezanost CRP sa debljinom intime i medije zajedničkih karotidnih arterija ne slabi nakon statističke kontrole za indeks telesne mase, krvni pritisak, ukupni holesterol, lipoproteine male gustine, trigliceridemiju, glikozilirani hemoglobin i pušenje ($p < 0,01$). Uključivanjem glikemije i lipidnih indeksa dolazi do statistički neznačajnog slabljenja ove povezanosti, dok se statističkom kontrolom za obim struka gubi njena statistička značajnost ($p > 0,05$). Nezavisni prediktori debljine intime i medije zajedničkih karotidnih arterija bili su indeks telesne mase ($\beta = 0,352$; $p < 0,01$), odnos ukupnog holesterola i lipoproteina male gustine ($\beta = 0,334$; $p < 0,01$) i starost ($\beta = 0,190$; $p = 0,036$). **Zaključak.** U posmatranoj grupi zdravih osoba CRP nije nezavisni prediktor prekliničke arterioskleroze i može da bude posrednik dejstva nekih faktora rizika, posebno visceralne gojaznosti, na proces aterogeneze.

Ključne reči:

C-reaktivni protein; arterioskleroza; a. carotis communis; ultrazvuk; piloti, vojni.

Abstract

Background/Aim. Inflammation plays a key role in the pathophysiology of arteriosclerosis. C-reactive protein (CRP) and common carotid artery intima-media thickness are independent predictors of cardiovascular events and diabetes mellitus in apparently healthy men, but relationship between them is not fully elucidated. The aim of the study was to assess the cross-sectional relationship between CRP and cardiovascular risk factors with common carotid artery intima-media thickness in military pilots as representatives of healthy men. **Methods.** We studied 161 military pilots (age 38 ± 6 years) free of cardiovascular disease and diabetes mellitus. Traditional and metabolic risk factors were determined. Plasma CRP was measured by immunonephelometry. The common carotid artery intima-media thickness was measured by ultrasonography in the posterior wall of both common carotid arteries. **Results.** A total of 66.5% subjects had common carotid artery intima-media thickness > 0.9 mm ($p < 0.01$). The mean CRP plasma concentration was significantly higher in the subjects with common carotid artery intima-media thickness > 0.9 mm than in those with common carotid artery intima-media thickness ≤ 0.9 mm. In a simple regression analysis age adjusted CRP was associated with common carotid artery intima-media thickness ($\beta = 0.285$, $p < 0.01$), and only high density lipoprotein cholesterol was not associated with common carotid artery intima-media thickness. The association between CRP and common carotid artery intima-media thickness remained highly significant after controlling for body mass index, blood pressure, total cholesterol, low density lipoprotein cholesterol, triglycerides, glycosylated hemoglobin and smoking ($p < 0.01$). Controlling for glucose, triglycerides to high density lipoprotein cholesterol ratio, and total cholesterol to high density lipoprotein cholesterol ratio resulted in some reduction in the strength of the association, but including waist circumference in the regression made the relationship no longer significant ($p = 0.119$). Body mass index ($\beta = 0.352$; $p < 0.01$), total cholesterol to high density lipoprotein cholesterol ratio ($\beta = 0.334$; $p < 0.01$) and age ($\beta = 0.190$; $p = 0.036$) were the independent predictors of common carotid artery intima-media thickness. **Conclusions.** In the studied group of healthy men CRP *per se* is not an independent predictor of early arteriosclerosis, and may mediate the effect of certain traditional risk factors, especially visceral obesity, on promoting atherogenesis.

Key words:

C-reactive protein; arteriosclerosis; carotid artery, common; ultrasonics; military personnel.

Uvod

Ishemijska bolest srca (IBS) predstavlja najčešći razlog trajne nesposobnosti pilota za letačku službu¹. Toplota, hipoksija, hiperventilacija i visoka pozitivna ubrzanja mogu da provociraju disritmije ili infarkt miokarda kod osoba sa minimalnom, čak i asimptomatskom IBS². Ove činjenice akcentuju potrebu što preciznije stratifikacije rizika pilota od neželjenih kardiovaskularnih događaja (KVD) u prekliničkoj fazi arterioskleroze.

Zapaljenska reakcija ima važnu ulogu u svim stadijima arteriogeneze, od endotelne disfunkcije, preko započinjanja stvaranja arteriosklerotske lezije, progresije i njene destabilizacije³. Sve je više dokaza da inflamatorni procesi imaju kauzalnu ulogu u povezivanju dejstva faktora rizika sa arteriogenom³. Jedan od najčešće korišćenih pokazatelja zapaljenja je koncentracija C-reaktivnog proteina (CRP) u plazmi⁴. Rezultati kliničkih studija pokazuju da u odnosu na tradicionalne i metaboličke faktore rizika, kod zdravih ljudi postoji nezavisna i aditivna prognostička vrednost CRP za nastanak budućih KVD. Međutim, veza između reakcije akutne faze zapaljenja i arterioskleroze nije razjašnjena⁵⁻⁷. Mehanizam koji stoji u osnovi prediktivne vrednosti CRP za KVD nije u potpunosti jasan, odnosno nije jasno da li je povišena koncentracija CRP u plazmi samo pasivni pokazatelj prisustva i stepena arterioskleroze, marker faktora rizika, hronične infekcije, ili je sam aktivni medijator u arteriosklerotskoj ploči⁸⁻¹⁰. Jedan od najčešće korišćenih pokazatelja prekliničke arterioskleroze je debljina intime i medije karotidnih arterija (IMTKA). Ultrazvučno određena IMTKA validan je pokazatelj debljine zida krvnog suda, povezan sa stepenom i brzinom progresije koronarne i periferne arterioskleroze, kao i kardiovaskularnim morbiditetom i mortalitetom, te se može smatrati pouzdanim pokazateljem prekliničke arterioskleroze^{11, 12}.

Rezultati studija povezanosti CRP i direktnih pokazatelja prekliničke arterioskleroze nisu konzistentni¹³⁻²¹. Nije u potpunosti razjašnjeno da li su ovi oprečni nalazi rezultat ograničenja u dizajnu studija ili stvarnih razlika u patofiziologiji, te je cilj našeg istraživanja bio da se proceni odnos nivoa CRP u plazmi i prekliničke karotidne arterioskleroze kod vojnih pilota, kao predstavnika zdravih osoba.

Metode

Studija je bila sprovedena kao studija preseka tokom redovnog godišnjeg lekarskog pregleda pilota u Institutu za vazduhoplovnu medicinu Vojnomedicinske akademije (VMA). Svi ispitanici bili su upoznati sa značajem istraživanja, a za učešće u studiji dobijen je pismeni pristanak. U studiju su bili uključeni piloti Vojske Srbije, starosti između 30 i 45 godina. U studiju nisu bili uključeni ispitanici sa dokazanom ishemijskom bolesti mozga (IBS), perifernom arterijskom bolesti, aneurizmom abdominalne aorte, prisustvom arteriosklerotskih plakova, dijabetesom, multiplim faktorima rizika (prema Framinghamskom skorom rizika desetogodišnjeg rizik od IBS veći od 20%), sa inflamatornim i infektivnim

bolestima (CRP > 10 mg/L), neoplazmama, kao ni oni koji koriste antiinflamatorne i hipolipemijske lekove²².

Svim ispitanicima uzeta je detaljna anamneza, posebno u vezi sa faktorima rizika od IBS, kompletan fizikalni pregled, laboratorijske analize i ultrazvučni pregled karotidnih arterija. Ispitivani su sledeći faktori rizika od kardiovaskularnih bolesti: starost, pušački status, sistolni krvni pritisak, dijastolni krvni pritisak i pulsni pritisak (razlika sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska). Stepenu uhranjenosti izražen je preko indeksa telesne mase (odnos telesne mase u kilogramima i kvadrata telesne visine u metrima – BMI) i obima struka. Korišćenjem standardizovanih laboratorijskih metoda određena je koncentracija ukupnog holesterola (UH), lipoproteina velike gustine (HDL-H), triglicerida (TG) i glikemije u serumu pilota na biohemijском analizatoru RxL (Dade Bering), kao i glikoziliranog hemoglobina (HbA1C) u plazmi jonoizmenjivačkom hromatografijom pod niskim pritiskom na diastat analizatoru (Biorad). Koncentracija lipoproteina niske gustine (*low density lipoprotein* – LDL-H) određena je prema Friedwaldovoj formuli²³. Iz dobijenih vrednosti izračunati su odnos koncentracije ukupnog holesterola i lipoproteine velike gustine HDL-H (UH/HDL-H) i odnos koncentracije triglicerida i lipoproteina velike gustine (TG/HDL-H).

Koncentracija CRP u plazmi određena je lateks imunonefelometrijom, visoko senzitivnom metodom na aparatu BN100 (Dade Behring). Granice odlučivanja za koncentraciju CRP određene su na osnovu preporuka Centra za kontrolu i prevenciju bolesti i Američke asocijacije za srce (Klasa IIa, nivo dokaza B)²⁴.

Ultrasonografski pregled karotidnih arterija urađen je sonografijom visoke rezolucije u B modu, u realnom vremenu, linearnom sondom od 7,5 MHz na aparatu Hewlett Packard image point, u klimatizovanoj prostoriji na temperaturi od 20° C. Ispitanici su prethodno mirovali 20 minuta radi adaptacije na mikroklimatske uslove, a pregled je obavljen u ležećem položaju sa glavom postavljenom 45% kontralateralno u odnosu na središnji položaj. Debljina intime i medije definisana je kao rastojanje između ivice koja odgovara spoju lumena i intime i ivice koja odgovara spoju medije i adventicije²⁵. Merenja debljine intime i medije karotidnih arterija učinjena su na zadnjem zidu obe zajedničke karotidne arterije, 10 mm proksimalno od početka karotidnog bulbosa. Na longitudinalnom preseku desne i leve zajedničke karotidne arterije duž sekcije duge 20 mm na zadnjem zidu, učinjena su po 3 merenja na mestu bez fokalnih plakova, na kraju dijastole. Iz dobijenih vrednosti izračunate su srednje vrednosti koje su upotrebljene za definisanje debljine intime i medije zajedničkih karotidnih arterija (IMTZKA). Debljina intime i medije > 0,9 mm smatrana je za abnormalan nalaz. Pre merenja debljine intime i medije izvršen je detaljan pregled zida zajedničke karotidne arterije, karotidnog bulbosa i proksimalnog dela unutrašnje karotidne arterije u longitudinalnoj i transverzalnoj projekciji radi otkrivanja prisustva plakova. Plak je definisan kao fokalno hiperehogeno područje i/ili fokalna protruzija u lumen krvnog suda 50% veća od debljine intime i medije susednog područja¹¹. Sve ultrasonografske preglede izvršio je isti ispitivač, koji nije imao uvid u rezultate ispitivanja.

U statističkoj obradi rezultata korišćen je Mann-Whitney U test i Kruskal-Wallisova analiza varijanse. Za procenu značajnosti povezanosti korištene su univarijantna, kao i multivarijantna linearna regresiona analiza.

Rezultati

Ispitivanje je obuhvatilo 161 osobu muškog pola, prosečne starosti $39,8 \pm 57$ godina. Prosečne vrednosti faktora rizika od kardiovaskularne bolesti prikazane su u tabeli 1. Raspon vrednosti CRP bio je $0,17 - 9,90$ mg/L. C-reaktivni protein < 1 mg/L imalo je 86 (53,4%) ispitanika, između 1 i 3 mg/L njih 48 (29,8%), a CRP > 3 mg/L imalo je 27 (16,8%) ispitanika ($p < 0,01$). Raspon vrednosti IMTZKA bio je $0,65 - 1,65$ mm, a IMTZKA $> 0,90$ mm zabeležena je

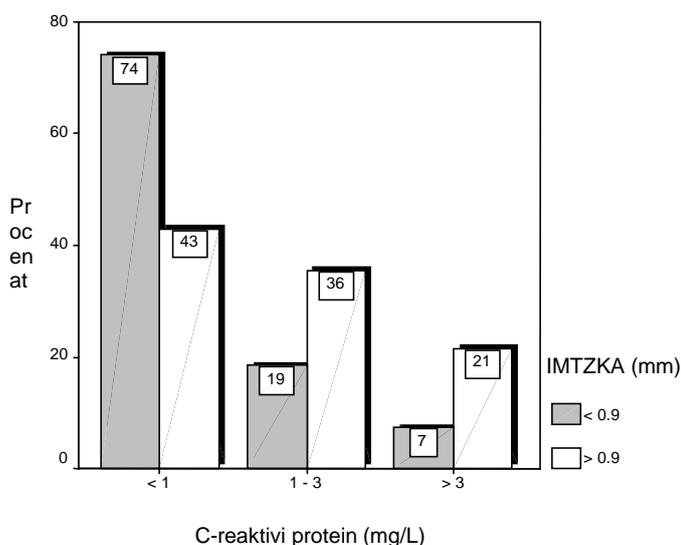
kod 107 (66,5%) ispitanika ($p < 0,01$). Prosečne vrednosti IMTZKA statistički su značajno veće kod osoba sa CRP između 1 i 3 mg/L u odnosu na osobe CRP < 1 mg/L ($1,05 \pm 0,16$ mm vs $0,95 \pm 0,165$ mm; $p = 0,001$), kao i kod osoba sa CRP > 3 mg/L u odnosu na osobe sa CRP < 1 mg/L, ($1,12 \pm 0,23$ mm vs $0,95 \pm 0,16$ mm; $p = 0,001$). C-reaktivni protein > 1 mg/L zabeležen je kod 25,9% osoba čija je IMTZKA iznosila $\leq 0,9$ mm (Slika 1). Od svih osoba sa IMTZKA $\leq 0,9$ mm, osobe sa obimom struka ≥ 94 cm imale su statistički značajno veći CRP u odnosu na osobe sa obimom struka < 94 cm ($1,84 \pm 1,37$ vs $0,65 \pm 0,64$; $p = 0,013$). Od svih osoba sa IMTZKA $> 0,9$ mm, osobe sa obimom struka ≥ 94 cm imale su statistički značajno veći CRP u odnosu na osobe sa obimom struka < 94 cm ($2,51 \pm 2,36$ mg/L vs $1,01 \pm 1,16$ mg/L; $p < 0,01$).

Tabela 1

Faktori rizika od kardiovaskularnih bolesti kod ispitanika

Varijabla	$\bar{x} \pm SD$
Starost (godine)	$39,85 \pm 5,79$
Telesna masa (kg)	$84,26 \pm 10,13$
Indeks telesne mase (kg/m^2)	$26,44 \pm 2,63$
Obim struka (cm)	$86,33 \pm 11,05$
Sistolni krvni pritisak (mmHg)	$124,75 \pm 7,64$
Dijastolni krvni pritisak (mmHg)	$80,37 \pm 4,35$
Pulsni pritisak (mmHg)	$44,25 \pm 5,01$
Ukupni holesterol (mmol/L)	$6,09 \pm 1,20$
HDL-holesterol (mmol/L)	$1,25 \pm 0,32$
LDL-holesterol (mmol/L)	$4,39 \pm 1,15$
Trigliceridi (mmol/L)	$2,31 \pm 2,24$
Glikemija (mmol/L)	$5,60 \pm 0,60$
HbA1C (%)	$5,84 \pm 0,79$
TG/HDL-H	$2,40 \pm 5,05$
UH/HDL-H	$5,28 \pm 2,39$
Pušenje [da/ne, n(%) / n(%)]	89 (55,3) / 72 (44,7)
IMT (mm)	$1,01 \pm 0,19$
CRP (mg/L)	$1,64 \pm 1,88$
CRP (mg/L) + UH/HDL-H	$6,87 \pm 3,37$

LDL – lipoprotein niske gustine; HDL – lipoprotein velike gustine; HbA1C – glikozilovani hemoglobin; TG/HDL-H – odnos triglicerida i lipoproteina velike gustine; UH/HDL-H – odnos ukupnog holesterola i lipoproteina velike gustine; CRP – C-reaktivni protein; IMT – debljina intime i medije



Sl. 1 – Učestalost kategorija debljine intime i medije zajedničkih karotidnih arterija (IMTZKA) prema kategorijama C-reaktivnog proteina (CRP)

Univarijantnom linearnom regresionom analizom povezanosti pokazano je da postoji statistički značajna povezanost IMTZKA sa faktorima rizika i to starosti ($\beta = 0,321$; $p < 0,01$), telesne mase ($\beta = 0,198$; $p = 0,012$), BMI ($\beta = 0,274$; $p < 0,01$), obima struka ($\beta = 0,354$; $p < 0,01$), sistolnog ($\beta = 0,190$; $p = 0,016$) dijastolnog ($\beta = 0,162$; $p = 0,040$) i pulsog krvnog pritiska ($\beta = 0,176$; $p = 0,025$), ukupnog holesterola ($\beta = 0,351$; $p < 0,01$) i LDL holesterola ($\beta = 0,317$; $p < 0,01$), triglicerida ($\beta = 0,224$; $p = 0,004$), glikemije ($\beta = 0,261$; $p = 0,001$), HbA1C ($\beta = 0,208$; $p = 0,009$), TG/HDL-H ($\beta = 0,229$; $p = 0,004$), UH/HDL-H ($\beta = 0,306$; $p < 0,01$), pušenja ($\beta = 0,162$; $p = 0,040$), kao i nivoa CRP ($\beta = 0,324$; $p < 0,01$). Nije bilo statistički značajne povezanosti jedino između HDL-H i IMTZKA ($p = 0,276$).

Efekat statističke kontrole faktora rizika na jačinu statističke povezanosti CRP kontrolisanog za godine starosti,

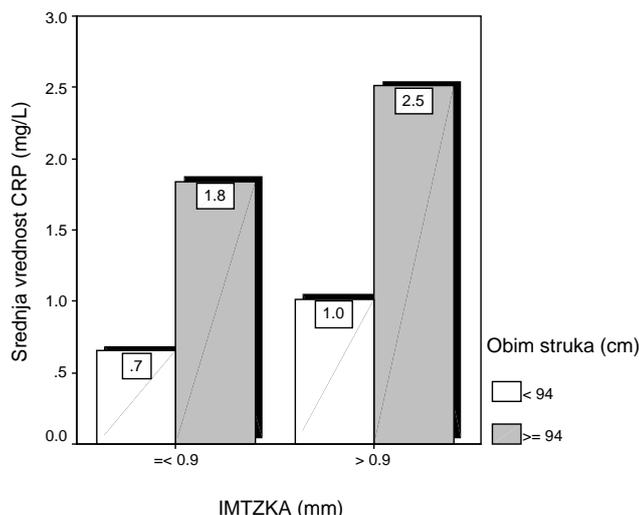
sa IMTZKA prikazan je u tabeli 2. Visoko statistički značajna univarijantna povezanost CRP sa IMTZKA ne slabi nakon statističke kontrole BMI, krvnog pritiska, ukupnog holesterola, LDL-H, trigliceridemije, HbA1C i pušenja. Uključivanjem glikemije TG/HDL-H i UH/HDL-H dolazi do statistički neznačajnog slabljenja ove povezanosti, dok se statističkom kontrolom obima struka gubi njena statistička značajnost ($p > 0,05$).

Istovremenim uključivanjem svih statistički značajnih univarijantnih prediktora u multivarijantnu linearnu regresionu analizu nezavisni prediktori IMTZKA bili su BMI ($\beta = 0,352$; $p < 0,01$), UH/HDL-H ($\beta = 0,334$; $p < 0,01$) i starost ispitanika ($\beta = 0,190$; $p = 0,036$). Zajedno, ove varijable objašnjavaju 36,3% varijabiliteta IMTZKA, dok sam BMI objašnjava 19,8% varijabiliteta, a BMI i UH/HDL-H 33,2%.

Tabela 2
Multivarijantna linearna regresiona analiza povezanosti C-reaktivnog proteina (CRP) sa debljinom intime i medije zajedničkih karotidnih arterija sa kontrolom pojedinačnih i svih faktora rizika

Varijabla	β	p
+ Starost (godine) CRP (mg/L)	0,285	< 0,01
+ Indeks telesne mase (kg/m ²)	0,274	< 0,01
+ Obim struka (cm)	–	0,119
+ Sistolni krvni pritisak (mmHg)	0,285	< 0,01
+ Dijastolni krvni pritisak (mmHg)	0,285	< 0,01
+ Pulsni pritisak (mmHg)	0,285	< 0,01
+ Ukupni holesterol (mmol/L)	0,275	< 0,01
+ LDL-holesterol (mmol/L)	0,288	< 0,01
+ Trigliceridi (mmol/L)	0,262	< 0,01
+ Glukoza (mmol/L)	0,256	0,001
+ HbA1C (%)	0,283	< 0,01
+ TG/HDL-H	0,247	0,001
+ UH/HDL-H	0,240	0,001
+ Pušenje (da/ne)	0,285	< 0,01
+ sve varijable osim obima struka	0,258	< 0,01
+ sve varijable	0,054	0,600

CRP – C-reaktivni protein; LDL – lipoprotein niske gustine; HDL – lipoprotein velike gustine; HbA1C – glikozilovani hemoglobin; TG/HDL-H – odnos triglicerida i lipoproteina velike gustine; UH/HDL-H – odnos ukupnog holesterola i lipoproteina velike gustine



Sl. 2 – Srednja vrednost C-reaktivnog proteina (CRP) prema kategorijama obima struka i debljine intime i medije karotidnih arterija (IMTZKA)

Diskusija

Postavljanje dijagnoze asimptomatske IBS kod pilota veoma je važno jer ona može da se ispolji kao infarkt miokarda, angina pectoris, disritmije ili iznenadna srčana smrt i iznenada onesposobi pilota u toku letačkog zadatka. Osswald i sar.²⁶ su, obdukcijom poginulih vojnih pilota, prosečne starosti 34 godine, kod trećine registrovali trosudovnu koronarnu okluzivnu bolest. Faktori rizika od kardiovaskularne bolesti mogu da naruše vaskularnu homeostazu stvarajući uslove za pojavu disfunkcije endotela i zapaljenske reakcije koja može dovesti do arterioskleroze i tromboze, te neželjenih kardiovaskularnih događaja³. Iako je prediktivna vrednost CRP za ishemijske kardijalne i cerebrovaskularne događaje dokazana, nije sasvim poznato do kog stepena ona zavisi od veze sa postojećom prekliničkom arteriosklerozom ili miljeom koji dovodi do rupture i tromboze plaka, a ova veza najbolje se ispituje kod prividno zdravih osoba kod kojih povišen CRP nije odraz ozbiljnijeg oštećenja tkiva.

Povezanost arterioskleroze i reakcije akutne faze zapaljenja moguće je posmatrati sa više aspekata²⁷. Pored genetskih determinanti, nivo CRP u plazmi može da bude posledica postojanja intra i/ili ekstravaskularnih činilaca. Inflamacija unutar arterijskog krvnog suda može biti jedan od pokretača sistemske reakcije akutne faze zapaljenja. Oksidovani LDL ili drugi agonisti stimulišu makrofage na lučenje proinflamatornih citokina, te na taj način iniciraju lokalno zapaljenje. Povezanost CRP sa debljinom intime i medije krvnih sudova, kao i sa kliničkim događajima i nakon 20 godina, nalaz obdukcijskih studija prema kojima stepen CRP imunoreaktivnosti pozitivno korelira sa debljinom intime i medije koronarnih arterija, kao i prisustvo aktiviranih makrofaga koji u arteriosklerotskim promenama stvaraju interleukin (IL)-6, govore da su arteriosklerotske lezije verovatno jedan od izvora merljive sistemske inflamacije^{3,28}. Prema rezultatima prospektivne studije (*Cardiovascular Health Study*), koja je uključila osobe starije od 65 godina, pokazano je da su IMTKA i CRP nezavisni prediktori neželjenih koronarnih i cerebrovaskularnih događaja i ukupnog mortaliteta, ali da je CRP bio u vezi sa povišenim rizikom od neželjenih KVD samo kod osoba sa detektabilnom arteriosklerozom^{29,30}. Rezultati ovih studija govore u prilog uverenja da bi se koncentracija CRP u plazmi mogla objasniti i kompozicijom plaka, što je potvrđeno nalazima na obdukciji, prema kojima je viši CRP bio povezan sa nestabilnijim plakom i većom sklonošću za neželjene KVD, pre nego samo sa stepenom arterioskleroze³¹. U našoj studiji koncentracija CRP preko 1 mg/L, odnosno umereno povišen i visok rizik od kardiovaskularnih događaja zabeležena je kod polovine osoba čija je IMTZKA iznosila iznad 0,9 mm.

Proces zapaljenja u drugim krvnim sudovima i intravaskularna infekcija mogu da budu uzrok povišenja nivoa CRP u plazmi. U našoj studiji nije određivan titar antitela protiv mikroorganizama, kao što su *Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae* ili *Cytomegalovirus*. Infekcija ovim mikroorganizmima verovatno je slaba determinanta nivoa CRP u plazmi i čini se malo verovatnim, da bi izloženost ovim agensima bila varijabla koja bi uticala na povezanost CRP i drugih varijabli³².

Sa druge strane, može se pretpostaviti da i ekstravaskularni stimuli kao što su pušenje, infekcije sluznica, starost i gojaznost dovode do hronične aktivacije reakcije akutne faze niskog stepena, koja tokom dugog perioda doprinosi arteriotrombozi. Velike populacione studije na zdravim ljudima ukazuju da u univarijantnoj regresionoj analizi postoji statistički značajna povezanost CRP i statičkih pokazatelja karotidne arterioskleroze, dok se u multivarijantnoj, nakon uključivanja tradicionalnih faktora rizika, povezanost CRP sa IMTKA gubi ili ostaje slaba, a nezavisni prediktori debljine intime i medije najčešće su UH i/ili LDL-H, što je zabeleženo i u našoj studiji^{13-17, 33, 34}. Mnoge supstance iz duvanskog dima imaju osobine slobodnih kiseoničnih radikala, a nikotin i bakterijski endotoksin direktno povećavaju ekspresiju proinflamatornih gena, što može dovesti do disfunkcije endotela i arterioskleroze³³. Hulthe i sar.³⁴ u istraživanju koje je obuhvatilo 391 zdravu osobu, prosečne starosti 58 godina, nisu uspeali da dokažu povezanost CRP sa debljinom intime i medije femoralnih arterija, nezavisno od pušenja, LDL-H i krvnog pritiska, koji su bili odgovorni za 23% variranja debljine intime i medije. Hak i sar.¹³ pokazali su da je kod žena starosti 43–55 godina, bez kardiovaskularnih bolesti i dijabetesa, CRP povezan sa IMTZKA. Međutim, nakon statističke kontrole starosti i BMI, ova povezanost bila je smanjena i ostala statistički značajna samo kod žena pušača¹³.

Pokazano je da trećina gena visceralnih adipocita kodira sekretorne bioaktivne proteine (adipokine, IL-6, CRP, faktor tumorske nekroze- α , adiponektin i dr) koji povećavaju transkripciju gena za adhezione molekule, hemokine i druge citokine, te iniciraju adheziju, migraciju i diferencijaciju monocita, kao i migraciju i proliferaciju glatkih mišićnih ćelija, odnosno proces arterioskleroze^{35, 36}.

U studiji preseka Sitzer i sar.¹⁷, koja je obuhvatila 1 500 naizgled zdravih osoba, starosti 30–75 godina, nađena je povezanost između IMTZKA i CRP, koja je slabila uključivanjem tradicionalnih faktora rizika u multivarijantnu analizu, najviše BMI, ali je ostala značajna. Slične rezultate objavljuju Folsom i sar.¹⁴ u velikoj populacionoj studiji koja je obuhvatila 875 muškaraca i 948 žena, gde je prvobitna statistički značajna povezanost CRP sa IMTKA, nakon statističke kontrole tradicionalnih faktora rizika, bila potpuno eliminisana. Kod 700 muškaraca u studiji *Insulin Resistance Arteriosclerosis Study* pokazana je pozitivna korelacija IMTZKA sa CRP i fibrinogenom, koja je samo kod muškaraca bila nezavisna od BMI ili obima struka³⁷. Pozitivna korelacija CRP sa IMTZKA, nezavisno od BMI, dijabetesa, starosti, pola i pušenja, pokazana je i kod 1 317 ispitanika uključenih u roterdamsku studiju³⁸. Međutim, ovi rezultati nisu u potpunosti poredivi sa našom studijom, s obzirom da je starost ispitanika bila prosečno 70 godina, 9% imalo je šećernu bolest, 15% raniji infarkt miokarda, a u debljinu intime i medije bila je uključena i debljina intime i medije bila je merena na prednjem zidu karotidnih arterija. U velikoj *Framingham Offspring* studiji na 2 885 prividno zdravih ispitanika opšte populacije (47% muškaraca), prosečne starosti 59 godina, nakon statističke kontrole tradicionalnih faktora rizika, povezanost grupe inflamatornih markera sa IMTZKA postaje statis-

tički neznajna, dok je CRP pojedinačno bio povezan samo sa debljinom intime i medije unutrašnjih karotidnih arterija i to više kod pušača¹⁶. Statistički značajni nezavisni prediktori IMTKA bili su ukupni i HDL kolesterol¹⁵. Međutim, treba reći da je IMTKA određivana nakon 4 godine od određivanja CRP, da je 10% ispitanika imalo CRP iznad 10 mg/L, među ispitanicima bilo je dijabetičara i osoba sa dokazanom ishemijskom bolesti srca, kao i da je u analizi vršena statistička kontrola samo za BMI, a ne i za obim struka.

Sa ovog aspekta, potrebno je razmotriti i rezultate brojnih eksperimentalnih i kliničkih studija, koji govore u prilog uverenju da CRP koji nastaje pod dejstvom ekstravaskularnog IL-6 ili iz masnog tkiva, može biti aktivni činičac koji doprinosi inicijaciji, progresiji i destabilizaciji arterioskleroze. Takođe, u više eksperimentalnih studija pokazano je da CRP, u koncentracijama koje imaju prediktivnu vrednost za vaskularne događaje, preko uticaja na fenotip endotelnih ćelija, glatkih mišićnih ćelija i makrofaga doprinosi nastanku disfunkcije endotela, stvaranju lezije, rupturi plaka i koronarnoj trombozi^{39,40}. Naime, CRP je ekstrahovan i izolovan iz humane arteriosklerotične intime aorte, a ne iz zdrave, a rezultati kliničkih studija govore da nezavisno od tradicionalnih faktora rizika, predstavlja prediktor brzine progresije arterioskleroze, kao i rizika od KVD kod osoba sa poodmakom arteriosklerozom^{21, 28–30}.

Nezavisna i komplementarna prediktivna vrednost CRP i debljine intime i medije mogu da ukažu da oni procenjuju različite aspekte ili mehanizme koji dovode do neželjenih

KVD. Debljina intime i medije zajedničkih karotidnih arterija je marker prisustva i stepena arterioskleroze, dok koncentracija CRP u plazmi i stepen njegove depozicije u arteriosklerotskom plaku koreliraju više sa vulnerabilnim plakom i nastankom akutnih trombotičkih događaja. Stoga bi se moglo pretpostaviti da bi kombinovano određivanje ovih činičaca davalo sveukupnu sliku prisustva, količine i stabilnosti potencijalnih koronarnih arteriosklerotskih lezija.

Potrebno je istaći da je rad obuhvatio relativno malu, homogenu grupu ispitanika koji se bave specifičnim zanimanjem, što onemogućava generalizaciju naših rezultata na ostale populacione grupe. Takođe, naša studija bila je bazirana na podacima dobijenim opservacijom, te alternativna objašnjenja dobijenih rezultata mogu biti da je ova povezanost posledica faktora koje nismo kontrolisali i/ili faktora koje nismo preciznije izmerili.

Zaključak

U posmatranoj grupi zdravih osoba povećanjem koncentracije CRP u plazmi statistički značajno raste debljina intime i medije zajedničkih karotidnih arterija. C-reaktivni protein nije nezavisni prediktor prekliničke arterioskleroze i može da bude posrednik dejstva nekih faktora rizika, posebno visceralne gojaznosti, na proces arterioskleroze. Nezavisni prediktori debljine intime i medije zajedničkih karotidnih arterija bili su indeks telesne mase, odnos ukupnog holesterola sa HDL holesterolom i starost ispitanika.

L I T E R A T U R A

1. *McCrary BF, Van Syoc DL*. Permanent flying disqualifications of USAF pilots and navigators (1995-1999). *Aviat Space Environ Med* 2002; 73(11): 1117–21.
2. *Taneja N, Wiegmann DA*. Prevalence of cardiovascular abnormalities in pilots involved in fatal general aviation airplane accidents. *Aviat Space Environ Med* 2002; 73(10): 1025–30.
3. *Libby P, Ridker PM, Maseri A*. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105(9): 1135–43.
4. *Hirschfeld GM, Pepys MB*. C-reactive protein and cardiovascular disease: new insights from an old molecule. *QJM* 2003; 96(11): 793–807.
5. *Koenig W, Löwel H, Baumert J, Meisinger C*. C-reactive protein modulates risk prediction based on the Framingham Score: implications for future risk assessment: results from a large cohort study in southern Germany. *Circulation* 2004; 109(11): 1349–53.
6. *Danesh J, Wheeler JG, Hirschfeld GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, et al*. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med* 2004; 350(14): 1387–97.
7. *Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N*. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. *Circulation* 2003; 107(3): 391–7.
8. *Rattazzi M, Puato M, Faggini E, Bertipaglia B, Zambon A, Pualetto P*. C-reactive protein and interleukin-6 in vascular disease: culprits or passive bystanders?. *J Hypertens* 2003; 21(10): 1787–803.
9. *Kuller LH, Tracy RP*. The role of inflammation in cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(4): 901.
10. *Paul A, Ko KW, Li L, Yechoor V, McCrary MA, Szalai AJ, et al*. C-reactive protein accelerates the progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2004; 109(5): 647–55.
11. *Simon A, Gariepy J, Chironi G, Megnien JL, Levenson J*. Intima-media thickness: a new tool for diagnosis and treatment of cardiovascular risk. *J Hypertens* 2002; 20(2): 159–69.
12. *Bots ML, Grobbee DE*. Intima media thickness as a surrogate marker for generalised atherosclerosis. *Cardiovasc Drugs Ther* 2002; 16(4): 341–51.
13. *Hak AE, Stehouwer CD, Bots ML, Polderman KH, Schalkwijk CG, Westendorp IC, et al*. Associations of C-reactive protein with measures of obesity, insulin resistance, and subclinical atherosclerosis in healthy, middle-aged women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19(8): 1986–91.
14. *Folsom AR, Pankow JS, Tracy RP, Arnett DK, Peacock JM, Hong Y, et al*. Investigators of the NHBLI Family Heart Study. Association of C-reactive protein with markers of prevalent atherosclerotic disease. *Am J Cardiol* 2001; 88(2): 112–7.
15. *Wang TJ, Nam BH, Wilson PW, Wolf PA, Levy D, Polak JF, et al*. Association of C-reactive protein with carotid atherosclerosis in men and women: the Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22(10): 1662–7.
16. *Thakore AH, Guo CY, Larson MG, Corey D, Wang TJ, Vasan RS, et al*. Association of multiple inflammatory markers with carotid intimal medial thickness and stenosis (from the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol* 2007; 99(11): 1598–602.
17. *Sitzer M, Markus HS, Mendall MA, Liebr R, Knorr U, Steinmetz H*. C-reactive protein and carotid intimal medial thickness in a community population. *J Cardiovasc Risk* 2002; 9(2): 97–103.

18. *Winbeck K, Kukla C, Poppert H, Klingelhöfer J, Conrad B, Sander D.* Elevated C-reactive protein is associated with an increased intima to media thickness of the common carotid artery. *Cerebrovasc Dis* 2002; 13(1): 57–63.
19. *Jovelić A.* C-reactive protein as a marker of preclinical atherosclerosis in military pilots of Serbia and Montenegro [master thesis]. Belgrade: Military Medical Academy; 2004. (Serbian)
20. *Hee Choi S, Chang Kim H, Woo Ahn C, Keun Cho H, Soo Cha B, Chung YS, et al.* Is high-sensitivity C-reactive protein associated with carotid atherosclerosis in healthy Koreans?. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2005; 12(6): 548–54.
21. *Elias-Smale SE, Kardys I, Oudkerk M, Hofman A, Witteman JC.* C-reactive protein is related to extent and progression of coronary and extra-coronary atherosclerosis; results from the Rotterdam study. *Atherosclerosis* 2007; 195(2): e195–202.
22. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486–97.
23. *Fisbach F.* Chemistry studies. In: *Fisbach F*, editor. 6th ed. A manual of laboratory & diagnostic tests. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p. 6: 467.
24. *Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, et al.* Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003; 107(3): 499–511.
25. *Greenland P, Abrams J, Aurigemma GP, Bond MG, Clark LT, Criqui MH, et al.* Prevention Conference V: Beyond secondary prevention: identifying the high-risk patient for primary prevention: noninvasive tests of atherosclerotic burden: Writing Group III. *Circulation* 2000; 101(1): E16–22.
26. *Osswald S, Miles R, Nixon W, Celio P.* Review of cardiac events in USAF aviators. *Aviat Space Environ Med* 1996; 67(11): 1023–7.
27. *Munford RS.* Statins and the acute-phase response. *N Engl J Med* 2001; 344(26): 2016–8.
28. *Zhang YX, Cliff WJ, Schoeffer GI, Higgins G.* Coronary C-reactive protein distribution: its relation to development of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999; 145(2): 375–9.
29. *Cao JJ, Thach C, Manolio TA, Psaty BM, Kuller LH, Chaves PH, et al.* C-reactive protein, carotid intima-media thickness, and incidence of ischemic stroke in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Circulation* 2003; 108(2): 166–70.
30. *Cao JJ, Arnold AM, Manolio TA, Polak JF, Psaty BM, Hirsch CH, et al.* Association of carotid artery intima-media thickness, plaques, and C-reactive protein with future cardiovascular disease and all-cause mortality: the Cardiovascular Health Study. *Circulation* 2007; 116(1): 32–8.
31. *Burke AP, Tracy RP, Kolodzie F, Malcom GT, Zieske A, Kutys R, et al.* Elevated C-reactive protein values and atherosclerosis in sudden coronary death: association with different pathologies. *Circulation* 2002; 105(17): 2019–23.
32. *Sander D, Winbeck K, Klingelhöfer J, Etgen T, Conrad B.* Progression of early carotid atherosclerosis is only temporarily reduced after antibiotic treatment of Chlamydia pneumoniae seropositivity. *Circulation* 2004; 109(8): 1010–5.
33. *Tappia PS, Troughton KL, Langley-Evans SC, Grimble RF.* Cigarette smoking influences cytokine production and antioxidant defences. *Clin Sci (Lond)* 1995; 88(4): 485–9.
34. *Hultbe J, Wikstrand J, Fagerberg B.* Relationship between C-reactive protein and intima-media thickness in the carotid and femoral arteries and to antibodies against oxidized low-density lipoprotein in healthy men: the Atherosclerosis and Insulin Resistance (AIR) study. *Clin Sci (Lond)* 2001; 100(4): 371–8.
35. *Matsuzawa Y, Funabashi T, Kihara S, Shimomura I.* Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24(1): 29–33.
36. *Wisse BE.* The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15(11): 2792–800.
37. *Festa A, D'Agostino R Jr, Williams K, Karter AJ, Mayer-Davis EJ, Tracy RP, et al.* The relation of body fat mass and distribution to markers of chronic inflammation. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25(10): 1407–15.
38. *van der Meer IM, de Maat MP, Bots ML, Breteler MM, Meijer J, Kiliaan AJ, et al.* Inflammatory mediators and cell adhesion molecules as indicators of severity of atherosclerosis: the Rotterdam Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22(5): 838–42.
39. *Paul A, Ko KW, Li L, Yeboor V, McCrory MA, Szalai AJ, et al.* C-reactive protein accelerates the progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2004; 109(5): 647–55.
40. *Koenig W.* C-reactive protein and cardiovascular risk: an update on what is going on in cardiology. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(6): 1039–41.

Rad prmljen 26. IX 2008.



ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

ВОЈНОМЕДИЦИНСКА АКАДЕМИЈА

Црнотравска 17, 11040 Београд, Србија

Тел/факс: +381 11 2669689

vmaini1@eunet.yu

vmaini2@eunet.yu

Позив на рекламирање у 2009. години

У прилици смо да вам понудимо могућност оглашавања и рекламирања производа и услуга у часопису „Војносанитетски преглед“ (ВСП). То је сигурно најбољи вид и најзаступљенији начин упознавања евентуалних корисника са вашим услугама и производима.

Часопис „Војносанитетски преглед“, званични орган лекара и фармацеута Војске Србије, научно-стручног је карактера и објављује радове из свих области медицине, стоматологије и фармације. Радове равноправно објављују стручњаци из војних и цивилних установа и из иностранства. Штампана се на српском и енглеском језику. Часопис излази непрекидно од 1944. године до сада. Једини је часопис у земљи који излази месечно (12 бројева), на око 100 страна А4 формата, а повремено се објављују и тематски додаци (суплементи). Путем размене или претплате ВСП се шаље у 23 земље света. Радове објављене у ВСП-у индексирају: *Science Citation Index Expanded (SCIE)*, *Journal Citation Reports/Science Edition*, *Index Medicus (Medline)*, *Excerpta Medica (EMBASE)*, *EBSCO* (преко ове базе ВСП је *on line* доступан од 2002. године у *pdf* формату) и *Biomedicina Serbica*.

Цене реклама и огласа у часопису „Војносанитетски преглед“ у 2009. години су:

1.	Оглас у црно-белој техници А4 формата за један број	20 000,00 динара
2.	Оглас у ц/б техници А4 формата за целу годину (11-12 бројева)	200 000,00 динара
3.	Оглас у боји А4 формата за један број	35 000,00 динара
4.	Оглас у боји А4 формата за целу годину (11-12 бројева)	330 000,00 динара
5.	Оглас у боји на корицама К3 за један број	50 000,00 динара
6.	Оглас у боји на корицама К3 за целу годину (11-12 бројева)	455 000,00 динара
7.	Оглас у боји на корицама К2 и К4 за један број	55 000,00 динара
8.	Оглас у боји на корицама К2 и К4 за целу годину (11-12 бројева)	530 000,00 динара

За сва објашњења, упутства и понуде заинтересовани контактирају редакцију часописа „Војносанитетски преглед“. Средства се уплаћују на жиро рачун код Управе јавних плаћања у Београду број: 840-941621-02 **ВМА (за Војносанитетски преглед или за ВСП), ПИБ 102116082**. Уплатницу (доказ о уплати) доставити лично или поштом (писмом, факсом, *e-mail*-ом) на адресу: Војносанитетски преглед, Црнотравска 17, 11000 Београд; тел/факс: 011 2669 689, *e-mail*: vmaini1@eunet.yu или vmaini2@eunet.yu



Incidence of nasopharyngeal carcinoma in Belgrade during the period 1991–2005

Incidencija karcinoma nazofarinksa u Beogradu za period 1991–2005. godine

Vladimir Nešić*, Sandra Šipetić†, Hristina Vlajinac†, Dragan Miljuš‡,
Svetlana Stošić-Divjak*, Snežana Ješić*

Clinical Centre of Serbia, *Institute of Otorhinolaryngology and Maxillofacial Surgery, Belgrade, Serbia; University of Belgrade, School of Medicine, †Institute of Epidemiology, Belgrade, Serbia; ‡Institute of Public Health of Serbia “Dr Milan Jovanovic Batut”, Belgrade, Serbia

Abstract

Background/Aim. Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is a relatively rare malignant disease, of which 80 000 individuals become ill around the world annually, which amounts to 0.7% of all carcinomas. The aim of this descriptive study was to analyze NPC incidence in Belgrade (the capital city of Serbia, with about 1.6 milion inhabitants) during the period 1991–2005. **Methods.** In data analysis, crude rates age and sex specific rates, and standardized incidence rates were used. Standardization was performed by a direct method, using world population as the standard. **Results.** In Belgrade, during the observed 15-year-period, the number of new NPC patients totaled 118, of which 86 (72.9%) were male and 32 (27.1%) were female. The average standardized incidence rate for men was 0.52 per 100 000 and for women 0.16 per 100 000. In both sexes the incidence was very low before 40 years of age. In men, the greatest incidence rate of NPC was in the 50–59 years age group, and in women in those 60 and more years old. Furthermore, undifferentiated carcinoma of nasopharyngeal type was 3.6 times more often in comparison to squamous cell carcinoma. **Conclusion.** Belgrade belongs to a region with a low incidence rate of NPC. Further investigations are needed to explain higher frequency of undifferentiated carcinoma of nasopharyngeal type than squamous cell carcinoma.

Key words: nasopharyngeal neoplasms; yugoslavia; incidence; epidemiologic studies; population groups.

Apstrakt

Uvod/Cilj. Karcinom nazofarinksa relativno je retko maligno oboljenje, od kojeg godišnje u svetu oboleva 80 000 ljudi što čini 0,7% svih karcinoma. Cilj ove deskriptivne studije bio je da ispita incidenciju karcinoma nazofarinksa u Beogradu (glavni grad Srbije, koji ima oko 1,6 miliona stanovnika) za period 1991–2005. godine. **Metode.** U statističkoj obradi podataka koristili smo sirove stope, specifične stope po polu i uzrastu i standardizovane stope incidencije. Standardizacija je obavljena direktnom metodom, koristeći svetsku populaciju kao standard. **Rezultati.** U Beogradu, tokom posmatranog petnaestogodišnjeg perioda broj novoobolelih od karcinoma nazofarinksa bio je 118, a od toga 86 (72,9%) muškaraca i 32 (27,1%) žene. Prosečna standardizovana stopa incidencije bila je 0,52 na 100 000 za muškarce i 0,16 na 100 000 za žene. Kod oba pola incidencija bolesti bila je veoma niska pre 40. godine života. Kod muškaraca, najveća stopa incidencije karcinoma nazofarinksa bila je u starosnoj grupi 50–59 godina, a kod žena u starosnoj grupi 60 i više godina. Osim toga, nediferentovani karcinom nazofarinksa bio je 3,6 puta zastupljeniji od planocelularnog karcinoma. **Zaključak.** Beograd pripada području sa niskom stopom incidencije karcinoma nazofarinksa. Dalja istraživanja neophodna su u cilju objašnjenja veće učestalosti nediferentovanog karcinoma nazofarinksa u odnosu na planocelularni karcinom.

Ključne reči: nazofarinks, neoplazme; srbija; incidenca; populacija, epidemiološko ispitivanje grupa.

Introduction

Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is a relatively rare malignant disease, of which 80 000 individuals become ill around the world annually, which amounts to 0.7% of all carcinomas¹. The incidence of NPC varies among the coun-

tries of the world, as well as within the countries themselves². The greatest standardised incidence rate of NPC of > 20 per 100 000 residents was recorded among the Chinese population living in southeast China, in the province of Guangdong. A moderately high incidence rate of NPC of 1–20 per 100 000 inhabitants was recorded in other parts of

China, in the peoples of South-East Asia (Thais, Vietnamese, Malays, and Filipinos), in the Arabs of North Africa and in the inhabitants of the Arctic (Intuits living in Alaska). In western countries and other parts of the world, the standardised incidence rate of NPC is less than 1 per 100 000 residents^{1,3-5}.

The aim of this study was to analyse NPC incidence in Belgrade during the period 1991-2005, as well as to determine the extent of undifferentiated carcinoma of nasopharyngeal type (UCNT) and squamous cell carcinoma (SCC) among the patients^{6,7}.

Methods

The study included new patients suffering from NPC, living in Belgrade (the capital city of Serbia, with about 1.6 million inhabitants), in whom illness was diagnosed during the period 1991-2005 at the medical institutions in Belgrade (Institute of Otorhinolaryngology and Maxillofacial Surgery of the Clinical Centre of Serbia, Military Medical Academy and three Clinical Medical Centres in Belgrade).

Average number of Belgrade inhabitants (by sex and age) in the census years 1991 and 2002 was used as denominator for calculation of incidence⁸. In data analysis, crude

rates, age and sex specific rates, and standardized incidence rates were used. Standardization was performed by a direct method, using world population as standard⁹.

Results

During the observed 15 year period, the number of new patients suffering from NPC totalled 118, of which 86 (72.9%) were men and 32 (27.1%) women (Table 1). The average standardized incidence rate for men was 0.52 per 100 000 (ranging from 0.33 to 0.67), and for women was 0.16 per 100 000 (ranging from 0.06 to 0.30). The rates fluctuated during the period, and a specific trend was not observed.

In both sexes the incidence was very low before 40 years of age. In men, the greatest incidence rate of NPC was in the 50-59 years age group, and in women in those 60 and more years old (Table 2).

On the basis of histopathological diagnosis, in both sexes UCNT was more frequent than SCC – 3.1 times more frequent in men, and 5.4 times more frequent in women. The frequency of UCNT in men was 2.4 times of that in women. SCC was 4.2 times more frequent in men in comparison to women.

Table 1

Number of new patients, raw and standardised incidence rates (per 100 000 population) for carcinoma of the nasopharynx by sex (Belgrade, 1991-2005)

Year	Men			Women		
	Number of new patients	Raw rate / 100 000	Standardised rate* / 100 000	Number of new patients	Raw rate / 100 000	Standardised rate* / 100 000
1991	5	0.62	0.57	1	0.12	0.09
1992	4	0.50	0.33	2	0.24	0.15
1993	4	0.50	0.37	2	0.24	0.17
1994	4	0.50	0.44	2	0.24	0.15
1995	5	0.62	0.62	3	0.36	0.21
1996	7	0.87	0.48	2	0.24	0.11
1997	6	0.75	0.56	2	0.24	0.18
1998	6	0.75	0.50	2	0.24	0.17
1999	5	0.62	0.53	2	0.24	0.17
2000	6	0.75	0.51	2	0.24	0.13
2001	7	0.87	0.67	2	0.24	0.17
2002	7	0.87	0.53	3	0.36	0.30
2003	7	0.87	0.55	3	0.36	0.19
2004	7	0.87	0.63	2	0.36	0.20
2005	6	0.75	0.55	1	0.12	0.06
Average	6	0.71	0.52	2	0.26	0.16

*Incidence rate standardised according to world population⁹

Table 2

Average age-specific incidence rates (per 100 000 population) for carcinoma of the nasopharynx by sex (Belgrade, 1991-2005)

Age groups (years)	Men (n = 86)		Women (n = 32)	
	Number	Incidence rate / 100 000	Number	Incidence rate / 100 000
0-9	0	0.00	0	0.00
10-19	4	0.25	0	0.00
20-29	4	0.25	1	0.06
30-39	5	0.28	1	0.05
40-49	21	1.26	5	0.27
50-59	27	1.70	6	0.34
60-69	15	1.21	12	0.78
≥ 70	10	1.38	7	0.67

Our results demonstrated that the average standardized incidence rate of NPC in Belgrade was similar to that of some countries of the Western Europe and USA (Table 3).

and in Indians from 10 to 20 years of age and from 55 to 65 years of age^{2,16}.

Table 3

**Standardised incidence rates* for carcinoma of the nasopharynx
in various regions of the world by sex**

City/State/Nation (year period)	Standardised incidence		Incidence ratio
	Men	Women	Men/Women
Hong Kong (China) (2004) ¹³	15.3	5.5	2.8
Singapore (1998–2002) ¹¹	14.6	5.1	2.9
Micronesia (1998–2002) ¹¹	7.1	2.5	2.9
Viet Nam (1998–2002) ¹¹	6.9	2.7	2.6
Philippines (1998–2002) ¹¹	5.9	2.1	2.8
Indonesia (1998–2002) ¹¹	5.7	1.9	3.0
Algeria (Arabs) (1998–2002) ¹¹	5.2	2.2	2.4
Morocco (1998–2002) ¹¹	4.8	2.1	2.3
Tunisia (1998–2002) ¹¹	3.7	1.7	2.1
Moldova (1998–2002) ¹¹	2.9	0.5	5.8
Libya (1998–2002) ¹¹	2.2	0.9	2.5
Romania (1998–2002) ¹¹	1.5	0.5	3.0
Hungary (1998–2002) ¹¹	1.2	0.3	4.0
USA (1999–2003) ¹²	0.8	0.4	2.0
Croatia (1998–2002) ¹¹	0.7	0.2	3.5
Belgrade (Serbia) (1991–2005)	0.5	0.2	3.2
Slovenia (1998–2002) ¹¹	0.5	0.2	2.5
Japan (1998–2002) ¹¹	0.5	0.1	5.0
Ticino (Switzerland) (1996–2001) ¹⁴	0.4	0.2	2.0
Bulgaria (1998–2000) ¹¹	0.3	0.2	1.5
Chile (1998–2002) ¹¹	0.1	0.1	1.0

*Incidence rate standardised according to world population per 100 000 population⁹

Discussion

In Belgrade, as in most of the countries of Europe, carcinomas of the nasopharynx constitute less than 1% of all malignant tumours⁴. Data for Belgrade show that its population is one with low NPC incidence (0.52 per 100 000 for men and 0.16 per 100 000 for women) such as populations of some countries of the Western Europe and North America^{10–14}.

In all studies published until now, as in the present one, men were shown to suffer from NPC more frequently than women. Thus, in high risk populations, for example among Chinese living in Singapore, the sex ratio (men in comparison to women) was 2.3:1², and in Hong Kong it was 2.6:1¹⁵.

According to the data from the “Eurocare” study, which included new patients suffering from NPC during the period 1978–1989, 67% of all patients with NPC were men, and 33% were women, which is similar to our results (73% men and 27% women)⁴.

Nasopharyngeal carcinoma is usually more frequent in older people. The occurrence of patients younger than 55 years varies from 25% in Denmark to 55% in Spain and Slovakia⁴. In Belgrade population 51% of NPC cases were less than 55 years old, and the greatest incidence rate was in a 50–59 years age group for men and in the 60 years plus age group for women. The greatest frequency of NPC in Caucasians is between 55–65 years of age, in Chinese between 40 and 45 years of age, in Arabs from the Maghreb countries,

The most interesting finding of the present study is a much higher frequency of UCNT compared to SCC. The occurrence of UCNT varies for both men and women, and percentage of UCNT among all NPC cases ranged from 30% in Scandinavia to 50% and more in the countries of Southern Europe⁴. In Belgrade population UCNT was 3.6 times as that of SCC. Reasons for such variations in the UCNT frequency can be explained either by genetic differences or by differences in the exposure to environmental factors related to these two types of NPC, or by both.

Conclusion

Belgrade belongs to the regions with a low incidence rate of NPC. In Belgrade population, men are 2.7 times more frequently ill than women affected by nasopharyngeal carcinoma. NPC incidence rates rise with aging and the rates are the highest among men in the six decade of life and in women after the sixth decade of life. Undifferentiated type of nasopharyngeal carcinoma is histopathologically verified 3.6 times more often than squamous cell carcinoma.

Acknowledgment

This work was supported by the Ministry for Science and Ecology of Serbia, through contracts No. 101927, 2002–2005 and No. 145084, 2006–2010.

R E F E R E N C E S

1. *Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P.* Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55(2): 74–108.
2. *McDermott AL, Dutt SN, Watkinson JC.* The aetiology of nasopharyngeal carcinoma. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 2001; 26(2): 82–92.
3. *Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas D.* Cancer incidence in five continents. Vol. VIII. IARC Scientific Publication No 155. IARC Press; 2003.
4. *Jiang Li, Berrino F, Coebergh JWW.* Variation in survival for adults with nasopharyngeal cancer in Europe, 1978–1989. *Eur J Cancer* 1998; 34(14): 2162–66.
5. *Stosić S, Marinković J, Spaljkić M, Krejović B, de-The.* Nasopharyngeal carcinoma in Yugoslavia. Geographical distribution, clinical, pathological and virological data. In: *Levine PH, Ablashi DV, Nonoyama M, Pearson GR, Glosar R*, editors. Epstein-Barr virus and human disease. New Jersey: Humana Press; 1987. p. 21–4.
6. *Stosić-Dinjak S, Kanjub V, Djukić V, Racić A, Nesić V, Basarić D.* New viewpoint to histological classification of malignant epithelial tumours of nasopharynx. *Acta Chir Jugosl* 2005; 52(3): 69–75.
7. *Stosić-Dinjak S, Dukić V, Petrović Z, Nesić V, Racić A, Tatić Z*, et al. Possibility of the use of serological method for the determination of immunoglobuline A antibody against early antigens of Epstein-Barr virus as a marker in the diagnosis of nasopharyngeal tumors. *Vojnosanit Pregl* 2005; 62(10): 739–44. (Serbian)
8. *Statistical Yearbook of Belgrade 2004.* Belgrade: Institut for information and statistics; 2005. p. 61–3. (Serbian)
9. *United Nations World Population Prospects 1990.* New York: United Nations; 1991.
10. *Lee JT, Ko CY.* Has survival improved for nasopharyngeal carcinoma in the United States?. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2005; 132(2): 303–8.
11. *Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM.* Globocan 2002: Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. Version 2.0: IARC CancerBase No.5, Lyon: IARC Press; 2004.
12. *US Cancer Statistics Working Group.* United States Cancer Statistics: 2003 Incidence and Mortality Web-based Report. Atlanta: US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention and National Cancer Institute; 2006. Available from: www.cdc.gov/cancer/npcr/uscs.
13. *Hong Kong Cancer Statistics 2004.* Hong Kong Cancer Registry; 2007.
14. *Ticino Cancer Registry.* Switzerland; 2004.
15. *Lee AW, Foo W, Mang O, Sze WM, Chappell R, Lau WH*, et al. Changing epidemiology of nasopharyngeal carcinoma in Hong Kong over a 20-year period (1980–99): an encouraging reduction in both incidence and mortality. *Int J Cancer* 2003; 103(5): 680–5.
16. *Kumar S, Mahanta J.* Aetiology of nasopharyngeal carcinoma. A review. *Indian J Cancer* 1998; 35(2): 47–56.

The paper received on March 26, 2009.



Fatal diquat intoxication

Fatalno trovanje dikvatom

Jasmina Jović-Stošić, Gordana Babić, Veljko Todorović

Military Medical Academy, Clinic of Emergency and Clinical Toxicology, National Poison Control Centre, Belgrade, Serbia

Abstract

Background. Since the introduction of diquat in agriculture practice in 1960's, about 40 cases of poisoning have been described in detail in medical literature. **Case report.** We presented two cases. A case one, a 35-year-old, previously healthy, woman ingested 14% diquat solution. The poisoning had fulminant course, consisted of severe stomachache, vomiting, cardiocirculatory shock, respiratory failure and cardiac arrest 20 hours post-ingestion. Autopsy revealed myocardial infarction, bronchopneumonia and incipient renal damage. A case two, a 64-year-old man developed severe gastroenteritis, corrosive lesions of mucosal surfaces, acute renal injury, arrhythmias, brain stem infarction and bronchopneumonia. The diagnosis of diquat poisoning was made retrospectively upon the clinical picture and identification of pesticides he had been exposed to. The patient died 18 days post-exposure. The most prominent findings on autopsy were pontine hemorrhage and infarction, bronchopneumonia, left ventricle papillary muscle infarction and renal tubular damage. **Conclusion.** Cardiocirculatory disturbances led to fatal complications, the heart and brain infarction. We pointed out the heart as one of the most severely affected organs in diquat poisoning.

Key words:

diquat; poisoning; brain infarction; myocardial infarction.

Apstrakt

Uvod. Od početka primene dikvata u poljoprivredi, 1960-tih godina, detaljno je opisano oko 40 slučajeva trovanja u medicinskoj literaturi. **Prikaz bolesnika.** Prikazana su dva bolesnika. Prvi bolesnik, predhodno zdrava, 35-godišnja žena popila je preparat koji sadrži 14% dikvata. Trovanje je imalo fulminantan tok, ispoljivši se jakim bolovima u trbuhu, povraćanjem, kardiocirkulatornim šokom, respiratornom insuficijencijom i srčanim zastojem 20 sati nakon ingestije. Prilikom obdukcije otkriveni su infarkt miokarda, bronhopneumonija i početno oštećenje bubrega. U drugom slučaju radilo se o 64-godišnjem muškarcu sa kliničkom slikom koja je uključivala teški gastroenteritis, korozivne promene na sluznicama usne duplje, akutnu bubrežnu insuficijenciju, aritmije, infarkt mozga i bronhopneumoniju. Dijagnoza trovanja dikvatom postavljena je na osnovu razvoja navedenih poremećaja i naknadne identifikacije pesticida kojem je bio izložen. Do letalnog ishoda došlo je nakon 18 dana. Prilikom obdukcije utvrđeni su infarkt i krvarenje u ponsu, bronhopneumonija, infarkt papilarnog mišića srca i tubularno oštećenje bubrega. **Zaključak.** Kardiocirkulatorni poremećaji doveli su do fatalnih komplikacija, infarkta srca i mozga. Ukazano je na značaj poremećaja rada srca, kao jednog od najteže pogođenih organa u trovanju dikvatom.

Ključne reči:

dikvat; trovanje; mozak; infarkt miokarda.

Introduction

Diquat (1,1'-ethylene-2,2'-bipyridilium) is a nonselective bipyridyl herbicide. It acts as a potent redox cyler, generating superoxide anion and other redox products, which induce lipid peroxidation in cell membranes leading to cell death. Ingestion of bipyridyl herbicides, diquat and paraquat may cause severe and fatal poisoning. These herbicides produce corrosive lesions as a local effect, but their systemic effects are much more dangerous. Paraquat is used more widely, and its multiorgan toxicity is well recognized. Diquat is not so commonly used, and less than 40 cases of poisoning

are reported in detail in medical literature. Acute lethal doses (LD_{50}) for both compounds are of the same order of magnitude, but diquat does not produce progressive pulmonary fibrosis as paraquat, so it is considered less toxic¹. Clinical manifestations of diquat poisoning include primarily gastroenteritis and acute renal failure, but in severe cases respiratory failure, cardiovascular collapse, dysrhythmias, seizures and coma with brain haemorrhage and infarction may develop^{2,3}.

We reported two cases of fatal diquat intoxication, both with severe complications including myocardial infarction.

Case report

Case 1, a 35-year-old woman, was brought to the Emergency Department (ED) by ambulance. The patient was able to provide a history and it was positive only for depressive disorder. In a suicide attempt she ingested approximately 30 ml of a pesticide. Shortly after the ingestion, she developed a severe stomachache and felt extremely nauseated, vomited once. Gastric lavage was performed at the local medical centre, two hours post-ingestion. Her relatives brought along a bottle of ingested herbicide Reglone[®], containing 14% water solution of diquat.

On presentation to ED about 7 hours after the ingestion, the patient was alert, restless, diaphoretic, pale, and in obvious abdominal distress. Oropharyngeal examination revealed erythema, without corrosive lesions. The lungs were clear to auscultation. Heart sounds were normal, heart rate was 120 beats/min and regular, blood pressure was 105/70 mmHg. The examination of abdomen revealed only moderate mid-epigastric tenderness. Bowel sounds were hyperactive. The rest of physical examination was unremarkable. The chest and abdominal radiography was normal. Electrocardiogram showed sinus tachycardia at 120 beats/min with minimal ST segment depression. The initial blood analysis revealed white blood cell count (WBC) $14.0 \times 10^3/\text{mm}^3$, red blood cell count (RBC) $4.3 \times 10^6/\text{mm}^3$, hemoglobin 11.3 g/dL, hematocrit 38.6%, and platelets $317 \times 10^3/\text{mm}^3$. Blood urea nitrogen (BUN) was 6.6 mmol/L, creatinine 547 $\mu\text{mol/L}$, sodium 139 mEq/L, potassium 5.4 mEq/L, glucose 11.5 mmol/L, AST 147 U/L, ALT 89 U/L, CK 132 U/L. Arterial blood gases analysis (ABG) showed pH 7.226, pCO_2 23.3 mmHg, pO_2 130.5 mmHg, sO_2 97.9%, ABE – 16.8, SB 10.1 mEq/L.

The patient was admitted to intensive care unit. Peripheral intravenous line was instituted and initially she was given 2 000 ml of normal saline and 250 mL of 8.4% sodium bicarbonate. The patient had been on a cardiac monitoring since admission. Sinus tachycardia at 130–150 beats/minute with diffuse ST segment depression was present. She was restless with severe stomach pain, so tramadol and diazepam were given intravenously. Despite the fluids replacement, blood pressure fell to 80/55 mmHg, and dopamine infusion was started. Eight hours post admission, repeated laboratory analyses showed BUN 9.2 mmol/L, creatinine 557 $\mu\text{mol/L}$, sodium 142 mEq/L, potassium 3.6 mEq/L, glucose 10.5 mmol/L, AST 1213 U/L, ALT 675 U/L, CK 1257 U/L. ABG revealed worsening of acidosis to pH 6.99 and ABE to –24.1. At that point the urine output was noted to be only 20 mL. Therefore, the rate of fluids was increased and 80 mg of furosemid was administered. Haemoperfusion was planned, but it could not be performed because over next few hours the patient's condition deteriorated rapidly. Respiratory failure developed, and she was intubated and placed on mechanical ventilation. Normal oxygen saturation was maintained, but cardiocirculatory disturbances consisted of hypotension, tachycardia followed by bradycardia, and finally asystolia were refractory to the treatment. Despite the cardiopulmonary resuscitation (CPR) treatment the patient died 20 hours

after ingestion of diquat solution. Autopsy revealed the area of about 3 cm \times 2 cm of myocardial infarction on the posterior left ventricular wall. Hyperaemia of brain, lungs, liver, pancreas and kidneys with incipient renal tubular damage were present. Acute purulent bronchopneumonia was also noted. Toxicological analysis for diquat was not available.

Case 2, a 64-year-old farmer, presented to ED with nausea, abdominal pain and vomiting. The patient claimed that the symptoms had started two hours ago, during his work on plants spraying with malathion and some other pesticides of the names he was not able to remember. He denied any intentional ingestion of pesticide. There was no significant prior medical history.

On admission, he vomited profusely and continued to do so for the next few hours. He also had diarrhea. He was diaphoretic, but there were no excessive lacrimation and salivation. The pupils were slightly miotic, equal and reactive. The lungs were clear, the heart sounds were normal. The abdominal examination showed diffuse tenderness and hyperactive bowel sounds, liver and spleen were not palpable. Arterial blood pressure was 130/80 mmHg, heart rate 90 beats/min, temperature 36.8° C. Initial blood chemistry analyses showed normal values of BUN 3.2 mmol/L, sodium 141 mEq/L, potassium 4.3 mEq/L, and mild elevation of creatinine 147 $\mu\text{mol/L}$ and glucose 11.0 mmol/L. WBC was $19.4 \times 10^3/\text{mm}^3$, RBC $5.03 \times 10^6/\text{mm}^3$, hemoglobin 15.3 g/dL, hematocrit 44.0%, and platelets $317 \times 10^3/\text{mm}^3$. Laboratory estimation of organophosphate exposure by measuring the activity of erythrocyte acetylcholinesterase (AChE) and plasma pseudocholinesterase (ChE) revealed normal values of 5 560 U/L, and 9 370 u/L, respectively. AST was 16 U/L, ALT 13 U/L and CK 94 U/L. Arterial blood gases analysis showed pH 7.29, pCO_2 25.5 mmHg, pO_2 90.75 mmHg, sO_2 95.4%, ABE –13.5, SB 13.8.

The patient was admitted to the hospital and because of severe gastroenteritis, infusions of isotonic saline and glucose were given. Subsequent laboratory data, 8 hours post admission, showed increased values of urea 25.5 mmol/L, creatinine 711 $\mu\text{mol/L}$ and CK 1 916 U/L. AST was 76 U/L, ALT 89 U/L. Values of cholinesterase decreased: AChE was 2 150 U/L and ChE was 3 188 U/L. Though the clinical course did not indicate severe poisoning by organophosphorous pesticides, the treatment with atropine was started. After a few mg of atropine signs and symptoms of hyperatropinization occurred, so it was stopped.

On the 2nd day after exposure the patient became febrile, the temperature was 38.2° C and clinical and chest radiographic findings of bronchopneumonia developed. A small zone of dysepithelialisation of tongue mucosa appeared. Similar erosion was noted sublingually, also. Despite fluid replacement and normal values of arterial blood pressure and central venous pressure, the patient remained oliguric with diuresis of 400 mL during the first day, and 100 mL during the second day of hospitalization.

Severe gastroenteritis, corrosive lesions of mucosal surfaces, the development of acute renal injury and bronchopneumonia observed in our patient, strongly suggested a possibility of poisoning by bipyridylum herbicides. By this

time, we contacted the patient's family and asked them to bring the pesticides he had used. The members of his family indicated a possibility of deliberate ingestion and brought along two marked bottles of pesticides containing organophosphorus compounds malathion and dimethoate, and an unmarked bottle containing a dark liquid. The patient recognized all of them as the pesticides he used. Toxicological analysis of the unmarked bottle content revealed a 26% solution of diquat dibromide. Blood and urine samples were taken at the same time, but no traces of diquat or organophosphorous compounds were proven.

Hemodialysis treatment was started on the 3rd hospital day because of a progressive renal failure. The patient became increasingly somnolent after the first hemodialysis. On the 4th day, during the second hemodialysis, supraventricular tachycardia of 150 beats/min with signs of myocardial ischemia (depression of ST segment and inverted T waves in leads D₁, aVL and V₂-V₅ by ECG) occurred. The patient experienced respiratory arrest, so he was placed on mechanical ventilation. The treatment with propafenon and verapamil resulted in slowing down the heart rate, but the signs of myocardial ischemia persisted. Deterioration of consciousness was progressive leading to deep coma. Computed tomographic brain scan performed on the next day revealed extensive hypodense lesions of brain stem, suggesting infarction in the pons and mesencephalon on the left side with marked oedema around hypodense area. In deep coma, on mechanical ventilation, treated with antibiotics, fluid infusions, hemodialysis and other symptomatic and supportive therapy, the patient remained stabile in the following period. A total of eight hemodialysis treatments were necessary for the period of 10 days, and after that renal function started to improve. The highest values of BUN (55.6 mmol/L) and creatinine (1 075 μ mol/L) were noticed on the 8th day post-exposure. The other laboratory disturbances indicating multiorgan toxicity were transient increase of blood total bilirubin reaching maximum value of 179 μ mol/L on the 4th post-exposure day, and constantly increased values of serum amylase activity with peak value of 712 U/L on the 2nd hospital day. The activities of amino transferases and creatine phosphokinase were increasing with peak values reaching on the 4th day post-exposure (AST 129 U/L, ALT 93 U/L, CK 3753 U/L). On the 14th hospital day cardiac arrest happened. Sinus rhythm was established, but on the 18th day post-exposure cardiac arrest happened again and was refractory to the treatment.

Postmortem examination revealed abnormalities in the pons and region of the left capsula interna, which were purpuric by cut surface of brain. Microscopic examination revealed areas of hemorrhage in association with multiple confluent areas of infarction. A small erosion of tongue, and a couple of similar erosions of laryngeal, upper tracheal, esophageal and gastric mucosa surfaces were noted. Edema, congestion and patchy areas of consolidation, containing purulent material, were observed in the lungs. Microscopic examination revealed thickening of alveolar walls. Cut surface of heart showed recent infarction of left ventricle papillary muscle. Perivascular myocardial fibrosis was observed by

histology examination, also. Liver histology was normal. Incipient fatty infiltration of pancreas and reactive hyperemia of spleen were noted. Histological examination of kidneys revealed partial acute tubular necrosis. Fat loss of the suprarenal glands tissue was also observed.

Discussion

The case 1 represents an acute fulminant poisoning by diquat. It is reported that the ingestion of large amount of bipyridyl herbicides may cause death within a day or two, and clinical picture is essentially the same for diquat as for paraquat².

The case 2 despite the anamnesis of organophosphorous pesticides exposure and the slight decrease of cholinesterase activity, in view of characteristic clinical course was diagnosed with severe bipyridyl poisoning. The route of exposure to diquat was dubious. Inhalation usually causes mild signs and symptoms of poisoning, and fatal outcome is unlikely in such cases^{2,3}. Corrosive lesions of tongue, sublingual mucosa, esophagus, stomach, larynx and trachea indicated these tissues contact with the poison. The patient allowed possibility of accidental ingestion of small quantity during spraying. Similar way of exposure with corrosive lesions of upper gastrointestinal tract and systemic intoxication has been reported⁴. Anyway, in view of severity of poisoning and the information of possible depressive disorder provided from patient's family, it was more likely the case of intentional ingestion.

Initial clinical manifestations of diquat intoxication include severe gastroenteritis, followed by acute renal failure, as was noticed in both our patients. In the case 2 renal failure developed despite the adequate fluids replacement and normal arterial and central venous pressure, so we believe it was the consequence of diquat nephrotoxicity, rather than hemodynamic disturbances. In the case 1 it could be partially caused by inadequate perfusion, and because of fulminant course, full clinical image of renal damage did not developed. Discrepancy between normal BUN and high creatinine levels in this case probably was the artifact due to interference of diquat in the laboratory assay for serum creatinine⁵. Toxicology analysis for diquat in patient's serum was not available, but this finding may indicate its presence in blood.

Early development of bronchopneumonia was noticed in both presented cases, and contributed to respiratory failure. Impaired respiratory function has been reported in the most cases of severe diquat poisoning⁶⁻⁸. It may be the manifestation of an acute lung injury, like in other kinds of severe illness and trauma. Consequently, thickening of alveolar walls, as revealed by histology in the case 2, may develop. Though pulmonary fibrosis after intratracheal administration of diquat is reported, and paraquat and diquat share similar mechanisms of toxicity, experimental studies showed that diquat is not accumulated in the lung and does not produce progressive pulmonary fibrosis like paraquat⁹⁻¹².

Toxic effects of bipyridyl herbicides also include damage of liver, pancreas, heart and muscle. Signs of hepatotox-

icity, such as jaundice, elevations in serum aminotransferases and liver centrilobular necrosis, as well as the development of pancreatitis, have been reported in paraquat poisonings^{13–15}. In the case 2, transient elevation of serum bilirubin and increased activity of amylase were noted, but histological examination of liver and pancreas did not revealed significant damage. Activities of transaminases were increased concomitantly with CK activity elevation, indicating muscle damage rather than liver necrosis.

We point out heart damage, noted in both presented patients. Besides gastrointestinal, cardiocirculatory disturbances including hypotension, tachycardia, and myocardial ischaemia were the leading signs of poisoning in the case 1. Cardiovascular hypotension unresponsive to fluids and vasoactive drugs is described in similar cases, but myocardial infarction, what we proved by postmortem examination, was not described in these reports^{5,16,17}. The patient was previously healthy young woman, so we believe that the development of myocardial infarction shortly after diquat ingestion was the consequence of its toxicity. In the case 2, four days post-exposure, the patient developed cardiac arrhythmias, which were transient, but electrocardiographic signs of ischemia persisted. Concomitant elevation of enzyme activity also indicated myocardial infarction, and finally it was confirmed by autopsy.

At the time the patient became hemodynamically unstable, progressive deterioration of consciousness was noted. Computerized tomography revealed infarctions in regions of pons and left capsula interna. There have been reports on pontine infarction or hemorrhage after diquat ingestion^{9,10,18,19}. In discussion, the brain stem damage was attributed to the possible effects of diquat itself or hemodynamic disturbances (hypoperfusion and extracorporeal procedures). In our case myocardial ischemia and cardiocirculatory disturbances preceded significant central nervous system damage consistent with infarctions and hemorrhage.

Systemic toxicity with parenchymatous organs damage in bipyridylum herbicides poisoning is attributed to their oxidation and reduction in a cycling manner. This process leads to the production of superoxide anion and other free radicals, resulting in the chain reactions that damage cellular structures. Cells are additionally damaged due to depletion of NADPH that is consumed during redox cycling and detoxification of free radicals³. Being the site of intensive energetic metabolism, the heart may be among the most sensitive target organs. The results of recent clinical study on patients with paraquat and/or diquat poisoning indicate that marked imbalance between increased oxygen demand and decreased oxygen supply because of myocardial depression, was a possible cause of death in circulatory failure²⁰. We believe that in the presented cases of diquat poisoning, primary cardiocirculatory disturbances led to fatal complications, heart and brain infarction.

Since the immediate measures to reduce the further diquat absorption and to enhance elimination by hemoperfusion, as well as administration of antioxidants, were not beneficial for survival in most cases of severe diquat poisoning, supportive care and symptomatic treatment in intensive care unit remains the mainstream therapy^{10,16,21,22}.

Conclusion

Clinical picture of diquat poisoning has been described in detail in a small number of cases. Local corrosive lesions, and systemic manifestations including severe gastroenteritis, acute renal failure, early development of bronchopneumonia, and signs of liver damage have been recognized. In all available reports, marked cardiocirculatory disturbances have been noticed, but there have been no reports on myocardial infarction, which we proved in the presented patients. We pointed out the heart as one of the most severely affected organs in diquat poisoning.

R E F E R E N C E S

1. *Stevens JT, Sumner DD.* Herbicides. In: *Hayes WJ, Laws ER,* editors. *Handbook of Pesticide Toxicology. Classes of Pesticides.* San Diego: Academic Press; 1991. p. 1343–45.
2. *Tominack RL, Pond SM.* Herbicides. In: *Goldfrank's Toxicologic Emergencies.* 7th ed. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 1393–410.
3. *Jones GM, Vale JA.* Mechanisms of toxicity, clinical features, and management of diquat poisoning: a review. *J Toxicol Clin Toxicol* 2000; 38(2): 123–8.
4. *Valiante F, Farinati F, Dal Santo P, Germanà B, Di Mario F, Naccarato R.* Upper gastrointestinal injury caused by diquat. *Gastrointest Endosc* 1992; 38(2): 204.
5. *Schmidt DM, Neale J, Olson KR.* Clinical course of a fatal ingestion of diquat. *J Toxicol Clin Toxicol* 1999; 37(7): 881–4.
6. *Vanholder R, Colardyn F, De Reuck J, Praet M, Lameire N, Ringoir S.* Diquat intoxication: report of two cases and review of the literature. *Am J Med* 1981; 70(6): 1267–71.
7. *Powell D, Pond SM, Allen TB, Portale AA.* Hemoperfusion in a child who ingested diquat and died from pontine infarction and hemorrhage. *J Toxicol Clin Toxicol* 1983; 20(5): 405–20.
8. *Vale A.* Bipyridyl herbicides: mechanisms of toxicity, features and management. *Clin Toxicol* 2005; 43: 426–8.
9. *Manabe J, Ogata T.* Lung fibrosis induced by diquat after intratracheal administration. *Arch Toxicol* 1987; 60(6): 427–31.
10. *Pratt IS, Keeling PL, Smith LL.* The effect of high concentrations of oxygen on paraquat and diquat toxicity in rats. *Arch Toxicol Suppl* 1980; 4: 415–8.
11. *Smith LL, Rose MS.* A comparison of the effects of paraquat and diquat on the water content of rat lung and the incorporation of thymidine into lung DNA. *Toxicology* 1977; 8(2): 223–30.
12. *Lam HF, Takezawa J, Gupta BN, van Stee EW.* A comparison of the effects of paraquat and diquat on lung compliance, lung volumes and single breath diffusing capacity in the rat. *Toxicology* 1980; 18(2): 111–23.
13. *Hargreave TB, Gresham GA, Karayannopoulos S.* Paraquat poisoning. *Postgrad Med J* 1969; 45(527): 633–5.
14. *Bismuth C, Garnier R, Baud FJ, Muszynski J, Keyes C.* Paraquat poisoning. An overview of the current status. *Drug Saf* 1990; 5(4): 243–51.

15. *Parkinson C.* The changing pattern of paraquat poisoning in man. *Histopathology* 1980; 4(2): 171–83.
16. *Hantson P, Wallemacq P, Mabieu P.* A case of fatal diquat poisoning: toxicokinetic data and autopsy findings. *J Toxicol Clin Toxicol* 2000; 38(2): 149–52.
17. *McCarthy LG, Speth CP.* Diquat intoxication. *Ann Emerg Med* 1983; 12(6): 394–6.
18. *Schönborn H, Schuster HP, Kössling FK.* Clinical and morphologic findings in an acute oral intoxication with Diquat (Reglone). *Arch Toxikol* 1971; 27(3): 204–16. (German)
19. *Saeed SA, Wilks MF, Coupe M.* Acute diquat poisoning with intracerebral bleeding. *Postgrad Med J* 2001; 77(907): 329–32.
20. *Yamamoto I, Saito T, Harunari N, Sato Y, Kato H, Nakagawa Y, et al.* Correlating the severity of paraquat poisoning with specific hemodynamic and oxygen metabolism variables. *Crit Care Med* 2000; 28(6): 1877–83.
21. *Mabieu P, Bonduelle Y, Bernard A, De Cabooter A, Gala M, Hassoun A, et al.* Acute diquat intoxication. Interest of its repeated determination in urine and the evaluation of renal proximal tubule integrity. *J Toxicol Clin Toxicol* 1984; 22(4): 363–9.
22. *Williams PF, Jarvie DR, Whitehead AP.* Diquat intoxication: treatment by charcoal haemoperfusion and description of a new method of diquat measurement in plasma. *J Toxicol Clin Toxicol* 1986; 24(1): 11–20.

The paper received on September 26, 2008



Ursodeoxycholic acid for treatment of cholestasis in patients with hepatic amyloidosis

Ursodeoksiholna kiselina za lečenje holestaze kod bolesnika sa amiloidozom jetre

Dominik Faust*, Bora Akoglu†, Gordana Ristic†, Vladan Milovic†

Asklepios Hospital, *Department of Medicine, Langen, Germany; MediClin Deister Weser Hospital, †Department of Gastroenterology and Oncology, Bad Muender, Germany

Abstract

Background. Amyloidosis represents a group of different diseases characterized by extracellular accumulation of pathologic fibrillar proteins in various tissues and organs. Severe amyloid deposition in the liver parenchyma has extrahepatic involvement predominantly in the kidney or heart. We evaluated the effect of ursodeoxycholic acid, in four patients with severe hepatic amyloidosis of different etiologies, who presented with increased alkaline phosphatase and γ -glutamyl transferase. **Case report.** The study included four patients who presented with amyloidosis-associated intrahepatic cholestasis. Three of them had renal amyloidosis which developed 1–3 years before cholestasis occurred, the remaining one having intrahepatic cholestasis as the primary sign of the disease. Amyloidosis was identified from liver biopsies in all patients by its specific binding to Congo red and green birefringence in polarized light. The biochemical nature and the class of amyloid deposits were identified immunohistochemically. In addition to their regular treatment, the patients received 750 mg ursodeoxycholic acid per day. After 2–4 weeks all patients had a significant decrease of serum alkaline phosphatase and γ -glutamyl transferase, and their general status significantly improved. **Conclusion.** Treatment with ursodeoxycholic acid may be beneficial in patients with hepatic amyloidosis, and do extend indications for the use of ursodeoxycholic acid in amyloidotic cholestatic liver disease.

Key words:

amyloidosis; cholestasis; biopsy; immunohistochemistry; deoxycholic acid.

Apstrakt

Uvod. Amiloidoza predstavlja grupu različitih oboljenja koju karakteriše vančelijsko nakupljanje patoloških fibrilnih proteina u različitim tkivima i organima. Značajno nakupljanje depozita u parenhimu jetre prati ekstrahepatična zahvaćenost pre svega bubrega ili srca. Ispitivan je efekat ursodeoksiholne kiseline kod četiri bolesnika sa amiloidozom jetre različite etiologije koji su primljeni zbog povišenja alkalne fosfataze i gama glutamil transferaze. **Prikaz bolesnika.** Opisali smo četiri bolesnika sa intrahepatičkom holestazom udruženom sa amiloidozom. Tri od četiri bolesnika imala su amiloidozu bubrega koja se razvila 1–3 godine pre pojave holestaze, a jedan bolesnik holestazu kao prvi znak bolesti. Amiloidoza je dokazana iz biopsija jetre nakon specifičnog bojenja Kongo crvenim. Biološka priroda i klasa amiloida ispitana je imunohistohemijski. Zajedno sa njihovom uobičajenom terapijom, bolesnici su lečeni ursodeoksiholnom kiselinom, 750 mg dnevno. Posle 2–4 nedelje kod svih bolesnika dokazan je značajni pad alkalne fosfataze i gama glutamil transferaze, i njihovo opšte stanje značajno se popravilo. **Zaključak.** Terapija ursodeoksiholnom kiselinom uspešna je kod bolesnika sa amiloidozom jetre, čime se proširuje indikacija za davanje ursodeoksiholne kiseline kod bolesnika sa holestazom koja nastaje kao posledica jetrene amiloidoze.

Ključne reči:

amiloidoza; holestaza; biopsija; imunohistohemija; dezoksiholna kiselina.

Introduction

Amyloidosis represents a group of different diseases characterized by extracellular accumulation of pathologic fibrillar proteins (called amyloid on the basis of special tinctorial and optical properties) in various tissues and or-

gans. Systemic amyloidosis may present as predominantly renal disease. Severe amyloid deposition in the liver parenchyma has been described as much less common than renal amyloidosis, occurring in approximately 5% of patients with simultaneous renal involvement¹. In turn, the majority of patients with proven hepatic amyloidosis had extrahepatic

involvement predominantly in the kidney (47%) or heart (42%)². Regarding poor median survival rate of patients with severe hepatic amyloidosis and the failure of existing treatment options to improve survival and relieve cholestasis, novel therapeutical approaches are obviously needed.

When used to dissolve gallstones in patients with chronic active hepatitis, the dihydroxylated bile acid, ursodeoxycholic acid, improved both serum transaminases and cholestasis-indicating enzymes³. Ursodeoxycholic acid has also been used in patients with cystic fibrosis, and is the treatment of choice in primary biliary cirrhosis⁴⁻⁶. In the present study, we administered ursodeoxycholic acid to four patients with cholestasis due to amyloidosis with hepatic involvement. Rapid improvement of cholestasis after the treatment was initiated, recurrence of cholestasis after ursodeoxycholic acid was temporarily discontinued and repeated improvement after the drug was reintroduced, suggest that ursodeoxycholic acid may be an efficient therapy in patients with cholestasis due to hepatic amyloidosis.

Case report

The study included four patients who presented with amyloidosis-associated intrahepatic cholestasis (Table 1). Three of the four patients had renal amyloidosis which developed 1–3 years before cholestasis occurred. The patient 1 was a 44-year-old Caucasian female with immunoglobulin-light-chain- λ -related (AL λ) amyloidosis, while two males, patient 2 (65-year-old Caucasian) and patient 3 (40-year-old African), had amyloid protein A (AA) amyloidosis. In contrast, the patient 4 (70-years-old Caucasian male)

had no overt renal amyloidosis, and intrahepatic cholestasis was the primary sign of the disease. Familial Mediterranean fever was the cause of amyloidosis in one of two patients with AA amyloidosis (patient 2). In patients 1, 3 and 4 no cause could initially be identified, and, in particular, chronic inflammatory bowel disease and Mediterranean fever were ruled out.

Two out of four patients (patients 1 and 2) complained to pruritus as the only cholestasis-related symptom. Patients 1 and 2 were in the end-stage renal disease and undergoing hemodialysis. They were both receiving ACE inhibitors and calcium antagonists to treat renal hypertension. The patient 3 had moderately impaired renal function without indications for hemodialysis, and was receiving no medication. The patient 4 had coronary heart disease and, as regular therapy, was receiving acetylsalicylic acid and metoprolol daily.

Laboratory data are summarized in Tables 1 and 2. Extrahepatic cholestasis was excluded in all patients by ultrasound. Magnetic resonance cholangiopancreatography was additionally done in Patient 3, confirming normal morphology of intra- and extrahepatic bile ducts.

Liver biopsies were performed in all patients and evaluated separately by two pathologists. They revealed severe capillary amyloid deposits along the sinusoids and in the walls of hepatic arteries, and were diagnostic for amyloidosis, according to the criteria described before⁷. Amyloid was identified at light microscopy by its specific binding to Congo red and its green birefringence in polarized light. The biochemical nature and the class of amyloid deposits were identified immunohistochemically, as previously described⁸.

Table 1
Survey of blood cell count, clinical chemistry and clotting tests before and after four weeks of treatment with ursodeoxycholic acid (750 mg per day)

	Patient 1		Patient 2		Patient 3		Patient 4		Normal range
	Week 0	Week 4							
Hemoglobin, (g/dL)	10.2	10.6	11.5	11.3	13.4	13.8	13.8	12.1	12.5–17.5
Leucocytes, (nL)	8.3	9.2	7.6	10.8	6.45	5.60	8.78	8.11	3.5–9.8
Sodium, (mmoL/L)	141	140	142	137	136	141	138	143	135–155
Creatinine, (mg/dL)	5.9	8.0	6.8	6.8	2.9	2.7	0.80	1.1	< 1.44
Cholesterol, (mg/dL)	283	256	166	236	172	185	232	211	< 200
Albumin, (g/dL)	4.7	3.7	3.8	3.8	3.5	3.7	4.6	4.1	3.0–5.0
Bilirubin, (mg/dL)	0.4	1.2	0.8	0.9	0.4	0.4	0.5	0.6	< 1.1
Prothrombin time, (%)	70	73	68	70	82	83	91	86	70–100

Patient 1: 44-year-old Caucasian female with AL-lambda amyloidosis; patient 2: 65-year-old Caucasian male with AA amyloidosis and familial Mediterranean fever; patient 3: 40-year-old African male with AA amyloidosis but without clinical features of chronic inflammatory disease; patient 4: 70-years-old Caucasian male, with hereditary ApoAI-amyloidosis

Table 2

Immunological markers of patients studied

	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Normal values
ANA	negative	negative	negative	negative	negative
AMA	negative	negative	negative	negative	negative
ANCA (screen)	negative	negative	negative	negative	negative
IgG (g/dL)	0.85	1.32	1.07	1.48	0.8–1.8
IgA (mg/dL)	0.22	0.35	0.29	0.31	0.1–0.45
IgM (mg/dL)	0.01	0.12	0.20	0.19	0.06–0.26

Patient 1: 44-year-old Caucasian female with AL-lambda amyloidosis; patient 2: 65-year-old Caucasian male with AA amyloidosis and familial Mediterranean fever; patient 3: 40-year-old African male with AA amyloidosis but without clinical features of chronic inflammatory disease. Patient 4: 70-years-old Caucasian male, with hereditary ApoAI-amyloidosis. ANA – antinuclear antibodies; AMA – antimicrobial antibodies; ANCA antineutrophil cytoplasmic antibodies; Ig – immunoglobulins

Liver biopsies of all four patients revealed amyloid deposits which were positive to Congo red staining (Figure 1). Further molecular characterization of the type of amyloidosis showed that the patient 4 suffered from hereditary ApoA1-amyloidosis, a rare disorder characterized by a mutation in the gene for apolipoprotein AI⁹.

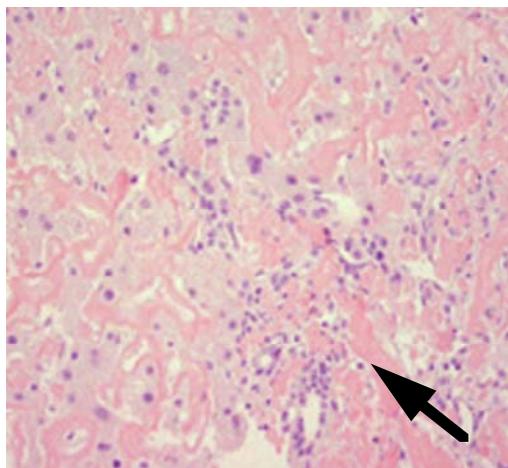


Fig. 1 – Liver biopsy of patient 3. The other two patients exhibited identical findings. In the vicinity of a portal tract, extensive extracellular amyloid deposits are seen in all sinusoids (arrow), with concomitant finding of atrophic hepatocytes (Congo red staining, magnification 400×).

Prior to the initiation of the treatment, informed consent was obtained from each patient and the study protocol (conforming to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki) was approved by the Ethics Committee of the Johann Wolfgang Goethe University School of Medicine in Frankfurt.

Independent from body weight, 750 mg ursodeoxycholic acid per day (Ursofalk®, Dr Falk Pharma GmbH, Freiburg, Germany) divided into three daily doses were administered to all patients.

After 2 to 4 weeks of treatment, a significant decrease in serum alkaline phosphatase and gamma-glutamyl transferase levels in comparison to pretreatment values was observed in all patients, while other liver function tests remained unchanged (Figure 2). Patients 1 and 2 also reported a significant improvement of their pruritus. There was no change in the liver size on follow up (ultrasound) and renal function tests remained unchanged. Four weeks after the treatment with ursodeoxycholic acid was started the patients were discharged from our outpatients clinic and were treated by their general practitioners, with regular (1–3 months) follow-up visits to us. Three of the patients (patients 1–3), however, interrupted ursodeoxycholic acid treatment only a few weeks after being discharged, since their family physicians decided, due to high costs, not to prescribe the drug any longer. In the patient 4 alkaline phosphatase decreased to normal (100 U/L), and in patients 2 and 4 gamma-glytamyl transferase fell to one third of the pretreatment values.

The patients 1–3 were seen again in our clinic after ursodeoxycholic acid treatment was discontinued; in all three,

cholestatic parameters again markedly increased (Figure 2). Reintroducing ursodeoxycholic acid (750 mg per day) again resulted in a decrease in serum alkaline phosphatase and gamma-glutamyl transferase levels as early as one week after the treatment was reintroduced. Again, there was no change in other liver function tests.

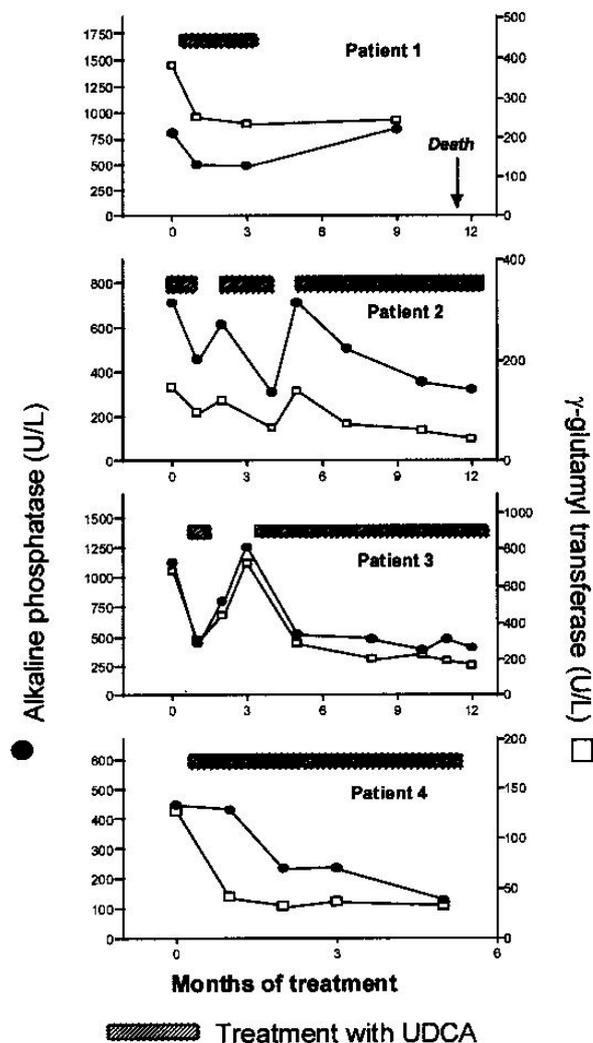


Fig. 2 – Decrease in serum alkaline phosphatase and gamma-glutamyl transferase during treatment with ursodeoxycholic acid (UDCA; 750 mg per day) and their reversal after the treatment was temporarily discontinued. Patient 1: 44-year-old Caucasian female with AL-lambda amyloidosis; patient 2: 65-year-old Caucasian male with AA amyloidosis and familial Mediterranean fever; patient 3: 40-year-old African male with AA amyloidosis but without clinical features of chronic inflammatory disease; patient 4: 70-years-old Caucasian male, with hereditary ApoA1-amyloidosis. (normal range: AP < 180 U/L, γ-GT < 28 U/L).

Ursodeoxycholic acid was well tolerated by all patients. However, they all refused a repeated liver biopsy aimed to assess possible histological changes due to ursodeoxycholic acid treatment. One of the patients (patient 1) died of heart failure shortly after the treatment with ursodeoxycholic acid was reintiated, but the other two maintained stabilised parameters of cholestasis over time (Figure 2). The patient 2

again interrupted ursodeoxycholic acid therapy after a treatment period of six weeks; alkaline phosphatase and gamma-glutamyl transferase again increased, and returned to previous values after the treatment was reintroduced. The patient 4 was taking ursodeoxycholic acid without any interruption for almost six months, and, on the last follow-up, had nearly normalized parameters of cholestasis (Figure 2).

Discussion

Here we describe four patients with hepatic amyloidosis and cholestasis, who were successfully treated with ursodeoxycholic acid and stabilized their laboratory parameters of cholestasis within weeks after the initiation of therapy. The effect of ursodeoxycholic acid was specific, since temporary discontinuation of the drug resulted in a recurrent increase in alkaline phosphatase and gamma-glutamyl transferase, which again returned to nearly normal values after ursodeoxycholic acid was reintroduced. Among our four patients, however, one patient died during the course of treatment due to heart failure caused by amyloidosis of the heart.

A relatively small series of patients with liver amyloidosis available for this study at present does not allow any conclusion whether treatment with ursodeoxycholic acid can influence survival. If any analogy between the two cholestatic diseases can be helpful, in patients with primary biliary cirrhosis it has been shown that ursodeoxycholic acid delays the need for transplantation, while the posttransplantation outcome of ursodeoxycholic acid-treated patients is not different from those who were administered placebo^{10,11}.

Chronic cholestatic liver diseases are characterized by impaired bile flow, caused by different mechanisms and cell structures, like the bile salt dependent and independent bile flow, different export pumps, ATP, glutathione and the cyto-

skeleton¹²⁻¹⁴. Amyloidosis with liver involvement is relatively rare in comparison to amyloidotic disease of the kidneys, lung and heart, is characterized by the accumulation of amyloid fibrils in the liver parenchyma and ultimately may result in chronic intrahepatic cholestasis¹⁵. Amyloid is deposited in the parenchyma and in the wall of blood vessels in the liver, as well as around the bile canaliculi.

Experimental evidence suggests that, in principle, ursodeoxycholic acid acts at least on two major levels in relieving cholestasis in man: it protects cholangiocytes against cytotoxic effects of hydrophobic bile acids and bile acid-induced apoptosis, and it stimulates hepatobiliary secretion¹⁶. On cellular level, ursodeoxycholic acid stimulates ATP secretion in the liver, mobilizes intracellular calcium and activates phospholipase A, induces a pleiotropic metabolic response in the hepatocyte by activating protein kinase C, inserts bile acid transporters in the apical pole of the hepatocyte canalicular membrane, and stabilizes the hepatocyte membranes and liver mitochondria¹⁷⁻²³. In patients with biliary liver diseases it has also been suggested that ursodeoxycholic acid acts primarily within the bile canalicular lumen, by preventing disruption of the plasma membrane of bile duct epithelial cells by hydrophobic bile acids²⁴. Whether one or all of these mechanisms lie beneath the described anti-cholestatic effect of ursodeoxycholic acid in patients with severe liver amyloidosis, still remains to be seen.

Conclusion

Our data imply that ursodeoxycholic acid should be used to treat cholestasis in patients with liver amyloidosis. Further clinical studies at a larger patient group are obviously needed to assess this promising conclusion.

R E F E R E N C E S

1. *Glennier GG*. Amyloid deposits and amyloidosis: the beta-fibrilloses (second of two parts). *N Engl J Med* 1980; 302(24): 1333-43.
2. *Gertz MA, Kyle RA*. Hepatic amyloidosis: clinical appraisal in 77 patients. *Hepatology* 1997; 25(1): 118-21.
3. *Leuschner U, Leuschner M, Sieratzki J, Kurtz W, Hübner K*. Gallstone dissolution with ursodeoxycholic acid in patients with chronic active hepatitis and two years follow-up. A pilot study. *Dig Dis Sci* 1985; 30(7): 642-9.
4. *Leuschner U, Fischer H, Kurtz W, Güldütuna S, Hübner K, Hellstern A, et al*. Ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis: results of a controlled double-blind trial. *Gastroenterology* 1989; 97(5): 1268-74.
5. *Poupon RE, Lindor KD, Cauch-Dudek K, Dickson ER, Poupon R, Heathcote EJ*. Combined analysis of randomized controlled trials of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1997; 113(3): 884-90.
6. *Heathcote EJ*. Management of primary biliary cirrhosis. The American Association for the Study of Liver Diseases practice guidelines. *Hepatology* 2000; 31(4): 1005-13.
7. *Sasaki M, Nakanuma Y, Terada T, Hoso M, Saito K, Hayashi M, et al*. Amyloid deposition in intrahepatic large bile ducts and peribiliary glands in systemic amyloidosis. *Hepatology* 1990; 12(4 Pt 1): 743-6.
8. *Linke RP*. Highly sensitive diagnosis of amyloid and various amyloid syndromes using Congo red fluorescence. *Virchows Arch* 2000; 436(5): 439-48.
9. *Soutar AK, Hawkins PN, Vigushin DM, Tennent GA, Booth SE, Hutton T, et al*. Apolipoprotein AI mutation Arg-60 causes autosomal dominant amyloidosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89(16): 7389-93.
10. *Lazaridis KN, Gores GJ, Lindor KD*. Ursodeoxycholic acid 'mechanisms of action and clinical use in hepatobiliary disorders'. *J Hepatol* 2001; 35(1): 134-46.
11. *Heathcote EJ, Stone J, Cauch-Dudek K, Poupon R, Chazouilleres O, Lindor KD, et al*. Effect of pretransplantation ursodeoxycholic acid therapy on the outcome of liver transplantation in patients with primary biliary cirrhosis. *Liver Transpl Surg* 1999; 5(4): 269-74.
12. *Poupon R, Chazouilleres O, Poupon RE*. Chronic cholestatic diseases. *J Hepatol* 2000; 32(1 Suppl): 129-40.
13. *Trauner M, Meier PJ, Boyer JL*. Molecular pathogenesis of cholestasis. *N Engl J Med* 1998; 339(17): 1217-27.
14. *Meier PJ*. Molecular mechanisms of hepatic bile salt transport from sinusoidal blood into bile. *Am J Physiol* 1995; 269(6 Pt 1): G801-12.
15. *Falk RH, Comenzo RL, Skinner M*. The systemic amyloidoses. *N Engl J Med* 1997; 337(13): 898-909.

16. *Paumgartner G, Beuers U.* Ursodeoxycholic acid in cholestatic liver disease: mechanisms of action and therapeutic use revisited. *Hepatology* 2002; 36(3): 525–31.
17. *Nathanson MH, Burgstahler AD, Masyuk A, Larusso NF.* Stimulation of ATP secretion in the liver by therapeutic bile acids. *Biochem J* 2001; 358(Pt 1): 1–5.
18. *Bouscarel B, Fromm H, Nussbaum R.* Ursodeoxycholate mobilizes intracellular Ca²⁺ and activates phosphorylase a in isolated hepatocytes. *Am J Physiol* 1993; 264(2 Pt 1): G243–51.
19. *Beuers U, Throckmorton DC, Anderson MS, Isaacs CM, Thasler W, Kullak-Ublick GA, et al.* Tauroursodeoxycholic acid activates protein kinase C in isolated rat hepatocytes. *Gastroenterology* 199; 110(5): 1553–63.
20. *Alpini G, Baiocchi L, Glaser S, Ueno Y, Marzjoni M, Francis H, et al.* Ursodeoxycholate and tauroursodeoxycholate inhibit cholangiocyte growth and secretion of BDL rats through activation of PKC alpha. *Hepatology* 2002; 35(5): 1041–52.
21. *Beuers U, Bilzer M, Chittattu A, Kullak-Ublick GA, Keppler D, Paumgartner G, et al.* Tauroursodeoxycholic acid inserts the apical conjugate export pump, Mrp2, into canalicular membranes and stimulates organic anion secretion by protein kinase C-dependent mechanisms in cholestatic rat liver. *Hepatology* 2001; 33(5): 1206–16.
22. *Güldütuna S, Zimmer G, Imhof M, Bhatti S, You T, Leuschner U.* Molecular aspects of membrane stabilization by ursodeoxycholate. *Gastroenterology* 1993; 104(6): 1736–44.
23. *Güldütuna S, Deisinger B, Weiss A, Freisleben HJ, Zimmer G, Sipos P, et al.* Ursodeoxycholate stabilizes phospholipid-rich membranes and mimics the effect of cholesterol: investigations on large unilamellar vesicles. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1326(2): 265–74.
24. *Heuman DM, Mills AS, McCall J, Hylemon PB, Pandak WM, Vlabencic ZR.* Conjugates of ursodeoxycholate protect against cholestasis and hepatocellular necrosis caused by more hydrophobic bile salts. In vivo studies in the rat. *Gastroenterology* 1991; 100(1): 203–11.

The paper received on October 3, 2008.



Unilateralni iris plato sindrom nakon upotrebe ekstazija

Unilateral iris plateau syndrome after the use of ecstasy

Predrag Jovanović*, Paraskeva Hentova-Senčanić[‡], Lepša Žorić[†],
Maja Petrović*, Marija Trenkić Božinović*

Klinički centar, *Klinika za očne bolesti, Niš; [†]Medicinski fakultet u Prištini sa sedištem u Kosovskoj Mitrovici, Kosovska Mitrovica; Klinički centar Srbije, [‡]Institut za očne bolesti, Beograd, Srbija

Apstrakt

Uvod. Ekstazi je ulični naziv za 3,4-metilendioksimetamfetamin (MDMA). Ova psihoaktivna „rekreativna“ droga široko se zloupotrebljava. Ekstazi povećava oslobađanje monoaminskih neurotransmitera uključujući serotonin i dopamin i inhibira preuzimanje i vezivanje serotonina. Kao posledica toga dolazi do midrijaze i sledstvenog povišenja intraokularnog pritiska (IOP) kod predisponiranih osoba. U radu prikazujemo redak slučaj akutno povišenog IOP nakon upotrebe ekstazija. **Prikaz bolesnika.** Bolesnica, u dobi od 38 godina, javila se doktoru zbog smanjene oštine vida i jakih bolova u levom oku i levoj polovini glave. Data je urgentna antiglaukomatozna terapija posle čega je došlo do povlačenja subjektivnih tegoba bolesnice i poboljšanja objektivnog nalaza. Anamnestički, otkriveno je da je bolesnica neposredno pre pojave tegoba uzimala ekstazi i da je sličan „napad“ imala i šest godina ranije nakon ušmrkavanja kokaina, ali se od tada nije javljala lekaru iako je imala sporadične „migrenozne“ bolove. Uvidom u predhodnu medicinsku dokumentaciju i naknadnim pregledom kojim su utvrđeni ekskavacija optičkog diska (C/D = 06), Bjerumov arkuatni skotom i postojanje iris platoa sa uzanim komornim uglom (Scheie II–III), postavljena je dijagnoza retkog unilateralnog iris plato sindroma levog oka. Mada je bolesnica obavestena o opasnim i moguće fatalnim posledicama zloupotrebe psihoaktivnih supstancija, nije nastavila lečenje. **Zaključak.** Upotreba ekstazija može dovesti do gubitka vida koji zahteva medikamentno i hirurško lečenje.

Ključne reči:

dužica, bolesti; dijagnoza; glaukom; n-metil-3,4-metilendokisamfetamin; poremećaji izazvani supstancama.

Abstract

Background. Courmon street name for 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) is ecstasy. This widely abused “recreational” drug causes both an increased release of monoamine neurotransmitters, including serotonin and dopamine, and an increased reuptake inhibition of serotonin. As a consequence, mydriasis and increased intraocular pressure (IOP) in predisposed patients occur. We present herein a rare case of acute increased IOP after use of ecstasy. **Case report.** A female patient, aged 38 years, visited doctor complaining of a decreased vision acuity and severe pain in the left eye and in the left part of the head. The initial treatment was urgent antiglaucomatous therapy followed by withdrawal of subjective problems of the patient and improvement of objective finding. History taking procedure revealed that just before the onset of the pain the patient had used ecstasy and had had similar “experience” 6 years ago after cocaine snorting. She had not been to a doctor although she had experienced sporadic migrainous pain. Previous medical records excavation of revealed optic disk (cup-to-disk C/D=06), Bjerum arcuate scotoma and iris plateau with narrow chamber angle (Scheie II- III) so the diagnosis was a rare unilateral iris plateau syndrome of the left eye. Although the patient was given some pieces of information about the dangerous and possible deadly consequences of psychoactive substance abuse, she has not continued the treatment. **Conclusion.** Ecstasy abuse might cause a complete loss of vision, thus medicamentous and surgical treatment are obligatory.

Key words:

iris diseases; diagnosis; glaucoma; n-methyl-3,4-methylenedioxyamphetamine; substance-related disorders.

Uvod

Iris plato sindrom je retka vrsta primarnih angularnih glaukoma koji se karakteriše povišenim intraokularnim pritiskom (IOP) i sledstvenim promenama na optičkom disku kao

i odgovarajućim ispadima u vidnom polju. Praćen je postojanjem iris platoa, anatomske predispozicije, kada potpuno ravna dužica vrši naglu depresiju u korenom delu, blizu komornog ugla. Odsustvo pupilarnog bloka i balonirane dužice čini prednju očnu komoru normalne centralne dubine, veće

od 2,5 mm. Ovu anatomsku predispoziciju prvi put je opisao Barkana 1954, a Shaffar i Chandler 1955. definisali su postojanje iris plato sindroma^{1,2}.

Karakterističan je gonioskopski nalaz uzanog komornog ugla i pored normalne dubine prednje očne komore, pa prilikom midrijaze dolazi do blokiranja vrha komornog ugla, funkcionalno najvažnijeg dela, pri čemu ostaje slobodna samo prednja trećina korneoskleralnog trabekuluma. Postepeno zatvaranje komornog ugla prati goniosinehija koja se lako vidi gonioskopijom za razliku od klasičnih angularnih glaukoma³⁻⁵.

Klinička slika ovog sindroma različita je i varira od blagih formi koje protiču slično kao i primarni glaukomi otvorenog ugla, pa do urgentnih stanja akutnog napada glaukoma sa naglim skokom vrednosti IOP, bolovima i padom oštine vida. Ovo nastaje zbog naglog širenja zenice usled arteficialne upotrebe midrijatika ili primene farmakološki aktivnih supstancija koje dovode do midrijaze. Zato, jaki miotici predstavljaju lekove izbora u lečenju ove retke vrste angularnih glaukoma, a bazalna iridektomija ili laserska iridektomija nemaju ulogu u lečenju ove bolesti zbog karakteristične anatomske predispozicije i odsustva pupilarnog bloka⁶.

Prikaz bolesnika

Bolesnica, stara 38 godina, javila se na pregled zbog smanjene oštine vida i jakih bolova u levom oku i levoj polovini glave. Anamnestički, negirala je ranija očna, kao i druga oboljenja, alergiju na lekove i hranu, kao i opšta oboljenja u porodici. Majka joj je болоvala od glaukoma, a negirala je druga očna oboljenja u porodici. Dala je i podatak da je istog dana dobila glavobolju u levoj polovini glave, mučninu i „maglu“ pred levim okom. Tegobe su se pojačavale, sve dok je jaki bolovi u levom oku i levoj polovini glave nisu primorali da se javi oftalmologu. Bolovi su bili praćeni smanjenom oštrinom vida i „duginim bojama“ pri pogledu u sijalicu.

Pregledom, otkriven je potpuno uredan nalaz na desnom oku, dok su na levom oku bili prisutni skoro svi znaci akutnog napada glaukoma sa vidnom oštrinom 1/60 bez korekcije, intraokularnim pritiskom preko 50 mmHg, difuznim edemom epitela rožnjače, prednjom očnom komorom srednje dubine, i širokom, kružnom, centralno postavljenom zenicom, bez reakcije na svetlo.

Nakon stavljanja glicerinskih kapi, na zadnjem segmentu levog oka uočena je glaukomatozna ekskavacija C/D = 06, a gonioskopski nalaz ukazivao je na postojanje uzanog komornog ugla (vidljiva samo Schwalbeova linija i manji deo korneoskleralnog trabekuluma) i karakteristična slika iris platoa.

Nakon primenjene terapije: inhibitori ugljene anhidraze (2 tablete Diamox[®] od 250 mg), infuzije 250 mL, 20% Manitola, 2% sol. *Pilocarpine* (ukapavanje na 5 min), došlo je do sniženja vrednosti IOP i nestanka subjektivnih tegoba. Bolesnica je odbila da se hospitalizuje.

Na kontrolnom pregledu urađena su sledeća dopunska ispitivanja: gonioskopija *ou* (otvoren komorni ugao, srednje širok – vidljiva Schwalbeova linija i korneoskleralni trabe-

kulum, pigmentacija I po Scheie, prisutna slika iris platoa, bez drugih patoloških znakova); tonografske vrednosti su bile uredne (C = 0,18), a na standardnoj automatskoj perimetriji dobijena je karakteristična slika Bjerumovog arkuatnog skotoma. Posle dopunskih ispitivanja postavljena je dijagnoza retkog unilateralnog iris plato sindroma, a nakon ponovljenog ispitivanja otkriven je podatak da je bolesnica oko 2 časa pre pojave tegoba koristila ekstazi i da je sličan „napad“ imala i šest godina ranije. Po medicinskoj dokumentaciji, akutni napad povišenog intraokularnog pritiska imala je i tada nakon ušmrkavanja kokaina. U međuvremenu, bolesnica se nije javljala oftalmologu i nije koristila predloženu terapiju, iako je u više navrata imala „migrenozne napade“.

Bolesnici je ponovo savetovano medikamentno i hirurško lečenje i predočena opasnost od gubitka vida, ukoliko odmah ne pristane na hospitalizaciju. Ni narednih osam meseci nije se javila na pregled.

Diskusija

Poznato je da nekoliko vrsta droge mogu dovesti do nastanka glaukoma zbog zatvaranja komornog ugla, izazivajući suženje komornog ugla širenjem zenice, pomeranjem iridolentalne dijafragme napred (pupilarni blok) ili otkom cilijarnog tela⁷. N-metil 3,4-metilendioksi-metamfetamin (MDMA) je dobro poznat po svojoj cerebralnoj, kardiovaskularnoj, hepatičnoj i bubrežnoj toksičnosti. Opisani su obostrana paraliza šestog kranijalnog nerva, retinalna hemoragija i centralna serozna horioretinopatija nakon primene MDMA⁸⁻¹⁰. Kao sintetski derivat amfetamina on povećava oslobađanje monoaminskih neurotransmitera (serotonina, noradrenalina i dopamina) i inhibira preuzimanje serotonina u sinaptičkoj pukotini. To utiče na prečnik zenice uzrokujući midrijazu i oslabljenu ili potpuno ugašenu reakciju zenice na svetlost¹¹⁻¹⁵. Kod prikazane bolesnice, „migrenozni“ napadi verovatno su bili izazvani akutnim napadom glaukoma koji je nastao usled midrijaze izazvane udruženim serotoninergičkim i adrenergičkim efektom MDMA na oko predisponirane bolesnice sa uskim komornim uglom i postojanjem iris platoa.

Obostrani akutni napad glaukoma može se javiti i kao efekat mnogobrojnih lekova, selektivnih inhibitora serotonina, tricikličnih antidepresiva, sulfonamida, tetraciklina i nekih diuretika.

N-metil 3,4-metilendioksi-metamfetamin ima veliki uticaj na metabolizam serotonina sa sledstvenom midrijazom. Slabi antiholinergički ili midrijatički efekti droga sa „serotoninskim“ delovanjem dovoljni su za izazivanje akutnog napada glaukoma putem mehanizma sličnog onom od tricikličnih antidepresiva. Postoje brojna saopštenja o serotoninskoj inervaciji u oku i prisustvu serotonina i serotoninških receptora u očnoj vodici i cilijarnom telu. Iako je precizni mehanizam ovog dejstva još nepoznat, supracilijarna sekrecija, koja se javlja u oku ovih bolesnika, može biti dokaz serotoninergičkog dejstva ekstazija¹⁶⁻¹⁸.

Postepeno povećanje postsinaptičkog nivoa serotonina preko *feedback* mehanizma desenzibilizacije, koji reguliše nivo enzima u sintezi serotonina, može biti prouzrokovano

kontinuiranom upotrebom manjih količina droge sa kliničkom slikom hroničnog angularnog glaukoma^{19,20}.

Slično ekstaziju i kokain može prouzrokovati napad akutnog glaukoma. Kokain je prirodni alkaloid biljke *Erythroxylon coca* (Južna Amerika). Sem lokalnih efekata (dobar lokalni anestetik) ima i sistemska dejstva na kardiovaskularni i centralni nervni sistem. Kokain snažno potencira efekte noradrenalina jer sprečava njegovo preuzimanje i biološku inaktivaciju u sinaptičkoj pukotini (simpatikomimetsko delovanje). Tako u oku nastaje midrijaza koja kod anatomske predisponiranih osoba (iris plato) dovodi do blokiranja

nja komornog ugla i naglog porasta vrednosti IOP sa kliničkom slikom akutnog glaukoma³.

Zaključak

Upotreba narkotika tipa ekstazija može dovesti do gubitka vida koji zahteva medikamentno i hirurško lečenje. Kod bolesnika sa akutnim napadom glaukoma, hroničnim angularnim glaukomom i iris plato sindromom, neophodno je imati na umu supstancije zloupotrebe kao potencijalni etiološki faktor.

L I T E R A T U R A

1. Godel V, Stein R, Feiler-Ofry V. Angle-closure glaucoma: following peripheral iridectomy and mydriasis. *Am J Ophthalmol* 1968; 65(4): 555–60.
2. Gorin G. Shortening of the angle of the anterior chamber in angle-closure glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1960; 49: 141–6.
3. Cvetković D, Kontić Đ, Hentova-Senčanić P. Glaucoma. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 1996. (Serbian)
4. Ritch R. Plateau iris is caused by abnormally positioned ciliary processes. *J Glaucoma* 1992; 1(1): 23–6.
5. Wand M, Grant WM, Simmons RJ, Hutchinson BT. Plateau iris syndrome. *Trans Sect Ophthalmol Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1977; 83(1): 122–30.
6. He M, Friedman DS, Ge J, Huang W, Jin C, Cai X, et al. Laser peripheral iridotomy in eyes with narrow drainage angles: ultrasound biomicroscopy outcomes. *The Liwan Eye Study Ophthalmology* 2007; 114(8): 1513–9.
7. Tripathi RC, Tripathi BJ, Haggerty C. Drug-induced glaucomas: mechanism and management. *Drug Saf* 2003; 26(11): 749–67.
8. Schroeder B, Brieden S. Bilateral sixth nerve palsy associated with MDMA ("ecstasy") abuse. *Am J Ophthalmol* 2000; 129(3): 408–9.
9. Jacks AS, Hykin PG. Retinal haemorrhage caused by "ecstasy". *Br J Ophthalmol* 1998; 82(7): 842–3.
10. Hassan L, Carvalho C, Yannuzzi LA, Iida T, Negrão S. Central serous chorioretinopathy in a patient using methylenedioxymethamphetamine (MDMA) or "ecstasy". *Retina* 2001; 21(5): 559–61.
11. McCann UD, Ridenour A, Shabam Y, Ricourte GA. Serotonin neurotoxicity after (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA; "Ecstasy"): a controlled study in humans. *Neuropsychopharmacology* 1994; 10(2): 129–38.
12. Rhee DJ, Goldberg MJ, Parrish RK. Bilateral angle-closure glaucoma and ciliary body swelling from topiramate. *Arch Ophthalmol* 2001; 119(11): 1721–3.
13. Eke T, Carr S. Acute glaucoma, chronic glaucoma, and serotonergic drugs. *Br J Ophthalmol* 1998; 82(8): 976–8.
14. Craig JE, Ong TJ, Louis DL, Wells JM. Mechanism of topiramate-induced acute-onset myopia and angle closure glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2004; 137(1): 193–5.
15. Morton J. Ecstasy: pharmacology and neurotoxicity. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5(1): 79–86.
16. Farré M, de la Torre R, Mathúna BO, Roset PN, Peiró AM, Torrens M, et al. Repeated doses administration of MDMA in humans: pharmacological effects and pharmacokinetics. *Psychopharmacology (Berl)* 2004; 173(3–4): 364–75.
17. Postel EA, Assalian A, Epstein DL. Drug-induced transient myopia and angle-closure glaucoma associated with supraciliary choroidal effusion. *Am J Ophthalmol* 1996; 122(1): 110–2.
18. Tobin AB, Unger W, Osborne NN. Evidence for the presence of serotonergic nerves and receptors in the iris-ciliary body complex of the rabbit. *J Neurosci* 1988; 8(10): 3713–21.
19. Trittibach P, Frueh BE, Goldblum D. Bilateral angle-closure glaucoma after combined consumption of "ecstasy" and marijuana. *Am J Emerg Med* 2005; 23(6): 813–4.
20. Briley M, Moret C. Neurobiological mechanisms involved in antidepressant therapies. *Clin Neuropharmacol* 1993; 16(5): 387–400.

Rad primljen 20. X 2008.



ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД
ВОЈНОМЕДИЦИНСКА АКАДЕМИЈА
Црнотравска 17, 11040 Београд, Србија
Тел/факс: +381 11 2669689
vmaini2@hotmail.com
vmaini2@eunet.yu

Пристап чланцима публикованим у часопису Војносанитетски преглед у *pdf* формату

По узору на велике издавачке куће у свету које публикују и часописе из области биомедицине као и раширену праксу *on line* доступности медицинске периодике и чланака преко *Interneta* у *pdf* формату (програм *Adobe Reader*) и Војносанитетски преглед, пратећи савремене трендове издаваштва и доступности у електронској форми, нуди свим заинтересованима чланке у *pdf* формату публиковане од 2002. године до данас. Од 2002. године часопис је доступан преко *EBSCO* базе података у *pdf* формату, али је мали број установа у Србији претплаћен на ову медицинску научноинформацијску базу.

Сви заинтересовани могу преузети жељени чланак у *pdf* формату, из часописа који је доступан преко сајта ВМА: <http://www.vma.mod.gov.yu>



Medicina u Rembrantovim delima

Medicine in Rembrant's works

Mile Ignjatović

Kliničko-bolnički centar „Zvezdara“, Beograd, Srbija

Ključne reči:

istorija medicine; slavne ličnosti; holandija; anatomija; hirurgija.

Key words:

history, 17th century; famous persons; netherlands; anatomy; surgery.

Uvod

Malo ljudi zadužilo je svet svojim delima toliko da se slave više vekova. Splet okolnosti u građanskoj Holandiji XVII veka omogućio je razvoj jednog neuobičajenog talenta kome se divimo i danas. Naravno, radi se o Rembrantu.

Takođe, utisak je da nikada nije istaknut značaj mnogih slavni likovnih umetnika u prenošenju novih medicinskih saznanja koja su usko povezana sa slikom (npr. anatomskih ili hirurških) u vremenima kada nije bilo drugih tehničkih i tehnoloških mogućnosti (npr. fotografije). Njihov doprinos značajan je i u pripremi tih saznanja u slici za štampu koja je tek nastupala. Ovo je jedan od načina da se slavni umetnicima zahvalimo na doprinosu medicini i mestu gde se sada nalazimo.

Cilj ovog rada bio je da istakne Rembrantov opšti značaj i doprinos, da istakne njegovo delo vezano za medicinu i posebno prikaže dva slavna dela vezana za anatomiju.

Istorijske okolnosti Rembrantovog doba

Rembrant je rođen u drugoj, mirnijoj polovini nizozemske revolucije ili osamdesetogodišnjeg nizozemsko-španskog rata (1566–1648). Naime, posle abdikacije Karla V Habzburškog (1519–1556), Nizozemska* je potpala pod špansku lozu pod Filipom II[†]. Neuporedivo veći nameti, sužavanje vlasti plemstva i proganjanje protestantske vere rezultirali su 1566. godine otvorenim ustankom. Posle oštre španske odmazde, stanovnici 17 nizozemskih provincija (veliki crkveni posedi, grofovije), sporazumeli su se 1576. godine u Ganu da stvore nezavisnu uniju. Ustanike je uspešno

predvodio Viljem Oranski[‡], ali su suprotnosti bile prevelike između Južne (Valonske) Nizozemske (stanovništvo romanškog porekla i jezika, katoličke vere) i Severne Nizozemske (germanskog porekla i jezika, protestantske, kalvinske vere). Južne provincije osnovale su 1579. godine „Katoločki savez“ i time dale osnove Španske Nizozemske ili Belgije. Borbu je nastavilo sedam severnih provincija i sporazumom u Utrehtu 1579. godine stvorili su Utrehtsku uniju ili Republiku sedam provincija (Holandija, Zelandija, Utreht, Helder, Frizlandija, Overisel i Groningen), koja se 1581. godine odvojila od Španije i proglasila nezavisnost. Republika je po najznačajnijoj provinciji dobila naziv Holandija. U proglašenju nezavisnosti (Haški manifest) istaknuta je suverenost naroda kao vrhovnog gospodara i izvora svake vlasti. Potpomognuta od Francuske i Engleske, Holandija je nastavila borbu i kao nezavisna država priznata je Vestfalskim mirom 1648. godine. Dugogodišnji mirni periodi služili su za jačanje poljoprivrede, industrije, trgovine i brodarstva[§]. Osnivanje Holandske Istočnoindijske kompanije (1602)** i Zapadnoindijske kompanije (1621), brojna putovanja, osvajanje kolonija^{††}, osnivanje gradova^{‡‡} i slivanje bogatstva usloveli su nagli privredni razvoj novoosnovane građanske države. Uz to, za razliku od drugih evropskih država, uticaj aristokratije i sveštenstva nije bio veliki, vladala je srednja klasa, postojala je sloboda vere i nije bilo cenzure. „Zlatno doba Holandije“ poklopilo

[‡] Viljem Oranski, Willem van Oranje (Vilem fan Oranj), Willem de Zwijer (Zveher), William of Orange „the Silent“.

[§] U vreme proglašavanja nezavisnosti Holandija je imala 2/3 evropskih brodova (oko 16 000). Bilo je uobičajeno da hirurzi provedu oko dve godine na brodovima, a potom i u manjim mestima.

^{**} Amsterdam je bio operativni centar ove kompanije i sve značajnija luka. Napredak ilustruje podatak da je 1580. godine grad imao 33.000 stanovnika, a 1650. godine 210 000 stanovnika.

^{††} Osvajali su neke portugalske kolonije i Sundska ostrva, 1605. godine otkrili su Toresov moreuz, Abel Tasman je otkrio ostrvo po njemu nazvano Tasmanija.

^{‡‡} Osnivali su i Novi Amsterdam, današnji Njujork, kasnije ustupljen Britancima u zamenu za Surinam.

* Nizozemska ili Niska zemlja (Low Countries), sada Belgija, Holandija i Luksemburg, ranije Severna i Južna Nizozemska, razdvojene rekom Maas, sa ukupno 17 provincija.

[†] Habzburgovci su dobili Nizozemsku ženidbom sa španskom princezom Huanom od Kastilje (Joanna of Castile, majkom Karla V).

se i sa opštim procvatom umetnosti i nauke u Evropi¹. Prvi holandski univerzitet (uključujući i studije medicine) osnovan je 1574. godine (otvoren februara 1575) u Lajdenu, a do sticanja nezavisnosti 1648. godine svaka provincija imala je i univerzitet². Prof. Pieter Pauw*³ osnovao je 1593. godine u Lajdenu anatomske amfiteatar sa šest galerija i mesta za 400 posmatrača. Osnovni razlozi za popularnost anatomije u to doba su težnja za otkrivanjem tajni ljudskog tela posle viševjekovne zabrane i shvatanje njenog značaja za hiruršku praksu. Disekcije su bile javne, ulaz je bio slobodan, ali se naplaćivao.

Rođenje i školovanje Rembranta

Rembrandt Harmenszoon van Rijn (Rembrant Harmensson fan Rejn†) (slika 1) rođen je 15. jula 1606. kao deveto dete (četvrti sin) u porodici sa 10 dece (peto dete od šestoro preživelo). Otac, Harmen Gerritszoon van Rijn bio je u četvrtoj generaciji suvlasnik mlina (mlin-vetrenjača) s nazivom „De Rijn“, na istoimenoj reci Rajni (odakle potiče i porodično prezime), a majka Neeltje (Cornelia) Willemsdochter van Suydtbroeck (Niltje fan Sajdbruk‡) bila je ćerka pekara. Rembrantov otac prihvatio je protestantizam (jedini u porodici) pre venčanja 1589. godine sa Neeltje⁴.



Sl. 1 – Rembrandt van Rijn: Autoportret, 1641. godina

* Pieter Pauw (1564–1617) poznat i po opisu retinoblastoma 1597. godine.

† Fonetski bi najviše odgovaralo Rembrant fan Rejn. U srpskoj transkripciji navodi se i kao Rembrant van Rajn i kao Rembrant van Rin. U engleskoj transkripciji obično se kao drugo ime navodi Harmensz, a ne prezime Harmenszoon. Sufiks „zoon“ bi označavao „sin“ (Harmensov sin) i odgovarao našem „vić“ ili „ov“, a Willemsdochter – Vilemsova kći.

‡ Izgovor holandskih imena može se naći na sajtu <http://homepage.mac.com/schuffelen/>

Rembrantovo prvobitno ime verovatno je bilo Remmert, Gerbrand ili Ijsbrand⁵. U toku školovanja promenio ga je u Rembrant (bez „d“), a od 1633. godine u Rembrandt.

Gradska porodica van Rijn želela je da omogući i dobro školovanje malom Rembrantu. Osnovnu školu je pohađao od 1612. godine, a 1616. godine upisan je u „Latinsku školu“[§] u Lajdenu i pohađao je do 1620. godine. Škola je bila priprema za univerzitet, a učile su se biblijske priče, retorika, gramatika, proučavali se grčki (Sokrat, Plutarh, Ezop) i rimski klasici (Ciceron, Virgil, Cezar, Horacije, Ovidije), a u kasnijim razredima matematika, geografija i istorija**.

Sa nepunih 14 godina, Rembrant je 20. maja 1620. upisao studije filozofije na Univerzitetu u Lajdenu, koji je posećivao i čuveni francuski filozof René Descartes. Ovakvo upisivanje bilo je uobičajena praksa, ali se studije nisu mogle započeti pre sedamnaeste godine života. Rembrant nije pohađao nijedno predavanje, ali je i predračun bio jasan – kao student bio je oslobođen civilne straže i takse na vino i pivo! U ovom periodu (1620–1622), Rembrant je svoja ispoljena likovna interesovanja, započeta učenjem kod drugih slikara, zadovoljio učenjem (oko tri godine) kod lajdenskog slikara van Svanenburga††. Možda Svanenburg nije značajnije uticao na Rembrantov stil, ali je bio jedan od najznačajnijih posrednika u prenosu baroknog stila i uticaja Karavađa‡‡ i Elshajmera§§ na mlade holandske slikare.

Rembrant je značajno napredovao i uz podršku oca nastavio je učenje slikarstva u Amsterdamu kod poznatog slikara Lastmana*** u trajanju od šest meseci (1624–1625). Lastman je bio poznati slikar istorijskih scena, a posle boravka u Rimu bio je impresioniran Karavadom. U Rembrantovim ranim radovima jasno se vidi uticaj Lastmana i indirektno Karavađa – korišćenje svetla i senki, jasnih i živih boja, teatralnost kompozicija i sl. Na inicijativu Lastmana, Rembrant proučava i delo poznatog flamanskog slikara Petera Paula Rubensa. U isto vreme kod Lastmana su sa Rembrantom učili i Jan Pynas (Pinas) i Jan Lievens (Lifans).

§ Sva nastava odvijala se na latinskom jeziku, a Rembrant je promenio svoje ime u Rembrantus Harmensis Leydensis (Rembrant Harmensov iz Lajdena). Svoje slike potpisivao je ovim inicijalima (RHL) do 1632. godine, a potom koristeći samo lično ime Rembrandt poput velikih umetnika kao što su Mikelandelo, Ticijan ili Rafael.

** Do 1625. godine holandske škole nisu imale jedinstven program nastave.

†† Jacob Isaacszoon van Swanenburg (1571–1631), iz slikarske porodice (otac Jacob i brat Willem), bio je inspirisan delom Hieronymusa Bosha i Pietera Breugela. Slike su mu pune fantazija, a nije naslikao nijedan portret, ni pejzaž. Možda nije bio vrhunski slikar, ali bio je izvanredni učitelj slikarske tehnike.

‡‡ Mikelandelo Merizi (Michelangelo Merisi Caravaggio, 1573–1610) nazvan Karavado po mestu rođenja u blizini Milana. Začetnik je baroka u Rimu oko 1600. godine i njegov najznačajniji predstavnik svojim stilom beskompromisnog realizma (naznačenog naturalizma), dramske snage, misteriozne atmosfere i dubine, naznačene svetslosti i senke. Slike su hvalili umetnici i poznavaooci, ali nije lepo primljen ni od crkvenih vlasti (slike su svetovno hrišćanske, netaknute teološkim dogmama) ni od običnog sveta (nedovoljno idealizma). Traganje za unutrašnjim doživljajima religijskog kod običnog čoveka brisalo je razlike između katolika i protestanata. To je, verovatno, bitan razlog značajnog uticaja na Rembranta, najvećeg slikara religioznih scena na protestantskom severu.

§§ Adam Elsheimer (1578–1610) slikar iz Frankfurta koji je radio u Rimu. Preciznog stila, maestralan u izradi slika manjeg formata.

*** Pieter Lastman (1583–1633) je slikao biblijske, mitološke i istorijske scene. Značajno je uticao na Rembrantov stil, pogotovu u aranžmanima kompozicija.

Rembrant je učio izradu gravura kod Herkulesa Seghersa*, poznatog baroknog slikara i štampara koji je razvio jedinstvenu tehniku pravljenja otisaka na platnu sa doradivanjem poput ulja na platnu. Od 1626. godine Rembrant počinje sa izradom gravura, a uticaj Seghersa jasno se nazire u ranim radovima (pejzažima). Rane Rembrantove gravure koristio je za naslovne strane lajdenski izdavač i štampar Justus Livius (Lievens), brat Jana Lievensa⁶. Kasnije, Clement de Jonghe (1624/25–1677) poznati amsterdamski izdavač i štampar, napravio je otiske većine Rembrantovih gravura i posedovao je najveći broj Rembrantovih bakarnih ploča.

Najznačajnija Rembrantova dela

Posle učenja u Amsterdamu kod Lastmana, Rembrant se vraća u Lajden, živi sa roditeljima, ali 1925. godine kao „nezavisni slikar“ otvara mali atelje u Lajdenu gde radi sa dobrim prijateljem i slikarom Janom Lievensom (1607–1674). Prve Rembrantove slike načinjene su pod jasnim Lastmanovim uticajem: istorijski i biblijski motivi, kompozicija, naznačen pokret, dramska tenzija, izrazi lica. Posebo su bili popularni istorijski motivi sa bogato dekorisanim kostimima, te ovi radovi neodoljivo podsećaju na radove Rubensa^{7–9}.

Rembrant postaje sve ugledniji slikar i mali atelje posećuje 10. januara 1628. Arnold van Buchel (1565–1641), sudija i humanista iz Utrehta koji je zabeležio „mlinarev sin je senzacionalan slikar, iako premlad (*sed ante tempus*)“. Ubrzo, 14. februara iste godine, u atelje stiže i Rembrantov prvi učenik četrnaestogodišnji Gerrit Dou (Gerit Dau, 1613–1675), a potom i Isaac Jouderville (Žudervil, 1612–1645/48) koji ovde borave do 1631. godine. Rembrant je 1628. godine uradio i svoja prva prava remek-dela: „Dva starca diskutuju“[†],¹⁰ i „Tobit i Ana sa jaretom“¹¹.

Engleski ambasador Sir Robert Kerr (1578–1654), kasnije prvi grof od Ankruma (Earl of Ancrum) posećuje Rembranta 1629. godine i naručuje nekoliko portreta kralja Charlesa I. Međutim, za Rembrantov budućni život i rad najznačajnije je što su njegovi radovi privukli pažnju Constantijna Huygensa[‡], sekretara Frederika Hendrika, (Prince van Oranje) koji je posetio iste godine zajednički atelje i kod Rembranta zapazio „...izuzetnu istrajnost i predanost radu, ...izuzetnu sposobnost za beleženje i izražavanje osećanja“. Interesantno je da je Huygensov portret 1628. godine uradio Jan Lievens, ali nedugo posle posete, Huygens je od Rembranta naručio veći broj slika za sud i parlament u Hagu. Narudžbina je realizovana preko amsterdamskog galeriste i trgovca Hendricka Uylenburgha (Ajlenburg, 1587–1661). Slike obiluju religioznim i simboličnim elementima. Iako manjih dimenzija izrađene su sa mnogo detalja (posebno kostima i nakita). Iste godine Rembrant završava i svoj prvi autoportret (slika 2).



Sl. 2 – Prvi Rembrantov autoportret iz 1628. godine

Rembrant se seli u Amsterdam 1631. godine, neposredno nakon smrti oca. Živi u kući Hendricka Uylenburgha, prodaje portrete u njegovoj galeriji, a kasnije učestvuje i u poslovima. Prvu narudžbinu za izradu grupnog portreta – „Čas anatomije dr Nikolasa Tulpa“ dobija 1632. godine. Frederik Hendrik naručuje 1633. godine čitavu seriju slika od Rembranta sa religijskim motivima. Rembrant, u početku, slika biblijske scene iz Starog zaveta, a potom, sa dramatičnim razvojem ličnog života, i sa scenama iz Novog zaveta. Do 1646. godine Frederik Hendrik je bogato plaćao praktično sve Rembrantove slike. Prema nekim tvrdnjama, Rembrant je dobijao prosečno 1000 guldena[§] po slici¹².

Rembrant se ženi 22. juna 1634. Saskijom fan Ajlenburg (Saskia van Uylenburgh, 1612–1642) nećakom svog galeriste i mecene, ćerkom uglednog sudije i poslanika. Ugledna i bogata porodica Ajlenburg omogućila je kontakte sa viskom društvom i bogatim naručiocima slika, uglavnom portreta i slika sa mitskim i religijskim motivima.

Saskija i Rembrant žive u kući Ajlenburgovih do 1635. godine, a potom u iznajmljenim kućama sve do 1639. godine kada su kupili veliku kuću u prestižnom, jevrejskom delu Amsterdamu za 13 000 guldena. Kupovina je bila neophodna jer su Rembrantovi živeli na „visokoj nozi“ već godinama, pre svega na račun Saskijinog miraza** i poslova sa

[§] Rembrant je na početku karijere uzimao 50–500 guldena po portretu, a 100 guldena po portretu („po glavi“) za grupne portrete. Poređenja radi, u to vreme, nadnica zanatlije za 12 sati rada iznosila je 3–4 guldena, a dobra ulja na platnu mogla su se naći za oko 15 guldena. Slikari su često živeli vrlo siromašno (npr. Seghers) ili u velikim dugovima (Frans Hals, Meindert Hobbema), a poznati holandski slikar Jan Vermeer (Formier) kada je umro ostavio je dug u bakalnici od 617 guldena, koji je namiren sa dve slike (ulja na platnu).

** Saskija je u miraz donela 40 000 guldena!

* Hercules Seghers (1590–1638?) živeo je i radio u Harlemu, Amsterdamu i Utrehtu. Bio je vrlo ekscentričan, a umro je kao alkoholičar.

† Slika je ranije zvana „Demokrit i Heraklit“ i „Sv. Petar i sv. Pavle“, ulje na drvetu, 72,4 × 59,7 cm.

‡ Konstantin Hajhans (1596–1687) holandski pesnik i kompozitor, sekretar dvojice prinčeva od Oranija (Frederik Hendrik i Willem II).

Uylenburghom, a nije zanemarljiva ni majčina zaostavština*. Rembrantu je bio neophodan i bolji atelje za izradu slike „Noćna straža“†, 13, za koju je dobio narudžbinu i avans od 1600 guldena‡. Holandska država je otkupila ovu zgradu 1911. godine i renovirala je, a od 1912. godine u ovoj kući nalazi se Rembrantov muzej (Museum Het Rembrandthuis§) (slika 3).



Sl. 3 – Rembrantova kuća, danas Rembrantov muzej

U ranim Rembrantovim radovima jasno se zapaža uticaj Karavađa veštijm korišćenjem jasnog svetla i dubokih senki (fr. *clair-obscur*, it. *chiaroscuro*, slobodno: prozirno–zatalmljeno). Rembrant ove efekte i kasnije primenjuje i neprevaziđen je u korišćenju dubokih senki koje probija samo tračak jake svetlosti, kontrastnom slikanju na svetloj ili tamnoj pozadini, kombinovanju efekata i stilova na istoj slici (npr. na licu, rukama i kostimu) 14.

* Posle smrti Rembrantove majke 1640. godine ostala je zaostavština od 10 000 guldena.

† *Nachtwacht*, eng. *Night Watch*, punog naziva – *Het korporaalchap van kapitein Frans Banning Cocq en luitenant Willem van Ruytenburch*, često na engleski i francuski prevedena kao Četa..., Miličija..., Patrola... ili „Civilna garda kapetana Fransa Cocqa“. Frans Banning Cocq je bio gradonačelnik Amsterdama.

‡ Rembrant je sliku završio 1642. godine i danas je to jedna od najpoznatijih njegovih slika.

§ Kuću je napravio 1606. godine Pieter Belten van Antwerp (1565–1626). Na zahtev njegove dece kuću je radikalno rekonstruisao arhitekta i slikar Jacob van Campen (1595–1657), poznat i kao arhitekta gradske kuće (opštine) u Amsterdamu. Rembrant kuću nije održavao, a 1649. godine prestao je da plaća i dažbine za nju.

Rembrant je uradio oko 300 gravura vlastitom originalnom tehnikom**. Kombinacijom linija nanetih različitim tehnikama mogla se dobiti jasna slika mekših linija i sa mnogo nijansi, tonova i senki 15. Rembrant je pravio malo otisaka sa svojih ploča, ali ih je često doradivao i preradivao praveći slične gravure 16. Istraživanja poslednjih godina sprovedena mekim x-zracima potvrdila su i pretpostavku da su i pojedina ulja na platnu preradivana od strane Rembranta 17. O značaju Rembrantovog graverskog rada govori i podatak da je imao jasne sledbenike kao što je njegov savremenik Giovanni Benedetto Castiglione, potom Christian Wilhelm Dietrich (1712–1774), ali i Pablo Picasso u svojim ranim gravurama. Poslednju gravuru Rembrant je uradio 1665. godine i to „Portret lekara Jan Antonides van der Linden-a“.

Rembrant je uradio oko 100 autoportreta (60 ulja na platnu, ostalo su gravure i crteži). Mnoge od njih je prodao iako ih je radio samo za sebe, kao studijski materijal, analizirajući na njima prikaz emocija (tuga, radost, iznenađenje) ili primenjenu tehniku. Slikao je posmatrajući se u ogledalu, obučen u skupe kostime koje je sakupljao, prikazujući sebe kao bogataša ili u biblijskim scenama 18,19.

Princ Cosimo de Medici, kasnije veliko vojvoda od Toskanje, posetio je Rembranta 29. decembra 1667. u Amsterdamu, otkupio jedan portret, naručio nekoliko slika, a velikog slikara nazvao „*pittore famoso*“. Poslednja tri autoportreta Rembrant je naslikao 1669. godine.

Nažalost, Rembrantovo lično bogatstvo i slavu nije pratila i porodična sreća. Prerana smrt troje dece i supruge, osuda javnosti zbog vanbračnih veza sa kućnim pomoćnicama i bankrotstvo zbog rastrošnog života doveli su do toga da je umro sam i duboko nesrećan 4. oktobra 1669. Sahranjen je četiri dana kasnije u nepoznatoj grobnici u crkvi Westerkerk u Amsterdamu.

Holandsko društvo ubrzo je shvatilo značaj svog velikana i pokušalo da njegova dela vrati u Holandiju. Država, uz pomoć bogatih pojedinaca, delom je u tome i uspela posle Rembrantove smrti. Na kraju, zbog opšteg značaja Rembrantovog dela 1967. godine formiran je Naučni projekat za istraživanje Rembranta (*Rembrandt Research Project*, *Rembrandt Wetenschappelijk Onderzoek Project*), u prvo vreme uz finansijsku potporu Holandske organizacije za naučna istraživanja (*Nederlandse Organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek*; NWO), a sada finansiran od bogatih pojedinaca i organizacija, ali i dela prihoda od lutrije.

Rembrant u medicini

Rembrant i njegovo delo analiziraju se u medicini iz mnogo uglova, a radove objavljuju najugledniji medicinski časopisi. To samo potvrđuje Rembrantovu genijalnost i opšti značaj 20–26.

Početak razvoja medicinskih saznanja posle mračnog srednjeg veka bio je najizrazitiji u liberalnoj Holandiji. U samom Lajdenu ugledni slikari daju svoj doprinos likovnom prikazu medicinskih saznanja, npr. Lucas van Leyden (1494–1533) poz-

** Rad sa kiselinom podrazumeva višekratno nanošenje crteža čeličnom iglom na bakarnoj ploči presvučenom kolofonijumom i potom nagrizanje ploče kiselinom. Rembrant je potom na ploči direktno nanošio linije suvom iglom ili klasično graverski urezivao dublje linije.

nat po gravuri "Hirurg". S druge strane, lekari su bili najugledniji članovi društva i često su ih portretisali veliki umetnici. Poznati su Rembrantovi portreti: „Portret lekara Jan Antonides van der Linden-a“, „Ephraim Bueno, jevrejski lekar“, „Portret dr Nicolas Flamela“, „Portret dr Arnoldusa Tholonxa“ i drugi. Takođe, Rembrant je oslikao mnogo mitskih i religijskih tema vezanih za lekare, kao: „Doktor Faust“, „Hrist razgovara sa doktorima“, „Hrist među doktorima“, „Oslepljivanje Samsona“ itd.

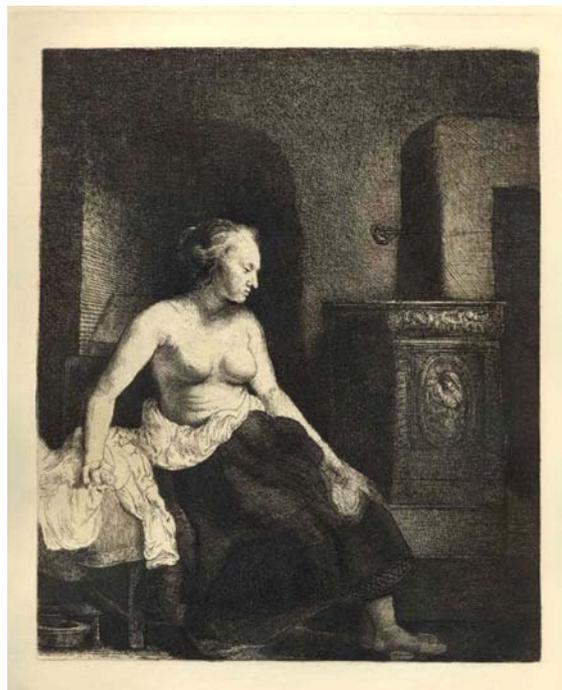
Mnoštvo Rembrantovih slika prikazuje pojedine bolesti ili operacije, npr. „Bolesna žena“, „Cirkumcizija“ itd.

Karcinom dojke često se prikazivao na delima velikih umetnika²⁷⁻²⁹. Poslednjih godina mnogo se diskutovalo o Rembrantovim slikama i njegovom prikazu karcinoma dojke, ali uglavnom o Rembrantovoj Vitsaveji (Bathsheba)³⁰⁻³². Ipak, prevladuje mišljenje da je deformacija njene dojke najverovatnije posledica postlaktacijskog mastitisa³³, ili, možda, ranijeg tuberkuloznog mastitisa³⁴, a ne karcinoma. Najjasniji Rembrantov prikaz karcinoma dojke nalazi se na malo poznatoj slici „Žena i peć“ („*Woman and stove*“), ili „*A woman seated before a Dutch stove*“) na koju je prvi ukazao italijanski hirurg Tommaso Greco³⁵, a potom i ruski urolog A. Ia. Pytel'³⁶. Međutim, zabunu čini postojanje dveju vrlo sličnih slika žene pored peći*. Slike se razlikuju u najmanje 10 detalja, a na jednoj slici se jasno vidi da žena (model) ima uznapredovali karcinom dojke, a na drugoj slici „Poluobučena žena pored peći“ („*Woman sitting half dressed beside stove*“, ili „*Nude woman*“), iako vrlo sličnoj, ne postoji karcinom dojke (slike 4 i 5).



Sl. 4 – Rembrandt van Rijn: Žena i peć (1658)

* Često zabunu pravi postojanje više slika istog naziva, a različitih slikara ili sličnih slika istog slikara. Albrecht Dürer (1471–1528) i Rembrant imaju slike istog ili sličnog naziva, Rembrant čak u dve verzije („*Jesus Christ among the Doctors*“, „*Christ seated disputing with the Doctors*“). Rembrantovi autoportreti iz 1659. godine su vrlo slični, a slike „Povratak bludnog sina“ i „Žrtvovanje Abrahama“ postoje u po dve verzije. Zabunu čini i nepostojanje originalnih naziva slika, a kasnije opisno davana nazivi nisu opšteprihvaćeni.



Sl. 5 – Rembrandt van Rijn: Poluobučena žena sedi pored peći (1658)

O lečenju očiju postoji desetak Rembrantovih slika³⁷, a najpoznatije su „Operacija oka“ i „Tobija leči svog oslepelog oca“³⁸, a njima se može dodati Rembrantov prikaz trahoma³⁹.

Na mnoštvu Rembrantovih autoportreta analiziran je veliki broj simptoma, znakova i bolesti, kao što su: suva koža, periorbitalni edemi i podočnjaci, ksantelazme, enoftalmus, telangiektazije, senilna degeneracija, ptoza kapaka, *arcus senilis corneae*, pterigium, hipotireoza, rozacea, rinofima, hiperholesterolemija, *arteritis temporalis*, *dermachalasia*, *blepharitis*, *conjunctivitis*, sistemski efekti pušenja, prebrano starenje usled alkoholizma itd.^{40, 41} (slika 6). Brilljantna Rembrantova tehnika omogućila je ovakve spekulacije i dis-



Sl. 6 – Rembrantov autoportret iz 1659. godine

kusije, sa podjednako glasova i za i protiv. Analizirana je i povreda desnog uva, jasno uočljiva na prvom autoportretu (slika 2), čime je Rembrant upoređen sa Vincentom van Goghom⁴². Pored fizičkih bolesti analiziran je i Rembrantov prikaz depresije na mnogim slikama, ali i hronološki na autoportretima⁴³⁻⁴⁸. Jedna od najozbiljnijih studija dokazuje Rembrantovu razrokost na osnovu analize 36 autoportreta⁴⁹. Poznato je da slikari često osmatraju jednim okom, ali se ne bi moglo prihvatiti da je razrokost bila Rembrantova prednost.

Časovi anatomije

U vreme velikog povratka hirurgu u medicinska udruženja, u Amsterdamu su dva puta nedeljno organizovani časovi teorijske nastave. U okviru ove „kontinuirane edukacije“ školovani lekari i hirurzi držali su časove hirurzima-berberima, lekarima i svim zainteresovanim. U okviru ovog programa držani su i časovi anatomije, koji su bili izuzetno popularni, kao odraz želje za otkrivanjem tajni ljudskog tela, posle viševjekovnog sputavanja takvih istraživanja od strane crkve.

U liberalnoj, građanskoj Holandiji, svake godine u zimskim* mesecima organizovane su i edukativne javne obdukcije[†] u amsterdamskom Udruženju hirurgu. Disekcije su rađene pod supervizijom postavljenog (izabranog) predavača (*praelector anatomiae, reader*) Udruženja hirurgu⁵⁰. Svake godine bilo je 300–500 posmatrača ovih obdukcija.

Prva obdukcija urađena je oko 1550. godine, a na zahtev Udruženja hirurgu, Phillip II, kralj Španije (i Nizozemske) odbrio je 13. maja 1555. javne godišnje anatomske disekcije u Amsterdamu, koje su pogotovu bile aktuelne od 1578. godine kada je katolički Savet grada bio zamenjen protestantskim. Iste, 1578. godine postavljen je i Maarten Janszoon Coster, prvi predavač anatomije Udruženja hirurgu sa zvanjem *praelector anatomiae*. Savet Udruženja hirurgu činili su oficiri (*Overlieden*) birani na predlog načelnika grada, a između njih biran je „glavni hirur“ (*Proefmeester*). Disekcije su rađene u amfiteatru Udruženja, a od 1691. godine novi amfiteatar imao je osam kružnih galerija sa rotirajućim stolom u centru. U prvom redu nije se sedelo, a u prvoj galeriji sedeli su članovi Saveta grada, inspektori *Collegium medicum* i hirurzi stariji od 50 godina; u drugom i trećem redu (galeriji) sedeli su doktori članovi saveta Udruženja hirurgu i „stariji“, hirurzi stariji od 50 godina; u 4–6. redu sedeli su mladi hirurzi, a u 7. i 8. redu učenici, studenti i zainteresovani. Napoleonova administracija raspustila je Udruže-

nje hirurgu 1798. godine, ali su se predavanja studentima u ovom amfiteatru održavala do 1869. godine⁵¹.

Predavači anatomije u Amsterdamu posle Costera bili su: Sebastiaen Egbertsz de Vrij (1595–1621)[‡], Johan(nes) Fonteijn (1621–1628)[§], Nicolaes Tulp (1628–1653), Johannes Deijmann (1653–1666), Frederik Ruijsch (1666–1731)***, Willem Roëll (1731–1762)^{††}, Petrus Camper (1755–1771)^{‡‡} i Andreas Bonn^{§§} od 1771. godine, ali kao profesor anatomije i hirurgije u Amsterdamu.

Po uzoru na čuvenu naslovnu starnu *De humani corporis fabrica* Andreea Vesaliosa^{52,53} iz 1543. godine nastalu u Ticijanovom ateljeu***⁵⁴, Udruženje hirurgu je povremeno angažovalo renomirane slikare radi prikaza ovih obdukcija. Renomirani slikari uradili su jedanaest ovakvih slika do 1925. godine. Pored predavača, na slikama su portreti hirurgu (posmatrači) i njihova imena su poznata. Proizvoljno je tvrđenje da su na slikama značajne uticajne ličnosti i bogati poslovni ljudi koji su finansijski učestvovali da bi bili „ovekovečeni“ na slici.

Prva ovakva slika je „Čas anatomije dr Sebastiaena Egbertsza de Vrija“ (*De anatomische les van Dr. Sebastiaen Egbertsz de Vrij*), a oslikao je Aert Pietersz (1550–1612). Na slici se nalazi čak 29 portreta članova udruženja (najviše od svih „časova anatomije“), a od momenta naručivanja slike (1601. godine) do njenog završetka

[‡] Sebastiaen Egbertsz de Vrij (1563–1621) rođen je u Amsterdamu, a studirao i završio medicinu u Lajdenu 1585. godine. Radio je kao lekar u Amsterdamu do postavljenja za predavača anatomije. Bio je načelnik Amsterdama od 1606. godine, a od 1609. godine i član Državnog saveta. Umro je kao žrtva epidemije kuge.

[§] Johan(nes) Fonteijn (1574–1628) rođen je u Amsterdamu, gde je i radio kao lekar. Lični lekar princa Mauritsa postao je 1623. godine.

^{**} Frederik Ruijsch (1638–1731) rođen je u Hagu gde je završio farmaciju i radio kao apotekar. Potom je završio medicinu 1664. godine u Lajdenu sa tezom *De pleuritide*. Posle imenovanja za predavača anatomije, Gradski savet ga postavio 1668. za kontrolora babica, a 1772. godine i za gradskog akušera (*stadsvroedmeester*). Osnovao je 1691. godine verovatno jednu od najznačajnijih anatomske kolekcije (*Musaeum Ruijschianum Anatomicum*) koja je 1710. godina imala više od 1300 preparata. Kolekciju je prodao 1710. godine ruskom caru Petru Velikom koja je 1717. godine brodovima preseljena u St. Petersburg. Drugu anatomske kolekcije Ruijsch je oformio do 1728. godine.

^{††} Willem Roëll (1700–1775) rođen je Franekeru gde je studirao medicinu, a završio u Lajdenu 1725. godine. U Amsterdamu je radio kao lekar, a 1728. je postavljen Ruijschu za asistenta *praelectora anatomiae*, a nakon njegove smrti za praelectora. Međutim, kako je Udruženje za drugog praelectora postavilo 1755. godine Campera, rezignirani Roëll je ovo mesto napustio 1762. godine.

^{‡‡} Petrus Camper (1722–1789) rođen je u Lajdenu gde je studirao medicinu i filozofiju i završio ih 1746. godine. Postao je 1750. godine profesor anatomije i medicine na Univerzitetu u Franekeru, 1755. godine predavač Udruženja hirurgu i profesor medicine u Atheneum Illustre u Amsterdamu, a 1763. profesor medicine na Univerzitetu u Groningenu. Imao je ogroman anatomske kabinet koji je 1820. godine, nakon smrti njegovog sina, prodat kralju Williamu I za Univerzitet u Groningenu. Kolekcija je delom izgorela 1906. godine.

^{§§} Andreas Bonn (1738–1818) rođen je u Amsterdamu, studirao je u Amsterdamu i Lajdenu. Njegova anatomska kolekcija prodana je 1819. godine Univerzitetu u Lajdenu.

^{***} Obično se navodi da je Ticijan (Tiziano Vecelli, 1485–1576) autor slike sa naslovne strane Vezalove knjige, što nije tačno. Slika jeste nastala u Ticijanovom ateljeu u Veneciji, ali autor je njegov učenik Johannes Stephan van Calcar (Ioannis Stephani Calcarensis). Kalkar je uradio i gravure Vezalovih anatomske slika 1538. godine u Padovi, gde je Vezal radio kao prvi profesionalni anatom. Zabunu čini i Vezalova zbirka anatomske slika pod nazivom *Notomie di Titiano*... za koju je gravure uradio Domenico Bonaveri. Sâm Ticijan je uradio poznati portret Andreea Vesalijusa.

* Obdukcije su rađene više dana, a usled putrifikacije leša u toplijim mesecima zadah bi postajao nepodnošljiv. To je i razlog što se prvo radila disekcija trbuha, potom krudnog koša itd.

[†] Obdukovani su kriminalci neposredno nakon pogubljenja. Ovakve obdukcije promovisao je 1628. godine francuski senator Nicolas Peiresc i već sledeće godine takvu obdukciju izveo je u Kopenhagenu kraljevski (državni) anatom Ole Worm (Olay Vorm, Olaus Wormius, 1588–1654), brat Caspara Bartholina starijeg (1585–1629). Kako su zatvorenci jeli neposredno pre pogubljenja, bilo je moguće otkriti limfni sistem (*venae albae at lacteae*) što se pripisuje Thomasu Bartholinu (1616–1680), sinu Caspara Bartholina st., a Caspar Bartholin ml. (1655–1738) je Thomasov sin, poznat po opisu velike vestibularne žlezde, koja je po njemu dobila eponim.

nja slike (1601. godine) do njenog završetka (1603) petorica njih je umrlo u toku epidemije kuge. Kompozicija slike je da svi učesnici „gledaju u slikara“, a ne u obdukovano telo. Drugu sliku, sa istim nazivom (ili kao „Čas osteologije Dr Sebastiaena Egbertsa“) naslikao je 1619. godine Thomas de Keijser (1596–1667)*, kada je Udruženje hirurga prešlo u nove prostorije. Naime, kada nije bilo obdukcija nastava se držala na skeletu čoveka, a ovo je najpoznatija slika koja to prikazuje. Na slici se nalazi šest portreta članova udruženja od kojih četiri gleda u skelet, a predavač i glavni hirurg „u slikara“.

Nicolaes Elias (zvan Pickenoy, 1590–1656) naslikao je 1625/1626. godine treću sliku – „Čas anatomije dr Johana Fonteijna“. Na slici se prvobitno nalazilo 10 portreta članova udruženja (*masters surgeons*) i nekoliko kandidata (*collegemeesters*), ali je slika stradala u požaru 1723. godine i sačuvan je gornji desni deo slike sa *praelectorom* Fonteijnom koji drži predavanje na lobanji i šest portreta članova udruženja koji ne gledaju u lobanju.

Četvrtu i petu sliku naslikao je Rembrandt van Rijn.

Adriaen Backer (1635–1684) naslikao je 1670. godine šestu sliku – „Čas anatomije prof. Frederika Ruijscha“. Na slici, Ruijsch započinje disekciju u levoj ingvinalnoj regiji na telu „idealizovanog mladog muškarca“. Pored predavača na slici je još šest portreta hirurga udruženja, a u pozadini statue Apolona i Eskulapa⁵⁵.

udruženja. Ovo je jedina slika na kojoj su prikazani svi učesnici u celosti (a ne samo portreti) i verovatno je slika sačuvani deo mnogo veće kompozicije.

Devetu sliku, „Čas anatomije prof. Petrusa Campera“, Tibout Regters (1710–1768) završio je 1758. godine. Camper prikazuje mišiće i nerve vrata na izdvojenom preparatu glave i vrata šestorici hirurga, a u pozadini je sluga udruženja.

Desetu sliku, „Čas anatomije prof. Andreeasa Bonna“, Adriaan de Lelie (1755–1820) naslikao je 1792. godine. Na slici nije prikazana obdukcija nego čas anatomije studentima umetnosti u Akademiji „Felix Meritus“ na vertikalnoj figuri idealno građenog mladog muškarca. Pored Bonna, na slici je više od 30 portreta studenata u amfiteatru.

Jedanaestu sliku, „Čas anatomije prof. Louisa Bolka“, Martin Monnickedam (1874–1943) završio je 1925. godine. Louis Bolk[†] prikazan je kako izvodi disekciju na glavi orangutana sa trojicom svojih asistenata, kasnije profesorima anatomije u Utrehtu i Lajdenu.

Čas Nicolaesa Tulpa

Na mestu predavača anatomije Udruženja hirurga od 1629. godine nalazio se Nicolaes Tulp (Nikolas Tulp), koji je prvu obdukciju uradio 1631. godine, a drugu 16. januara 1632. Ovu (drugu) obdukciju naslikao je Rembrandt i to u anatomskom amfiteatru, a ne u svom ateljeu (slika 7).



Sl. 7 – Christoffel Bisschop: Rembrandt dolazi u Udruženje hirurga da bi slikao Tulpov čas anatomije

Sedmu sliku (sa istim nazivom „Čas anatomije prof. Frederika Ruijscha“) Johan van Neck (1635–1714) naslikao je 1683. godine. Na slici Ruijsch prikazuje krvne sudove pupčanika novorođenčeta petorici hirurga. Na slici je i portret Ruijschovog sina Hendrika, desetak godina starog, koji drži skelet novorođenčeta.

Osmu sliku, „Čas anatomije Willema Roëlla“, oslikao je 1728. godine Cornelis Troost (1697–1750). Roëll prikazuje disekciju desnog kolena trojici hirurga, a u pozadini je sluga

* Slika nije potpisana, a ima mišljenja da je slikar Nicolaes Elias (ili Werner van de Valckert).

Nicolaes Tulp (1593–1674), hirurg i (grado)načelnik (*mayor*) Amsterdama, rođen je kao Claes Pieterszoon[‡] u Amsterdamu. Studirao je medicinu (1611–1614) u Lajdenu. Po povratku obavljao je opštu praksu obilazeći sve bolesnike. Prihodi mu se znatno popravljaju ulaskom u politiku, prvo kao gradski finansista (1622. godine), a 1628. i ulaskom u gradski savet. Iste godine postaje i „gradski anatom“ i postava

[†] Louis Bolk (1866–1930) rođen je u Overschieu, studirao je u Amsterdamu, gde je postao profesor anatomije 1898. godine, dve godine nakon završetka stidija. Osnivač je Holandskog udruženja anatoma.

[‡] Ime je promenio u Nicolaes (najslabije rođenom imenu Claes), a prezime Tulp nalik tulipanu (lala), porodičnom znaku.

vljeni predavač anatomije (*praelector anatomiae*) u Udruženju hirurgu. Za (grado)načelnika Amsterdama (*mayor*) biran je četiri puta (prvi put 1654. godine), a 1673. godine postaje član vlade Republike Holandije u Hagu.

Nicolaes Tulp, pored posla u Udruženju hirurgu, bio je i inspektor apoteka* u Amsterdamu. Iste godine napisao je „*Pharmacopoea Amstelredamensis*“, koja je usvojena od države kao zakon, a bila je mnogo godina pravi udžbenik. Napisao ju je sa sinom koji je diplomirao u Lajdenu i „*Observationes Medicae*“ koji je Elsevier publikovao 1641. i 1652. godine. U knjizi je opisan 231 slučaj „bolesti i smrti“, a popularno je nazivana „*book of monsters*“. Napisan je na latinskom da bi sprečio pojavu da se bolesnici sami leče. Pored toga, Tulp je opisao migrenu, elektivnu trepanaciju kod akutnog epiduralnog hematoma^{56,57}, „pušačka pluća“, placebo efekat, induraciju penisa⁵⁸, simptome Beriberija i ileocekalnu valvulu koja se naziva i Tulpova valvula⁵⁹⁻⁶².

Ova slika prvi je Rembrantov grupni portret (slika 8). Rembrant je sa 26 godina već bio poznati slikar, ali sa relativ-

odnosu na bledilo kadavera[†]. U desnom delu slike nalazi se oslikana otvorena knjiga, verovatno *De humanis corporis fabrica* Andreasa Vesaliusa. Verovatno je Rembrant imao izdvojeni model (preparat) ruke koji je kasnije oslikao na postojećoj kompoziciji, ali preciznost Rembrantovog prikaza omogućava do danas rasprave anatomskih detalja i mogućih grešaka na slici⁶³⁻⁶⁸.

Slika je pripadala Udruženju hirurgu, a posle njegovog raspuštanja 1798. godine nalazila se kao zaostavština u Hirurškom fondu (*Chirurgijnsweudefonds*). Poverenici fonda hteli su da prodaju sliku 1828. godine, ali je prodaja zaustavljena dekretom Williama I[‡]. Sliku je otkupila država i postavila u nacionalnom muzeju Mauritshuis u Hagu⁶⁹.

Čas Jana Deijmana

Upravni odbor Udruženja hirurgu, zadovoljan prethodnim Rembrantovim prikazom disekcije, naručio je novu sliku „Čas anatomije dr Nicolaesa Tulpa“, koju je Rembrant završio 1656. godine.



Sl. 8 – Čas anatomije dr Nicolaesa Tulpa

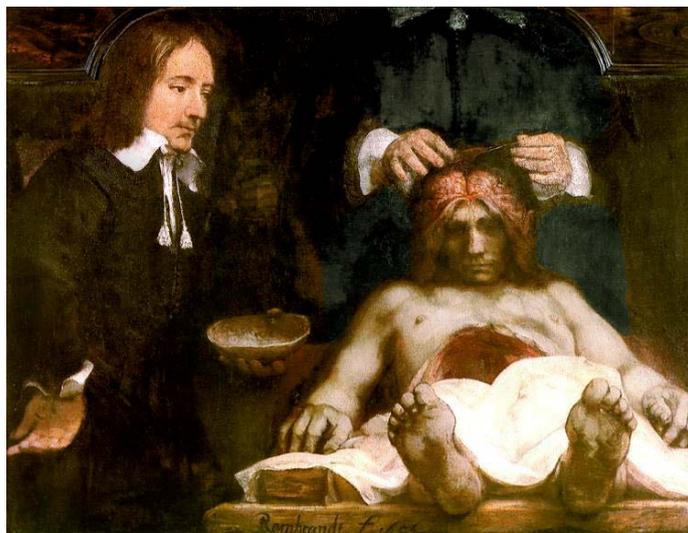
no malo uradenih portreta do tada. Kompozicija slike je vrlo pažljivo odabrana, organizovana kao piramida, pažnja svih posmatrača fokusirana je na predavača i njegov prikaz mišića i pripoja na ruci. U centru slike su tri ruke, preparat vrlo precizno naslikan sa svim mišićima, pripojima, krvnim sudovima i nervima, Tulpova desna ruka sa hvataljkom drži *m. flexor digitorum superficialis*, jasno, precizno i pouzdano i naglašava značaj i tenziju predavanja. Leva Tulpova ruka je u pokretu i gestom naglašava izgovoreno. Levo se nalazi sedam posmatrača hirurgu koji naglašenom pažnjom prate Tulpa i posmatraju preparat, a različiti položaji njihovih tela govore o dinamičnosti predavanja i njihovom interesovanju. Pokretom i nijansama boje naglašena je životnost posmatrača u

Dr Jan Deijman (Johannes Deijmann, 1619–1666) rođen je u Amsterdamu. Studirao je u Lajdenu a završio 1642. godine u Angersu (Francuska). Tulp je nasledio 1653. godine na mestu predavača anatomije u Udruženju hirurgu, a kao inspektor *Collegium Medicum* kontrolisao je lečenje u Amsterdamu..

[†] Na slici je prikazan Adriaan Adriaanszoon sa nadimkom Adriaen het Kint (Aris Kindt, Aris the Kid), vojni zatvorenik pogubljen vešanjem.

[‡] Cornelis Apostool, direktor Rijksmuseum u Amsterdamu, zahtevao je 1817. godine da se slika iznese iz depoa Hirurškog fonda i izloži u muzeju. Pokušaj nije uspeo, ali je prodaja slike zaustavljena na njegovu inicijativu. Međutim, 15 drugih slika iz fonda Udruženja hirurgu prodato je 1862. godine poznatoj galeriji u Londonu. Dve godine kasnije, zahvaljujući donacijama mnogih građana, slike su vraćene u Holandiju i nalaze se u Rijksmuseumu.

* Godine 1636. bilo ih je 66 u Amsterdamu.



Sl. 9 – Čas anatomije dr Johannesa Deijmana

Slika je bila velikih dimenzija (245 × 300 cm) i predstavljala je grupni portret. Nažalost slika je stradala u požaru 1723. godine, a restaurirana 1994. godine i danas se nalazi u Amsterdamskom istorijskom muzeju. Sačuvan je samo njen centralni deo (113 × 135 cm) (slika 9), a ne portreti osam posmatrača koji su se nalazili levo i desno oko obdukcionog stola koji se mogao okretati. Hirurg Gijsbert Calkoen (1621–1664), Dejmanov asistent, koji drži u ruci odstranjeni deo kalvarije jedini je lik koji se vidi na slici. Na slici se vidi disekcija glave, dr Dejman drži u rukama duru i prikazuje koru mozga*^{70–74}. Umetnički, slika je neuporedivo bolja od prikaza Tulpovog ča-

* Joris Fonteijn (1633/34–1656), serijski ubica sa nadimkom Black Jack, flamanski krojač, osuđen je kao „habitualni kriminalac“ i pogubljen vešanjem 17. januara 1656. kada je započeta obdukcija. Na slici se vidi da nedostaje utroba jer je disekcija trbuha obavljena prethodnih dana.

sa anatomije. Ona je odraz umetnikove zrelosti, pa tamno prebojene podočnjake i usne, žutilo kože i mrtvačku ukočenost na ovakav način mogao je prikazati samo Rembrandt.

Zaključak

Rembrandtov opus je imponantan. Uradio je blizu 700 slika (ulja na platnu i drvetu), više od 300 gravura i oko 1 400 crteža. Njegova dela danas imaju nemerljivu cenu i nalaze se na počasnim mestima u svim svetskim galerijama.

Rembrandtova originalnost misli, snaga imaginacije, nenaametljiva snaga izražajnosti, smisao za dramatičnost, težnja za istraživanjima i inovacijama, duboka osećajnost, humanost i vrhunsko slikarsko majstorstvo, dali su mu večnu slavu, a nazivan je i: „pesnik među slikarima“, „idealistični realist“, „prvi ‘moderni’ umetnik“, „Shakespeare Holandije“.

L I T E R A T U R A

1. *Dorđević M.* Rasipni mlinarev sin. *Politika* 2006 July 14; p. 15. (Serbian)
2. *Bonjer HJ, Bruining HA.* Surgery in the Netherlands. *Arch Surg* 1999; 134: 928.
3. *Kivelä T, Polkunen M-L.* Pieter Pauw's Tumor oculorum: Reappraisal of the presumed first description of Retinoblastoma in 1597. *Arch Ophthalmol* 2003; 121(6): 881–6.
4. *Aneralla K.* Rembrandt Harmenszoon van Rijn. Early works. Available from: <http://www2.students.sbc.edu/aneralla03/REMBRANDT4.htm>
5. *van de Wetering E.* Rembrandt: The Painter at Work. *Encyclopaedia Britannica Online*. Available from: <http://www.britannica.com/eb/article-251331/Rembrandt-van-Rijn>
6. *Bangs JD, Breugelmans R.* Two new Rembrandt etchings, 1632. *Quaerendo* 2006; 36(3): 159–86.
7. *Roger-Marx C.* Holandska škola u XVII veku. In: *Benoist L, Yoyotte J, Devambex P, Keim JA, Chastel A, du Colombier P, et al.* Istorija slikarstva. Beograd: Nolit; 1973. p. 174–84. (Serbian)
8. *Janson J.* Rembrandt: life, paintings, etchings, drawings & self portraits. Available from: <http://www.rembrandtpainting.net/index.htm>
9. *Baker K.* Rembrandt's work still has lessons to teach the post-modern world. San Francisco: Chronicle; 2006; p. E-1.
10. *Southgate MT.* Two old men disputing. *JAMA* 1998; 279: 177.
11. *Janson HW.* Istorija umetnosti. Barok u Flandriji, Holandiji i Španiji. Beograd: Jugoslavija; 1966. p. 421–33. (Serbian)
12. *Southgate MT.* The return of the prodigal son. *JAMA* 2002; 288: 1691.
13. *Berger HM, de Waard F, Molenaar Y.* A case of twin-to-twin transfusion in 1617. *Lancet* 2000; 356 (9232): 847–8.
14. *Albright TD.* An excellent lightness. *Science* 1996; 273(5278): 1055–6.
15. *Carter-Kneff BA.* Rembrandt's influence on the evolution of the printmaking process through his experimental attitude towards the medium. [Master's thesis]. Faculty of the Department of Art and Design East Tennessee State University; 2004.
16. *Ignjatović M.* Rembrandt: One idea, two pictures. *Med Hypotheses* (2006), doi: 10.1016/j.mehy.2006.11.006
17. *Davidson JK.* Rembrandt revealed. *Radio Graphics* 1998; 18(5): 1210–1.
18. *Costa M, Menzani M, Bitti PER.* Head canting in paintings: An historical study. *J Nonverb Behav* 2001; 25(1): 63–73.
19. *Pereira FA.* How Rembrandt reveals your beautiful, imperfect self: Life lessons from the master. *J Am Acad Dermatol* 2006; 55(4): 738–9.

20. *Braverman IM*. Surgical and medical treatment in art. *JAMA* 2006; 295(15): 1840–1.
21. *Meakins JL*. Surgical infection in art. *Arch Surg* 1996; 131(12): 1289–95.
22. *Breach NM*. Medicine and art. *Eur J Anaesthesiol* 2003; 20: 993–5.
23. *Harris P*. Rembrandt and medicine. *J R Coll Surg Edinb* 1995; 40(2): 81–3.
24. *Shapiro J, Rucker L, Beck J*. Training the clinical eye and mind: using the arts to develop medical students' observational and pattern recognition skills. *Med Educat* 2006; 40(3): 263–8.
25. *Macmillan D*. Rembrandt's intimate and tender eye. Rembrandt's Women. *Lancet* 2001; 358: 769–70.
26. *Karkabi K, Castel OC*. Deepening compassion through the mirror of painting. *Med Educat* 2006; 40(5): 462.
27. *Jamieson A*. An essay on the life and work of Francisco Goya. *Work Based Learning in Primary Care* 2005; 3(3): 236–52.
28. *Grau JJ, Estape J, Diaz-Padron M*. Breast cancer in Rubens paintings. *Breast Cancer Res Treat* 2001; 68(1): 89–93.
29. *Gross A*. An epidemic of breast cancer among models of famous artists. *Breast Cancer Res Treat* 2004; 84: 293.
30. *Tan WTL*. Shifting Paradigms in the management of breast cancer – A surgical perspective. *Ann Acad Med* 2002; 31(6): 813–5.
31. *Mandell JB*. Bathsheba's breast: Women, cancer & history. *J Clin Invest* 2005; 115(6): 1397.
32. *Braithwaite PA, Shugg D*. Rembrandt's Bathsheba: the dark shadow of the left breast. *Ann R Coll Surg Engl* 1983; 65(5): 337–8.
33. *Hayakawa S, Masuda H, Nemoto N*. Rembrandt's Bathsheba, possible lactation mastitis following unsuccessful pregnancy. *Med Hypotheses* 2006; 66(6): 1240–2.
34. *Bourne RG*. Did Rembrandt's Bathsheba really have breast cancer? *Aust N Z J Surg* 2000; 70(3): 231–2.
35. *Greco T*. Rembrandt e il cancro della mammella. [Rembrandt and breast cancer]. *Osp Ital Chir* 1970; 22 (2): 141–4.
36. *Pytel' Ala*. Breast cancer in Rembrandt's painting (on the 370th anniversary of Rembrandt's birth). *Khirurgiia (Mosk)* 1976; (1): 144–5.
37. L'opération de la cataracte à travers de l'oeuvre de Rembrandt. Available from: <http://www.snof.org/art/rembrandt1.html>
38. *Albert DM*. The eye operation. *JAMA* 2001; 286(22): 2779–80.
39. *Johnson HA*. Fish bile and cautery: trachoma treatment in art. *J R Soc Med* 2005; 98(1): 30–2.
40. *Espinel CH*. Depression, physical illness, and the faces of Rembrandt. *Lancet* 1999; 354: 262–3.
41. *Espinel CH*. A medical evaluation of Rembrandt. His self-portrait: ageing, disease, and the language of the skin. *Lancet* 1997; 350: 1835–37.
42. *Cohen B*. A tale of two ears. *J R Soc Med* 2003; 96: 305–6.
43. *Zlotnick A*. Rembrandt's self-portrait. *Lancet* 1998; 351: 915.
44. *Rothenberg A*. Depression, physical illness, and the faces of Rembrandt. *Lancet* 1999; 354: 1392.
45. *Schildkraut JJ*. Saint Jerome in a dark chamber: Rembrandt's metaphoric portrayal of the depressed mind. *Am J Psychiatry* 2004; 61(1): 26–7.
46. *Rösler A, Hofmann M, Mackenzie M, Harris A, Mapstone M*. Über "Successful Aging" hinaus: Rembrandt in seinen Selbstbildnissen. [Beyond „Successful aging“: Rembrandt in his self-portraits]. *Psychiat Prax* 2001; 28: 88–90.
47. *Twelker PA*. Rembrandt and Psychology: Reflections on *The Return of the Prodigal Son*. (last updated August 30, 2006). Available from: <http://www.tiu.edu/psychology/Twelker/rembrandt.htm>.
48. *Schirillo JA*. Hemispheric asymmetries and gender influence Rembrandt's portrait orientations. *Neuropsychologia* 2000; 38: 1593–606.
49. *Livingstone MS, Conway BR*. Was Rembrandt stereobild? *N Engl J Med* 2004; 351(12): 1264–5.
50. *Swick HM*. Medical professionalism and the clinical anatomist. *Clin Anat* 2006; 19: 393–402.
51. *Baljet B*. The painted Amsterdam anatomy lessons: Anatomy performances in dissecting rooms? *Ann Anat* 2000; 182: 3–11.
52. *Vesalius A*. *Andreae Vesalii... de Humani corporis fabrica libri septem...* Basileae: J. Oporinum; 1555.
53. *Vesalius A*. *Notomie di Titiano...* [Bologne], ca 1670.
54. *Ignjatović M*. Historical review of the development of military medical corps – part 1. *Vojnosanit Pregl* 2006; 63(4): 415–23.
55. *Mirilas P, Lainas P, Panutsopoulos D, Skandalakis PN, Skandalakis JE*. The Monarch and the Master: Peter the Great and Frederik Ruysch. *Arch Surg* 2006; 141(6): 602–6.
56. *Kompanje EJO, Maas AIR*. 'De dreuning der daverende hersenen'; behandeling van traumatisch schedel-hersenletsel in Nederland in de 17e eeuw: 7 ziektegeschiedenissen uit *Observationes medicae van Nicolaes Tulp*. 'The rumbling of shaking brains'; the treatment of traumatic skull and brain injury in the Netherlands in the 17th century: 7 case reports from *Observationes medicae* by Nicolaes Tulp. *Ned Tijdschr Geneesk* 2004; 148(14): 677–82.
57. *van Alphen HA*, editor. World Federation of Neurosurgical societies 1955–2005. Relationship between the Regional Neurosurgical Societies and the World Federation of Neurosurgical Societies. Europe and the World Federation of Neurosurgical Societies. Amsterdam: De Zaak Haes; 2005. p. 176–98.
58. *Nöske HD, Hawck EV*. The history of Morbus Lapeyronic. *Aktuel Urol* 2001; 32(Suppl. 1): 2–6.
59. *Kruger L*. The scientific impact of Dr. N. Tulp, portrayed in Rembrandt's "Anatomy Lesson". *J Hist Neurosci* 2005; 14(2): 85–92.
60. *Deuffhard P*. Pittori, assassini, matematici. Painters, Murderers, Mathematicians. In: M. Manaresi (ed.), *Matematica e Cultura in Europa*. Milan: Springer-Verlag Italia; 2005. pp. 145–55.
61. *Pytel' Ala*. Nikolaus Van Tulp - eminent anatomist and surgeon (340th anniversary of the publication of his famous book „Medical observations“. *Khirurgiia (Mosk)* 1980; (8): 117–9.
62. *Pytel' Ala*. Nicolas van Tulp (1593-1674); (on the 300th anniversary of his death). *Urol Nefrol (Mosk)* 1974; 0(5): 69–70.
63. *Ijzma FFA, van de Graaf RC, Nicolai J-PA, Meek MF*. The anatomy lesson of Dr. Nicolaes Tulp by Rembrandt (1632): A comparison of the painting with a dissected left forearm of a Dutch male cadaver. *J Hand Surg* 2006; 31A: 882–91.
64. *Kopelman LM, De Ville KA*. Rembrandt's Anatomy lesson as a metaphor for education. *Curr Surg* 2003; 60(2): 150–1.
65. *Masquelet AC*. The Anatomy lesson of Dr Tulp. *J Hand Surg [Br]* 2005; 30B(4): 379–81.
66. *Lepervhey F*. Apropos of the „Lesson in anatomy“. *Morphologie* 2000; 84(266): 5–12.
67. *Bankl HC, Bankl H*. Dr. Nicolaas Tulp. A critical view of Rembrandt's Anatomy Lesson. *Wien Klin Wochenschr* 2000; 112(8): 368–71.
68. *Alting MP, Waterbolk TW*. New light on the anatomical errors in Rembrandt's Anatomy Lesson of Dr. Nicolaas Tulp. *J Hand Surg [Am]* 1982; 7(6): 632–4.
69. *Polš H*. Death, disease, the body, and medicine. *Medicine in art*. Available from: <http://www.ahm.nl/collectie.php?cat=4>
70. *Salman M*. The Anatomy Lesson of Dr. Deyman, Rembrandt van Rijn. *Neurosurgery* 1995; 36(4): 865–6.
71. *Lakke JP*. Autopsy practises for brain dissections and Rembrandt's anatomy lesson of Dr. Deyman. *J Hist Neurosci* 1998; 7(2): 101–7.
72. *Southgate MT*. De anatomische les van Dr. Deyman (The Anatomy Lesson of Dr. Joan Deyman. *JAMA* 1997; 278(7): 530.
73. *Gross CG*. Rembrandt's 'The Anatomy Lesson of Dr. Joan Deyman'. *Trends Neurosci* 1998; 21: 237–40.
74. *Hass LF*. The anatomy lesson of Dr Joan Deyman, by Rembrandt (1606–69). *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992; 55 (10): 908.

Rad je primljen 20. XI 2006. godine.



General-potpukovnik u penziji
Doc. dr Jovan Bjelić
1931–2009.

Dana 7. maja 2009. godine, u Beogradu je, posle kraće bolesti, preminuo general-potpukovnik u penziji, doc. dr Jovan Bjelić.



Rođen je 1931. god. u Konatici kod Obrenovca. Životni put odveo ga je u Sarajevo, gde je pohađao osnovnu školu koju, potom, završava u Beogradu. Posle završene gimnazije upisuje se na Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, na kojem diplomira 1959. godine. Za vreme studija bio je glavni i odgovornu urednik stručnog časopisa „Medicinski podmladak“ i potpredsednik Saveza studenata Beogradskog univerziteta. Posle završetka obaveznog lekarskog staža i Škole rezervnih oficira sanitetske službe, odlazi u trupu i postaje načelnik saniteta Prvog gardijskog puka. Od 1963. godine nalazi se na specijalizaciji iz interne medicine u Vojnomedicinskoj akademiji (VMA). Položio je specijalistički ispit 1967. godine sa odličnim uspehom i počeo da radi kao internista-gastroenterolog u Klinici za gastroenterologiju VMA. Tu će provesti najveći deo svog radnog veka, doživeti mnoge prijatne i nezaboravne trenutke i sa kolegama prof. dr Gašpa-

rovim i prof. dr Elakovićem uvesti Kliniku za gastroenterologiju VMA u vodeće u bivšoj Jugoslaviji, cenjenu i poštovanu od stručne javnosti kao i onih koji su radili u njoj.

Zahvaljujući samopregornom radu dr Bjelić je veoma brzo napredovao i u struci, kao i u hijerarhiji rukovođenja i komandovanja. Bio je rukovodilac Odeljenja funkcionalne dijagnostike, a potom i rukovodilac Odeljenja za probavni trakt. Od 1986. do 1992. godine bio je zamenik načelnika VMA, a od 1992. do 1996. njen načelnik. U čin general-majora unapređen je 1991. godine, a u čin general-potpukovnika 1995. godine.

Od završetka specijalizacije učestvuje u izvođenju teorijske i praktične nastave na predmetu interna medicine za specijalizante internih grana medicine i za polaznike Škole sanitetskih oficira. Za docenta interne medicine izabran je 1974. godine, a reizabran 1980. Pet godina bio je predavač na posle diplomskim studijama iz gastroenterologije na medicinskom fakultetu u Beogradu, kao i član Državne komisije za gastroenterologiju. Učestvovao je u izradi svih značajnijih projekata koji su sprovedeni u Klinici za gastroenterologiju i hepatologiju VMA u cilju unapređenja prevencije, lečenja i razjašnjenja patogeneze najznačajnijih gastroenteroloških oboljenja. Predavanja koja je držao na jugoslavenskim kongresima gastroeterologa i danas se spominju među kolegama. Bila je to prepoznatljiva škola gastroenterologije koju je stvorio zajedno sa prof. dr Gašparovim, poštovana i cenjena u svim delovima bivše Jugoslavije. Bila je velika čast i privilegija poznavati dr Jovana Bjelića i velika sreća imati ga kao učitelja, kolegu i prijatelja. Učio nas je da se međusobno uvažavamo, da budemo “pre svega ljudi”, kako je voleo reći, a posle ćemo, pre ili kasnije, naučiti i sve ostalo.

Od početka profesionalne karijere bio je član Srpskog lekarskog društva, kao i strukovnih asocijacija gastroenterologa i endoskopista u zemlji i inostranstvu. Kao prvi autor ili koautor učestvovao je u izradi više od 100 stručnonaučnih radova, objavljenih u časopisima ili saopštenih na stručnim i naučnim skupovima u zemlji i inostranstvu. Nesebično je davao sebe, edukujući druge kolege koji su bili na supspecijalizaciji ili posle diplomskoj nastavi iz gastroenterologije, prenoseći im svoj neiscrpni entuzijizam. Do perfekcije je usavršio ono što je radio, a određene dijagnostičke procedu-

re, pre svega iz domena urgentne i interventne fiberoptičke endoskopije i laparoskopije, uveo je u rutinsku praksu. Znao je da osvajanje novog znanja vredi onoliko koliko je ono primenjivo u praksi, na dobrobit bolesnika. Cenio je znanje ne radi formalnog obrazovanja, već u korist onih zbog kojih se ono stiče. Raditi sa dr Jovanom Bjelićem značilo je saradivati sa čovekom koji nije priznavao dogme i šablone, već se borio za znanje, napredne ideje i inicijative.

Rezultati njegovog rada bili su prepoznatljivi, cenjeni i poštovani od svih, kako od bolesnika koje je lečio, tako i od kolega sa kojima je radio. Dobro je poznavo ljude i svima je znao da uđe u dušu kao najbolji psiholog što, u stvari, i jeste bio. Bolesnici su mu bezgranično verovali i od njega očekivali pomoć, spas i izlečenje, kada im je bilo najteže, pa čak i onda kada pomoći nema, njegova topla reč, lečila je dušu.

Iako je bio lekar, humanista, to mu ni najmanje nije smetalo da bude izuzetno disciplinovan oficir, kao i uspešen rukovodilac, strog, ali pravedan i zbog toga uvek cenjen. Za njega je disciplina uvek bila pitanje suštine, a ne samo forme, iako je i njoj pridavao odgovarajući značaj, ali je ona, ipak, bila samo u funkciji suštine. Uvek je bio spreman da sasluša i posavetuje one koji su mu se obraćali za bilo koju vrstu pomoći. Veliki broj njegovih zahvalnih bolesnika znali su ga po tome, po njegovoj humanosti, saosećanju i želji da im pomogne. Takav je bio dok je radio i ostao do zadnjeg dana svog

života. Za njega nije postojalo „biti u penziji“, jer svakog dana on je morao nekome da pruži pomoć.

Nesebično i požrtvovano, krajnje profesionalno i hrabro angažovao se na svim zadacima koji su bili postavljeni pred njega. Rukovodio je VMA kao zamenik načelnika, a potom i kao načelnik, gotovo punih 10 godina, u vreme ratova i kriza na ovim prostorima, u vreme kada su bili najteži uslovi za rad. Uspeo je da sačuva VMA kao instituciju, da sačuva njen ugled u stručnim krugovima i u narodu, na čemu smo mu mi, njegovi učenici i saradnici, beskrajno zahvalni. Njegov lik i delo nikada neće biti zaboravljeni u našoj sredini.

Za svoj samopregoran rad u vojsci i društvu generalpotpukovnik, doc. dr Jovan Bjelić pohvaljivan je više puta, a nosilac je većeg broja odlikovanja, plaketa i pohvala, a sve njegove službene ocene bile su najviše.

Odlaskom dr Jovana Bjelića na večni počinak izugubili smo voljenog lekara, dragog učitelja, poštavanog komadanta i, pre svega, velikog prijatelja i čoveka.

Neka je večna slava i hvala generalpotpukovniku, doc. dr Jovanu Bjeliću!

Puk. doc. dr Radoje Doder
načelnik Klinike za
gastroenterologiju VMA

UPUTSTVO AUTORIMA

Vojnosanitetski pregled (VSP) objavljuje radove koji ranije nisu nigde publikovani, niti predati za publikovanje redosledom koji određuje uređivački odbor. Uz rad, na posebnom listu, treba dostaviti: izjavu da rad do sada nije (ili je delimično) objavljen ili prihvaćen za štampu u drugom časopisu; potpise svih koautora; ime, tačnu adresu, brojeve telefona (fiksne, mobilne, faks), *e-mail* adresu, kao i kopiju dokaza o pretplati na časopis za sve autore (i koautore). Za objavljene radove VSP zadržava autorsko pravo.

Radove slati na adresu: Vojnosanitetski pregled Vojnomedicinska akademija, Institut za naučne informacije, Cmotravska 17, 11040 Beograd.

U VSP-u se objavljuju **uvodnici, originalni članci, prethodna ili kratka saopštenja**, revijski radovi tipa **opšteg pregleda, aktuelne teme ili metaanalize, kazuistika**, članci iz **istorije medicine**, lični stavovi, naručeni komentari, pisma uredništvu, izveštaji sa naučnih i stručnih skupova, prikazi knjiga, referati iz naučne i stručne literature i drugi prilozi.

Radove tipa opšteg pregleda Uredništvo će prihvatiti samo ukoliko autori navođenjem najmanje 5 autocitata potvrde da su eksperti u oblasti o kojoj pišu.

Radovi se objavljuju na srpskom ili engleskom jeziku sa apstraktima na srpskom i engleskom, za radove tipa originalnih članaka, prethodnih ili kratkih saopštenja, metaanalize i kazuistike. Odabrani članci objavljuju se u celini na engleskom jeziku sa apstraktom na srpskom.

Rukopis se piše pomoću IBM-PC kompatibilnog računara, sa proredom 1,5. Štampa se na laserskom ili nekom drugom visokokvalitetnom štampaču, uredno i bez ispravki, na čistoj beloj hartiji formata A4, sa levom marginom od 4 cm. Koristiti font veličine 12, a načelno izbegavati upotrebu **bold** i *italic* slova, koja su rezervisana za podnaslove. Originalni članci, opšti pregledi i metaanalize ne smeju prelaziti 16 stranica (sa prilogima); aktuelne teme – osam, kazuistika – šest, prethodna saopštenja – pet, a pisma uredniku, izveštaji sa skupova i prikazi knjiga – dve stranice.

U celom radu obavezno je korišćenje međunarodnog sistema mera (SI) i standardnih međunarodno prihvaćenih termina.

Radove (tekst i grafičke priloge) treba slati na disketi i štampane u tri primerka (original i dve kopije). Autori konačnu verziju rukopisa i priloga prihvaćenih za publikovanje predaju u jednom štampanom primerku i na disketi od 3,5" (očišćenju od „virusa“) ili na kompaktnom disku. Za obradu teksta koristiti program **Word for Windows** verzije 97, 2000, XP ili 2003, a samo izuzetno i neki drugi. Za izradu grafičkih priloga koristiti standardne grafičke programe za **Windows**, poželjno iz programskog paketa **Microsoft Office (Excel, Word Graph)**. Kod kompjuterske izrade grafika izbegavati upotrebu boja i senčenja pozadine.

Prispeli radovi kao anonimni podležu uređivačkoj obradi i recenziji najmanje dva urednika/recenzenata. Primedbe i sugestije urednika/recenzenata dostavljaju se autoru radi konačnog oblikovanja. Otisak članka šalje se prvom autoru na korekturu, koji treba vratiti u roku od pet dana. Rukopisi radova prihvaćenih za štampu ne vraćaju se autoru.

Priprema rada

Delovi rada su: **naslovna strana, apstrakt sa ključnim rečima, tekst i literatura.**

1. Naslovna strana

a) Naslov treba da bude kratak, jasan i informativan i da odgovara sadržaju rada. Podnaslove treba izbegavati.

b) Ispisuju se puna imena i prezimena autora.

c) Navode se puni nazivi ustanove i organizacijske jedinice u kojima je rad obavljen i mesta u kojima se ustanove nalaze, sa jasnim obeležavanjem odakle je autor, koristeći standardne znake za fus-note.

2. Apstrakt i ključne reči

Na drugoj stranici nalazi se strukturisani apstrakt sa naslovom rada. Kratkim rečenicama na srpskom i engleskom jeziku iznosi se **uvod i cilj** rada, osnovne procedure - **metode** (izbor ispitanika ili laboratorijskih životinja; metode posmatranja i analize), glavni nalazi - **rezultati** (konkretni podaci i njihova statistička značajnost) i glavni **zaključak**. Naglasiti nove i značajne aspekte studije ili zapažanja. Strukturisani apstrakt (**250** reči) ima podnaslove: *uvod/cilj, metode, rezultati i zaključak*. Za apstrakte na engleskom dozvoljeno je i do **450** reči. Strukturisani apstrakt je obavezan za metaanalize (istog obima kao i za originalne članke) i kazuistiku (do 150 reči, sa podnaslovima *uvod, prikaz slučaja i zaključak*). Ispod apstrakta, pod podnaslovom „Ključne reči“ predložiti 3–10 ključnih reči ili kratkih izraza koji oslikavaju sadržinu članka.

3. Tekst članka

Tekst sadrži sledeća poglavlja: **uvod, metode, rezultate i diskusiju. Zaključak** može da bude posebno poglavlje ili se iznosi u poslednjem

pasusu diskusije. U **uvodu** ponovo napisati naslov rada, bez navođenja autora. Navesti hipotezu (ukoliko je ima) i ciljeve rada. Ukratko izneti razloge za studiju ili posmatranje. Navesti samo strogo relevantne podatke iz literature i ne iznositi opširna razmatranja o predmetu rada, kao ni podatke ili zaključke iz rada o kome se izveštava.

Metode. Jasno opisati izbor metoda posmatranja ili eksperimentalnih metoda (ispitanici ili eksperimentalne životinje, uključujući kontrolne). Identifikovati metode, aparaturu (ime i adresa proizvođača u zagradi) i proceduru, dovoljno detaljno da se drugim autorima omogući reprodukcija rezultata. Navesti podatke iz literature za uhodane metode, uključujući i statističke. Tačno identifikovati sve primenjene lekove i hemikalije, uključujući generičko ime, doze i načine davanja. Za ispitivanja na ljudima i životinjama navesti saglasnost etičkog komiteta.

Rezultate prikazati logičkim redosledom u tekstu, tabelama i ilustracijama. U tekstu naglasiti ili sumirati samo značajna zapažanja.

U **diskusiji** naglasiti nove i značajne aspekte studije i izvedene zaključke. Posmatranja dovesti u vezu sa drugim relevantnim studijama, u načelu iz poslednje tri godine, a samo izuzetno i starijim. Povezati zaključke sa ciljevima rada, ali izbegavati nesumnjive tvrdnje i one zaključke koje podaci iz rada ne podržavaju u potpunosti.

Literatura

Literatura se u radu citira kao superskript, a popisuje rednim brojevima pod kojima se citat pojavljuje u tekstu. Navode se svi autori, ali ako broj prelazi šest, navodi se prvih šest i dodaje et al. Svi podaci o citiranoj literaturi moraju biti tačni. Literatura se u celini citira na engleskom jeziku, a iza naslova se navodi jezik članka u zagradi. Ne prihvata se citiranje apstrakata, sekundarnih publikacija, usmenih saopštenja, neobjavljenih radova, službenih i poverljivih dokumenata. Radovi koji su prihvaćeni za štampu, ali još nisu objavljeni, navode se uz dodatak „u štampi“. Rukopisi koji su predati, ali još nisu prihvaćeni za štampu, u tekstu se citiraju kao „neobjavljeni podaci“ (u zagradi). Podaci sa *Interneta* citiraju se uz navođenje datuma.

Primeri oblika referenci:

Durović BM. Endothelial trauma in the surgery of cataract. *Vojnosanit Pregl* 2004; 61(5): 491–7. (Serbian)

Balint B. From the haemotherapy to the haemomodulation. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2001. (Serbian)

Mladenović T, Kandolf L, Mijušković ŽP. Lasers in dermatology. In: *Karadaglić D*, editor. *Dermatology*. Beograd: Vojnoizdavački zavod & Verzal Press; 2000. p. 1437–49. (Serbian)

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

Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12]; 102(6): [about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

Tabele

Sve tabele štampaju se sa proredom 1,5 na posebnom listu hartije. Obeležavaju se arapskim brojevima, redosledom pojavljivanja, u desnom uglu (**Tabela 1**), a svakoj se daje kratak naslov. Objašnjenja se daju u fus-noti, ne u zaglavlju. Za fus-notu koristiti sledeće simbole ovim redosledom: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, Svaka tabela mora da se pomene u tekstu. Ako se koriste tuđi podaci, obavezno ih navesti kao i svaki drugi podatak iz literature.

Ilustracije

Slikama se zovu svi oblici grafičkih priloga i predaju se u tri primerka i na disketi (CD). Fotografije treba da budu oštre, na glatkom i sjajnom papiru, do formata dopisnice. Slova, brojevi i simboli treba da su jasni i ujednačeni, a dovoljne veličine da prilikom umanjivanja budu čitljivi. Na svakoj slici treba na poleđini, tankom grafitnom olovkom, označiti broj slike, ime prvog autora i gornji kraj slike. Slike treba obeležiti brojevima, onim redom kojim se navode u tekstu (**Sl. 1; Sl. 2** itd.). Ukoliko je slika već negde objavljena, obavezno citirati izvor.

Legende za ilustracije pisati na posebnom listu hartije, koristeći arapske brojeve. Ukoliko se koriste simboli, strelice, brojevi ili slova za objašnjenje pojedinog dela ilustracije, svaki pojedinačno treba objasniti u legendi. Za fotomikrografije navesti unutrašnju skalu i metod bojenja.

Skraćenice i simboli

Koristiti samo standardne skraćenice, izuzev u naslovu i apstraktu. Pun naziv sa skraćenicom u zagradi treba dati kod prvog pominjanja u tekstu.

Detaljno uputstvo može se dobiti u redakciji.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Vojnosanitetski preglad (VSP) publishes only previously neither published nor submitted papers in any other journals in the order determined by the Editorial Board. The following should be enclosed with the manuscript: a statement that the paper has not been submitted or accepted for publication elsewhere; a consent signed by all the authors that the paper could be submitted; the name, exact address, phone number, and e-mail address of the first author and co-authors. VSP reserves all copyrights.

Papers should be sent to: Military Medical Academy, Institute for Scientific Information, Crnotravska 17, 11040 Belgrade, Serbia & Montenegro, for "Editorial Board of VSP."

VSP publishes: **editorials, original articles, short communications, reviews/meta-analyses, case reports**, from the **medical history** (general or military), personal views, invited comments, letters to the editor, reports from scientific meetings, book reviews, extensive abstracts of interesting articles from foreign language journals, and other contributions. Papers are published in Serbian or English with abstracts in both languages, and the selected ones fully in English for original articles, short communications, meta-analyses and case reports.

General review papers type will be accepted by the Editorial Board only if the authors prove themselves as the experts in the fields they write on by citing not less than 5 self-citations.

Papers should be written on IBM-compatible PC, using 12 pt font, and double spacing, and printed on the laser, or other high-quality printer without any corrections, on white bond paper ISO A4 (212×297 mm) with at least 4 cm left margin. **Bold** and *italic* letters should be avoided. Observational and experimental articles, reviews and meta-analyses, should not exceed 16 pages (including tables and illustrations); case reports – 6; short communications – 5; letters to the Editor, reports on scientific meetings and book reviews – 2.

All measurements should be reported in the metric system in terms of the International System of Units (SI). Standard, internationally accepted terms should be used. Papers should be submitted on a diskette (CD) in triplicate (original and two copies).

Authors are requested to submit the final version of manuscript approved for publishing with tables and illustrations on a 3.5" virus free diskette or a CD. **MS Word for Windows** (97, 2000, XP, 2003) is recommended for word processing; other programs are to be used only exceptionally. Illustrations should be made using standard **Windows** programs. Avoid the use of colors in graphs.

Papers are reviewed anonymously by at least two editors and/or invited reviewers. Remarks and suggestions are sent to the author for final composition. Galley proofs are sent to the first author for corrections that should be returned within 5 days. Manuscripts accepted for publication are not being returned.

Preparation of manuscript

Parts of the manuscript are: **Title page; Abstract with key words; Text; References.**

1. Title page

- The title should be concise but informative. Subheadings should be avoided;
- full name of each author;
- name and place of department(s) and institution(s) of affiliation, clearly marked by standard footnote signs.

2. Abstract and key words

The second page should carry a structured abstract with the title for original articles, metaanalyses and case reports. The abstract should state the purposes of the study or investigation, basic procedures (selection of study subjects or laboratory animals; observational and analytical methods), main findings (giving specific data and their statistical significance, if possible), and the principal conclusions. It should emphasize new and important aspects of the study or observations. **Structured** abstract should contain typical subtitles: *background/aim, methods, results and conclusion*. The abstract for metaanalyses and original papers should have up to 450 words, and up to 150 words for case reports (with subtitles *background, case report, conclusion*). Below the abstract authors should provide, and identify as such, 3–10 key words or short phrases that will assist indexers in cross-indexing the article and will be published with the abstract.

3. Text

The text of original articles is divided into sections with the headings: **Introduction, Methods, Results, and Discussion**. Long articles may need subheadings within some sections to clarify their content.

In the **Introduction** repeat the title of the article, excluding the names of authors. State the purpose of the article and summarize the rationale for the study or observation. Give only strictly pertinent references and do not include data or conclusions from the work being reported.

Methods. Describe your selection of the observational or experimental subjects (patients or experimental animals, including controls) clearly. Identify the methods, apparatus (manufacturer's name and address in parentheses), and procedures in sufficient detail to allow other workers to reproduce the results. Give references to established methods, including statistical methods. Identify precisely all drugs and chemicals used, with generic name(s), dose(s), and route(s) of administration. State the approval of the Ethics Committee for the tests in humans and animals.

Results should be presented in logical sequence in the text, tables and illustrations. Emphasize or summarize only important observations.

Discussion is to emphasize the new and important aspects of the study and the conclusions that result from them. Relate the observations to other relevant studies. Link the conclusions with the goals of the study, but avoid unqualified statements and conclusions not completely supported by your data.

References

References should be superscripted and numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. **The references must be verified by the author(s) against the original document.** List all authors, but if the number exceeds 6, give 6 followed by et al. Do not use abstracts, secondary publications, oral communications, unpublished papers, official and classified documents. References to papers accepted but not yet published should be designated as "in press". Information from manuscripts not yet accepted should be cited in the text as "unpublished observations". References are cited according to the **International Committee of Medical Journal Editors. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals. Ann Intern Med 1997; 126: 36–47. Updated October 2001.**

Examples of references:

Jurhar-Pavlova M, Petlichkovski A, Trajkov D, Efinanska-Mladenovska O, Arsov T, Strezova A, et al. Influence of the elevated ambient temperature on immunoglobulin G and immunoglobulin G subclasses in sera of Wistar rats. *Vojnosanit Pregl* 2003; 60(6): 657–612.

DiMaio VJ. Forensic Pathology. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 2001.

Blinder MA. Anemia and Transfusion Therapy. In: Ahya NS, Flood K, Paranjothi S, editors. *The Washington Manual of Medical Therapeutics*, 30th edition. Boston: Lippincot, Williams and Wilkins; 2001. p. 413–428.

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

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12]; 102(6): [about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

Tables

Type each table double-spaced on a separate sheet. Number tables consecutively in the order of their first citation in the text in the upper right corner (**Table 1**) and supply a brief title for each. Place explanatory matter in footnotes, using the following symbols, in this sequence: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, Each table has to be mentioned in the text. If you use data from another source, acknowledge fully.

Illustrations

Figures are submitted in triplicate, and for the final version also on diskette/CD. Photos should be sharp, glossy black and white photographic prints, not larger than 203 × 254 mm. Letters, numbers, and symbols should be clear and even throughout and of sufficient size that when reduced for publication, each item will still be legible. Each figure should have a label on its back indicating the number of the figure, author's name, and top of the figure. If a figure has been published, acknowledge the original source.

Legends for illustrations are typed on a separate page, with arabic numerals corresponding to the illustrations. Identify and explain each one clearly in the legend symbols, arrows, numbers, or letters used to identify parts of the illustrations. Explain the internal scale and identify the method of staining in photomicrographs.

Abbreviations and symbols

Use only standard abbreviations. Avoid abbreviations in the title and abstracts. The full term for which an abbreviation stands should precede its first use in the text.



VOJNOSANITETSKI PREGLED
VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA
Crnotravska 17, 11040 Beograd, Srbija
Tel/Fax: +381 11 2669689
vmaini1@eunet.yu
vmaini2@eunet.yu

Časopis „Vojnosanitetski pregled“ izlazi godišnje u 12 brojeva. Godišnja pretplata za 2009. godinu iznosi: 4 000 dinara za građane Srbije, 8 000 dinara za ustanove iz Srbije i 150 € za strane državljanke i ustanove. Sredstva se uplaćuju na tekući račun Vojnomedicinske akademije Beograd kod Uprave za javna plaćanja u Beogradu broj: **840-941621-02 VMA (za Vojnosanitetski pregled ili za VSP), PIB 102116082 ili na devizni račun kod Narodne banke broj: 54104-oznaka valute-549**. Uplatnicu (dokaz o uplati) dostaviti lično ili poštom (pismom, faksom, *e-mail*-om). Za zaposlene u MO i Vojski Srbije moguća je i pretplata u 12 mesečnih rata putem trajnog naloga, tj. „odbijanjem od plate“. Popunjen obrazac poslati na adresu VSP-a.

PRIJAVA ZA PRETPLATU NA ČASOPIS „VOJNOSANITETSKI PREGLED“

Ime i prezime ili naziv ustanove	
Jedinstveni matični broj građana	
Poreski identifikacioni broj (PIB) za ustanove	
Mesto	
Ulica i broj	
Telefon / telefaks	
Pretplata na časopis „Vojnosanitetski pregled“ (zaokružiti):	
1. Lično. Dokaz o pretplati dostavljam uz ovu prijavu.	
2. Za pripadnike MO i Vojske Srbije: Dajem saglasnost da se prilikom isplate plata u Računovodstvenom centru MO iz mojih nadležnosti obustavlja iznos mesečne rate (preplate).	
3. Virmanom po prijemu profakture.	
Datum _____	Potpis _____



VOJNOSANITETSKI PREGLED
VOJNOMEDICINSKA AKADEMIJA
Crnotravska 17, 11040 Beograd, Srbija
Tel/Fax: +381 11 2669689
vmaini1@eunet.yu
vmaini2@eunet.yu

Časopis „Vojnosanitetski pregled“ izlazi godišnje u 12 brojeva. Godišnja pretplata za 2009. godinu iznosi: 4 000 dinara za građane Srbije, 8 000 dinara za ustanove iz Srbije i 150 € za strane državljanke i ustanove. Sredstva se uplaćuju na tekući račun Vojnomedicinske akademije Beograd kod Uprave za javna plaćanja u Beogradu broj: **840-941621-02 VMA (za Vojnosanitetski pregled ili za VSP), PIB 102116082 ili na devizni račun kod Narodne banke broj: 54104-oznaka valute-549**. Uplatnicu (dokaz o uplati) dostaviti lično ili poštom (pismom, faksom, *e-mail*-om). Za zaposlene u MO i Vojski Srbije moguća je i pretplata u 12 mesečnih rata putem trajnog naloga, tj. „odbijanjem od plate“. Popunjen obrazac poslati na adresu VSP-a.

PRIJAVA ZA PRETPLATU NA ČASOPIS „VOJNOSANITETSKI PREGLED“

Ime i prezime ili naziv ustanove	
Jedinstveni matični broj građana	
Poreski identifikacioni broj (PIB) za ustanove	
Mesto	
Ulica i broj	
Telefon / telefaks	
Pretplata na časopis „Vojnosanitetski pregled“ (zaokružiti):	
1. Lično. Dokaz o pretplati dostavljam uz ovu prijavu.	
2. Za pripadnike MO i Vojske Srbije: Dajem saglasnost da se prilikom isplate plata u Računovodstvenom centru MO iz mojih nadležnosti obustavlja iznos mesečne rate (preplate).	
3. Virmanom po prijemu profakture.	
Datum _____	Potpis _____

