

# ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД



Часопис лекара и фармацевтица Војске Србије

Military Medical and Pharmaceutical Journal of Serbia

*Vojnosanitetski pregled*

Vojnosanit Pregl 2009; December vol. 66 (No. 12): pp. 941-1028.

---

---



# ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

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

Часопис наставља традицију *Војно-санитетског 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. dr Вељко Тодоровић, бригадни генерал (председник)

## УРЕЂИВАЧКИ САВЕТ

проф. dr sc. med. Бранко Глигина, пук.  
проф. dr sc. med. Миодраг Јевтић, генерал-мајор  
проф. dr sc. med. Небојша Станковић, пук.  
доц. dr sc. med. Вељко Тодоровић, бригадни генерал  
prof. dr 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. Sheinkopf (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. dr sc. pharm. Силва Добрић

### Уредници:

проф. dr sc. med. Бела Балинт  
проф. dr sc. med. Дубравко Бокоњић  
доц. dr sc. med. Драган Динчић, пук.  
доц. dr sc. med. Бранка Ђуровић  
проф. dr sc. med. Мирјана Животић-Вановић  
проф. dr sc. med. Небојша Јовић, пук.  
академик Владимира Кањућ  
академик Владимира Костић  
проф. dr sc. med. Ђоко Максић, пук.  
доц. dr sc. med. Гордана Мандић-Гајић  
проф. dr sc. stom. Марјан Марјановић, пук. у пензији  
академик Миодраг Остојић  
проф. dr sc. med. Љиљана Павлица  
академик Сава Перовић  
проф. dr sc. med. Предраг Пешко, FACS  
проф. dr sc. med. Ранко Раичевић, пук.  
проф. dr sc. med. Зоран Рогановић, пук.  
проф. dr sc. med. Војкан Станић, пук.  
доц. dr sc. med. Дара Стефановић  
проф. dr sc. stom. Љубомир Тодоровић  
доц. dr sc. med. Снежана Џеровић  
проф. dr sc. psych. Миланко Чабаркапа  
академик Миодраг Чолић, пук.  
академик Радоје Чоловић  
проф. dr sc. med. Владимира Ђук  
доц. dr sc. med. Весна Шульгић



Технички секретар уређивачког одбора  
dr Маја Марковић

## РЕДАКЦИЈА

mr sc. med. dr Соња Андрић-Кривокућа, dr Снежана Јанковић, dr Маја Марковић, dr sc. Александра Гогић

Технички уредник: Милан Перовановић

Редактор за српски и енглески језик:

Драгана Мучибабић, проф.

Коректор: Љиљана Николић

Компјутерско-графичка обрада:

Светлана Стјајић, Весна Тотић, Јелена Васиљ

**Адреса редакције:** Војномедицинска академија, Институт за научне информације, Црнотравска 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: [vmaini1@Unet.rs](mailto:vmaini1@Unet.rs) (главни и одговорни уредник) и [vmavsp@hotmail.com](mailto:vmavsp@hotmail.com) (редакција).

Радове објављене у „Војносаниитетском 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 Војносаниитетски преглед), ПИБ 102116082. За претплату из иностранства обратити се служби претплате на тел. 3608 997. 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. 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 Bokonjić**, 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 Pavlić**, 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, PhD

## 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.rs](mailto:vmaini1@EUnet.rs) and [vmavsp@hotmail.com](mailto:vmavsp@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 in Uprava za javna plaćanja in Belgrade. Giro Account No. 840-941621-02 – VMA (za *Vojnosanitetski pregled*), PIB 102116082. To subscribe from abroad phone to +381 11 3608 997. Subscription prices per year: individuals 4 000.00 Din, and institutions 8 000,00 Din in Serbia, and foreign subscribers 150€.



## S A D R Ž A J / C O N T E N T S

### UVODNIK / EDITORIAL

*Srđan Lazić*

#### **Novi grip – stara bolest u novom ruhu**

A new flu – an old disease in a new suit ..... 947

### ORIGINALNI ČLANCI / ORIGINAL ARTICLES

*Sanja Dugonjić, Boris Ajdinović, Snežana Cerović, Zoran Janković*

#### **Validity of dual tracer $^{99m}$ Tc-tetrofosmin and $^{99m}$ Tc-pertechnetate subtraction parathyroid scintigraphy in patients with primary and secondary hyperparathyroidism**

Validnost suptraktione scintigrafije  $^{99m}$ Tc-tetrofosminom i  $^{99m}$ Tc-pertehnetatom kod bolesnika sa primarnim i sekundarnim hiperparatiroidizmom ..... 949

*Marija Trenkić Božinović, Vuka Katić, Dragan Krasić, Dragan Veselinović, Predrag Jovanović,*

*Miljan Krstić*

#### **Clinical, histopathological and immunohistological study of lymphoid disorders in the parotid gland of patients with Sjögren's syndrome**

Klinička, morfološka i imunohistohemijska analiza limfoidnog poremećaja u parotidnoj žlezdi kod bolesnika sa Sjegrenovim sindromom ..... 955

*Jelena Paović, Predrag Paović, Miroslav Vukosavljević*

#### **Clinical and immunological features of retinal vasculitis in systemic diseases**

Kliničke i imunološke karakteristike retinalnog vaskulitisa u sistemskim oboljenjima ..... 961

*Boris Djindjić, Goran Ranković, Miško Živić, Todorka Savić, Mirjana Spasić, Maja Bubanj*

#### **Polno uslovljene razlike u hipolipemičnom i antiinflamatornom delovanju statina kod bolesnika sa dijabetesom melitusom tip 2 i koronarnom bolešću**

Gender difference in hipolipemic and anti-inflammatory effects of statins in diabetics with coronary artery disease ..... 966

*Nataša Mitrović-Perišić, Slobodan Antić*

#### **Faktori rizika od koronarne bolesti srca i aktuelni dijagnostički kriterijumi za dijabetes melitus**

Risk factors for coronary heart disease and actual diagnostic criteria for diabetes mellitus ..... 973

*Miroslav Vukosavljević, Milorad Milivojević, Mirko Resan, Vesna Cerović*

#### **Laser *in situ* keratomileusis (LASIK) u korekciji miopije i hipermetropije – naše jednogodišnje iskustvo**

Laser *in situ* keratomyleusis (LASIK) for correction of myopia and hypermetropia – our one year experience ..... 979

*Miloš Duka, Branko Mihailović, Milan Miladinović, Aleksandar Janković, Biljana Vujičić*

#### **Evaluacija sistema za telemedicinsku dijagnostiku impaktiranih umnjaka**

Evaluation of telemedicine systems for impacted third molars diagnosis ..... 985

*Zorica Lepšanović, Dejana Savić, Branka Tomanović*

**Pouzdanost primene Cobas Amplicor PCR testa za detekciju *Mycobacterium tuberculosis* iz respiratornih i nerespiratornih uzoraka**

Reliability of Cobas Amplicor PCR test in detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory and nonrespiratory specimens ..... 992

*Slobodan Obradović, Bela Balint, Radoslav Romanović, Zoran Trifunović, Siniša Rusović, Branislav Baškot, Marija Dopudja, Gordana Trifunović, Sašo Rafajlović, Robert Jung, Branko Gligić*

**Influence of intracoronary injections of bone-marrow-derived mononuclear cells on large myocardial infarction outcome: quantum of initial necrosis is the key**

Uticaj intrakoronarne primene mononuklearnih ćelija poreklom iz koštane srži na ishod velikog infarkta miokarda: veličina inicijalne nekroze je ključ..... 998

**AKTUELNE TEME / CURRENT TOPIC**

*Zoran Stajić, Zdravko M. Mijailović*

**Kardiovaskularni skrining sportista**

Cardiovascular screening of athletes ..... 1005

**KAZUISTIKA / CASE REPORTS**

*Ilija Andrijević, Jovan Matijašević, Djordje Považan, Marija Kojić, Uroš Batranović*

**Teška forma legionarske bolesti kod imunokompetentnog bolesnika**

Severe form of Legionnaires' disease in an immunocompetent patient ..... 1010

*Dušan Marić, Dejan Madić, Dušica Marić, Milan Stanković, Miroslav Smajić*

**Hernija prednjeg tibijalnog mišića – rekonstrukcija periost patch plastikom**

Anterior tibial muscle hernia – reconstruction with periosteal patch plasty ..... 1015

*Laura D. Ciobanu, Dragica P. Pešut*

**Tuberculous synovitis of the knee in a 65-year-old man**

Tuberkulozni sinovitis kolena kod muškarca starog 65 godina..... 1019

**ERRATUM..... 1023**

**UPUTSTVO AUTORIMA / INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS ..... 1025**



Novi, pandemski soj virusa gripa tip A (H1N1), uzročnik svinjskog gripa, prvi put je registrovan ovog proleća, najpre u Meksiku, ali vrlo brzo proširio se celom planetom. U zavisnosti od aktuelne situacije svaka zemlja preduzima odgovarajuće mere zaštite. U Srbiji je u novemburu proglašena epidemija i, sa glasno tome, preduzete su potrebne mere prevencije širenja infekcije, a u decembru planira se vakcinisanje rizičnih grupa stanovništva (vidi Uvodnik).

A new, pandemic influenza virus type A (H1N1), firstly occurred this spring in Mexico, has spread very quickly around the whole planet. Depending on current situation, each country undertakes adequate protective activities. In the Republic of Serbia, swine flu epidemic was proclaimed in November, and, accordingly, a number of measures to prevent flu spread have been undertaken including vaccination of highly risk people against swine flu virus planned to be performed in December (see Editorial).

**Srećnu novu 2010. godinu i Božićne praznike želi Vam  
Vojnosanitetski pregled!**



**Merry Christmas and Happy New Year!  
Vojnosanitetski pregled**



ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД  
ВОЈНОМЕДИЦИНСКА АКАДЕМИЈА  
Црнотравска 17, 11 040 Београд, Србија  
Тел/факс: +381 11 266 96 89  
[vmaini1@eunet.rs](mailto:vmaini1@eunet.rs)  
[vmavsp@hotmail.com](mailto:vmavsp@hotmail.com)

## Приступ 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 научноинформационску базу.

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



## Novi grip – stara bolest u novom ruhu

A new flu – an old disease in a new suit

Srđan Lazić

Vojnomedicinska akademija, Institut za epidemiologiju, Beograd, Srbija

Nakon više od četiri decenije konačno nam je stigao dugo najavljeni, mada neželjeni gost, pandemijski soj virusa influence. Za nekoliko meseci od domaćio se na većem delu planete. Virus gripa nas je po ko zna koji put iznenadio, iako nijedan uzročnik zaraznih bolesti nije u toj meri izučavan.

Počev od 16. veka, u proseku javljaju se tri pandemije gripa na svakih sto godina, u intervalima od deset do pedeset godina. U poslednjih sto godina imali smo, takođe, tri pandemije, 1918., 1957. i 1968. godine. Svaku pandemiju gripa dosad karakterisalo je više miliona obolelih sa velikim brojem fatalnih ishoda, a socijalno-ekonomiske posledice po društvo u celini bile su devastirajuće jer je oporavak trajao i više godina.

Ipak, čini se da svet nikada nije bio spremniji za pandemiju nego danas. Pripreme traju godinama i koordinira ih Svetska zdravstvena organizacija, a i naša zemlja počela je sa ozbiljnim pripremama još pre nekoliko godina. Zvono za uzbunu bila je pojava takozvanog „ptičjeg gripa“. Soj virusa influence A H5N1 prvi put pojавio se u Hong Kongu 1997. godine, a veću pažnju svetske javnosti izazvao je u prvoj deceniji ovog veka. Ovaj podtip virusa imao je dve od tri osobine neophodne za pandemijski soj. Prvo, bio je potpuno nov, sposoban da inficira ljude i, drugo, cela svetska populacija bila je osetljiva. Na sreću, ovaj virus koji je izazivao visok letalitet kod inficiranih, nije stekao sposobnost interhumanog prenošenja, što je treća karakteristika neophodna da bi soj postao pandemijski.

Aktuelna pandemija izazvana virusom influence A H1N1 započela je u martu 2009. godine u Meksiku. Do danas zahvatila je oko 200 zemalja širom sveta. Iako smo pretpostavljali da bi Univerzijada, kao veliki međunarodni sportski dogadjaj, mogla biti mesto pojave prvih slučajeva infekcije virusom novog gripa u Srbiji, to se nije dogodilo. Prvi, potvrđeni, importovani slučajevi kod nas, javili su se pre ove manifestacije, a Univerzijada, što smo i očekivali, nije dovela do masovnijeg obolenja u zemlji. Nešto veći problem imali smo sa festivalom „Egzit“ u Novom Sadu, jer smo u toku ove manifestacije praktično imali prelivanje epidemije

iz Velike Britanije na naše prostore. Sa hladnijim danima, u oktobru započeo je i prvi značajniji talas obolenja kod nas. Prva registrovana epidemija pogodila je kolektiv Vojne garnizonije, da bi ubrzo počelo prijavljivanje novih slučajeva u više regiona širom Srbije. Do kraja novembra u Republici potvrđeno je preko tri stotine slučajeva, a procenjuje se da je obbolelo nekoliko desetina hiljada ljudi. Srećom, kod većine obolelih klinička slika je blaga i bez komplikacija.

Bolest se prenosi kapljčnim putem. Simptomi bolesti su uglavnom identični onim koji su nam dobro poznati kod sezonskog gripa. Kod manjeg broja obolelih mogu se javiti povraćanje i prolijevi. Prosečno vreme inkubacije je od tri do sedam dana. Inficirane osobe zarazne su jedan dan pre, do sedam dana nakon pojave prvih simptoma. Deca i imunodeficijentne osobe mogu da šire virus i duže od sedam dana. Najčešće komplikacije bolesti su bakterijske infekcije pluća, ali i zapaljenje uva i sinusa. Zapaženo je i da virus novog gripa ima izrazit afinitet prema plućnom tkivu, te da često izaziva primarnu virusnu pneumoniju kao uvod u tešku respiratornu insuficijenciju, koja zahteva lečenje bolesnika u jedinicama intenzivne nege uz asistiranu ventilaciju obično duže vreme. Najveći broj fatalnih slučajeva upravo se javlja kod ovakvih bolesnika. Letalitet od tzv. sezonskog gripa, ali razlika postoji u uzrasnoj raspodeli bolesti i fatalnim ishodima. Najveći broj infekcija virusom gripa H1N1 i smrtnih ishoda registruje se kod odraslih do 50 godina starosti. U najvećem riziku od težih oblika bolesti koji zahtevaju hospitalizaciju su osobe obolele od nekih hroničnih bolesti, kao što su astma i hronična opstruktivna bolest pluća, šećerna bolest, gojaznost, osobe sa imunodeficiencijom, trudnice i deca mlađa od pet godina. Virus je i dalje osetljiv na inhibitore neuraminidaze, zanamivir i oseltamivir (Tamiflu®), mada su prijavljeni i slučajevi rezistencije na oseltamivir.

Kako se zaštитiti? Opšte mere prevencije nikada se nisu pokazale naročito efikasnim kod respiratornih bolesti, ali ih svakako treba primenjivati u cilju smanjenja rizika od obolenja. Dakle, provetranje prostorija, izbegavanje masovnih

skupova, kad je to moguće, higijena ruku i disajnih puteva, nošenje maski kad je to neophodno (blizak kontakt sa inficiranim osobom), mogu biti od značaja za usporavanje širenja virusa u populaciji. Nesporno je, ipak, da je vakcinacija, kao specifična mera prevencije, najefikasnija zaštita od obolevanja. Ni vakcina, međutim, ne pruža stopostotnu zaštitu, pa će određeni broj vakcinisanih oboleti, ali će simptomi kod ovih osoba biti daleko blaži. Zbog toga, ciljne grupe za vakcinaciju su osobe koje su u najvećem riziku od najtežih formi bolesti, kao i zaposleni u javnim službama, neophodni za normalno funkcionisanje države. U poslednje vreme vodi se žučna polemika o sigurnosti vakcine, te su ljudi u dilemi da li da zaštite sebe i svoje bližnje na ovaj način ili ne. Moj lični stav je da nikoga ne možemo naterati da se vakciniše. Svaka vakcina, uključujući i ovu, može da ima i neželjene efekte. Sve se svodi na procenu rizika. Ono što je nesporno, rizik od vakcine daleko je manji od rizika od teške forme bolesti.

Odluka treba da bude lična, zasnovana na pravim i javnosti dostupnim informacijama. Podsetio bih samo da se deci daje živa vakcina protiv dečije paralize, mada je poznato da je od tri miliona vakcinisane dece jedno u riziku od poliomijelitisa izazvanog vakcinalnim sojem. Ipak, dobro je poznata i činjenica da bi daleko više dece obolelo i umrlo ili ostalo paralizovano, ukoliko ih ne bismo vakcinisali.

Šta nas očekuje? Prvi epidemijski talas u Srbiji naizgled se smiruje, ali najverovatnije je da će taj predah biti kratak i da nas do proleća očekuje još nekoliko talasa epidemije. Virus gripa A H1N1 trenutno je dominantan na našim prostorima, kruži u populaciji i verovatno je da ga se nećemo uskoro rešiti. Podizanjem kolektivnog imuniteta populacije (vakcinacijom i prokužavanjem) smanjivaće se broj novobolelih, a time i broj fatalnih ishoda. Nadajmo se da će u dobledno vreme i ovo biti „samo“ grip, a ne udarna vest u medijima.



## Validity of dual tracer $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmin and $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetate subtraction parathyroid scintigraphy in patients with primary and secondary hyperparathyroidism

Validnost suptraktione scintigrafije  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosminom i  $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetatom kod bolesnika sa primarnim i sekundarnim hiperparatiroidizmom

Sanja Dugonjić\*, Boris Ajdinović\*, Snežana Cerović†, Zoran Janković\*

Military Medical Academy, \*Institute of Nuclear Medicine, †Institute of Pathology,  
Belgrade, Serbia

### Abstract

**Background/Aim.** Primary hyperparathyroidism (pHPT) is an endocrine disease with the third highest incidence of all endocrine disorders after diabetes mellitus and hyperthyroidism. pHPT is typically caused by a solitary parathyroid adenoma, less frequently by multiple parathyroid gland disease (MGD) and rarely by parathyroid carcinoma. Secondary hyperparathyroidism (sHPT) is a common complication in patients with chronic renal failure. The aim of this study was to estimate sensitivity of dual tracer  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmin and  $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetate subtraction scintigraphy in detection of abnormal parathyroid glands in patients with pHPT and sHPT confirmed by histopathology. **Methods.** In 46 patients, (77 abnormal parathyroid glands), 30 with pHPT and 16 with sHPT parathyroid scintigraphy was done preoperatively. All the patients had histopathological confirmation of diagnosis. Abnormal parathyroid glands weighted from 0.1 to 7 g. After *iv* injection dynamic scintigraphy during 25 minutes (one frame-one minute) using 555 MBq of  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmin, and three hours latter using 111 MBq of  $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetate was performed.  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmin dynamic

study was followed by static scintigraphy of the neck and chest 30 minutes, 1, 2 and 3 hours after *iv* injection. **Results.** An abnormal scintigraphic finding was found in 44 of 46 patients with sensitivity of 96%. In pHPT sensitivity was 93% (28 of 30 patients, and 28 of 30 glands). In sHPT scintigraphy was abnormal in all the patients (sensitivity 100%). In the patients with sHPT scintigraphy detected 30 of 47 abnormal parathyroid glands (sensitivity 64%). An overall sensitivity of scintigraphy per gland, for pHPT and sHPT in detecting 58 of 77 abnormal parathyroid glands was 75%. **Conclusion.** An abnormal scintigraphic result per patient was found in 44 patients (sensitivity 96%) and 58 of 77 abnormal parathyroid glands were detected (sensitivity 75%). A high sensitivity of dual tracer subtraction  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmin/ $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetate parathyroid scintigraphy in detecting abnormal parathyroid glands in primary and secondary hyperparathyroidism was achieved.

**Key words:**  
parathyroid diseases; parathyroid hormones;  
hyperparathyroidism; radionuclide imaging;  
organotechnetium compounds; sensitivity and  
specificity.

### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Primarni hiperparatiroidizam (pHPT) je endokrinoško oboljenje čija je incidencija na trećem mestu posle dijabetesa melitusa. Najčešće nastaje kao posledica solitarnog paratiroidnog adenoma, zatim zbog multiple bolesti paratiroidnih žlezda, a retko zbog paratiroidnog karcinoma. Sekundarni hiperparatiroidizam (sHPT) je česta komplikacija kod bolesnika sa hroničnom renalnom insuficijencijom. Cilj ovog rada bio je da odredи osetljivost suptraktione scintigrafije paratiroidnih žlezda  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosminom i  $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetatom u detekciji patološki izmenjenih paratiroidnih žlezda kod bolesnika sa pHPT i sHPT, dokazanim patohistološki. **Metode.** Scintigrafija paratiroidnih žlezda urađena je preoperativno kod 46 bolesnika, (77 patološki izmenjenih i uvećanih paratiroidnih žlezda), 30 sa primarnim i 16 sa se-

kundarnim hiperparatiroidizmom. Svi bolesnici imali su patohistološku potvrdu dijagnoze. Patološki izmenjene paratiroidne žlezde težile su od 0,1 do 7 g. Posle *iv* injekcije 555MBq  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmina rađena je dinamska scintigrafija vrata u trajanju od 25 minuta (jedna sličica-jedan minut). Posle dinamske studije  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosminom rađena je statička scintigrafija vrata i grudnog koša 30 minuta, 1, 2 i 3 sata posle *iv* injekcije. Posle *iv* injekcije 111 MBq  $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetata rađena je dinamska scintigrafija vrata, najranije tri sata od *iv* injekcije  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmina. **Rezultati.** Patološki izmenjene paratiroidne žlezde nađene su scintigrafski kod 44 od 46 bolesnika, sa osetljivošću po bolesniku od 96%. Kod bolesnika sa pHPT osetljivost scintigrafije bila je 93% (kod 28 od 30 bolesnika, tj. 28 od 30 žlezda). Kod bolesnika sa sHPT svi bolesnici imali su patološki scintigrafski nalaz (osetljivost 100%). Kod bolesnika sa sHPT scintigra-

fija je otkrila 30 od 47 patološki izmenjenih paratiroidnih žlezda (osetljivost 64%). Ukupna osetljivost, izračunata po žlezdi, za pHPT i sHPT bila je 75% (otkriveno 58 od 77 patološki izmenjenih paratiroidnih žlezda). **Zaključak.** Patološki scintigrafski nalaz nadjen je kod 44 od 46 bolesnika (osetljivost 96%). Otkriveno je 58 od 77 patološki izmenjenih paratiroidnih žlezda (osetljivost 75%). Dobijena je visoka osetljivost suptrakcione scintigrafije paratiroidnih žlezda  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosminom i  $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetatom u otkrivanju

patološki izmenjenih i uvećanih paratiroidnih žlezda kod bolesnika sa primarnim i sekundarnim hiperparatiroidizmom.

**Ključne reči:**  
paratireoidne žlezde, bolesti; paratireoidni hormoni; hiperparatireoidizam; scintigrafija; organotehnecijumska jedinjenja; osetljivost i specifičnost.

## Introduction

Primary hyperparathyroidism (pHPT) is an endocrine disease with the third highest incidence of all endocrine disorders after diabetes mellitus and hyperthyroidism. Primary hyperparathyroidism is caused by secretion of excessive amounts of parathyroid hormone (PTH) by one or more enlarged diseased parathyroid gland(s). Two normal pairs of parathyroid glands are located in the neck posterior to the thyroid gland. pHPT is typically caused by a solitary parathyroid adenoma, less frequently (about 15% of cases) by multiple parathyroid gland disease (MGD) and rarely (about 1% of cases) by parathyroid carcinoma<sup>1–3</sup>. Patients with MGD have either double adenomas or hyperplasia of three or all four parathyroid glands. Secondary hyperparathyroidism (sHPT) is a common complication in patients with chronic renal failure<sup>4,5</sup>. Hypocalcemia, accumulation of phosphate and a decrease in the active form of vitamin D lead to increased secretion of PTH. When medical therapy fails, surgery becomes necessary. Successful parathyroidectomy depends on recognition and excision of all hyperfunctional parathyroid glands. Unguided bilateral exploration, dissecting all potential sites in the neck lead to remedy in 90–95% of patients<sup>6</sup>. Two main reasons for surgery failure are ectopic glands (retro-oesophageal, mediastinal, intrathyroid, in the sheath of the carotid artery, or undescended) and undetected MGD. The first neck exploration is optimal to cure hyperparathyroidism<sup>2,7,8</sup>. Reoperation is associated with the dramatic reduction in the success rate and an increase in surgical complications. Scintigraphic imaging is, therefore, mandatory before reoperation of persistent or recurrent hyperparathyroidism<sup>7</sup>. Because of that, most surgeons would now appreciate having information of localization of abnormal parathyroid tissue. This would minimize the need for reoperation and shorten operation time by avoiding unnecessary surgery. The most common preoperative localization methods for hyperparathyroidism are scintigraphy and ultrasonography<sup>9–21</sup>. High resolution ultrasound is sensitive enough for localization of abnormal parathyroid glands in the neck, but is unable for mediastinal ectopic enlarged parathyroid masses. Scintigraphy can visualize enlarged parathyroid glands in the neck and parathyroid glands with ectopic localization. The two normal pairs of parathyroid glands are located in the neck posterior to the thyroid gland. They are very small, weighing between 20 and 50 mg.  $^{99m}\text{Tc}$ -sestamibi and  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmin are intracellular tracers, and both go into thyroid and parathyroid tissue allowing visualization of enlarged parathyroid glands. Critical mass of parathyroid tissue for scintigraphic

visualization is about 300 mg<sup>2</sup>. Technetium-99m alone in the form of pertechnetate ( $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ) and I-123-sodium iodide are specific tracers for thyroid tissue and they are in use as second tracer for subtraction technique of parathyroid scintigraphy. Ectopic localization of parathyroid glands can be diagnosed by planar scintigraphy<sup>7,19–22</sup>, SPECT and SPECT-CT scintigraphy techniques, magnetic resonance imaging (MRI) and computerized tomography (CT)<sup>2,11,18,19,22–25</sup>.

The aim of this study was to estimate sensitivity of dual tracer  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmin and  $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetate subtraction scintigraphy, in detection of abnormal parathyroid glands in patients with primary and secondary hyperparathyroidism confirmed by histopathology.

## Methods

Parathyroid scintigraphy was done preoperatively in 46 patients (77 abnormal parathyroid glands). There were 34 female and 12 male patients, 24 to 78 years old, mean age was 54 years. Thirty patients had primary and sixteen secondary hyperparathyroidism. The patients with pHPT had iPTH values from 65 to 837 pg/mL, mean value 253 pg/mL, and plasmatic calcium levels from 2.4 to 3.89 mmol/L, mean value 2.89 mmol/L. Twenty one patient with pHPT had values of serum anorganic phosphates, ranged from 0.35 to 1.1 mmol/L, mean value 0.76 mmol/L. The patients with sPTH had iPTH from 518 to 2500 pg/mL, mean value 1547 pg/mL. Normal iPTH values were in the range from 10.0 to 72.0 pg/mL, for plasmatic calcium from 2.13 to 2.65 mmol/L and for anorganic phosphates from 0.81 to 1.53 mmol/L. All the patients had histopathological confirmation of the diagnosis. Abnormal parathyroid glands weighed from 0.1 to 7 g.

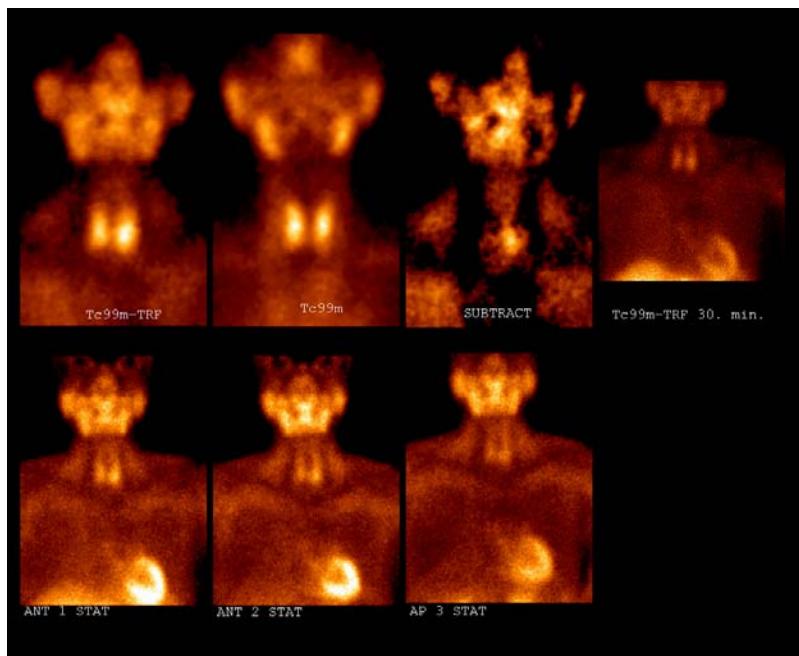
Scintigraphy was done using regular field-of-view gamma camera with a high-sensitivity parallel hole collimator centered at 140 keV with 20% window. After iv injection of 555 MBq of  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmin, with a head of gamma camera under the head, neck and chest of a patient, dynamic scintigraphy during 25 minutes (one frame-one minute) was performed. Late “tetrofosmin” static scintigrams of the neck and chest after 30 minutes, one, two and three hours after iv injection of  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmin were done. When  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmin was completely washed-out from thyroid gland, dynamic scintigraphy of thyroid gland after iv injection of 111 MBq of  $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetate, lasting 25 minutes (one frame-one minute) was performed. After normalization and motion correction, subtraction  $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetate from  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmin added dynamic scintigram was done.

Scintigraphic results were graded one to five: grade 1 - normal finding, grade 2 - probably normal finding, grade 3 - suspicious finding, grade 4 - probably abnormal finding and grades 5 - abnormal finding. Scintigraphic findings graded four and five were considered as positive. Sensitivity was calculated using decision matrix formula for sensitivity.

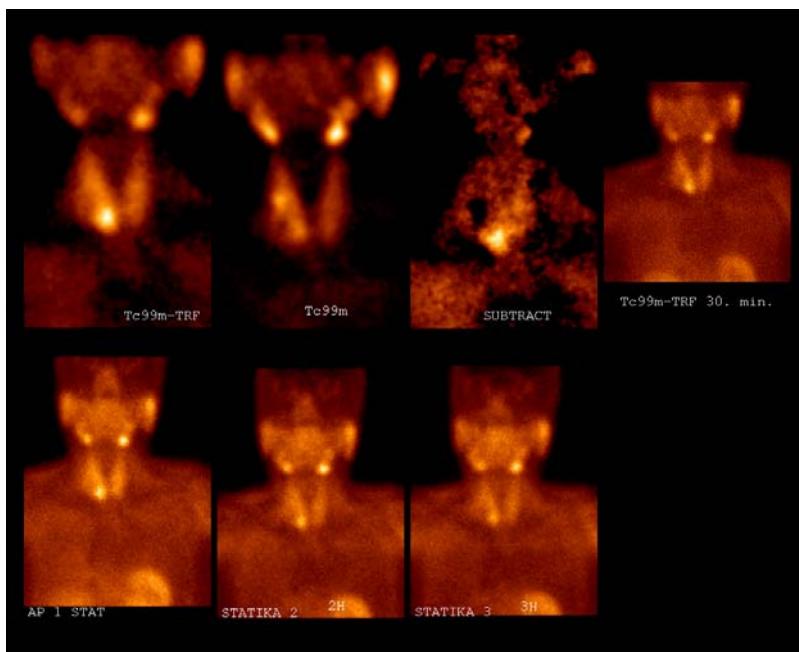
## Results

An abnormal scintigraphic finding was found in 44 of 46 patients, with sensitivity per patient of 96%. One patient

with pHPT had scintigraphic finding grade 2 and other one with pHPT scintigraphic finding grade 3. In the patient with scintigraphic finding grade 2, scintigraphic false negative finding was caused by a diffuse enlarged thyroid gland. Scintigraphy was false positive in the patient with scintigraphic finding grade 3, caused by thyroid colloid nodule, on the opposite side from enlarged parathyroid gland. From the remaining 28 patients with pHPT six patients had a scintigraphy finding grade 4, while 22 of them had scintigraphy finding grade 5. Primary hyperparathyroidism showed (Figures 1 and 2) scintigraphic sensitivity per gland of 93% (28



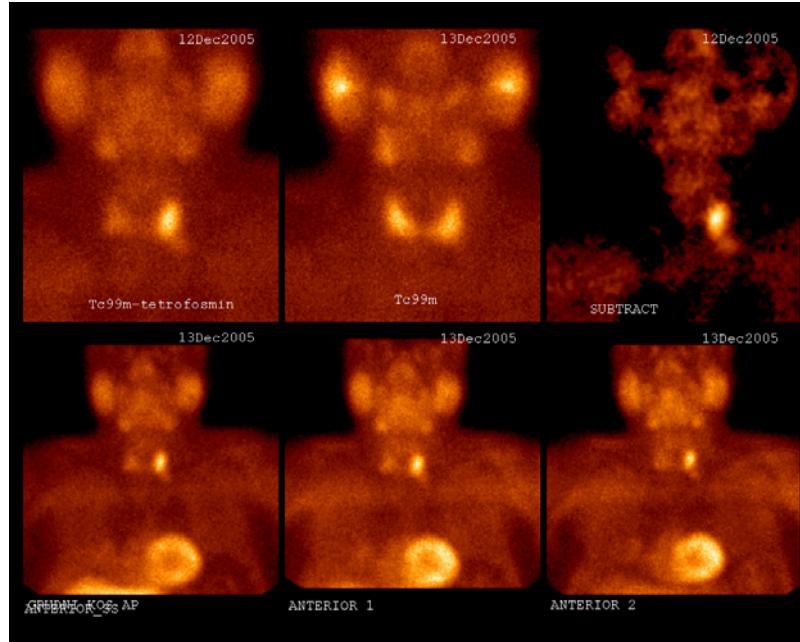
**Fig. 1 – Patient S.M, 65 years of age, Hyperparathyroidism prim. susp, Osteoporosis sec, PTH-225 pg/mL, CaU-2.83 mmol/L, P-0.84 mmol/L, ALP-159 U/L, Ca and P in urine b.o. Scintigraphy showed enlarged left inferior parathyroid gland**



**Fig. 2 – Patient M. N, 46 years of age, Hyperparathyroidism prim, Calculosis renis bill, CaU-2.91 mmol/L, P-0.72 mmol/L, PTH-267 pg/mL. US finding was hypoechogenic zone in right inferior pole of thyroid gland 10×7 mm in diameter: enlarged parathyroid gland of thyroid node. Scintigraphy showed enlarged right inferior parathyroid gland**

of 30 patients, i.e. 28 of 30 glands). All patients with the secondary hyperparathyroidism (Figure 3) had abnormal scintigraphic finding with sensitivity per patient of 100%, but sensitivity per gland, detecting 30 of 47 abnormal glands, was 64%. An overall sensitivity of scintigraphy for primary and secondary hyperparathyroidism per gland (detecting 58 of 77 abnormal parathyroid glands) was 75%.

pHPT, and 100% sensitivity per patient for sHPT. Causes of false negative findings are small weight, localization and kinetics of radionuclid uptake (cellularity and perfusion) of abnormal parathyroid glands, and large thyroid gland (mass > 35 g). Most frequent cause of false negative results is small gland weight. Enlarged hyperplastic parathyroid glands in sHPT have diffuse or nodular hyperplasia, and reach different weight and size in



**Fig. 3 – Patient P. J, 44 years of age, Insuff. Ren. Chr, Haemodialysis 6 years, PTH-1230 pg/mL. Scintigraphy showed Tc99m-TRF activity in projection of left uper half of thyroid gland and smaller amount of TRF activity below left inferior pole of thyroid gland, suggesting enlarged left superior and inferior parathyroid gland**

## Discussion

In the last decade improvements in sensitivity and specificity of diagnostic techniques for identifying parathyroid pathology in patients with primary and secondary hyperparathyroidism were made. This has increased the need for preoperative parathyroid imaging, because exact localization of abnormal parathyroid glands shortened operation time and allow minimally invasive parathyroid surgery<sup>22, 26, 27</sup>.

More than twenty years ago Ferlin et al.<sup>19, 20, 23</sup> introduced double tracer thallium-201/technetium-99m (<sup>201</sup>Tl/<sup>99m</sup>Tc) subtraction scintigraphy as a very sensitive method for localizing abnormal or aberrantly located parathyroid tissue. Since then parathyroid scintigraphy has been used for localizing enlarged parathyroid glands both in primary and secondary hyperparathyroidism. <sup>99m</sup>Tc-sestamibi and <sup>99m</sup>Tc-tetrofosmin were promoted as new radio pharmaceuticals first for myocardial perfusion imaging, about ten years later<sup>13, 14</sup>. Because of their high and uniform sensitivity, sestamibi and tetrofosmin are the radionuclides of choice for parathyroid imaging. Earlier papers reported wide range of sensitivity (26–94%) but uniform specificity, more than 95% of <sup>201</sup>Tl/<sup>99m</sup>Tc dual tracer subtraction scintigraphy<sup>7, 13, 14</sup>. Scintigraphy with <sup>99m</sup>Tc-sestamibi and <sup>99m</sup>Tc-tetrofosmin reaches sensitivity of 97%<sup>24, 25</sup>. Our results are similar reaching as high sensitivity as 96% per patient and 93% per gland, for

the same patient<sup>4</sup>. This is the most probable reason for lower sensitivity of parathyroid scintigraphy estimated for sHPT per gland, as in our study (64%). About 10% are false positive findings caused by diffuse or multinodular goitre or solitary adenoma of thyroid gland. False positive findings can cause sarcoid or metastatic lymph nodes in the neck. Later studies discussed cellular predominance, PEG expression and cellular metabolic activity as reasons for lesser or greater uptake of sestamibi and tetrofosmin<sup>5, 28–30</sup>.

Most of enlarged abnormal parathyroid glands have slower metabolism and wash-out of <sup>99m</sup>Tc-tetrofosmin and <sup>99m</sup>Tc-MIBI than thyroid gland, so they can be visualized in late “tetrofosmin/MIBI” scintigrams, without subtraction technique. Some abnormal parathyroid glands have a very high metabolism and fast wash-out of <sup>99m</sup>Tc-tetrofosmin from the gland, so they cannot be visualized on late scintigrams<sup>10, 12</sup>. In such cases and in cases of intrathyroid localization of parathyroid glands subtraction technique clearly delineate abnormal parathyroid gland. Further sensitivity can be achieved by using SPECT or SPECT-CT scintigraphic technique<sup>11, 24, 25</sup>. Using a probe perioperatively can be further extended for localization during operative procedures, leading to more accurate surgical results<sup>26, 27</sup>. In this group of patients double tracer subtraction technique and dual-phase technique were combined to obtain higher sensitivity of parathyroid scintigraphy.

## Conclusion

An abnormal scintigraphic result per patient was found in 44 patients (sensitivity 96%) with 58 abnormal glands detected

(sensitivity 75%). In this study a high sensitivity of dual tracer subtraction  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmin/ $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetate parathyroid scintigraphy in detecting abnormal parathyroid glands in primary and secondary hyperparathyroidism was achieved.

## R E F E R E N C E S

1. Ghandur-Mnaymneh L, Kimura N. The parathyroid adenoma. A histopathologic definition with a study of 172 cases of primary hyperparathyroidism. Am J Pathol 1984; 115(1): 70–83.
2. Parathyroid adenoma. Disease Topic 4778 [created: 2003 May 01, modified: 2003 May 02]. Available from: <https://rad.usuhs.edu/medpix/index.html>
3. Silverberg SJ, Bilezikian JP. Asymptomatic primary hyperparathyroidism: a medical perspective. Surg Clin North Am 2004; 84(3): 787–801.
4. Gasparri G, Camandona M, Abbona GC, Papotti M, Jeantet A, Radice E, et al. Secondary and tertiary hyperparathyroidism: causes of recurrent disease after 446 parathyroidectomies. Ann Surg 2001; 233(1): 65–9.
5. Grzela T, Chudzinski W, Lazarzyk M, Niderla J, Dziumycz P, Milewski L, et al. Persisted/recurrent hyperparathyroidism associated with development of multi-drug resistance phenotype and proliferation of parathyroid transplants. Int J Mol Med 2004; 14(4): 595–9.
6. Fine J, Eugene. Parathyroid Imaging: Its current Status and Future Role. Semin Nucl Med 1987; 27 (4): 350–9.
7. Rodriguez JM, Tezelman S, Siperstein AE, Dub QY, Higgins C, Morita E, et al. Localization procedures in patients with persistent or recurrent hyperparathyroidism. Arch Surg 1994; 129(8): 870–5.
8. Mack LA, Pasieka JL. Asymptomatic primary hyperparathyroidism: a surgical perspective. Surg Clin North Am 2004; 84(3): 803–16.
9. Barczyński M, Golkowski F, Konturek A, Bużak-Bereza M, Cichon S, Hubalewska-Dydyczyk A, et al. Technetium-99m-sestamibi subtraction scintigraphy vs. ultrasonography combined with a rapid parathyroid hormone assay in parathyroid aspirates in preoperative localization of parathyroid adenomas and in directing surgical approach. Clin Endocrinol (Oxf) 2006; 65(1): 106–13.
10. Siegel A, Mancuso M, Seltzer M. The spectrum of positive scan patterns in parathyroid scintigraphy. Clin Nucl Med 2007; 32(10): 770–4.
11. Gayed IW, Kim EE, Broussard WF, Evans D, Lee J, Broemeling LD, et al. The value of  $^{99m}\text{Tc}$ -sestamibi SPECT/CT over conventional SPECT in the evaluation of parathyroid adenomas or hyperplasia. J Nucl Med 2005; 46(2): 248–52.
12. Bénard F, Lefebvre B, Beuvon F, Langlois MF, Bisson G. Rapid washout of technetium-99m-MIBI from a large parathyroid adenoma. J Nucl Med 1995; 36(2): 241–3.
13. Thompson GB, Mullan BP, Grant CS, Gorman CA, van Heerden JA, O'Connor MK, et al. Parathyroid imaging with technetium-99m-sestamibi: an initial institutional experience. Surgery 1994; 116(6): 966–72.
14. Arslan N, İlhan S, Urban M, Karaçalıoglu AÖ, Arslan İ, Öztürk E, et al. The role of technetium-99m-sestamibi parathyroid scintigraphy in the detection and localization of parathyroid adenomas in patients with hyperparathyroidism: comparison with technetium-thallium subtraction scan and ultrasonography. Turk J Endocrinol Metabol 1999; 3(2): 47–52.
15. Dolezal J, Horáček J, Čeová V, Vizd'a J. Disagreement between findings of  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI and  $^{99m}\text{Tc}$ -pertechnetate scintigraphy scans in patients with primary hyperparathyroidism. Vnit Lek 2004; 50(1): 72–5. (Czech)
16. Aigner RM, Fueger GF, Nicoletti R. Parathyroid scintigraphy: comparison of technetium-99m methoxyisobutylisonitrile and technetium-99m tetrofosmin studies. Eur J Nucl Med 1996; 23(6): 693–6.
17. Fröberg AC, Valkema R, Bonjer HJ, Krenning EP.  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmin or  $^{99m}\text{Tc}$ -sestamibi for double-phase parathyroid scintigraphy? Eur J Nucl Med Mol Imaging 2003; 30(2): 193–6.
18. Ishibashi M, Nishida H, Hiromatsu Y, Kojima K, Uchida M, Hayabuchi N. Localization of ectopic parathyroid glands using technetium-99m sestamibi imaging: comparison with magnetic resonance and computed tomographic imaging. Eur J Nucl Med 1997; 24(2): 197–201.
19. Adams BK, Devi RT, Al-Haider ZY.  $^{99m}\text{Tc}$ -sestamibi localization of an ectopic mediastinal parathyroid tumor in a patient with primary hyperparathyroidism. Clin Nucl Med 2004; 29(6): 388–9.
20. Prasad B, Fleming RM. Intrathyroidal parathyroid adenoma. Clin Nucl Med 2005; 30(7): 467–9.
21. Rubello D, Gross MD, Mariani G, AL-Nabha A. Scintigraphic techniques in primary hyperparathyroidism: from pre-operative localization to intra-operative imaging. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2007; 34(6): 926–33.
22. Rubello D, Casara D, Pagetta C, Piotto A, Pelizzetti MR, Shapiro B. Determinant role of  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI SPECT in the localization of a retrotracheal parathyroid adenoma successfully treated by radioguided surgery. Clin Nucl Med 2002; 27(10): 711–5.
23. Quiros RM, Warren W, Prinz RA. Excision of a mediastinal parathyroid gland with use of video-assisted thoracoscopy, intraoperative  $^{99m}\text{Tc}$ -sestamibi scanning, and intraoperative monitoring of intact parathyroid hormone. Endocr Pract 2004; 10(1): 45–8.
24. Eslamy HK, Ziesman HA. Parathyroid scintigraphy in patients with primary hyperparathyroidism:  $^{99m}\text{Tc}$  sestamibi SPECT and SPECT/CT. Radiographics 2008; 28(5): 1461–76.
25. Nichols KJ, Tomas MB, Tronco GG, Rini JN, Kunjummen BD, Heller KS, et al. Preoperative parathyroid scintigraphic lesion localization: accuracy of various types of readings. Radiology 2008; 248(1): 221–32.
26. Chen H, Mack E, Starling JR. A comprehensive evaluation of perioperative adjuncts during minimally invasive parathyroidectomy: which is most reliable? Ann Surg 2005; 242(3): 375–80.
27. Kitagawa W, Shimizu K, Akasu H. Radioguided parathyroidectomy for primary hyperparathyroidism using the solid-state, multi-crystal gamma camera. Med Sci Monit 2003; 9(6): CS53–6.
28. Yamaguchi S, Yachiku S, Hashimoto H, Kaneko S, Nishihara M, Niibori D, et al. Relation between technetium 99m-methoxyisobutylisonitrile accumulation and multidrug resistance protein in the parathyroid glands. World J Surg 2002; 26(1): 29–34.
29. Rao VV, Chiu ML, Kronauge JF, Piwnica-Worms D. Expression of recombinant human multidrug resistance P-glycoprotein in insect cells confers decreased accumulation of technetium-99m-sestamibi. J Nucl Med 1994; 35(3): 510–5.
30. Sun SS, Shiao YC, Lin CC, Kao A, Lee CC. Correlation between P-glycoprotein (P-gp) expression in parathyroid and  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI parathyroid image findings. Nucl Med Biol 2001; 28(8): 929–33.

The paper received on March 18, 2009.

# Hemomycin

azitromicin

500mg

prašak za rastvor za infuziju

ATC: J01FA10



- širok spektar delovanja na aerobne mikroorganizme
- brza distribucija u tkiva
- visoka tkivna koncentracija
- dugotrajna antimikrobna aktivnost
- jednostavan za doziranje
- nizak potencijal za interreakcije

#### Indikacije:

- Vanbolnički stečena pneumonija (Chlamydia pneumoniae, Haemophilus influenzae, Legionella pneumophila, Moraxella catarrhalis, Mycoplasma pneumoniae, Staphylococcus aureus ili Streptococcus pneumoniae, kada je potrebno inicijalno parenteralno lečenje)
- Inflamantorna bolest karlice (Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae ili Mycoplasma hominis, kada je potrebno inicijalno parenteralno lečenje)

 **Hemofarm hospital Logica**



# Zenix

linezolid

600mg

10 film tableta

Oksazolidinoni - korisna terapijska alternativa

JKL 1 02 9 050

ATC J01XX08

#### indikovan u lečenju:

- rezistentnih gram-pozitivnih infekcija
- nozokomijalne pneumonije
- vanbolničkih pneumonija
- komplikovanih infekcija i kože mekih tkiva



**Zenix** (linezolid) nudi korisnu terapijsku alternativu kod sve učestalije pojave rezistentnih mikroorganizama, tamo gde konvencionalno lečenje nema rezultata ili gde se ne toleriše. Odlična oralna bioraspoloživost leka daje mogućnost da se mnoge infekcije koje su do sada lečene dugotrajnom intravenskom, antibakterijskom terapijom, mogu lečiti ranim prelaskom na oralnu terapiju. To ujedno omogućava prevodjenje pacijenata na ambulantno lečenje.

 **Hemofarm hospital Logica**





## Clinical, histopathological and immunohistological study of lymphoid disorders in the parotid gland of patients with Sjögren's syndrome

Klinička, morfološka i imunohistohemijska analiza limfoidnog poremećaja u parotidnoj žlezdi kod bolesnika sa Sjegrenovim sindromom

Marija Trenkić Božinović\*, Vuka Katić†, Dragan Krasić‡, Dragan Veselinović\*,  
Predrag Jovanović\*, Miljan Krstić†

Clinical Center Niš, \*Clinic for ophthalmology, Niš, Serbia; School of medicine, †Institute of Pathology, ‡Clinic of maxillofacial surgery, Niš, Serbia

### Abstract

**Bacground/Aim.** Sjögren's syndrome is a chronic autoimmune systemic disease characterized by polyglandular tissue destruction, leading to keratoconjunctivitis sicca and xerostomia. These patients have 44-fold increased risk of developing salivary gland lymphoma, of which 80% are marginal zone (MALT) type. Having in mind that criteria for distinguishing benign lymphoepithelial lesions from MALT lymphoma are obscure, the aim of this study was to provide practical information that could be integrated into diagnostic practice. **Methods.** Among 32 parotidectomies, 27 cases were identified as having benign lymphoepithelial disorders and 5 cases low grade MALT lymphoma. Histological sections were stained routinely with hematoxylin and eosin (H&E) and special stains. Immunohistochemical study was performed by LSAB2 method, by using primary antibodies for CD20, CD3, Kappa and Lambda light chains and Cytokeratin (Dako Denmark). **Results.** The 27 patients with Sjögren's sialadenitis (22 women and 5 men), and 5 patients with MALT lymphoma (only women) were included in this analysis. According to the Ann Harbor Classification, all patients with MALT lymphoma had stage IE. Both groups of patients had an indolent clinical course, except permanent, rapid parotid enlargement in the patients with MALT lymphoma. Histologically, the periductal lymphoid infiltrate, gradually extended to the acini, completely replacing them by a sea of polyclonal lymphocytes, immunoblasts, germinal centers and plasma cells (confirmed immunohistochemically), but sparing the ducts and preserving lobular appearance. The histological feature of salivary gland MALT lymphoma included heterogeneous B-cell infiltrate that totally or subtotaly had effaced the normal glandular structure. Malign lymphoepithelial lesions, representing infiltration of the ductal and epithelial structures by monoclonal neoplastic B-cells, positive for CD20, were highlighted by antibody to cytokeratin. **Conclusion.** The optimal diagnosis of salivary gland MALT lymphoma requires careful integration of clinical, morphological and immunohistochemical results.

### Key words:

sjögren's syndrome; lymphoma, B-cell, marginal zone;  
diagnosis, differential; histology;  
immunohistochemistry.

### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Sjegrenov sindrom je hronična autoimuna sistemska bolest okarakterisana poliglandularnom tkivnom destrukcijom, suvim keratitism i suvim ustima. Ovi bolesnici imaju 44 puta veći rizik od razvoja limfoma, pri čemu je kod 80% njih prisutan MALT tip. Zbog nejasnih kriterijuma za razlikovanje benignih limfoepitelnih lezija pljuvačnih žlezda od MALT limfoma, cilj ove analize bio je obezbeđivanje praktičnih, kliničkih, histopatoloških i imunohistohemijskih informacija o njima. **Metode.** Od 32 parotidektomije, kod 27 nadjen je Sjegrenov sijaloadenitis, a kod 5 MALT limfom. Laboratorijski preseci debljine 4 µm bojeni su hematoksilin/eozin (HE), Van Gieson, AB-PAS i LSAB2 metodama, uz korišćenje antitela na: CD3, CD20, kappa i lambda lake lance i panCytokeratin antigene. **Rezultati.** Analizom je bilo obuhvaćeno 27 bolesnika (22 žene i 5 muškaraca) sa Sjegrenovim sijalodenitom i pet bolesnika (samo žene) sa MALT limfomom. U skladu sa *Ann Harbor* klasifikacijom svi bolesnici sa MALT limfomom bili su u stadijumu IE. Obe grupe bolesnika imale su blagi klinički tok, sem bržeg povećanja jedne parotidne žlezde kod onih sa limfomom. Za razliku od benignih limfoepitelnih lezija, MALT limfom odlikovao se difuznim i gustim monoklonskim B-ćelijskim infiltratom, uz brisanje normalne građe pljuvačne žlezde i malignim limfoepitelnim lezijama infiltriranim monoklonskim tipom B limfocita potpuno ili delimično. Maligne limfoepitelne lezije, prikazane kao infiltracije duktusnih i epitelnih struktura monoklonskim neoplastičnim B-ćelijama pozitivnim na CD 20, prikazale su se pomoću antitela na citokeratin. **Zaključak.** Za optimalnu dijagnozu MALT limfoma pljuvačne žlezde neophodni su klinički, morfološki i imunohistohemijski nalazi.

### Ključne reči:

sjegrenov sindrom; limfom, malt; dijagnoza,  
diferencijalna; histologija;  
imunohistohemija.

## Introduction

Sjögren's syndrome (SS) was named after the Swedish ophthalmologist Henrik Sjögren who presented his doctoral thesis in 1933<sup>1</sup>. More recently, a number of studies have presented ground-breaking reports on SS, which now can be considered as a classical finding<sup>2</sup>. Sjögren's syndrome is a chronic autoimmune systemic disease characterized by polyglandular tissue destruction leading to keratoconjunctivitis sicca (KCS) and xerostomia<sup>3-10</sup>. Sjögren's syndrome is a worldwide disease and may occur in all ages. However, the peak incidence is in the fourth and fifth decades of life with a female/male ratio 9:1. It may develop alone (primary), or in association with an autoimmune diseases (secondary), the most frequent being rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus<sup>3, 8, 10</sup>. Clinical course of SS is a slowly progressing disease, without rapid deterioration in salivary function, with systemic markers of disease activity, or dramatic changes in symptoms<sup>3, 7, 8</sup>. These patients have a 44-fold increased risk of developing salivary gland lymphoma, of which 80% are low-grade B cell lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT)<sup>6</sup>. The criteria for distinguishing benign lymphoepithelial lesions from MALT lymphoma in salivary glands are obscure and controversial<sup>5, 11-18</sup>. There are few studies on the natural course of primary SS, but it has been described as a stepwise, gradual progression from a disorder mainly in exocrine glands, to systemic extraglandular features and finally to lymphoid neoplasia development<sup>2</sup>. In general, primary SS is characterized by a stable and rather mild course of glandular or extraglandular manifestations, in contrast to the increased risk for development of malignant lymphoma<sup>2</sup>. But, in the study on survivorship in a population-based cohort followed from 1976 to 1992, the authors did not demonstrate an increased mortality of patients with primary SS<sup>16</sup>. Having in mind that the distinction between sialadenitis usually in association with SS and early MALT lymphoma has difficulty proved using clinical criteria alone, we have decided to study the clinical, histopathological and immunohistochemical features of these diseases of the parotid gland.

## Methods

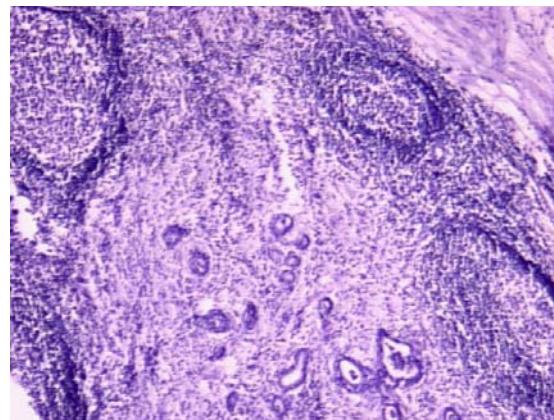
Among 32 patients with parotidectomies, induced by Sjögren's sialadenitis, sialadenitis calculosis chronica or parotid gland tumors, 27 cases were identified as primary SS with benign lymphoepithelial disorder and 5 cases with MALT lymphoma. These cases spanned the period 2003 through 2007 years. The resected tissue specimens were fixed in 10% buffered formalin and embedded in paraffin. Paraffin tissue sections were cut at 5 µm and stained routinely with hematoxylin and eosine (H&E). The special stains used included periodic acid-Schiff (PAS), Giemsa and silver impregnation for reticulin. Immunohistochemical study was performed by using labeled streptavidin-biotin (LSAB) Kit (DAKO Denmark). Hematoxylin was used for counterstaining. The sites of peroxidase were visualized with diaminobensidine tetrachloride. Pretreatment (antigen re-

trieval) was performed by heating tissue sections in 800W microwave oven for 15 minutes with 0.1 mol/L citrate pH=6. Following primary monoclonal antibodies were used: pan-Cytokeratin (epithelial marker), CD20 (B-lymphocyte marker), CD3 (T-lymphocyte marker) and light chains of kappa and lambda (marker for polyclonal lymphocytes). Endogenous peroxidase activity was blocked with 3% hydrogen peroxide solution. Nonspecific binding was reduced with 10% normal goat serum block before incubation. Appropriate positive and negative controls were included.

## Results

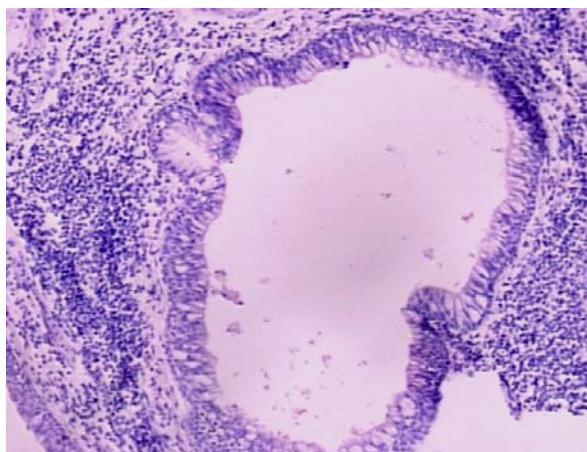
Of 32 patients with parotidectomies, Sjögren's sialadenitis was discovered in 27 patients (22 women and 5 men) and MALT lymphoma in 5 women. The median age at the time of parotidectomy was 52 years for patients with Sjögren's sialadenitis and 59 years for patients with MALT lymphoma. The duration of sicca symptoms (keratokonjunktivitis sicca and xerostomia) was from 4.7 to 9.5 years for Sjögren's sialadenitis and, about six years before the diagnosis for MALT lymphoma. The patients were typically presented with a painless mass that showed episodic enlargement. Two of the patients had a facial nerve paresis and pain. The important clinical sign of MALT lymphoma was permanent, rapid enlarged of parotid gland.

Histologically, periductal and perivasculär dense round cell infiltrate extended to the acini and formed lymphoid follicles, often with germinal centers (Figure 1). Somewhere,

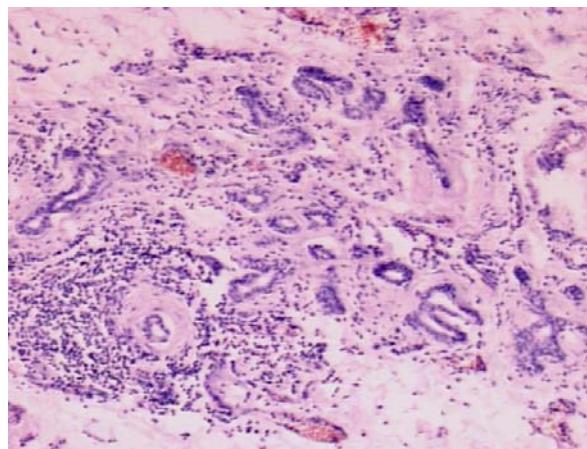


**Fig. 1 – Marked acinar atrophy, mononuclear infiltrate and lymphatic follicles with germinal centers (HE ×200)**

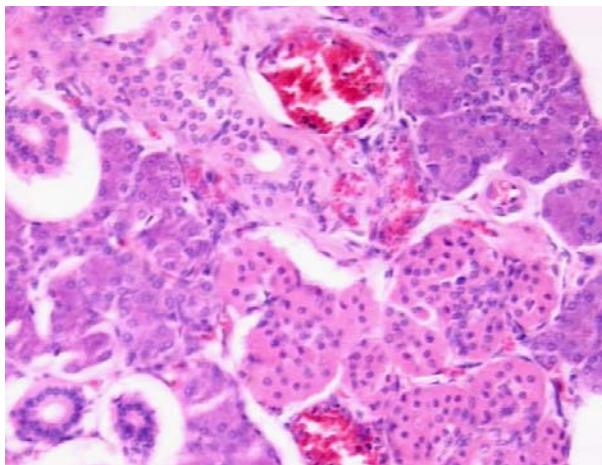
the parotid glands were completely replaced by a sea of polyclonal lymphocytes, plasma cells and macrophages. The stroma of the gland was preserved, an appearance that helps to differentiate this disorder from a lymphoma. Slightly dilated ducts without acini, the important characteristic of glandular atrophy, were seen everywhere (Figure 2). The characteristics of the late stage in the course of Sjögren's sialadenitis were also seen, predominantly atrophy of the acini, fibrosis (Figure 3), hyalinization, fatty infiltration and nests of oncocytic cell degeneration (Figure 4). Proliferating lymphoepithelial cells surrounded remnants of the damaged ducts, forming so-called benign lymphoepithelial islands.



**Fig. 2 – Periductal lymphocytic infiltrate with sialoduct ectasia (HE ×200)**



**Fig. 3 – Atrophic glands replaced by lymphoid infiltrate, lymphatic follicles and wide stromal fibrosis (HE ×200)**

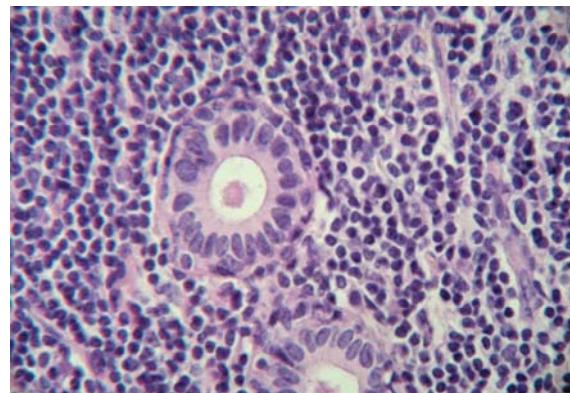


**Fig. 4 – Oncocytic adenomatoid metaplasia in the atrophic parotid gland tissue (HE ×400)**

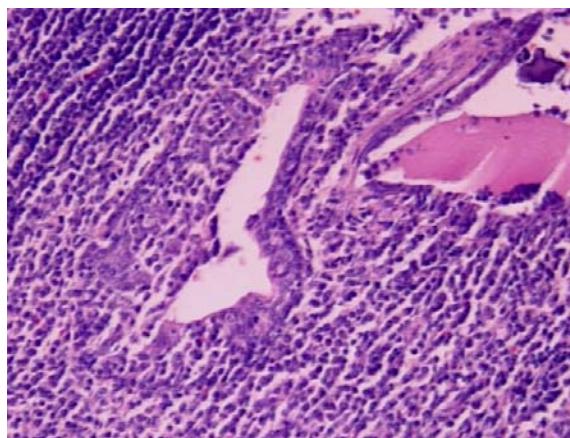
Immunophenotypic analysis, performed on paraffin sections, demonstrated that the majority of inflammatory cells were of polyclonal type.

The parotid gland was diffusely and extensively infiltrated by neoplastic lymphoid cells that disintegrated it, leaving only the clusters of degenerative cells and residual

ducts among the lymphoid infiltrate (Figure 5). The lymphoma cells showed varied cytological appearances, often with individual specimens. The most numerous cells of salivary MALT lymphoma had small to medium-sized, slightly irregular nuclei with moderately dispersed chromatin and inconspicuous nucleoli, resembling those of centrocytes; they had relatively abundant, pale cytoplasm. With the accumulation of more pale cytoplasm, and distinct cell borders, neoplastic cells had the monocyteoid appearance (Figure 6), or

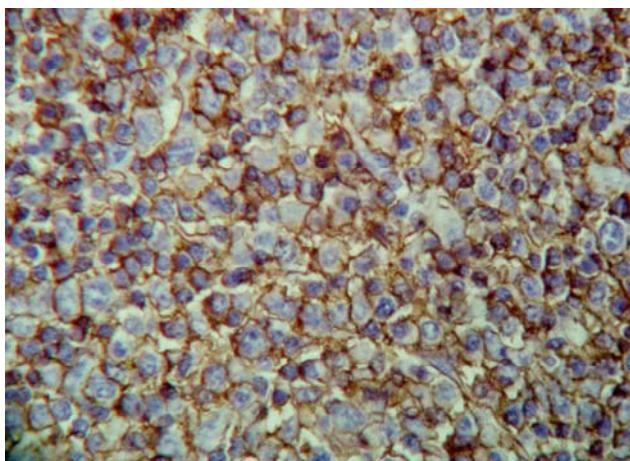


**Fig. 5 – Salivary gland is replaced by a dense and extensive lymphocytic infiltrate with residual two ducts (HE ×400)**

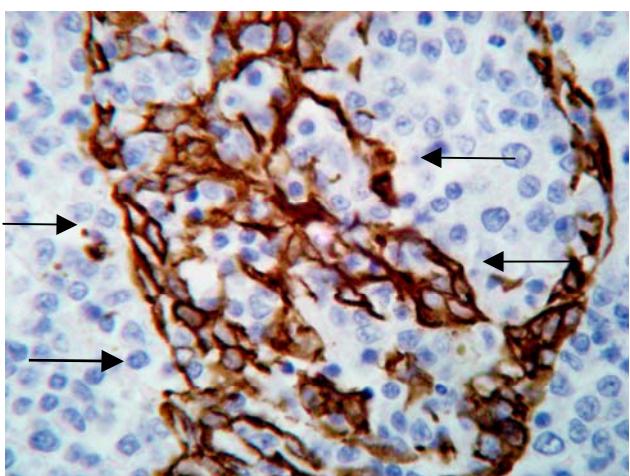


**Fig. 6 – Lymphoepithelial lesion with numerous pale lymphoid cells. These centrocyte-like/monocyteoid appearing cells extended beyond them, forming the confluent sheets (HE ×200)**

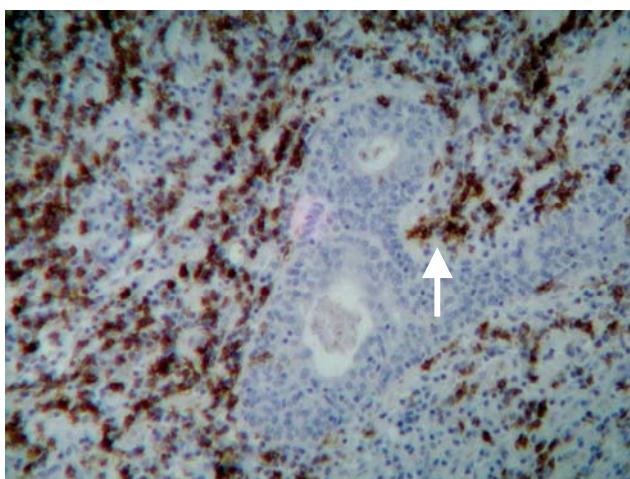
resembled small mature lymphocytes. Somewhere, variable numbers of plasma cells were frequently present, often adjacent to the epithelium. Scattered large transformed centroblast- or immunoblast-like cells were usually dispersed throughout the lymphoma. The immunophenotype of the neoplastic cells of MALT lymphoma was CD20 +, highlighting the extensive B-cell infiltrate, particularly around ducts (Figure 7). An important diagnostic feature of MALT lymphoma at many sites was the presence of malign (lymphoepithelial lesion (LEL) defined by the infiltration and destruction of the epithelial structures, often together with eosinophilic degeneration, by aggregates of neoplastic lymphoid cells and lymphoid follicles, highlighted by panCytokeratin and by CD20 (Figures 8 and 9).



**Fig. 7 – Immunophenotypic staining demonstrated that the majority of cells are CD20+ (LSAB ×400)**



**Fig. 8 – Lymphoepithelial lesions – positive expression of panCytokeratin inside ductal epithelium and negative inside infiltrative lymphocyte cell field (LSAB ×400)**



**Fig. 9 – Lymphoepithelial lesions – positive expression of CD20 inside ductal epithelium, infiltrated by lymphocytes (LSAB ×400)**

The tumor cells of MALT lymphoma expressed the marginal zone cell-associated antigens (CD20), immuno-

globulin light chain restriction and the lack of CD3 antigen, not only in lymphocytes adjacent to the lymphoepithelial lesions, but also within the lymphoepithelial lesions (Figures 9).

### Discussion

There are clinical evidences that SS and lymphoma are linked. The risk of B cell non-Hodgkin lymphoma (NHL) is by 44 times greater in patients with SS than in healthy population affecting about 5 percent of patients with SS<sup>2, 6, 13–16, 19–25</sup>. There are few studies on the natural course of primary SS, but it has been described as a stepwise, gradual progression of lymphoid disorder mainly in exocrine glands, to systemic extraglandular features and finally to lymphoid neoplasia development<sup>2, 26</sup>. However, in general primary SS is characterized by a stable and rather mild course of glandular or extraglandular manifestations, in contrast to the increased risk for development of malignant lymphoma<sup>2, 25–30</sup>. In a study on survivorship, in a population-based cohort followed from 1976 to 1992, the authors did not demonstrate increased mortality of patients with primary SS<sup>18</sup>. The salivary gland lymphoid infiltrates, associated with LEL, include broad spectrum of lympho (plasmocytic) proliferations that range from benign to small B cell lymphomas to large B-cell lymphomas<sup>12, 28–33</sup>. Depending on the precise type of proliferation, they go by a variety of different terms: benign lymphoepithelial (myoepithelial), sialoadenitis/extranodal marginal zone B cell lymphomas (MZL) or MALT type / high grade MALT lymphoma (diffuse large B cell lymphoma)<sup>26–30</sup>. About half of the cases are associated with SS or another autoimmune disorder such as rheumatoid arthritis, that was also confirmed by us in one case<sup>25, 30</sup>. Whereas most lesions with LEL in the past were considered benign but the categorization of these lesions now has become confusing due to varying criteria for lymphoma and recognition by some of borderline lesions or a “clonal disorder of uncertain malignant potential”<sup>25–28</sup>.

SS presents with a wide variety of clinical features. Onset of the disease is insidious and patients have difficulty in determining when the disease actually started. Keratoconjunctivitis sicca and xerostomia (so-called sicca complex) are the main clinical presentations in adults, whereas bilateral parotid swelling can be an obvious sign at juvenile disease onset<sup>2</sup>. More than half of the patients may develop the extraglandular manifestations during the evolution of the disease. Occasionally, systemic features may lead to the diagnosis<sup>2, 25, 30</sup>.

Anti-inflammatory therapy in primary SS significantly improved subjective symptoms and objective ocular signs<sup>2, 8, 22, 33–37</sup>. Artificial tears and soft contact lenses often alleviate the patient's ocular complains, and are of importance in preventing corneal damage and conjunctivitis<sup>2, 37</sup>. However, we did not find evidence that anti-inflammatory treatment increases tear production in these patients.

The management of dry mouth aims to prevent and treat infections, periodontal disease and dental caries. To reduce the risk of caries, it is necessary to maintain a good oral hy-

giene. Artificial saliva products and special toothpaste may also be benefit for certain patients, and fluoride supplementation is advocated. Eradication of oral candidiasis usually provides significant improvement of oral symptoms<sup>2, 26</sup>. Oral pilocarpine has been shown to be a safe treatment and provide significant subjective and objective benefits for patients suffering from symptoms associated with xerostomia. Another therapy includes systemic use of interferon-alpha, which may be of benefit for the symptoms associated with xerostomia.

The optimal therapeutic strategy for salivary MALT lymphoma is not yet defined and depends on the clinical stage of removed MALT lymphoma<sup>2, 12, 15, 33</sup>. On the basis of some retrospective analysis, the authors have concluded that there is no significant difference in outcomes among patients undergoing a variety of treatment modalities (surgery, radiotherapy, chemotherapy) and those undergoing to long-term follow-up<sup>2, 12, 15, 26, 28, 33-37</sup>.

Among the possible etiologic and triggering factors involved in Sjögren's syndrome, the discussion on relationship between viral infections causing the development of autoimmune reactions, began some decades ago<sup>3, 12, 23, 24</sup>. The putative role of different viruses can be viewed in the light that salivary glands are a site of latent viral infections and that lymphotropic viruses have the potential to trigger the autoimmune process. Some of the immunoreactive regions within the La/SS-B protein have been found to have sequence similarities with proteins of Epstein-Barr virus (EBV) and HIV-1. It seems reasonable that these viruses can promote autoantibody production<sup>3, 24, 26, 30</sup>.

Immunohistological analysis of lymphoid cell infiltration in the exocrine glands in SS shows a predominance of T-cells with fewer B-cells and macrophages<sup>3, 23, 24</sup>. The majority of T-cells in the lymphocytic infiltrates are CD4+ T-helper cells with CD4/CD8 ratio well over two. Most of these T-cells bear the memory phenotype and may contribute significantly to B cell hyperactivity. The B-cells make up roughly 20% of the infiltrating cell population in the affected glands, producing immunoglobulins with autoantibody activity. About 75% of patients have rheumatoid factor regardless of whether coexisting rheumatoid arthritis is present or not<sup>26, 30-36</sup>. Rheumatoid factor is also commonly found in saliva, tears and the circulation. Antinuclear antibodies (ANAs) are detected in 50-80% of patients and a positive LE test result is present in 25%<sup>35</sup>. Most important, however, are antibodies directed against two RNP antigens, SSA (Ro) and SSB(La) which can be detected in up to 90% of patients<sup>2, 35</sup>. Those with high titers of antibodies to SSA are more likely to have extraglandular manifestations, such as cutaneous

vasculitis and CNS disease<sup>35</sup>. The finding of serum autoantibodies directed against the muscarinic M3 receptor (expressed in salivary and lacrimal glands) in the majority of patients is an important advance in understanding the pathogenesis of impaired glandular function in SS<sup>2</sup>. Oligoclonal or monoclonal B cell expansion, arising mainly from salivary glands but also from visceral organs and lymph nodes, has been reported to occur in 14-100% of SS patients<sup>18-23</sup>. In this respect, SS appears to be a crossroad between autoimmunity and malignancy and it is suggested that patients with evidence of clonal expansions of B-cells in their salivary glands are at high risk of developing malignant lymphoma<sup>2, 26, 30-36</sup>. Sjögren's syndrome represents a pathological model of the evolution from polyclonal B lymphocyte activation to oligoclonal/monoclonal B-cell expansion, which may culminate in the development of a malignant lymphoproliferative disease<sup>33-35</sup>. Different phases of this process are usually marked by the appearance of antigen-driven activated B-cell clones, which are commonly IgM-positive and with rheumatoid factor (RF) activity. However, the antigen able to trigger B-cell proliferation is still unknown. Immunoglobuline products of the neoplastic B cells were RF. Contrary to the expectations, they did not react with nuclear or cytoplasmic antigens, double-stranded DNA, self antigens commonly bound by natural autoantibodies, or SG tissue<sup>33-36</sup>.

The reported data on genetic abnormalities such as numerical chromosomal aberrations, translocations, mutations and inactivation of the tumor suppressor genes, p53 and p16 in salivary MALT lymphoma are contradictory<sup>2, 21, 33-35</sup>.

An optimal therapeutic strategy for salivary MALT lymphoma has not yet been defined and depends on the clinical stage of a removed MALT lymphoma<sup>2, 12, 15, 33</sup>. On the basis of some retrospective analysis, the authors have concluded that there is no a significant difference in outcomes among patients undergoing a variety of treatment modalities (surgery, radiotherapy, chemotherapy) and those undergoing a long-term follow-up<sup>2, 12, 15, 26, 28, 33-37</sup>.

## Conclusion

Based on the results of this study we consider that an optimal diagnosis of MALT lymphoma requires a careful integration of the following clinical, histopathological and immunohistochemical findings: rapid and persistent enlargement of the parotid gland, destruction of lobular parotid gland structure by extensive and dense lymphoid infiltrate, presence of monoclonal B-cell infiltrate and presence of malignant lymphoepithelial lesions.

## R E F E R E N C E S

1. Sjögren HSC. Zur Kenntnis der Keratoconjunctivitis sicca (Keratitis filiformis bei Hypofunktion der Tränendrüsen). Acta Ophthalmol 1933; p. 1-151.
2. Jonsson R, Moen K, Vestrheim D, Szodoray P. Salivary glands and saliva. Current issues in Sjögren's syndrome. Oral Diseases 2002; 8(3): 130-40.
3. Fox RI, Howell FV, Bone RC, Michelson P. Primary Sjogren syndrome: clinical and immunopathologic features. Semin Arthritis Rheum 1984; 14(2): 77-105.
4. Roberts DK. Keratoconjunctivitis sicca. J Am Optom Assoc 1991; 62(3): 187-99.

5. Quintana PG, Kapadia SB, Bahler DW, Johnson JT, Swerdlow SH. Salivary gland lymphoid infiltrates associated with lymphoepithelial lesions: a clinicopathologic, immunophenotypic, and genotypic study. *Hum Pathol* 1997; 28(7): 850–61.
6. Harris NL. Lymphoid proliferations of the salivary glands. *Am J Clin Pathol* 1999; 111(1 Suppl 1): S94–103.
7. Gannot G, Lancaster HE, Fox PC. Clinical course of primary Sjögren's syndrome: salivary, oral, and serologic aspects. *J Rheumatol* 2000; 27(8): 1905–9.
8. Tabbara KF, Vera-Cristo CL. Sjögren syndrome. *Curr Opin Ophthalmol* 2000; 11(6): 449–54.
9. Macri A, Pflugfelder S. Correlation of the Schirmer 1 and fluorescein clearance tests with the severity of corneal epithelial and eyelid disease. *Arch Ophthalmol* 2000; 118(12): 1632–8.
10. Rehman HU. Sjögren's syndrome. *Yonsei Med J* 2003; 44(6): 947–54.
11. Prochorec-Sobieszek M, Wagner T. Lymphoproliferative disorders in Sjögren's syndrome. *Otolaryngol Pol* 2005; 59(4): 559–64. (Polish)
12. Krasić D, Radović P, Burić N, Cosić A, Katić V. MALT lymphoma of the parotid salivary gland. *Vojnosanit Pregl* 2007; 64(1): 53–7. (Serbian)
13. Katić V, Tasić-Dimov D, Dimitrijević J, Zivković V, Gmijović D, Stojanović M, et al. The role of Helicobacter pylori infection in the development of gastric neoplasms. *Vojnosanit Pregl* 2004; 61(4): 405–11. (Serbian)
14. Katić V, Dimov D, Katic K, et al. The histopathology and immunohistology of gastric MALT lymphoma. *Arch Oncol* 2004; 12: 5–6.
15. Kruize AA, Hené RJ, van der Heide A, Bodentsch C, de Wilde PC, van Bijsterveld OP, et al. Long-term followup of patients with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1996; 39(2): 297–303.
16. Bahler DW, Swerdlow SH. Clonal salivary gland infiltrates associated with myoepithelial sialadenitis (Sjögren's syndrome) begin as nonmalignant antigen-selected expansions. *Blood* 1998; 91(6): 1864–72.
17. Carbone A, Gloghini A, Ferlito A. Pathological features of lymphoid proliferations of the salivary glands: lymphoepithelial sialadenitis versus low-grade B-cell lymphoma of the malt type. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2000; 109(12 Pt 1): 1170–5.
18. Mariette X. Lymphomas in patients with Sjögren's syndrome: review of the literature and physiopathologic hypothesis. *Leuk Lymphoma* 1999; 33(1–2): 93–9.
19. Kojima M, Nakamura S, Ichimura K, Shimizu K, Itoh H, Masawa N. Follicular lymphoma of the salivary gland: a clinicopathological and molecular study of six cases. *Int J Surg Pathol* 2001; 9(4): 287–93.
20. Ihler S, Barett GB, Menauer F, Blasenbrey-Vogt S, Löhrs U. Sjögren's syndrome and MALT lymphomas of salivary glands: a DNA-cytometric and interphase cytogenetic study. *Mod Pathol* 2000; 13(1): 4–12.
21. Pflugfelder SC, Tseng SC, Sanabria O, Kell H, Garcia CG, Felix C, et al. Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea* 1998; 17(1): 38–56.
22. Marsh P, Pflugfelder SC. Topical nonpreserved methylprednisolone therapy for keratoconjunctivitis sicca in Sjögren syndrome. *Ophthalmology* 1999; 106(4): 811–6.
23. Royer B, Cažals-Hatem D, Sibilia J, Agbalika F, Cayuela JM, Soussi T, et al. Lymphomas in patients with Sjögren's syndrome are marginal zone B-cell neoplasms, arise in diverse extranodal and nodal sites, and are not associated with viruses. *Blood* 1997; 90(2): 766–75.
24. Diss TC, Wotherspoon AC, Speight P, Pan L, Isaacson PG. B-cell monoclonality, Epstein Barr virus, and t(14;18) in myoepithelial sialadenitis and low-grade B-cell MALT lymphoma of the parotid gland. *Am J Surg Pathol* 1995; 19(5): 531–6.
25. Brun JG, Jonsson R. Sjögren's syndrome. *NORSK Epidemiology* 2008; 18(1): 67.
26. Bacon CM, Du MQ, Dogan A. Mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma: a practical guide for pathologists. *J Clin Pathol* 2007; 60(4): 361–72.
27. Jančić S, Katić V, Radić S, Krstić M, Jančić S. Histopathology, immunohistochemistry and therapy of Malt lymphoma. *Acta Medica Medianae* 2002; 5: 23–30. (Serbian)
28. Cohen SM, Petryk M, Varma M, Kozuch PS, Ames ED, Grossbard ML. Non-Hodgkin's lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. *Oncologist* 2006; 11(10): 1100–17.
29. Katić V, Nagorni A, Marjanović G, Golubović-Mačukanović L, Vučić M, Aleksic C. Peculiarity of diagnosis of gastric MALT lymphoma. *Bill Ten of Hematology* 2004; 32(3) 73–5. (Serbian).
30. Wöhrer S, Troch M, Streubel B, Zweringa J, Skrabs C, Formanek M, et al. MALT lymphoma in patients with autoimmune diseases: a comparative analysis of characteristics and clinical course. *Leukemia* 2007; 21(8): 1812–18.
31. Gray J, Schwartz S. Dutcher body in MALT lymphoma. *Arch Pathol Lab Med* 2002; 126: 199–201.
32. Jain D, Singh T. Plasmablastic multiple myeloma with Dutcher bodies. *Indian J Pathol Microbiol* 2008; 51: 442–3.
33. Isaacson PH, Müller-Hermelin HK, Piris MA, Berger F. Extranodal marginal zone B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma). In: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, editors. *Tumors of hematopoietic and lymphoid tissue*. IAPCPress Lyon 2001. p. 157–61.
34. De Re V, De Vita S, Gasparotto D, Marzotto A, Carbone A, Ferraccioli G, et al. Salivary gland B cell lymphoproliferative disorders in Sjögren's syndrome present a restricted use of antigen receptor gene segments similar to those used by hepatitis C virus-associated non-Hodgkin's lymphomas. *Eur J Immunol* 2002; 32(3): 903–10.
35. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *Pathologic Basis of Disease*. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2008. p. 171–240.
36. Martin T, Weber JC, Lerallois H, Labouret N, Soley A, Koenig S, et al. Salivary gland lymphomas in patients with Sjögren's syndrome may frequently develop from rheumatoid factor B cells. *Arthritis Rheum* 2000; 43(4): 908–16.
37. Hyon JY, Lee YJ, Yun PY. Management of ocular surface inflammation in Sjögren syndrome. *Cornea* 2007; 26(9 Suppl 1): S13–15.

The paper received on December 15, 2008.



## Clinical and immunological features of retinal vasculitis in systemic diseases

### Kliničke i imunološke karakteristike retinalnog vaskulitisa u sistemskim oboljenjima

Jelena Paović\*, Predrag Paović\*, Miroslav Vukosavljević†

Clinical Centre of Serbia, \*Institute for Eye Diseases, Belgrade, Serbia;  
Military Medical Academy, †Clinic for Eye Diseases, Belgrade, Serbia

#### Abstract

**Background/Aim.** Vasculitis is a clinical, pathologic process characterized by inflammation and necrosis of blood vessel occurring anywhere in the body. The aim of the study was to present some clinical and immunologic features of retinal vasculitis in systemic diseases: systemic lupus erythematosus, multiple sclerosis, sarcoidosis, Behcet's diseases, and others. **Methods.** A total of 1 254 patients with uveitis were included in the study. The immunochemical diagnostic methods were used to determine the pathogenesis of ocular manifestations. Ocular manifestations were examined using biomicroscope, direct or indirect ophthalmoscopy. **Results.** Primary retinal vasculitis was diagnosed in 85/1254 (6.8%) of total uveitis. In more than half of the cases of vasculitis (58.8%), both arteries and veins were involved in inflammatory process. Periphlebitis was diagnosed far more commonly (36.5%) than periarteritis (4.7%). Retinal vasculitis associated with systemic lupus erythematosus was characterized by microinfarctions and the consequent foci of inflammatory cells or diseases of large arteries manifesting in vasospasm and occlusions. Cotton wool spots occurred in 38.3% and retinal hemorrhages in 34% of the cases. In this study periphlebitis of the retina was one of the less frequent ocular manifestations of multiple sclerosis. Comparing with the other changes of the retinal blood vessels, venous sheathing occurred in 25.1% and occlusion and vein thrombosis in 43.75% of the cases. Retinal vasculitis associated with chronic sarcoidosis occurred in 37.5% of patients with sarcoidosis. The most frequent manifestation of ocular sarcoidosis was intermediary uveitis (43.75%). Anterior granulomatous uveitis occurred in 37.5% of patients with sarcoidoses. Immune complexes occurred in 13/20 (65%) of the patients. Antiretinal anti-S antibody in the serum occurred in 73% of the patients with retinal detachment as a complication of primary disease and in 25% those with vasculitis. **Conclusion.** Systemic diseases such as Behcet's syndrome, collagen vascular diseases, systemic granulomatous diseases (sarcoidosis and tuberculosis) were the main causes of retinal vasculitis. Knowledge of the symptomatology and pathogenesis of retinal vasculitis is of the major significance for the diagnosis and therapy of the disease.

#### Key words:

retinal vasculitis; diagnosis; lupus erythematosus, systemic; multiple sclerosis; behcet syndrome; sarcoidosis; clinical medicine.

#### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Vaskulitis je klinički, patološki proces koji karakterišu zapaljenje i nekroza krvnih sudova koji se mogu pojaviti u bilo kom delu tela. Cilj rada bio je da se prikažu kliničke i imunološke karakteristike retinalnog vaskulitisa kod sistemskih bolesti kao što su sistemska lupus, multipla skleroza, sarkoidoza, Behčetova bolest i druge. **Metode.** Ispitanjem su bila obuhvaćena 1 254 bolesnika sa uveoretinalnim zapaljenjem. Za određivanje patogeneze očnih manifestacija u sklopu sistemskih oboljenja korišćene su imunohemijjske dijagnostičke metode, dok su očne manifestacije ispitivane biomikroskopski, direktnom i indirektnom oftalmoskopijom. **Rezultati.** Primarni retinalni vaskulitis dijagnostikovan je kod 85/1 254 (6,8%) od svih uveitisa. Kod više od polovine bolesnika (58,8%) arterije i vene bile su zahvaćene inflamatornim procesom. Perilebitis je dijagnostikovan kod više od 36,5% bolesnika, dok se periarteritis javio kod 4,7%. Retinalni vaskulitis udružen sa sistemskim lupusom karakteriše se mikroinfarktim i posledičnim grupisanjem inflamatornih ćelija, dok se oboljenje većih krvnih sudova manifestuje vazospazmima i okluzijama. *Cotton wool* plaže dijagnostikovane su kod 38,3%, a retinalne hemoragije kod 34% obolelih. Perilebitis retine jedna je od manje čestih očnih manifestacija multiple skleroze. U poređenju sa drugim promenama na krvnim sudovima retine, oblaganje vena dokazano je kod 25,1%, a okluzije i venske tromboze kod 43,75% bolesnika. Retinalni vaskulitis udružen sa hroničnom sarkoidozom javio se kod 37,5% bolesnika sa sarkoidozom. Najčešća manifestacija očne sarkoidoze bio je intermedijalni uveitis (43,75%). Prednji granulomatozni uveitis javio se kod 37,5% bolesnika sa sarkoidozom. Imunski kompleksi dokazani su kod 13/20 bolesnika (65%). Antiretinalna antitela na S antigen u serumu dijagnostikovana su kod 73% bolesnika sa ablacijom retine kao komplikacijom primarnog oboljenja i kod 25% bolesnika sa vaskulitism. **Zaključak.** Sistemске bolesti kao što su Behčetov sindrom, kolagene vaskularne bolesti, sistemski granulomatozne bolesti (sarkoidoza i tuberkuloza) glavni su uzroci retinalnog vaskulitisa. Poznavanje simptomatologije i patogeneze vaskulitisa retine ima veliki značaj za dijagnozu i terapiju bolesti.

#### Ključne reči:

vaskulitis, retinalni; dijagnoza; lupus, eritematozni, sistemski; multipla skleroza; behčet sindrom; sarkoidoza; medicina, klinička.

## Introduction

Vasculitis is a clinical, pathologic process characterized by inflammation and necrosis of blood vessels. It can occur as a primary manifestation of the disease or as a secondary phenomenon. Inflammation may affect vessels of different sizes, in all parts of the body.

Inflammatory changes on the blood vessels were first reported by John Hunten in 1784. Retinal vasculitis was described a hundred years later by Henry Eales in 1880<sup>1</sup>.

Association of retinal vasculitis and uveitis with systemic diseases was widely recognized. To classify vasculitis as caused by retinal autoantigens, vasculitis in the course of systemic diseases, vasculitis caused by infectious agents and, finally, vasculitis induced by degenerative diseases and neoplasms, etiopathogenetic criteria are used<sup>2,3</sup>.

According to the type of the affected vessel vasculitis can be divided into arteritis and periarteritis, phlebitis and periphlebitis and capillaritis, i.e. capillaropathies. According to the size of the vessel affected by inflammation vasculitis can be classified as affecting major, medium blood vessels, arterioles and venules and capillaries.

Localization of inflammation related to the type and size of the affected vessel determines a characteristic clinical finding and symptoms of the disease.

The aim of the study was to present some clinical and immunologic features of retinal vasculitis in systemic diseases.

## Methods

A total of 1 254 patients with uveitis were included in the study. The immunochemical diagnostic methods were used to determine the pathogenesis of ocular manifestations. Ocular manifestations were examined using biomicroscope, direct or indirect ophthalmoscopy.

## Results

Retinal vasculitis was examined in 1 254 patients with the uveoretinal inflammation.

Primary evolutive retinal vasculitis was diagnosed in 85 patients (6.8% of the total uveitis) and was the important cause of uveitis complications, namely: cystoid macular edema as the most common, but also partial hemophthalmos, proliferative vitreoretinopathy (PVR) and retinal detachment as the least common but the most serious and potentially devastating to the eye. In more than a half of the cases of vasculitis (58.8%) both arteries and veins were involved in the inflammatory process (Table 1). Periphlebitis was diagnosed far more commonly (36.5%) than periarteritis (4.7%).

Systemic diseases such as Behcet's syndrome, collagen vascular diseases, systemic granulomatous diseases (sarcoidosis and tuberculosis) and others were the main causes of retinal vasculitis.

Retinal vasculitis associated with periarteritis nodes manifested by changes on tiny arteries. The disease was localized in arteries in several organs and systems. The basis of the disease was fibrinoid necrosis of the blood vessel wall. Changes in the eye fundus were localized only in the tiny retinal arteries and choriocapillaries and may lead to segmental occlusion of the choriocapillaries.

Immune complexes occurred in 65%, rheumatoid factor (RF) in 40%, C-reactive protein (CRP) in 30%, and antinuclear antibodies in 15% of the patients (Table 2), but complement activity was normal in the serum of patients. The results of the antiretinal anti-S antigen antibody analyzing in the serum of 105 patients are shown in Table 3. Antiretinal anti-S antibody in the serum occurred in 73% of the patients with retinal detachment, in 60% of the patients with neuruveitis, in 56% of the patients with choriocapillaritis and in 25% of the patients with vasculitis.

**Table 2**  
**Immune complexes, C-reactive protein (CRP), antinuclear antibodies and rheumatoid factor in the serum of 20 patients with systemic vasculitis**

Parameters	Patients	
	n	%
CRP	6	30
Rheumatoid factor	8	40
Antinuclear antibodies	3	15
Immune complexes	13	65

Retinal vasculitis associated with SLE was characterized by micro infarctions and the consequent foci of inflammatory cells or diseases of large arteries manifesting in vasospasm and occlusions.

Narrowing of the arterioles leads to hypoxia of the retinal tissue and lesions of the endothelial cells of both capillaries and veins. Absence of perfusion or peripheral vessels lesions may result in neovascularisation either of the disc or the retinal periphery. The most frequent manifestations in SLE were cotton wool spots in 38.3%, retinal hemorrhages in 34% and retinal microaneurismus in 29.9% of the cases.

Findings in the retina of seventy-one patients with systemic lupus erythematosus are presented in Table 4.

Ophthalmoscopic finding of retinal vasculitis in the SLE is shown in Figure 1.

Retinal vasculitis was examined in 42 patients with multiple sclerosis.

**Table 1**  
**Features of inflammation in 85 patients with primary retinal vasculitis**

Type of inflammation	Bilateral involvement	Unilateral cases	Patients	
			n	%
Periarteritis	2	0	4	4.7
Periphlebitis	10	11	31	36.5
Combined	5	20	50	58.8

**Table 3**  
**Antiretinal anti-S antigen antibody in the serum of 105 patients**

Disease	Method		
	ELISA (%)	IFT (%)	ELISA+IFT(%)
Anterior uveitis	42	37	
Intermediary uveitis	40	80	
Choriocapillaritis	56	48	
Neurouveitis	60	60	
Retinal vasculitis	25	34	50
Cataract			33
Glaucoma	0	67	
Retinal detachment	73	27	
Other ocular diseases	38	38	

ELISA – enzyme-linked immuno-sorbed assay; IFT – immunofluorescence test

**Table 4**  
**Findings in the retina in 71 patients with systemic lupus erythematosus (SLE)**

Findings in the retina	Patients	
	n	%
Retinal hemorrhages	16	34.0
Cotton wool spots	18	38.3
Retinal hard exudate	5	10.5
Retinal microaneurismus	14	29.9
Transient papillary edema	4	8.5
Ishemic optic neuropathy	1	2.1
Central retinal artery occlusion	1	2.1
Central retinal vein occlusion	1	2.1
Serous retinal detachment	2	4.2
Sheathing of retinal vessels	9	19.1

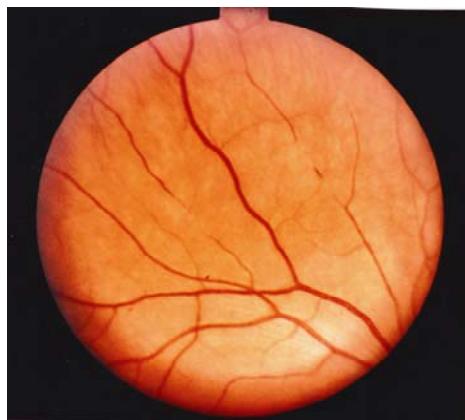


Fig. 1 – Retinal vasculitis in the systemic lupus erythematosus

Periphlebitis of the retina was one of the less frequent ocular manifestations of multiple sclerosis. The retinal vasculitis consists of peripheral venous sheathing, vitritis and macular edema. The different changes of the retinal blood vessels in forty-two patients with multiple sclerosis were proved (Table 5).

Periphlebitis of the retina in multiple sclerosis is presented in Figure 2.

Ocular manifestations in chronic sarcoidosis were examined in 16 of the patients (Table 6). The major change in sarcoidosis was the occurrence of non-caseating granulomas in hilar glands.

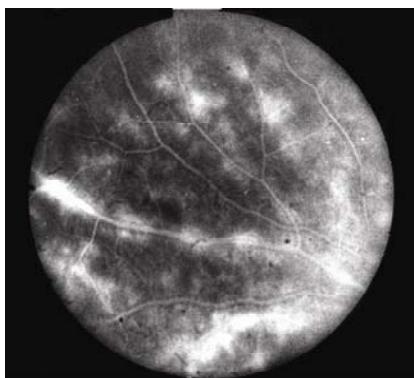
Retinal vasculitis occurred in 37.5% of the patients with sarcoidosis.

**Table 5**  
**Changes of the retinal blood vessels in 42 patients with multiple sclerosis**

Retinal blood vessels changes	Patients (%)
Neovascularisation	6.25
Narrowing and obliteration of the arteries	18.75
Occlusion and vein thrombosis	43.75
Venous sheathing	25.1
Periphlebitis active	4.7

**Table 6**  
**Ocular manifestations in 16 patients with sarcoidosis**

Ocular manifestations	Patients (%)
Conjunctival inflammation	6.25
Anterior granulomatous uveitis	37.5
Intermediary uveitis	43.75
Multifocal periphlebitis	37.5
Orbital granuloma	6.25



**Fig. 2 – Periphlebitis of the retina in multiple sclerosis**

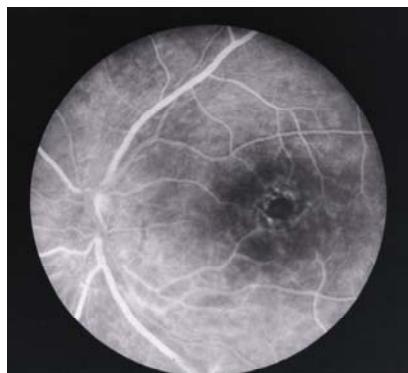
Vasculitis in sarcoidosis was multifocal periphlebitis. It was usually associated with snow-balls on the hyaloid membrane and basal exudates. Intermediary uveitis was the most frequent clinical form of uveitis associated with sarcoidosis (43.75). In addition, inflammation of the conjunctiva, iris, ciliary body and orbital tissues may occur. Anterior granulomatous uveitis occurred in 37.5% of the cases.

Figure 3 shows a case of an anterior granulomatous uveitis.



**Fig. 3 – Anterior granulomatous uveitis**

Retinal vasculitis associated with Behcet's disease was localized on the retinal arteries and veins. The veins were more commonly affected. As a consequence of phlebitis on the retinal periphery, cystoid macular edema developed, while atrophy of the disc may occur due to inflammation and occlusion of the retinal arteries. Cystic macular edema and the disc atrophy were the most common causes of vision impairment in these patients (Figure 4).



**Fig. 4 – Cystic macular edema in the Behcet syndrome**

## Discussion

In this study the clinical and immunological characteristics of retinal vasculitis in the course of systemic diseases were presented.

Vasculitis includes a wide range of heterogeneous disorders in which specific vessels in the body are the target of an abnormal immune response causing pathological changes. Necrosis of the vascular endothelium layers leads to destruction and occlusion of vessels with subsequent poor perfusion and ischemia of the end organ. Due to that, clinical features of vasculitis vary immensely depending on the site, type, size and distribution of the vessels involved by the inflammatory response<sup>1,2</sup>. In most cases vasculitis is caused by inflammatory reaction mediated by immune responses directed against antigens present in the vessel structures. Immunopathology of vasculitis can be explained by immune responses (types I–III).

Eye examination is important for the diagnosis and treatment of systemic vasculitis<sup>3–5</sup>. Systemic vasculitis is manifested by diseases of retinal blood vessels accompanied either by inflammation of retinal arteries or veins in the course of Behcet's syndrome, SLE, periarteritis nodosa and other<sup>6–8</sup>.

The diseases of the connective tissue such as collagenosis are more frequent systemic diseases manifesting by changes in the eyes. Approximately 30% of SLE patients demonstrate ocular manifestations. Keratoconjunctivitis sicca is the most common ophthalmic manifestation occurring in approximately 25% of SLE patients. Retinal vasculitis is observed in approximately 5% of SLE patients<sup>9</sup>. In this study, findings of 71 patients retina in the patients with SLE showed retinal hemorrhages (34%), cotton wool spots (38.3%) and retinal microaneurismus (29.9%).

There is a well-established association of acute optic neuritis with demyelinating disease. Acute optic neuritis usually presents with the patient experiencing monocular loss of central vision, commonly associated with pain in, around, or behind the eye.

The majority of patients who develop multiple sclerosis after an attack of optic neuritis do so within 7 years of the onset of visual symptoms<sup>10</sup>.

Visual impairment eventually occurs in at least 80% of patients with multiple sclerosis and may be the presenting symptom in up to 50% of patients with multiple sclerosis<sup>10</sup>.

Sheathing of retinal veins (periphlebitis) is often seen in multiple sclerosis patients. The sheathing may present as focal, hazy gray patches that obscure the blood column in the vein. In other patients, sheathing may appear as fine, white, linear streaks that parallel the blood column<sup>6</sup>. In this study periphlebitis of the retina is one of the less frequent ocular manifestations of multiple sclerosis. Comparing with other changes of the retinal blood vessels, venous sheathing occurs in 25.1% and occlusion and vein thrombosis in 43.75% of the patients.

Systemic granulomatoses such as sarcoidosis are manifested by changes in the eyes in the form of granuloma associated with inflammations of all parts of the eye<sup>5</sup>. Ocular manifestations may occur in 17 to 64% of patients, al-

though a frequency of 20 to 25% is most often cited. The reported frequency of specific types of ocular manifestations are quite variable; however, the most common finding is anterior granulomatous uveitis, occurring in 50 to 85% of patients with ocular involvement. Posterior segment lesions of the choroid and retina may occur in 25%, and optic nerve involvement in as few as 5% of the patients. Sarcoidosis of the skin of the eyelid has been variably reported as occurring in 12 to 27%, and conjunctival granulomas in 44 to 56% of the patients. Keratoconjunctivitis sicca, secondary to lacrimal gland involvement, has been reported in as few as 4% and as many as 66% of the patients<sup>4</sup>.

In this study vasculitis in sarcoidosis was multifocal periphlebitis (37.5%). It was usually associated with snowballs on the hyaloids membrane and basal exudates. Intermediary uveitis was the most frequent clinical form of uveitis

associated with sarcoidosis (43.75%). In addition, inflammation of the conjunctiva, iris, ciliary body and orbital tissues may occur. Anterior granulomatous uveitis occurred in 37.5% of our patients with sarcoidosis.

Immunological investigations were performed in 20 patients with systemic vasculitis. Immune complexes occurred in 65% of these patients.

### Conclusion

Systemic diseases such as Behcet's syndrome, collagen vascular diseases, systemic granulomatous diseases (sarcoidosis and tuberculosis) were the main causes of retinal vasculitis. Knowledge of the symptomatology and pathogenesis of retinal vasculitis is of the major significance for the diagnosis and therapy of the disease.

### R E F E R E N C E S

1. Perez V, Charala S, Ahmed M, Chu D, Zafirakis P, Baltatzis S, et al. Ocular manifestations and concepts of systemic vasculitides. *Surv Ophthalmol* 2004; 49(4): 399–418.
2. Evereklioglu C. Current concepts in the etiology and treatment of Behcet disease. *Surv Ophthalmol* 2005; 50(4): 297–350.
3. Nussenblatt RB, Scott MW. Uveitis: fundamentals and clinical practice. Chicago: Year Book Medical Publishers; 1989. p. 229–35.
4. Silver MR, Messner LV. Sarcoidosis and its ocular manifestations. *J Am Optom Assoc* 1994; 65(5): 321–7.
5. Soler P. Pathogeny-etiology of sarcoidosis. *Ann Med Interna* 2001; 152(1): 28–33.
6. Stanojević-Paović A. Uveitis. Belgrade: Shool of Medicine, Belgrade University; 2008. (Serbian)
7. Gross WL, Trabandt A, Reinbold-Keller E. Diagnosis and evaluation of vasculitis. *Rheumatology* 2000; 39(3): 245–52.
8. Nguyen QD, Foster CS. Systemic lupus erythematosus and the eye. *Int Ophthalmol Clin* 1998; 38(1): 33–60.
9. Reddy CV, Foster CS. Systemic lupus erythematosus. In: Albert DM, Jakobiec FA, editors. *Principles and practice of ophthalmology*. Philadelphia: W.B. Saunders; 1994. p. 2894–901.
10. Thomann KH, Marks SE, Adamczyk DT. Primary eyecare in systemic disease. New York Mc Graw-Hill; 2001. p. 125–35.

The paper received on August 25, 2008.



## Polno uslovljene razlike u hipolipemičnom i antiinflamatornom delovanju statina kod bolesnika sa dijabetesom melitusom tip 2 i koronarnom bolešcu

Gender difference in hipolipemic and anti-inflammatory effects of statins in diabetics with coronary artery disease

Boris Djindjić\*, Goran Ranković†, Miško Živić‡, Todorka Savić§,  
Mirjana Spasić‡, Maja Bubanj||

Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu, \*Institut za patološku fiziologiju, †Institut za fiziologiju, ||Farmaceutski odsek, Niš, Srbija; Klinički centar Niš, ‡Klinika za neurologiju, Niš, Srbija; §Institut za prevenciju i lečenje kardiovaskularnih oboljenja, Niška banja, Srbija

### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Statini ispoljavaju hipolipemične i dodatne nelipidne efekte kojima deluju na markere inflamacije, popravljaju endotelnu funkciju i stabilizuju ateromatozni plak. Cilj rada bio je ispitivanje polno uslovljene razlike u hipolipemičnom i antiinflamatornom delovanju statina kod bolesnika sa dijabetesom melitusom (DM) tip 2 i koronarnom bolešcu (KB). **Metode.** Analizirano je 60 dislipidičnih bolesnika sa DM tip 2 i KB, na hipolipemičnom režimu sa promenom načina života i ishrane. U odnosu na tip medikamentne hipolipemične terapije bili su podijeljeni u dve grupe po 30 bolesnika: na terapiji statinima (20 mg ekvivalentne doze simvastatina u trajanju od 3 meseca) i bez statinske terapije. Kod svih bolesnika vršena je procena gojaznosti i kvaliteta glikoregulacije. Određivani su lipidni i pokazatelji inflamacije: C-reaktivni protein (CRP), fibrinogen, leukocitna formula, intracelularni adhezionalni molekul (ICAM-1), vaskularni adhezionalni molekul (VCAM-1). **Rezultati.** Bolesnice sa DM tip 2 imale su izraženiju opštu i abdominalnu gojaznost, lošiju glikoregulaciju, izraženije lipoproteinske i inflamatorne poremećaje nego muškarci. Primena statina značajno popravlja lipidne pokazatelje i kvalitet glikoregulacije kod žena, a kod muškaraca značajno redukuje vrednosti LDL-C i nonHDL-C. Statinska terapija snažnije i značajnije sružava markere inflamacije kod žena nego kod muškaraca. U grupi bez statinske terapije nema ovako značajne redukcije. Koncentracije ICAM-1 su najniže kod muškaraca na terapiji statinima, dok se vrednosti VCAM-1 molekula nisu razlikovale između polova i ispitivanih grupa. **Zaključak.** Žene sa DM tip 2 i KB imaju teže lipoproteinske i poremećaje glikoregulacije uz izraženiji proinflamatorični profil nego muškarci. Terapija statinima značajnije popravlja kvalitet glikoregulacije i redukuje markere inflamacije kod žena. Superiorniji antiinflamatorični efekat statina kod muškaraca vidljiv je samo u značajnijoj redukciji ICAM-1.

### Ključne reči:

hidroksimetilglutaril-CoA reduktaze, inhibitori;  
dijabetes melitus, insulin-nezavisni; koronarna bolest;  
pol.

### Abstract

**Background/Aim.** Statins produce hipolipemic and pleotropic effects on markers of inflammation with stabilization of atheromatous plaque. The aim of this paper was to examine gender difference in hipolipemic and antiinflammatory effects of statins in patients with diabetes mellitus (DM) type 2 with coronary artery disease (CAD). **Methods.** Sixty dyslipidemic patients with DM type 2 were analyzed. Lifestyle modification and hipolipemic diet were applied in all patients divided into two groups: 30 patients with statins therapy (20 mg of simvastatin or equivalent dose of some other statins, during 3 months) and 30 patients without statins therapy. Estimation of obesity, quality of glicoregulation, and determination of inflammatory parameters: C-reactive protein (CRP), fibrinogen, total and differential leukocyte count, intracellular adhesive molecules (ICAM-1), vascular adhesive molecule-(VCAM-1) and lipid profile (total cholesterol – TC, LDL-C, HDL-C, triglycerides – TG) were done. **Results.** Women with DM type 2 were more obese and had significant disturbances in lipid profiles, glicoregulation and inflammatory markers compared to men. Statins therapy significantly improved all lipid parameters and quality of glicoregulation in women, while there were only significant reduction of LDL-C and nonHDL-C in males. There were more significant reductions of inflammatory markers in women as compared to men with statins therapy. In the group without statins there was not such significant reduction. Concentration of ICAM-1 was the lowest in men on statins therapy, while there were no significant variability of VCAM-1 values between groups and genders. **Conclusion.** Women with DM type 2 and CAD have more prominent lipoprotein disorders and impaired glicoregulation with expression of enhanced proinflammatory state which could not be seen in men. Statins therapy exerts more favorable effects in women leading to stabilization of lipoprotein profiles, improvement of glicoregulation and reduction of inflammatory markers. More superior antiinflammatory effects of statins therapy in men were registered only in significant ICAM-1 reduction.

### Key words:

hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitors;  
diabetes mellitus, type 2; coronary disease; gender identity.

## Uvod

Progres u razumevanju inflamatornih mehanizama koji leže u osnovi arterioskleroze omogućio nam je da bolje sa-gledamo značaj dosadašnjih terapijskih i preventivnih pristupa lečenju arterioskleroze<sup>1</sup>. Brojne studije primarne i sekundarne prevencije pokazale su da primena statina redukuje relativni rizik od nastanka glavnih koronarnih događaja za 30%, pri čemu je redukcija rizika viša kod osoba sa višim početnim rizikom<sup>2</sup>.

Statini primarno deluju kao hipolipemici snižavajući ukupni i LDL holesterol, ali ispoljavaju i dodatne nelipidne efekte. Oni su pre svega vezani za popravljanje endotelne funkcije, antiinflamatorno i antitrombotičko delovanje kojima se vrši stabilizacija ateromatoznog plaka, što je posebno izraženo kod bolesnika sa dijabetesom melitusom (DM) tip 2<sup>3</sup>. Ovi nelipidni efekti posebno su značajni za brzu redukciju kardiovaskularnog rizika na početku statinske terapije<sup>4</sup>. Nalazi studija MIRACL i PROVE-IT ukazuju na značajnu redukciju kardiovaskularnog rizika već tokom prvog meseca terapije<sup>5,6</sup>.

Postoje brojni podaci koji ukazuju na postojanje polno uslovljenih razlika u lipidnim i drugim poremećajima kod bolesnika sa DM tip 2. Poznato je da su lipoproteinski poremećaji udruženi sa dijabetesom izraženiji kod žena i da imaju uticaj na povećan kardiovaskularni rizik<sup>7</sup>. Slični nalazi pokazani su i za markere inflamacije, koji su značajno viši kod žena obolelih od DM tip 1 i tip 2<sup>8</sup>.

Antiinflamatori efekti statinske terapije vezani su najverovatnije za sniženje infiltracije makrofaga i T limfocita u plaku i njegovu stabilizaciju već nakon 3 meseca terapije<sup>9</sup>. Zbog toga, zauzet je opšti stav da je sniženje inflamacije u plaku i stabilizacija plaka, a ne redukcija njegove zapremine glavni mehanizam ranog pozitivnog efekta statina u kliničkoj praksi<sup>10</sup>. Poznato je da statini redukuju nivo adhezionih molekula i vrednosti CRP snižavajući rizik od pojave kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih komplikacija kod bolesnika sa DM tip 2<sup>11</sup>.

Polno uslovljene razlike u pleotropnim efektima statinske terapije na markere inflamacije u uslovima hiperoksidativnog stresa i proinflamatornog stanja koje postoji kod DM tip 2 još uvek su nedovoljno poznati. Zato je cilj rada bio ispitivanje polno uslovljene razlike u hipolipemičnom i antiinflamatornom delovanju statina kod bolesnika sa DM tip 2 i stabilnom koronarnom bolešću (KB).

## Metode

Ispitivanje predstavlja prospektivnu studiju kojom je bilo obuhvaćeno 60 dislipidemičnih bolesnika obolelih od DM tip 2. U ispitivanje su bili uključeni bolesnici sa potvrđenom dijagnozom DM tip 2 u trajanju od najmanje godinu dana. Svi bolesnici imali su stabilnu anginu pektoris (SAP) koja je potvrđena postojanjem jakog bola u grudima karakterističnog kvaliteta i trajanja ili nelagodnošću u grudima provočiranom naporom ili emocionalnim stresom koji prestaje nakon odmora i/ili uzimanjem lingveleta nitroglicerina (NTG)<sup>12</sup>. Svi bolesnici imali su pozitivan test opterećenja iz-

veden na ergobiciklu sa porastom opterećenja na svaka 3 minute po 25W do pojave indikacija za prekid testa. Bolesnici sa anginom pektoris u miru isključeni su iz ispitivanja.

Svi bolesnici bili su na odgovarajućem higijensko-dijjetetskom režimu koji je obuhvatao promenu načina života i ishrane uz redovno uzimanje propisane kardiološke terapije i terapije oralnim hipoglikemicima.

U odnosu na tip hipolipemične medikamentne terapije bolesnici bili su podeljeni u dve grupe. Grupu I činilo je 30 bolesnika sa DM tip 2 i SAP na terapiji statinima (20 mg ekvivalentne doze simvastatina), a grupu II 30 bolesnika sa DM tip 2 i SAP bez statinske terapije.

Period praćenja bolesnika iznosio je 3 meseca nakon čega je procenjivana uspešnost terapijske promene načina života i statinske terapije prema preporukama Vodiča NCEP ATP III<sup>13</sup>.

Terapijska promena načina života obuhvatala je dijetu za sniženje holesterola, regulaciju telesne težine i povećanu fizičku aktivnost prema *Update NCEP ATP III*<sup>14</sup>. Dijeta je obuhvatala zasićene masti (< 7% dnevног unosa kalorija), holesterol (< 200 mg/dnevno), dijetna vlakna (10–24 g/dnevno) i biljne stanole/sterole (2 g/dnevno). Bolesnici su bili praćeni u ambulantnim uslovima i upućeni u primenu preporučene dijete i fizičke aktivnosti. Pored ove dijete bolesnici su bili podvrgnuti i dijeti za dijabetes.

Svim bolesnicima savetovana je umerena fizička aktivnost u ukupnom trajanju od 30 minuta ili više. Fizička aktivnost preporučivana je kao brzi hod u trajanju od 30 minuta, 3–4 puta nedeljno. Intenzitet vežbanja određen je na osnovu postignutog stepena opterećenja na testu fizičkim opterećenjem, intenzitetom od 50 do 75% maksimalne srčane frekvencije (SF) prilagođene godinama<sup>13</sup>.

Iz studije su bili isključeni bolesnici oboleli od DM tip 2 sa akutnim i hroničnim inflamatornim bolestima, malignitetima, renalnom insuficijencijom, značajnom bolešću jetre, vezivnotkivnim bolestima, bolesnici sa preležanim infarktom miokarda tokom poslednjih godinu dana i revaskularizacijom miokrada, kao i bolesnici na kombinovanoj terapiji insulinom i oralnim hipoglikemicima.

Kod svih bolesnika uzeti su detaljni anamnistički podaci o trajanju KB, dislipidemije i dijabetesnog staža. Urađen je klinički pregled koji je obuhvatio merenje arterijske tensije, obima struka i preračunavanje indeksa mase tela (BMI). Vrednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska merene su živinim manometrom na levoj nadlaktici u tri uzastopna merenja, pri čemu je uzimana srednja vrednost.

Kod svih bolesnika iz uzorka venske krvi u jutranjim časovima našte (period gladovanja od 12 sati) određivani su pokazatelji glikoregulacije, inflamatorni i lipidni pokazatelji.

Kvalitet glikoregulacije procenjivan je na osnovu jutarnje glikemije i koncentracije glikoliziranog hemoglobina (HbA1c). Glikemija je određivana monokanalnim analizatorom firme Beckman na osnovu potrošnje kiseonika. Određivanje vrednosti HbA1c, vršeno je na aparatu *Dimension Expand* uz korišćenje reagenasa firme Dade Behring, sa normalnim vrednostima 3,9–5,7%, a preporučenim vrednostima HbA1c < 6,1% prema Evropskom vodiču za prevenciju kardiovaskularnih oboljenja u kliničkoj praksi za DM tip 2<sup>15</sup>.

Od inflamatornih pokazatelja određivana je sedimentacija u prvom i drugom satu (SE I i SE II) metodom po Westergreen-u. Vrednosti visoko-senzitivnog CRP određivane su komercijalnim testom firme Dade Behring na analizatoru *Dimension Expand*, pri čemu su vrednosti izražavane u mg/dL. Vrednosti fibrinogena određivane su turbidimetrijskom metodom (referentne vrednosti laboratorije: 2,0–4,0 g/L). Određivanje broja leukocita vršeno je autoanalizatorom za krvnu sliku Haematolog H1-Technicon (normalne vrednosti:  $6\text{--}8 \times 10^9/\text{L}$ ). Adhezione molekule ICAM-1 i VCAM-1 određivane su u serumu koji je odvojen u prvom satu posle uzimanja od uobličenih elemenata krvi (nakon koagulacije i centrifugiranja) u plastične epruvete (250–500 µL) i čuvan na -80° C. Nakon odmrzavanja i razblaživanja u odnosu 1:100, uz korišćenje kompleta firme Beckman Coulter Company *Dual Monoclonal Antibody Sandwich Enzyme Immunoassay* i očitavanja na Bio Systems elisa rider, dobijene su vrednosti izražene u ng/mL (sVCAM-1: standardni opseg merenja 0–25 ng/mL, senzitivnost 0,74 ng/mL; sICAM-1: standardni opseg merenja 0–16 ng/mL, senzitivnost 0,1 ng/mL).

Od lipidnih pokazatelja određivani su ukupni serumski holesterol i trigliceridi reagensima firme Bayer, na analizatoru *Technicon-Axon*. Normalne vrednosti laboratorije su 3,63–5,5 mmol/L i 0,5–1,97 mmol/L. HDL i LDL-holesterol određivani

su iz seruma direktnom enzim-kolorimetrijskom analizom bez precipitacije, reagensima firme Dade Behring, na analizatoru *Dimension Expand Dade Behring*. Normalne vrednosti laboratorijske za HDL za 1,0–1,55 mmol/L za muškarce i 1,2–1,7 mmol/L za žene, a za LDL su 2,6–3,9 mmol/L.

Statistička obrada urađena je korišćenjem parametrijskih (ANOVA i Studentov *t*-test) i neparametrijskih testova (Fisherov test egzaktne verovatnoće) pomoću programa SPSS 11.0.

## Rezultati

U tabeli 1 prikazane su opšte karakteristike ispitivanih bolesnika. Urađena analiza Studentovim *t*-testom i Fisherovim testom egzaktne verovatnoće pokazala je značajno duže trajanje KB i niži sistolni krvni pritisak ( $p < 0,05$ ) kod žena bez statinske terapije u odnosu na muškarce. Žene na terapiji statinima imale su kraće trajanje KB i DM tip 2 ( $p < 0,05$ ) nego žene bez statinske terapije. Muškarci na terapiji statinima imali su niže vrednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska ( $p < 0,05$ ) i kraće trajanje KB ( $p < 0,01$ ) nego muškarci koji nisu bili na statinskoj terapiji.

Pokazatelji gojaznosti, glikoregulacije i parametri lipidnog statusa na početku i kraju ispitivanja dati su u tabeli 2.

Tabela 1

### Karakteristike ispitanih na terapiji statinima (n = 30) i bez statinske terapije (n = 30)

Karakteristike ispitanih	Terapija statinima		Terapija bez statina	
	žene (n = 16)	muškarci (n = 14)	žene (n = 12)	muškarci (n = 18)
Starost (god)	63,6 ± 5,9	61,6 ± 6,1	65,4 ± 3,4	64,8 ± 6,0
Trajanje KB (god)	4,86 ± 2,6 <sup>†</sup>	6,7 ± 5,4	9,7 ± 3,6*	6,3 ± 3,4
Trajanje DM (god)	5,15 ± 6,0 <sup>†</sup>	8,8 ± 6,3 <sup>‡</sup>	15,6 ± 4,2	14,2 ± 6,2
Hipertenzija [n (%)]	15 (94)	13 (93)	12 (100)	15 (81)
Pušenje [n (%)]	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (16)
Sistolni pritisak (mmHg)	131 ± 17,4	130 ± 7,3 <sup>†</sup>	124 ± 12,3*	140 ± 16,2
Dijastolni pritisak (mmHg)	80,6 ± 11,3	80 ± 5,5 <sup>†</sup>	80 ± 8,9	84,5 ± 7,8
Kardiološka terapija [n (%)]				
nitrati	9 (56,3)	9 (64,3)	6 (50,0)	10 (55,6)
beta blokatori	7 (43,8)	8 (57,1)	5 (41,7)	10 (55,6)
kalcijum antagonisti	6 (37,5)	4 (28,6)	4 (33,3)	4 (22,2)
ACE inhibitori	6 (37,5)	6 (42,9)	5 (41,7)	8 (44,4)
aspirin	7 (43,8)	6 (42,9)	4 (33,3)	6 (33,3)

Podaci su prikazani kao srednja vrednost ± SD ili broj (%) ispitanih; \* $p < 0,05$  naspram muškarcima u istoj grupi; <sup>†</sup> $p < 0,05$ , <sup>‡</sup> $p < 0,01$  naspram istom polu u grupi bez statina. KB – koronarna bolest; DM – dijabetes melitus

Tabela 2

### Gojaznost, glikoregulacija i lipidni pokazatelji

Karakteristike bolesnika	Terapija statinima				Terapija bez statina			
	žene (n = 16)	Δ (%)	muškarci (n = 14)	Δ (%)	žene (n = 12)	Δ (%)	muškarci (n = 18)	Δ (%)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	32,3 ± 5,1*	-9,6	28,9 ± 4,7	-1,7	31,7 ± 5,2*	-8,2	27,4 ± 2,3	-0,7
Obim struka (cm)	110,8 ± 9,3*	-8,3	104,8 ± 9	-0,5	106,6 ± 6,2*	-3,2	100,6 ± 5,2	-0,5
Glikemija (mmol/L)	6,8 ± 2,3 <sup>†</sup>	-17,6 <sup>‡</sup>	7,1 ± 1,9	+1,3	8,9 ± 2,4*	0	7,8 ± 2,3	+0,4
HbA1c (%)	6,0 ± 0,5 <sup>†</sup>	-2,6	6,1 ± 0,9	-1,3	7,1 ± 0,3*	+1,4	6,4 ± 0,9	0
TC (mmol/L)	6,0 ± 1,4*	-11,0 <sup>‡</sup>	5,6 ± 0,7	-8,4	6,2 ± 0,7*	-0,5	5,7 ± 1,1	-3,3
TG (mmol/L)	2,5 ± 1,2	-12 <sup>‡</sup>	2,3 ± 0,8	+8,6	2,7 ± 1,2*	+10	2,3 ± 0,8	+4,1
HDL-C (mmol/L)	1,08 ± 0,4	+24,7 <sup>§</sup>	0,97 ± 0,2	+8,2	1,14 ± 0,24	+14 <sup>†</sup>	1,07 ± 0,34	+2,8
LDL-C (mmol/L)	3,6 ± 1,2*	-12,0 <sup>‡</sup>	3,4 ± 0,7	-12,5 <sup>†</sup>	3,6 ± 1,1*	-6,8	3,5 ± 1,0	-7,6
nonHDL-C (mmol/L)	4,9 ± 1,7*	-13,2 <sup>‡</sup>	4,6 ± 1,0	-11,2 <sup>†</sup>	5,0 ± 1,1*	-3,5	4,7 ± 0,9	-2,5

Podaci su prikazani kao srednja vrednost ± SD i Δ (%) – procenat promene nakon tri meseca u odnosu na početne vrednosti; TC – ukupni holesterol; TG – trigliceridi; BMI – indeks telesne mase; \* $p < 0,05$  naspram muškarcima u istoj terapijskoj grupi; <sup>†</sup> $p < 0,01$  naspram istom polu u grupi bez statina; <sup>‡</sup> $p < 0,05$ , <sup>§</sup> $p < 0,01$  naspram početne vrednosti

Žene obolele od DM tip 2 imale su izraženiju opštu i abdominalnu gojaznost, lošiju glikoregulaciju i značajno gore lipoproteinske profile nego muškarci. Primena statina značajno je popravila sve lipidne frakcije i kvalitet glikoregulacije snižavajući jutarnju glikemiju kod žena ( $p < 0,05$ ). Kod muškaraca na terapiji statinima efekat je bio vidljiv samo u značajnoj redukciji vrednosti LDL-C i nonHDL-C ( $p < 0,05$ ). Samostalna primena higijensko-dijetetskog režima dovela je do porasta HDL-C, ali samo u grupi žena ( $p < 0,05$ ).

Vrednosti inflamatornih pokazatelja kod oba pola na početku i nakon tri meseca praćenja prikazane su u tabeli 3.

Muškaraca na terapiji statinima u odnosu na sve ostale grupe (slika 1). Urađena analiza varijanse nije pokazala značajniji međugrupni variabilitet u vrednostima VCAM-1 molekula, bez obzira na pol i vrstu hipolipemične terapije (slika 2).

### Diskusija

Tri ključne studije (4S, CARE, LIPID) pokazale su značajnu ulogu statina u sekundarnoj prevenciji koronarne bolesti kod bolesnika oba pola sa DM tip 2<sup>16</sup>. Međutim, neke studije pokazuju da žene sa DM tip 2 imaju veći rizik od

**Početne vrednosti inflamatornih pokazatelja i procenat promena**

Karakteristike bolesnika	Terapija statinima				Terapija bez statina			
	žene (n=16)	Δ%	muškarci (n=14)	Δ%	žene (n=12)	Δ%	muškarci (n=18)	Δ%
SE I (mm/h)	18,7 ± 11	-17,6 <sup>§</sup>	10 ± 5,5	+12,0	16 ± 8,7	-3,7	15 ± 11,6	-6,6
SE II (mm/h)	43 ± 22	-23,2 <sup>  </sup>	20 ± 12,6	+16,0	36 ± 15	-7,7	32 ± 19	-8,4
CRP (mg/dL)	6,1 ± 2,3	-42,6 <sup>  </sup>	6,4 ± 1,6 <sup>‡</sup>	-39,0 <sup>  </sup>	6,8 ± 2,4 <sup>*</sup>	-5,8	4,6 ± 2,2	-4,3
Fibrinogen (g/L)	4,2 ± 1,6 <sup>*‡</sup>	-33,3 <sup>  </sup>	3,2 ± 0,5 <sup>‡</sup>	-21,8 <sup>§</sup>	3,2 ± 0,5 <sup>*</sup>	-21,8 <sup>§</sup>	2,2 ± 0,5	0
Leukociti ×10 <sup>9</sup> /L	7,5 ± 2,3	-16 <sup>§</sup>	7,1 ± 1,8	-8,5	7,4 ± 0,6 <sup>*</sup>	-4,0	6,4 ± 1,1	-8,0
Neu (%)	3,9 ± 0,7	-10	4,6 ± 0,5	-15,2 <sup>§</sup>	4,4 ± 0,4	-7,6	4,0 ± 0,2	-5,9
Ly (%)	2,57 ± 0,7*	-28 <sup>§</sup>	2,03 ± 0,4	-3,9	2,5 ± 0,5 <sup>*</sup>	-6,3	1,5 ± 0,6	-12,4
Mo (%)	0,43 ± 0,1 <sup>†</sup>	-1,5	0,3 ± 0,06 <sup>‡</sup>	-9,7	0,4 ± 0,1	-5,6	0,42 ± 0,07	-25,6 <sup>§</sup>

Podaci su prikazani kao srednja vrednost ± SD i promene u odnosu na početne vrednosti (Δ%); SE I i II – brzina sedimentacije u 1. i 2. satu; CRP – C reaktivni protein; Neu – neutrofili; Ly – limfociti, Mo – monociti; \* $p < 0,05$ , <sup>†</sup> $p < 0,01$  naspram muškarima u istoj terapijskoj grupi; <sup>‡</sup> $p < 0,05$ , naspram isti pol u grupi bez statina; <sup>§</sup> $p < 0,05$ , <sup>||</sup> $p < 0,01$  naspram početne vrednosti

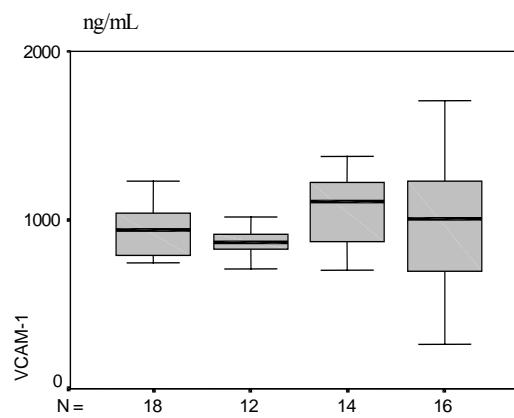
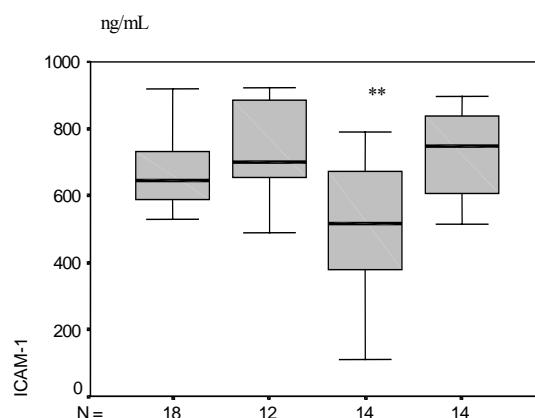
Žene su imale izraženije inflamatorne poremećaje nego muškarci sa DM tip 2. Primena statinske terapije u trajanju od 3 meseca dovela je do snažne i značajne redukcije većine mera kera inflamacije kod žena ( $p < 0,05$ ), ali ne i kod muškaraca. Ovo je dovelo do nestanka početne razlike između polova u grupi na statinskoj terapiji (tabela 3). U grupi bez statinske terapije ovako značajna redukcija nije zabeležena.

Na slikama 1 i 2 prikazane su interkvartilne vrednosti, mediana i opseg vrednosti serumskih koncentracija ICAM-1 i VCAM-1 nakon 3 meseca praćenja. Vrednosti ICAM-1 molekula značajno se razlikuju između ispitivanih grupa ( $F = 6,6$ ,  $p < 0,01$ ), pri čemu je naknadna *post hoc* analiza Tukey HSD testom pokazala značajno niže vrednosti kod

kardiovaskularnog mortaliteta za razliku od žena u opštoj populaciji, pri čemu samo 13% postiže ciljne vrednosti holesterola u odnosu na 37% muškaraca<sup>17, 18</sup>.

Razlozi možda leže u različitoj farmakokineticici hipolipemika, ali i neadekvatnom sprovođenju terapije jer žene znatno ređe primaju trojnu terapiju (aspirin + beta blokator + statin) nego muškarce, što nije bio slučaj u ispitivanom uzorku<sup>19, 20</sup>. Zbog toga su sagledavane specifičnosti lipoprotein-skih, metaboličkih i inflamatornih poremećaja kod žena sa DM tip 2 i postojanje razlika u hipolipemičnom i antiinflamatornom delovanju statina između polova.

Istraživanje je pokazalo da žene obolele od DM tip 2 imaju značajno gore lipoproteinske profile i više vrednosti



Djindjić B, et al. Vojnosanit Pregl 2009; 66(12): 966–972.

jutarnje glikemije u odnosu na muškarce, što je u skladu sa nalazima da su nepovoljni lipoproteinski profili češći nalaz kod žena sa DM tip 2 nego kod muškaraca. Nepovoljni lipidni profili kod žena sa DM tip 2 karakterišu se nižim vrednostima HDL-C i višim nivoima triglicerida, pri čemu su ovi poremećaji znatno izraženiji kod muškaraca i imaju loš prognostički uticaj na ishod i pojavu komplikacija bolesti<sup>21,22</sup>. Poznato je da uticaj poremećaja pojedinih lipidnih frakcija na porast KV rizika nije isti kod oba pola<sup>23</sup>. Nivo HDL-C i TG mnogo je više povezan sa KV rizikom kod žena nego kod muškaraca, dok je LDL-C jači prediktor kod muškaraca<sup>24</sup>. Non-HDL holesterol izgleda bolji indikator KB rizika kod žena nego kod muškaraca, kako u primarnoj tako i u sekundarnoj prevenciji<sup>24</sup>.

Primena statina kod žena dovodi do značajnog popravljanja kvaliteta glikoregulacije i snižavanja vrednosti TC, LDL-C, TG i nonHDL-C, dok kod muškaraca redukuje značajno vrednosti LDL-C i nonHDL-C, što je u skladu sa nalazima drugih studija nakon mesec dana terapije statinima<sup>25</sup>. Na ovaj način statinska terapija briše polnu razliku i dovodi do nalaza sličnih lipoproteinskih profila između polova, pri čemu vrednosti jutarnje glikemije postaju čak značajno niže kod žena.

Odgovor na pitanje da li su ove razlike u delovanju statina na lipidne parametre uslovljene polom ili nekim drugim faktorom može se naći u nalazima studije S-POLIS<sup>25</sup>. Ona ukazuje da je procenat redukcije TC i LDL-C uvek veći kod žena, dok redukcija TG i porast HDL-C ne pokazuju razlike između polova i uglavnom zavise od početnih vrednosti pre terapije. Poseban značaj statinske terapije kod žena leži u redukciji TG jer je veći koronarni rizik kod žena nego kod muškaraca sa DM tip 2 barem delom uslovljen hipertrigliceridjom<sup>26</sup>. Imajući na umu nalaze znatno gorih lipidnih profila kod bolesnika sa DM tip 2, može se prepostaviti da su razlike u antilipemičnom efektu posledica težih lipidnih poremećaja kod žena, a manje polno uslovljene razlike. Slična redukcija pokazatelja gojaznosti kod oba pola isključuje uticaj promene načina života i dijete na razlike u antilipemičkom i metaboličkom efektu statina između polova.

Stepen inflamacije meren većim brojem pokazatelja viši je kod žena sa DM tip 2. C-reaktivni protein najviše je ispitivani inflamatorični marker kardiovaskularnog rizika. Najnovije kliničke preporuke od strane Centra za prevenciju i kontrolu bolesti (CDC) i *American Heart Association* (AHA) navode upotrebu CRP kao markera za procenu kardiovaskularnog rizika, pri čemu je njegova prediktivna vrednost podjednaka kod oba pola<sup>27,28</sup>. U opštoj populaciji prosečna koncentracija CRP skoro duplo je veća kod žena nego kod muškaraca, ali AHA/CDC preporuke ukazuju da CRP > 3 mg/dL identificiše osobe sa visokim kardiovaskularnim rizikom<sup>27,29</sup>. Visoke vrednosti CRP kod svih ispitivanih bolesnika, a posebno kod žena sa DM tip 2 na sekundarnoj prevenciji KB ukazuju na veliki relativni rizik razvoja naknadnog koronarnog dogadaja.

Primenom statinske terapije dolazi do značajne i intenzivne redukcije markera inflamacije (sedimentacija, CRP, fibrinogen i broj leukocita) kod žena, što dovodi i do gubitka početne razlike između polova. Brojne studije pokazuju da

su markeri inflamacije, kao što su koncentracija CRP i broj leukocita, značajno niži kod bolesnika na terapiji statinima uz redukciju aktivnosti i broja inflamatornih ćelija u aterosklerotskom plaku, što važi i za bolesnike sa DM tip 2<sup>30-32</sup>. Bitno je napomenuti da ova redukcija nije povezana sa početnim vrednostima lipida i stepenom promena u lipidnom statusu, što ukazuje da je antiinflamatorni efekat statina nezavisan od hipolipemičnog efekta, ali i da pokazuje određenu polnu razliku<sup>11</sup>.

Higijensko-dijjetetski hipolipemični režim doveo je jedino do značajno bolje redukcije fibrinogena i porasta HDL-C kod žena nego kod muškaraca što predstavlja značajan efekat ove terapije kod žena u pogledu redukcije KV rizika<sup>24</sup>. Ispoljavanje ove razlike, međutim, može biti posledica nešto niže vrednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska koji bi mogao ukazivati na bolju endotelnu funkciju kod žena nego kod muškaraca u ovoj grupi na početku ispitivanja.

Značaj redukcije broja leukocita leži u činjenici da postoji značajna korelacija između sniženja njihovog broja i regresije koronarne ateroskleroze<sup>33</sup>. Ovaj marker pleotropnog efekta statina ističe značaj njihove primene kod žena sa DM tip 2 i KB.

Veći broj studija iznosi podatak da koncentracija sVCAM-1 i sICAM-1 raste kod bolesnika sa koronarnom bolešću nezavisno od kliničke slike<sup>34</sup>. Vrednosti oba adheziona molekula sICAM-1 i sVCAM-1 slične su između polova kod ispitivanih bolesnika sa DM tip 2 i KB bez statinske terapije i značajno su više kod zdravih osoba što je posebno vidljivo za vrednosti ICAM-1<sup>35,36</sup>.

Primena statina dovodi do redukcije ICAM-1 kod muškaraca, ali ne i kod žena. Redukcija ICAM-1 ukazuje na značaj antiinflamatorni potencijal statinske terapije kod muškaraca posredstvom modulacije aktivnost TNF-alfa na nivou endotelnih ćelija<sup>37</sup>. Pokazalo se da statini sniženjem CRP mogu sniziti ICAM-1 i povećati broj endotelnih progenitornih ćelija i njihovu funkcionalnu aktivnost<sup>38</sup>.

U velikim prospективnim studijama primarne prevencije sICAM-1, ali ne i sVCAM-1, najznačajniji je prediktor pojave koronarnog događaja i to posebno kod muškaraca<sup>39</sup>. Nasuprot tome, sVCAM-1 je najjači prediktor budućeg kardiovaskularnog događaja kod bolesnika sa već postojećom KB i bolesnika sa DM tip 2, bez obzira na pol<sup>40,41</sup>. Ovo ukazuje da redukcija vrednosti ICAM-1, pod uticajem statinske terapije, kod dijabetičara muškog pola sa KB nije od većeg značaja za smanjenje kardiovaskularnog rizika. Međutim, visoki nivoi adhezionih molekula, a posebno ICAM-1 prisutni su kod dijabetičara sa moždanim infarktom i značajno su povezani sa progresijom moždane ishemije, što ukazuje da muškarci u ovom ispitivanju imaju značajnu redukciju cerebrovaskularnog rizika pod delovanjem statinske terapije<sup>11</sup>.

Vrednosti VCAM-1 molekula kod oba pola nisu se značajnije menjale pod terapijom statinima. Ovo ukazuje na persistenciju visokog rizika za pojavu naknadnih koronarnih događaja kod bolesnika oba pola bez obzira na primenu statinske terapije, jer od svih adhezionih molekula sVCAM-1 najbolje reflektuje proaterogeno stanje<sup>42</sup>.

## Zaključak

Žene sa DM tip 2 i KB imaju teže lipoproteinske i poremećaje glikoregulacije uz izraženiji proinflamatorni profil od muškaraca. Terapija statinima ispoljava povoljniji efekat kod žena jer dovodi do značajnije korekcije lipoproteinskih profila, popravljanja kvaliteta glikoregulacije i veće redukcije markera inflamacije. Superioriji antiinflamatorni efekat

statinske terapije kod muškaraca vidljiv je samo kod značajnije redukcije ICAM-1.

Povoljniji antiinflamatorni efekti statinske terapije kod žena sa DM tip 2 mogu biti posledica značajnije korekcije lipidnih poremećaja ali i nekih još uvek nedovoljno poznatih mehanizama. Njihovo razumevanje imalo bi značajan uticaj na bolje sagledavanje važnosti statinske terapije u odnosu na pol bolesnika.

## LITERATURA

1. Patel S, Celermajer DS, Bao S. Atherosclerosis-underlying inflammatory mechanisms and clinical implications. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40: 576–80.
2. Maron DJ, Fazio S, Linton MF. Current perspectives on statins. *Circulation* 2000; 101: 207–13.
3. Dindić B, Damjanović G, Mitrorić V, Sokolović D. Diabetic dyslipidemia and atherosclerosis. *Vojnosanit Pregl* 2004; 61(1): 71–5.
4. Bickel C, Rupprecht JH, Blankenberg S, Espinola-Klein C, Rippin G, Hafner G, et al. Influence of HMG-CoA reductase inhibitors on markers of coagulation, systemic inflammation and soluble cell adhesion. *Int J Cardiol* 2002; 82: 25–31.
5. Schwartz GG, Olson AG, Ezeckowitz MD, Ganz P, Oliver MF, Waters D. Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes. The MIRACL study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 285: 1711–18.
6. Murphy SA, Cannon CP, Wiviott SD, de Lemos JA, Blazing MA, McCabe CH, et al. Effect of intensive lipid-lowering therapy on mortality after acute coronary syndrome (a patient-level analysis of the Aggrastat to Zocor and Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 trials). *Am J Cardiol* 2007; 100(7): 1047–51.
7. Barrett-Connor E, Giardina EG, Gitt AK, Gudat U, Steinberg HO, Tschoepe D. Women and heart disease: the role of diabetes and hyperglycemia. *Arch Intern Med* 2004; 164(9): 934–42.
8. Jenkins AJ, Rothen M, Klein RL, Moller K, Eldridge L, Zheng D, et al. Cross-sectional associations of C-reactive protein with vascular risk factors and vascular complications in the DCCT/EDIC cohort. *J Diabetes Complications* 2008; 22(3): 153–63.
9. Criqui M, Nordin-Fredriksson G, Shah PK, Yano J, Zhu J, Nilsson J. Pravastatin treatment increases collagen content and decreases lipid content, inflammation, metalloproteinases, and cell death in human carotid plaques: implications for plaque stabilization. *Circulation* 2001; 103(7): 926–33.
10. Tabara N, Kai H, Ishibashi M, Nakaura H, Kaida H, Baba K, et al. Simvastatin attenuates plaque inflammation: evaluation by fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48(9): 1825–31.
11. Kanai A, Kawamura T, Umemura T, Nagashima M, Nakamura N, Nakayama M, et al. Association between future events of brain infarction and soluble levels of intercellular adhesion molecule-1 and C-reactive protein in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 82(2): 157–64.
12. Fox K, Garcia MA, Ardissono D, Buszman P, Camici PG, Crea F, et al. The task force on the management of stable angina pectoris of the European Society of Cardiology. Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary. *Eur Heart J* 2006; 27: 1341–81.
13. The Exper Panel. The Third Report of the National Education Program (NCEP), Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Final report. *Circulation* 2002; 106: 3421–43.
14. Stone JN, Bilek S, Rosenbaum S. Recent national cholesterol education program adult treatment panel III update: adjustments and options. *Am J Cardiol* 2005; 96: 53E–9E.
15. De Backer G, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K, Brotons C, Cifkova R, Dallongeville J, et al. Third Joint Task Force of European and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Third Joint Task Force of European and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. *Eur Heart J* 2003; 24(17): 1601–10.
16. Grundy SM, Cleeman JL, Merz CN, Brewer HB Jr, Clark LT, Hunninghake DB, et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44(3): 720–32.
17. Larsson CA, Gullberg B, Merlo J, Rastam L, Lindblad U. Female advantage in AMI mortality is reversed in patients with type 2 diabetes in the Skaraborg project. *Diabetes Care* 2005; 28(9): 2246–8.
18. Mehner A, Lindblad U, Rastam L, Bostrom KB. Cholesterol in women at high cardiovascular risk is less successfully treated than in corresponding men. The Skaraborg Hypertension and Diabetes Project. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; 64(8): 815–20.
19. Gibson DM, Bron NJ, Richens A, Hounslow NJ, Sedman AJ, Whitfield LR. Effect of age and gender on pharmacokinetics of atorvastatin in humans. *J Clin Pharmacol* 1996; 36(3): 242–6.
20. Enriquez JR, Prata P, Zbilut JP, Calvin JE, Volzman AS. Women tolerate drug therapy for coronary artery disease as well as men do, but are treated less frequently with aspirin, beta-blockers, or statins. *Gend Med* 2008; 5(1): 53–61.
21. Lawlor AD, Fraser A, Ebrahim S, Smith DG. Independent associations of fasting insulin, glucose and glycated haemoglobin with stroke and coronary heart disease in older women. *PloS Med* 2007; 4(8): 1396–404.
22. Natarajan S, Liao Y, Cao G, Lipsitz SR, McGee DL. Sex differences in risk for coronary heart disease mortality associated with diabetes and established coronary heart disease. *Arch Intern Med* 2003; 163: 1735–40.
23. Sherratt AR, Ballantyne CM, Coady SA, Heiss G, Sorlie PD, Catellier D, et al. Atherosclerosis Risk in Communities Study Group. Coronary heart disease prediction from lipoprotein cholesterol levels, triglycerides, lipoprotein(a), apolipoproteins A-I and B, and HDL density subfractions: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 2001; 104(10): 1108–13.
24. Bittner V. Perspectives on dyslipidemia and coronary heart disease in women. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46(9): 1628–35.
25. Nakajima K. Sex-related differences in response of plasma lipids to simvastatin: the Saitama Postmenopausal Lipid Intervention Study. S-POLIS Group. *Clin Ther* 1999; 21(12): 2047–57.
26. Fukushima H, Kugiyama K, Sugiyama S, Honda O, Koide S, Nakamura S, et al. Comparison of remnant-like lipoprotein particles in postmenopausal women with and without coronary artery

- disease and in men with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2001; 88(12): 1370–3.
27. 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.
  28. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000; 342(12): 836–43.
  29. Khera A, McGuire DK, Murphy SA, Stanek HG, Das SR, Vongpatanasin W, et al. Race and gender differences in C-reactive protein levels. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46(3): 464–9.
  30. Bickel C, Rupprecht HJ, Blankenberg S, Espinola-Klein C, Rippin G, Hafner G, et al. AtheroGene Group. Influence of HMG-CoA reductase inhibitors on markers of coagulation, systemic inflammation and soluble cell adhesion. *Int J Cardiol* 2002; 82(1): 25–31.
  31. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks F, Braunwald E. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. The Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation* 1999; 100(3): 230–5.
  32. van de Ree MA, Huisman MV, Princen HM, Meinders AE, Kluit C. DALI-Study Group. Strong decrease of high sensitivity C-reactive protein with high-dose atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 2003; 166(1): 129–35.
  33. Tani S, Nagao K, Anazawa T, Kawamata H, Iida K, Matsumoto M, Association of circulating leukocyte count with coronary atherosclerosis regression after pravastatin treatment. *Atherosclerosis* 2008; 198(2): 360–5.
  34. Ridker PM, Cannon CP, Morrow D, Rifai N, Rose LM, McCabe CH, et al. Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 (PROVE IT-TIMI 22) Investigators. C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N Engl J Med* 2005; 352(1): 20–8.
  35. Güney U, Erbay AR, Güney Y, Yilmaz MB, Boyaci AA, Sasmaz H, et al. Levels of soluble adhesion molecules in various clinical presentations of coronary atherosclerosis. *Int J Cardiol* 2004; 96(2): 235–40.
  36. Eschen O, Christensen JH, Toft E, Schmidt EB. Soluble adhesion molecules and marine n-3 fatty acids in patients referred for coronary angiography. *Atherosclerosis* 2005; 180(2): 327–31.
  37. Zapolska-Downar D, Siennicka A, Kaczmarek M, Kołodziej B, Naruszewicz M. Simvastatin modulates TNFalpha-induced adhesion molecules expression in human endothelial cells. *Life Sci* 2004; 75(11): 1287–302.
  38. Tousoulis D, Antoniades C, Koumallos N, Stefanadis C. Pro-inflammatory cytokines in acute coronary syndromes: from bench to bedside. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006; 17(4): 225–33.
  39. Malik I, Danesh J, Whincup P, Bhatia V, Papacosta O, Walker M, et al. Soluble adhesion molecules and prediction of coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Lancet* 2001; 358(9286): 971–6.
  40. Wu Y, Ip JE, Huang J, Zhang L, Matsushita K, Liew CC, et al. Essential role of ICAM-1/CD18 in mediating EPC recruitment, angiogenesis, and repair to the infarcted myocardium. *Circ Res* 2006; 99(3): 315–22.
  41. Stehouwer CD, Gall MA, Twisk JW, Knudsen E, Emeis JJ, Parving HH. Increased urinary albumin excretion, endothelial dysfunction, and chronic low-grade inflammation in type 2 diabetes: progressive, interrelated, and independently associated with risk of death. *Diabetes* 2002; 51(4): 1157–65.
  42. Eccles KA, Sowden H, Porter KE, Parkin SM, Homer-Vanniasinkam S, Graham AM. Simvastatin alters human endothelial cell adhesion molecule expression and inhibits leukocyte adhesion under flow. *Atherosclerosis* 2008; 200(1): 69–79.

Rad primljen 22. XII 2008.



## Faktori rizika od koronarne bolesti srca i aktuelni dijagnostički kriterijumi za dijabetes melitus

Risk factors for coronary heart disease and actual diagnostic criteria for diabetes mellitus

Nataša Mitrović-Perišić\*, Slobodan Antić†

\*Vojna bolnica, Odeljenje za interne bolesti, Niš, Srbija;

†Klinički centar Niš, Klinika za endokrinologiju i bolesti metabolizma, Niš, Srbija

### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Savremene studije pokazuju da je u porastu prevalencija dijabetesa melitusa (DM) u svetu. Hronična hiperglikemija kod DM u vezi je sa dugotrajnim oštećenjem, disfunkcijom i prestankom rada različitih organa, posebno retine, bubrega i nerava i nerava i dodatno dovodi do porasta rizika od kardiovaskularnih bolesti. Bolest dugo ostaje neprepoznata. Rana dijagnoza DM sprečila bi pojavu komplikacija. Cilj rada bio je utvrđivanje rizika od nastanka koronarne bolesti kod ispitanika koji su procenjivani prema novim dijagnostičkim kriterijumima za DM. **Metode.** U ispitivanje je bilo uključeno 930 ispitanika koji dve godine pre ovog ispitivanja nisu imali dijagnostikovane dijabetes, hipertenziju i dislipidemiju, kao ni elemente za koronarnu bolest srca. Svim ispitanicima mereni su jutarnje glikemije natašte, eritrociti, hematokrit, holesterol, trigliceridi, holesterol velike gustine (HDL-C), holesterol male gustine, aktivnost aspartat aminotransferaze i alanin aminotransferaze. Grupi osoba sa povиšenim vrednostima glikemije urađen je dvočasovni test na toleranciju oralno unete glukoze, kao i EKG uz kontrolu krvnog pritiska. Mereni su telesna masa, telesna visina, obim struka i obim kuka. Analizirane su životne navike u vezi sa fizičkim aktivnostima i pušenjem, kao i porodična anamneza. **Rezultati.** Zastupljenost dijabetesa bila je 2,68%, a učestalo poremećene glikemije natašte, narušena toleranca glukoze i DM 12,15%. Prosečna starost muškaraca iznosila je 38, a žena 49 godina. Među zdravima bilo je više pušača (55% vs 42%), a među osobama sa hiperglikemijom bilo je više gojaznih (23% vs 10,5%), onih sa hipertenzijom (39% vs 9%), hiperholesterolemijom (76% vs 44,1%) i onih sa nižim HDL-C (52,2% vs 25,7%). Ukupni skor faktora rizika kod zdravih osoba iznosio je 5,6%, a kod osoba sa hiperglikemijom 14%. **Zaključak.** Osobe sa hiperglikemijom bez dijagnoze DM, imaju povиšene faktore rizika od koronarne bolesti srca.

### Ključne reči:

dijabetes melitus; hiperglikemija; dijagnoza; faktori rizika; koronarna bolest; pušenje; gojaznost; hipertenzija.

### Abstract

**Background/Aim.** Recent studies indicate that the prevalence of diabetes mellitus (DM) type 2 is increasing in the world. Chronic hyperglycemia in DM is associated with a long term damage, dysfunction and failure of various organs, especially retina, kidney, nerves and, in addition, with an increased risk of cardiovascular disease. For a long time the illness has been unknown. Early diagnosis of diabetes could suspend the development of diabetic complications. The aim of the study was to establish risk for the development of coronary disease in the patients evaluated by the use of new diagnostic criteria for DM. **Methods.** The study included 930 participants without diagnosis of DM, hypertension, dyslipidemia, nor coronary heart disease two years before the study. The patients went through measuring of fasting plasma glycemia, erythrocytes, hematocrit, cholesterol, triglycerides, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol, aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. In the group with hyperglycemia the 2-hour oral glucose tolerance test was performed. We analyzed ECG and made blood pressure monitoring, and also measured body mass, height, waist and hip circumference. We analyzed life style, especially smoking, and exercise and family history. **Results.** Diabetes prevalence was 2.68%, and prevalences of impaired fasting glucose, impaired glucose tolerance and DM were 12.15%. Average age of males and females was 38 and 45 years, respectively. In the healthy population there was higher frequency of smokers (55% vs 42%), but in the population with hyperglycemia there were more obesity (23% vs 10.5%), hypertension (39% vs 9%), hypercholesterolemia (76% vs 44.1%), lower HDL-C (52.2% vs 25.7%). Cumulative risk factor in healthy subjects, and those with hyperglycemia were 5.6% and 14%, respectively. **Conclusion.** Subjects with hyperglycemia without diagnosis of DM have higher risk factors for coronary heart disease.

### Key words:

dijabetes mellitus; hyperglycemia; diagnosis; risk factors; coronary disease; smoking; obesity; hypertension.

## Uvod

*Diabetes mellitus* (DM), metabolički poremećaj multiple etiologije koji karakteriše apsolutni ili relativni manjak insulina sa posledičnom hiperglikemijom i poremećajem metabolizma masti i proteina, obuhvata grupu sličnih metaboličkih poremećaja koji se fenotipski ispoljavaju hiperglikemijom. Hronična hiperglikemija kod DM povezana je sa dugotrajnim oštećenjem, disfunkcijom i prestankom rada različitih organa, posebno retine, bubrega, nerava što dodatno dovodi do porasta rizika od kardiovaskularnih bolesti. U pitanju je bolest sa tendencijom stalnog rasta broja obolelih<sup>1</sup>.

Dve glavne kategorije DM označene su kao tip 1 i tip 2. Tip 1 karakteriše se nedostatkom insulina kao i tendencijom ka razvoju ketoze. Dijabetes melitus tip 2 predstavlja heterogenu grupu poremećaja koji se obično karakterišu različitim stepenom insulinske rezistencije, oštećenog lučenja insulina i povećanog stvaranja glukoze<sup>2</sup>. Prepoznavanje različitih patogenetskih procesa kod DM tip 2 ima važan potencijalni terapijski značaj. Dijabetes tip 2 odgovoran je za 90% dijabetesa odraslih i obično se javlja u srednjim godinama<sup>3</sup>.

Kriterijumi za DM uvedeni su još 1965, a poslednje preporuke date su 1999. godine. Aktuelna klasifikacija objedinila je relativno neprecizne podatke sa patofiziološkog i kliničkog aspekta, objašnjavajući mnogo preciznije mehanizme oštećenja  $\beta$ -ćelija, lučenja i delovanja izlučenog insulina<sup>4</sup>. Cilj je da se definiše i opiše dijabetes sa današnje tačke gledišta, da se predstavi šema klasifikacije sa etiologijom i patogenezom, postavi vodič i preporuče testovi za dijagnozu<sup>5</sup>. Sve zajedno trebalo bi da redukuje morbiditet i mortalitet dijabetičara.

Termini narušena tolerancija glikoze (IGT) i poremećena glikemija natašte (IFG) govore o metaboličkom stanju između normalne homeostaze glukoze i dijabetesa. To stanje uključuje osobe koje imaju IGT i osobe sa IFG kod kojih je nivo glukoze  $> 6,1 \text{ mmol/L}$  do  $< 7,0 \text{ mmol/L}$ <sup>6</sup>.

Nakon poslednje izmene 1999. godine, raspolaže se novim podacima. *American Diabetes Association* (ADA) preporučuje nove dijagnostičke kriterijume za IFG od 2003. godine<sup>7</sup>. Ustanovljeno je da i pri vrednostima glikemije 5,6–7,0 mmol/L raste rizik od razvoja dijabetesne retinopatije, obolovanja od DM i kardiovaskularnih bolesti (KVB)<sup>8</sup>. Određivanje ukupnog rizika od koronarne bolesti uključuje više faktora. Prema Vodiču NCEP ATP III na prvom mestu je pušenje sa napomenom da nijedan nivo pušenja nije dozvoljen. Prisustvo dijabetesa, kao i prisustvo ishemijske bolesti automatski stavlja bolesnike u kategoriju visokog rizika. NCEP ATP III pridaje značaj i sistolnom i dijastolnom pritisku. *United Kingdom Prospective Diabetes Study* (UKPDS) daje prednost sistolnom pritisku. Termin IFG uveden je 1997. godine<sup>9</sup>. To nije klinički entitet, već predstavlja faktor rizika od razvoja DM i KVB. Studija 1 *Pharmacotherapy* pokazala je da rizik od progresije ka dijabetesu može biti redukovani. Termin IGT uveden je 1979. godine. Taj termin, takođe, nije klinički entitet nego predstavlja faktor rizika od razvoja dijabetesa i KVB. Poklanjanje pažnje pojavi i dinamici IGT može smanjiti rizik od razvoja dijabetesa.

Jasna je veza između metaboličkog sindroma i insulin-ske rezistencije koja je bazirana na glukotoksičnosti i lipotoksičnosti i u vezi je sa varijetetima u abnormalnosti inflamatornih medijatora<sup>10</sup>. Veza između insulinске rezistencije i KVB rezultira visokom prevalencijom IGT i nedijagnostikovanog dijabetesa tip 2 među osobama sa akutnim infarktom miokarda (približno 2/3) ili cerebrovaskularnim insultom (približno 1/2)<sup>11</sup>.

Cilj rada bio je utvrđivanje rizika od nastanka koronarne bolesti kod ispitanika koji su procenjivani prema novim dijagnostičkim kriterijumima za DM.

## Metode

Istraživanje je sprovedeno u Odeljenju za interne bolesti Vojne bolnice u Nišu, a korišćene su usluge biohemijske laboratorijske Vojne bolnice u Nišu. U ispitivanje bile su uključene osobe koje su imale kontrolu zdravstvenog stanja dve godine ranije i za koje je postojao podatak da su tada bile zdrave.

Od 4 230 osoba podvrgnutih redovnom sistematskom pregledu, izdvojeno je 930 osoba koje dve godine pre ovog ispitivanja nisu imale dijagnostikovane DM, hipertenziju i dislipidemiju, kao ni elemente za koronarnu bolest. Kao mera za hiperglikemiju uzeta je vrednost  $\geq 6,1 \text{ mmol/L}$ .

Kontrolnu grupu predstavljale su osobe sa normalnim vrednostima glikemije natašte, a grupi osoba sa povišenim vrednostima glikemije ( $\geq 6,1 \text{ mmol/L}$ ) rađen je dvočasovni OGTT sa 75 g glukoze. Među ispitanicima bilo je 796 muškaraca i 134 žene.

Klinička obrada ispitanika uključivala je ličnu i porodičnu anamnezu. Svim ispitanicima rađen je 12-kanalni EKG uz kontrolu krvnog pritiska u sedećem položaju, pola sata nakon odmora, na levoj ruci. Mereni su telesna masa, telesna visina i obim struka (na pola puta između najnižeg rebra i *spinae ili acae*) i izračunavan je indeks telesne mase (*body mass index – BMI*). Obim kuka meren je na najnižem delu glutalnog regiona. Kao mera centralne gojaznosti uzet je obim struka. Analizirane su životne navike ispitanika u pogledu njihove fizičke aktivnosti i pušenja. Ispitanici koji su izjavili da vežbaju najmanje tri puta nedeljno po 45 minuta svrstani su u osobe sa redovnom fizičkom aktivnošću. Pušači su definisani kao osobe koje su izjavile da svakodnevno puše. Bivši pušači ili povremeni pušači svrstani su u nepušače. Traženi su podaci koji su se odnosili na porodično opterećenje za dijabetes, gojaznost, hipertenziju i maligne bolesti.

Svim osobama izračunavani su faktori rizika od razvoja KVB, osim osobama do 30 godina, jer postojeće tabele i kalkulatori isključuju tu kategoriju ispitanika. U radu je korišćen *risk* kalkulator koji je izdat kao zajednička preporuka Britanskog kardiološkog udruženja, Britanske asocijacije za hiperlipidemiju, Britanskog društva za hipertenziju i Britanske asocijacije za dijabetes i prevenciju koronarne srčane bolesti<sup>12</sup>. Ovaj kalkulator ima 9 varijabli i bazira se na činjenicama iz Framingamske studije. Potrebne varijable bile su: pol, starost, sistolni krvni pritisak u mmHg, dijastolni krvni pritisak u mmHg, podatak o pušenju, nivo holesterola (mmol/L), nivo holesterola velike gustine (HDL-C, mol/L),

postojanje dijabetesa i hipertrofija leve komore (elektrokardiografski nalaz).

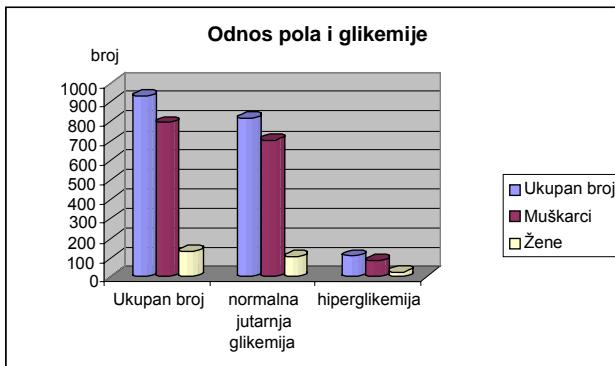
Svim ispitanicima određivan je broj eritrocita, hematokrit, holesterol, trigliceridi, HDL-C, holesterol male gustine, aktivnost aspartat aminotransferaze i alanin aminotransferaze i glikemija. Osobama sa glikemijom preko 6,1 mmol/L ponavljana je analiza, a u slučaju ponovljene hiperglikemije ( $> 6,1$  mmol/L) rađen je dvočasovni test na toleranciju oralno unete glukoze (OGTT), sa određivanjem vrednosti glukoze pre početka testa i 30, 60, 90 i 120 minuta nakon opterećenja glukozom. Za test je korišćeno 75 g glukoze rastvorene u 200 mL vode. Svim ispitanicima izvršen je pregled urina.

Za statističku obradu podataka korišćen je  $\chi^2$  i F-test, a statistički značajnim smatrane su razlike srednjih vrednosti posmatranih varijabli za  $p < 0,05$ .

## Rezultati

Od 930 prethodno zdravih osoba kojima je utvrđivan nivo glukoze u krvi natašte, izdvojeno je 113 osoba kojima je utvrđena hiperglikemija (glukoza  $> 6,1$  mmol/L), dok je 817 osoba sa normalnom glikemijom natašte činilo kontrolnu grupu.

Prosečna starost cele grupe iznosila je 32,29 godina, muškaraca 31,29 godina, a žena 38,41 godinu. Na slici 1 prikazana je distribucija osoba sa normalnim vrednostima glikemije natašte i hiperglikemijom u odnosu na pol.



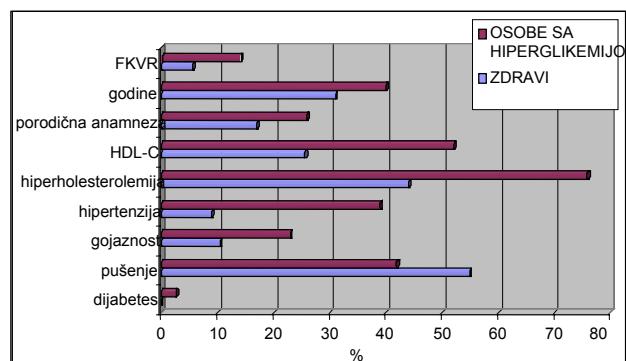
Sl. 1 – Distribucija ispitnika sa normalnim vrednostima glikemije natašte i hiperglikemijom u odnosu na pol

Osobama sa hiperglikemijom rađen je dvočasnovni OGTT, nakon čega su svrstani u četiri podgrupe: 1) IFG (31 ispitnik sa vrednostima glikemije natašte 6,1–6,9 mmol/L), 2) DM (novi kriterijumi, po starim kriterijumima zdravi 11 ispitnika, glikemija 7,0–7,79 mmol/L), 3) IGT (44 ispitnika sa vrednostima glikemije nakon dvočasovnog OGTT 7,8–11,0 mmol/L); 4) DM (stari kriterijumi; 27 ispitnika sa vrednostima glikemije  $\geq 11,1$  mmol/L). Zastupljenost osoba sa hiperglikemijom bila je 12,5%, a osoba sa dijabetesom tip 2 2,68%.

Faktori rizika razmatrani u ovom radu prikazani su na slici 2.

Osobe sa normalnim vrednostima glikemije bile su fizički aktivnije (86,6%), nego osobe sa hiperglikemijom

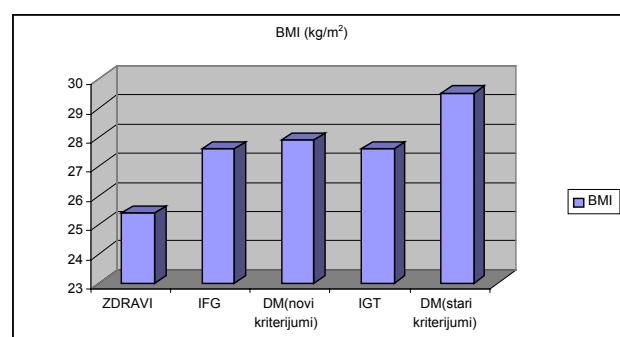
(77,8%), ali su statistički značajno više pušile ( $p < 0,02$ ). Među zdravima bilo je 55%, a kod osoba sa hiperglikemijom 43% pušača.



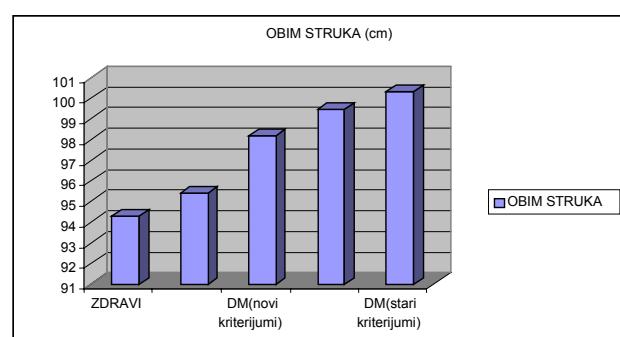
Sl. 2 – Faktori rizika od koronarne bolesti srca kod zdravih i kod osoba sa hiperglikemijom  
HDL-C – holesterol velike gustine; FKVR – kumulativni faktori rizika

Porodično opterećenje za dijabetes, gojaznost i maligne bolesti statistički značajno korelišu sa povišenim rizikom od pojave koronarne bolesti ( $p < 0,01$ ).

Grupa zdravih imala je vrednost BMI  $25,8 \text{ kg/m}^2$ , a osobe sa hiperglikemijom  $28,1 \text{ kg/m}^2$ . Gajaznost je bila prisutna kod 10,5% zdravih i kod 23% osoba sa hiperglikemijom. Na slikama 3 i 4 prikazani su BMI i abdominalni tip gojaznosti iskazan obimom struka.

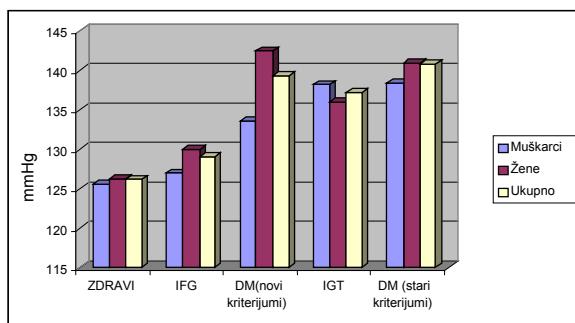


Sl. 3 – Indeks telesne mase (BMI) po grupama ispitnika  
DM – dijabetes melitus; IFG – poremećena glikemija natašte; IGT – narušena tolerancija glukoze



Sl. 4 – Obim struka kao mera abdominalnog tipa gojaznosti po podgrupama ispitnika; DM – dijabetes melitus

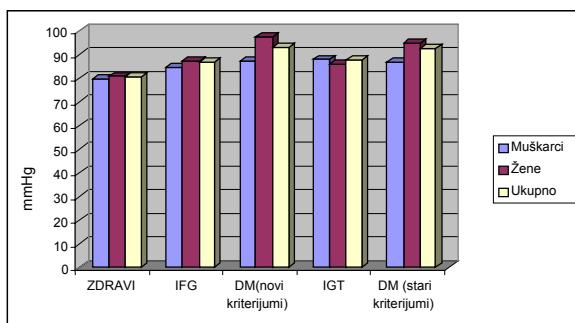
Kao nezavisni faktori rizika od koronarne bolesti srca razmatrani su sistolni i dijastolni krvni pritisak. Za istraživanje razlika i relativnog položaja ispitivanih podgrupa korišćen je koeficijent višestruke korelacije koji predstavlja kovarijansu izraženu u jedinicama standardnih devijacija, potvrđen F-testom. Na slici 5 prikazane su srednje vrednosti sistolnog krvnog pritiska u celokupnoj populaciji.



Sl. 5 – Sistolni krvni pritisak po podgrupama ispitanika  
DM – dijabetes melitus; IFG – poremećena glikemija natašte;  
IGT – narušena tolerancija glukoze

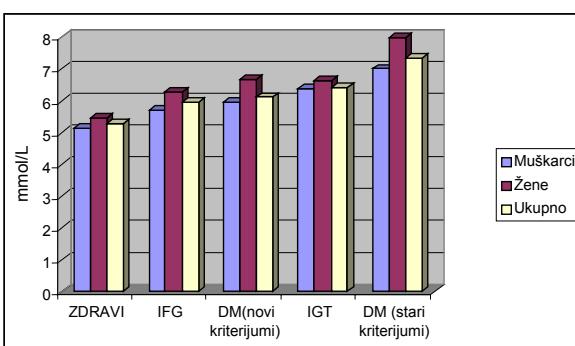
Dobijena vrednost F-testa je 15,75 sa statističkom značajnošću  $p < 0,001$ , što pokazuje vrlo veliku razliku među analiziranim podgrupama.

Rezultati analize dijastolnog krvnog pritiska po izdvojenim podgrupama prikazani su na slici 6.



Sl. 6 – Dijastolni krvni pritisak po podgrupama ispitanika  
DM – dijabetes melitus; IFG – poremećena glikemija natašte;  
IGT – narušena tolerancija glukoze

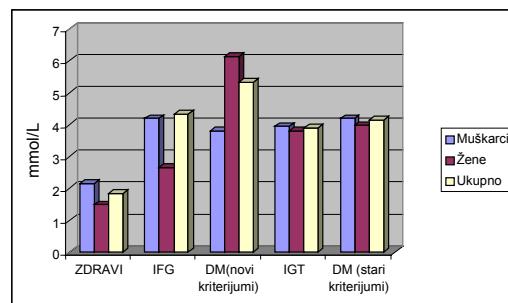
Prema analizi nivoa holesterola grupa zdravih i onih sa DM (novi kriterijumi) po svojim vrednostima bili su najblže, što je prikazano na slici 7.



Sl. 7 – Vrednosti holesterola po podgrupama ispitanika  
DM – dijabetes melitus; IFG – poremećena glikemija natašte;  
IGT – narušena tolerancija glukoze

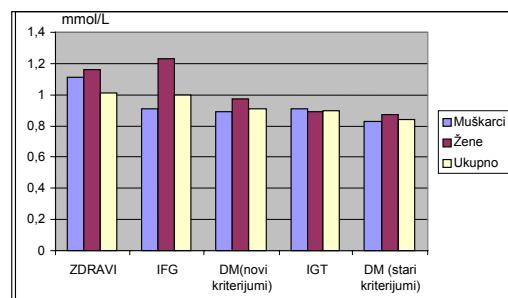
Vrednost dobijena F-testom 16,28 pokazuje vrlo veliku razliku sa statističkom značajnošću ( $p < 0,001$ ) među analiziranim podgrupama.

Podgrupa DM (stari kriterijumi) imala je srednju vrednost triglicerida 4,20 (SD 1,49), ali i zdravi ispitnici imali su višu vrednost od očekivane. Vrednost dobijena F-testom 11,90 pokazuje vrlo veliku razliku sa statističkom značajnošću ( $p < 0,001$ ) među analiziranim podgrupama. Razultati određivanja triglicerida kod zdravih ispitnika i po podgrupama prikazani su na slici 8.



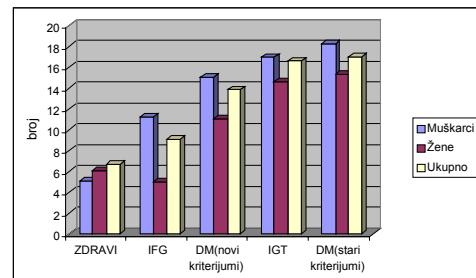
Sl. 8 – Vrednosti triglicerida po podgrupama  
DM – dijabetes melitus; IFG – poremećena glikemija natašte;  
IGT – narušena tolerancija glukoze

Rezultati određivanja vrednosti HDL-C kod zdravih ispitnika i ispitnika pojedinih podgrupa pokazani su na slici 9. Vrednost dobijena F-testom 3,78 pokazuje razliku sa statističkom značajnošću ( $p < 0,05$ ) među analiziranim podgrupama.

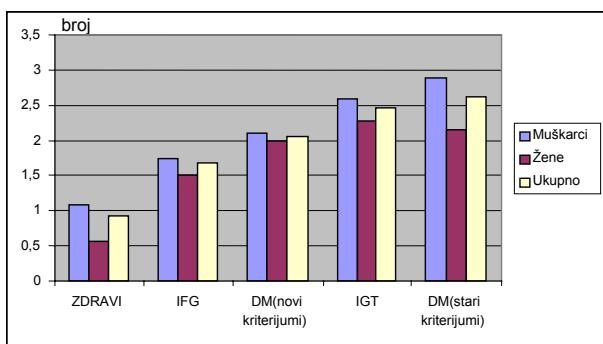


Sl. 9 – Vrednost holesterola velike gustine po podgrupama  
ispitanika  
DM – dijabetes melitus; IFG – poremećena glikemija natašte;  
IGT – narušena tolerancija glukoze

Rezultati određivanja skora faktora rizika kod grupe ispitnika formiranih po novom klasifikacionom modelu za DM pokazuju vrlo veliku razliku među analiziranim podgrupama ( $p < 0,001$ ) (slike 10 i 11).



Sl. 10 – Faktori rizika od koronarne bolesti srca kod ispitanika razvrstanih prema aktuelnoj klasifikaciji dijabetes melitus (DM)  
DM – dijabetes melitus; IFG – poremećena glikemija natašte;  
IGT – narušena tolerancija glukoze



**Sl. 11 – Srednja vrednost broja faktora rizika po podgrupama ispitanika**  
**DM – dijabetes melitus; IFG – poremećena glikemija natašte;**  
**IGT – narušena tolerancija glukoze**

### Diskusija

Osobe sa normalnim vrednostima glikemije imaju manje porodično opterećenje za dijabetes, gojaznost i maligne bolesti.

Ovo ispitivanje pokazalo je da su mnogi faktori rizika od koronarne bolesti srca bili prisutni kod osoba za koje se ranije smatralo da su zdrave, znatno pre postavljanja dijagnoze dijabetesa. Svaka individualna komponenta faktora rizika direktno koreliše sa incidencijom, težinom i komplikacijama koronarne bolesti srca<sup>13</sup>. Gajaznost je bila zastupljena kod 23% osoba sa hiperglikemijom, a abdominalni tip gojaznosti kod 36% osoba iste grupe. Abdominalni tip gojaznosti nezavisno od ITM utiče na progresiju kardiometaboličkih faktora. Preporuke NCEP ATP III upućuju na tretman abdominalne gojaznosti i insulinske rezistencije na prvom mestu<sup>14</sup>. Gajaznost je najznačajniji faktor rizika od razvoja dijabetesa tip 2. Približno 90% svih dijabetičara pripada dijabetesu tip 2, a procena je da je 80–90% tih osoba gojazno. Veruje se da je gojaznost promoter insulinske rezistencije. Abdominalni tip gojaznosti posebno doprinosi riziku od razvoja dijabetesa i koronarne bolesti srca<sup>15</sup>.

Na osnovu velikog broja istraživanja zaključeno je da su povišen holesterol i trigliceridi, uz nizak HDL-C, jedan od glavnih uzroka pojave koronarne bolesti.

Grupa zdravih imala je požljene vrednosti holesterola, dok su se ispitanici iz ostalih podgrupa po svojim vrednostima holesterola našli među onima sa faktorom rizika od obolevanja koronarnih krvnih sudova.

Požljene vrednosti triglicerida su ispod 1,7 mmol/L, međutim, u našoj populaciji čak i grupa zdravih muškaraca imala je vrednosti preko očekivanih.

Po preporukama, za prevenciju koronarne bolesti požljna vrednost HDL-C treba da je viša od 1,2 mmol/L. Među našim ispitanicima grupa zdravih bila je najbliža toj vrednosti, sa srednjom vrednosti 1,11 mmol/L, ali i ta grupa imala je vrednosti ispod požljivih, dok su podgrupe DM (novi kriterijumi) i DM (stari kriterijumi) imale najniže vrednosti.

Najviše osoba sa hiperglikemijom imalo je hiperholes terolemiju (76%), dok je kod zdravih bilo 44,86% osoba sa povišenim vrednostima holesterola. Među zdravima snižen

HDL-C imalo je 25,7%, a kod osoba sa hiperglikemijom njih 52,2%. Jedan od zaključaka Svetskog kongresa sindroma insulinske rezistencije je da osobe sa dijabetesom imaju tipičan lipidni profil i da je on u korelaciji sa rizikom od obolevanja od KVB<sup>16</sup>.

Srednje vrednosti sistolnog krvnog pritiska IFG podgrupe, kako muškaraca tako i žena, bile su bliže podgrupi zdravih ispitanika, u odnosu na podgrupe IGT i DM sa novim kriterijumima. Slični rezultati objavljeni su u *Decode* studiji<sup>13</sup>.

U našem ispitivanju, među zdravima 9% imalo je hipertenziju, a među osobama sa hiperglikemijom njih 39%. Preporuka HOT studije je da intenzivno spuštanje krvnog pritiska kod bolesnika sa hipertenzijom dovodi do snižavanja broja kardiovaskularnih dogadaja. Aktivno sniženje krvnog pritiska posebno je korisno kod osoba sa dijabetesom<sup>18</sup>. Učestalost hipertenzije u opštoj populaciji je 22%, kod dijabetesa tip 2 39%, a učestalost insulinske rezistencije kod hipertenzivnih bolesnika iznosi 58%.

Dokazana je veza između insulinske rezistencije i razvoja aterosklerotskih plakova. I kod dece nadena je veza između debljine intime karotida i pada vazodilatacije, porasta C-reaktivnog proteina, porasta triglicerida, pada HDL-C i porasta nivoa insulina. Endotelna disfunkcija merena dilatacijom je u čvrstoj korelaciji sa insulinskom rezistencijom i porodičnim opterećenjem za dijabetes<sup>19</sup>. Koronarne vazomotorne abnormalnosti progresivno se pogoršavaju sa progresijom insulinske senzitivnosti ka insulinskoj rezistenciji, ka IGT i na kraju ka dijabetesu<sup>20</sup>. Aterosklerotska lezija osoba sa dijabetesom pokazuje porast infiltracije makrofagima, što je veza za inflamaciju<sup>21</sup>.

Studije novijeg datuma ispituju vezu između insulinske rezistencije i KVB. Analiza osoba uključenih u *Nurses' Health Study* pokazala je da je stanje i „pre dijabetesa“ u vezi sa rizikom od obolevanja od KVB, sa makrovaskularnim aterosklerotskim bolestima u mnogim slučajevima pre nego što dijabetes postane manifestan<sup>8,22</sup>.

Pri postavljanju dijagnoze dijabetesa tip 2 već su prisutni neki od faktora rizika od KVB, pre svega gojaznost, po nekim studijama i kod 80%, pa se u literaturi sreće i naziv *diabesity* (složenica od reči dijabetes i *obesity*-gojaznost).

Osobe sa abdominalnim tipom gojaznosti imaju veći rizik od obolevanja od dijabetesa, hipertenzije, dislipidemije i ishemische bolesti srca nego osobe čija je masnoća lokalizovana predominantno u nižim delovima tela. Abdominalna gojaznost, nezavisno od BMI utiče na progresiju faktora rizika od dijabetesa i aterogeneze. Ateroskleroza je inflamatori proces, proinflamatori adipokini postaju veoma važni medijatori adipogeneze kod abdominalno gojaznih osoba<sup>23</sup>.

Sumiranjem faktora rizika od koronarne bolesti srca, prema preporukama Britanskog društva za prevenciju dijabetesa i koronarne bolesti srca<sup>24</sup>, uočavaju se izražene razlike u podgrupama IGT i DM (stari kriterijumi) u odnosu na ostale podgrupe, što je i očekivano, jer su se u dosadašnjim analizama upravo te dve podgrupe izdvojile kao različite sa statističkom značajnošću. Grupa zdravih imala je najniži skor, u odnosu na ostale podgrupe.

pe. Pripadnici podgrupa IFG i DM (novi kriterijumi) po prethodnim kriterijumima proglašavni su zdravim, ali posmatrajući zbir faktora rizika od koronarne bolesti srca, kao i pojedinačne elemente rizika, oni se razlikuju od zdravih.

Dijabetes tip 2 povećava rizik od razvoja KVB 2–4 puta u odnosu na bolesnike bez dijabetesa<sup>25</sup>. Procak studija pokazala je da je u periodu od četiri godine praćenja, infarkt miokarda 3 × veći kod dijabetičara nego kod osoba bez dijabetesa. Kada su dijabetes i hipertenzija prisutni zajedno, učestalost infarkta je osam puta veća nego kad ovih faktora rizika nema<sup>26</sup>.

### Zaključak

Osobe sa glikemijom  $\geq 7\text{--}7,8 \text{ mmol/L}$ , imaju veći broj faktora rizika od nastanka koronarne bolesti srca nego gru-

pa zdravih ispitanika i bliži su kategoriji DM. Upoređivanje kategorija IFG i IGT pokazuje da je rizik od obolevanja od koronarne bolesti značajno veći u podgrupi IGT. Gojaznost, posebno abdominalnog tipa, faktor je rizika od IFG, IGT i DM kao i faktor rizika od koronarne bolesti. Osobe sa IFG, IGT i novootkrivenim dijabetesom imaju povišen krvni pritisak, povišene trigliceride, holesterol i snižen HDL-C u odnosu na zdrave osobe.

Ovo ispitivanje pokazalo je da osobe sa glikemijom  $6,1\text{--}6,9 \text{ mmol/L}$  i  $\geq 7,0\text{--}7,8 \text{ mmol/L}$ , imaju povišene faktoare rizika od koronarne bolesti srca u odnosu na grupu zdravih i da su bliže kategoriji DM, što znači da je pooštavanje kriterijuma za dijagnozom DM opravdano. Prepoznavanje DM je prvi korak za prevenciju i kontrolu bolesti koja poprima razmere pandemije.

### LITERATURA

1. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2003; 26 Suppl 1: S5–20.
2. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. Diabet Med 1998; 15(7): 539–53.
3. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2000; 23 Suppl 1: S4–19.
4. Abott RD, Donabue RP, Kannel WB, Wilson PWF. The impact of diabetes on survival following MI in men vs women. JAMA 1988; 260: 3456a–60.
5. International Diabetes Federation, clinical Guidelines Task force. Guide for guidelines: a guide for clinical guideline development. [accessed 2005 February 15]. Available from: <http://www.idf.org>
6. American Diabetes Association. Diabetes. Facts and Figures. 2000. Available from: <http://www.diabetes.org>.
7. Borø-Johnsen K, Colagiuri S, Balkau B, Glümer C, Carstensen B, Ramachandran A, et al. Creating a pandemic of prediabetes: the proposed new diagnostic criteria for impaired fasting glycaemia. Diabetologia 2004; 47(8): 1396–402.
8. Hu FB, Stampfer MJ, Haffner SM, Solomon CG, Willett WC, Manson JE. Elevated risk of cardiovascular disease prior to clinical diagnosis of type 2 diabetes. Diabetes Care 2002; 25(7): 1129–34.
9. The Diabetes Prevention Program. Design and methods for a clinical trial in the prevention of type 2 diabetes. Diabetes Care 1999; 22(4): 623–34.
10. Campos H, Moye LA, Glasser SP, Stampfer MJ, Sacks FM. Low-density lipoprotein size, pravastatin treatment, and coronary events. JAMA 2001; 286(12): 1468–74.
11. Norhammar A, Tenerz A, Nilsson G, Hamsten A, Efendic S, Ryden L, et al. Glucose metabolism in patients with acute myocardial infarction and no previous diagnosis of diabetes mellitus: a prospective study. Lancet 2002; 359: 2140–4.
12. Joint Recommendations of the British Cardiac Society, British Hyperlipidemia association, British Hypertension Society and British Diabetic Association on Prevention of Coronary Artery Heart Disease. Clinical Practice Heart 1998; 80 Suppl2: 1–28.
13. The DECODE study group on health of the European Diabetes Epidemiology Group. Is Fasting glucose sufficient to define diabetes? Diabetologia 1999; 42: 647–54.
14. Task Force Report: Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Recommendations of the Second Joint Task Force of European and other Societies on coronary prevention. Eur Heart J 1998; 19: 1434–503.
15. LeWinter MM. Assotiation of syndromes of insulin resistance with coronary artery disease. Coron Artery Dis 2005; 16: 477–80.
16. Despres JP. Abdominal obesity: the most prevalent cause of the metabolic syndrome and related cardiometabolic risk. European Heart Journal Supplements 2006; 8: B4–B12.
17. Lau DCW, Yan H, Dhillon B. Metabolic syndrome: A marker of patients at high cardiovascular risk. Can J Cardiol 2006; 22: pp. 85B–90B.
18. Zachary T Bloomgarden. Insulin resistance, dyslipidemia and cardiovascular disease. Diabetes Care 2007; 30(8): 2164–70.
19. Hansson L, Zanchetti A, Carruthers SG, Dahlöf B, Elmfeldt D, Julius S, et al. Effects of intensive blood-pressure lowering and low-dose aspirin in patients with hypertension: principal results of the Hypertension Optimal Treatment (HOT) randomised trial. Lancet 1998; 351:1755–62.
20. Goldfine AB, Beckman JA, Betensky RA, Devlin H, Hurley S, Varni N, et al. Family history of diabetes is a major determinant of endothelial function. J Am Coll Cardiol 2006; 47: 2456–61.
21. Prior JO, Quinones MJ, Hernandez-Pampaloni M, Farta AD, Schindler TH, Sayre JW, et al. Coronary circulatory dysfunction in insulin resistance, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetes mellitus. Circulation 2005; 111(18): pp. 2291–8.
22. Marfella R, Di Filippo C, Baldi A, Siniscalchi M, Sasso FC, Crescenzi B, et al. The vascular smooth muscle cells apoptosis in asymptomatic diabetic carotid plaques: role of glycemic control. J Am Coll Cardiol 2006; 47: 2118–20.
23. Torgerson JS, Hauptman J, Boldrin MJ, Sjostrom L. Xenical in the prevention of diabetes in obese subjects (XENDOS) study: a randomized study of orlistat as an adjunct to lifestyle changes for the prevention of type 2 diabetes in obese patients. Diabetes Care 2004; 27: 155–61.
24. Assmann G, Cullen P, Schulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective. Circulation 2002; 105: 310–5.
25. Bressler P, Bailey SR, Matsuda M, DeFronzo RA. Insulin resistance and coronary artery disease. Diabetologia 1996; 39:1345–50.
26. Buynken AE, von Eckardstein A, Schulte H, Cullen P, Assmann G. Type 2 diabetes mellitus and risk of coronary heart disease: results of the 10-year follow-up of the PROCAM study. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil 2007; 14(2): 230–6.

Rad primljen 9. II 2009.



## Laser *in situ keratomileusis* (LASIK) u korekciji miopije i hipermetropije – naše jednogodišnje iskustvo

*Laser *in situ keratomileusis* (LASIK) for correction of myopia and hypermetropia – our one year experience*

Miroslav Vukosavljević, Milorad Milivojević, Mirko Resan, Vesna Cerović

Vojnomedicinska akademija, Klinika za očne bolesti, Beograd, Srbija

### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Laser *in situ keratomileusis* (LASIK) najčešće je izvođena refraktivna hirurška metoda u svetu. Cilj studije bio je da se ispita uspešnost i bezbednost LASIK metode u korekciji miopije i hipermetropije. **Metode.** U studiju su bile uključene miopne i hipermetropne oči s preoperativnom najbolje korigovanom vidnom oštrinom (NKVO) = 1 (20/20), čiji je ukupan broj bio 322 i koje su bile podeljene u dve grupe – 1) miopne oči ( $n = 241$ ) koje su prema jačini miopije bile podeljene u četiri podgrupe: a)  $\leq -1,75\text{ D}$  ( $n = 23$ ), b) od  $-2$  do  $-3,75\text{ D}$  ( $n = 81$ ), c) od  $-4$  do  $-6,75\text{ D}$  ( $n = 113$ ) i d)  $\geq -7\text{ D}$  ( $n = 24$ ); 2) hipermetropne oči ( $n = 81$ ) koje su prema jačini hipermetropije bile podeljene u tri podgrupe: a)  $\leq +1,75\text{ D}$  ( $n = 10$ ), b) od  $+2$  do  $+3,75\text{ D}$  ( $n = 46$ ) i c)  $\geq +4\text{ D}$  ( $n = 25$ ). Iz studije su bile isključene miopne i hipermetropne oči s preoperativnom NKVO  $\leq 0,9$  (ambliopne oči), kao i oči s astigmatizmom  $> 1,5\text{ D}$ . U cilju procene uspešnosti LASIK metode ispitivali smo procent očiju, u okviru gore navedenih podgrupa, kod kojih je šest meseci nakon izvedene intervencije nekorigovana vidna oštrina (NVO) bila: a) NVO = 1 (20/20) i b) NVO  $\geq 0,5$  (20/40). U cilju procene bezbednosti LASIK metode ispitivali smo učestalost intraoperativnih i postoperativnih komplikacija. Izvedena je prospektivna studija s periodom praćenja šest meseci. **Rezultati.** Refraktivni sferni ekvivalent (RSE) miopnih očiju bio je u rasponu od  $-0,75\text{ D}$  do  $-12\text{ D}$ . U prvoj podgrupi preoperativna srednja vrednost RSE sa standarnom devijacijom (*mean RSE  $\pm$  SD*) bila je  $-1,39 \pm 0,36\text{ D}$  i 6 meseci nakon LASIK-a 100% očiju imalo je NVO = 20/20. U drugoj podgrupi preoperativna *mean RSE  $\pm$  SD* bila je

$-2,85 \pm 0,5\text{ D}$ ; šest meseci nakon LASIK-a 93% očiju imalo je NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$ . U trećoj podgrupi preoperativna *mean RSE  $\pm$  SD* bila je  $5,03 \pm 0,75\text{ D}$  i šest meseci nakon LASIK-a 90% očiju imalo je NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$ . U četvrtoj podgrupi preoperativna *mean RSE  $\pm$  SD* bila je  $-7,68 \pm 1,03\text{ D}$ ; šest meseci nakon LASIK-a 96% očiju imalo je NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$ . Refraktivni sferni ekvivalent hipermetropnih očiju bio je u rasponu od  $+1\text{ D}$  do  $+6\text{ D}$ . U prvoj podgrupi preoperativna *mean RSE  $\pm$  SD* bila je  $+1,50 \pm 0,30\text{ D}$ ; šest meseci nakon LASIK-a 90% očiju imalo je NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$ . U drugoj podgrupi preoperativna *mean RSE  $\pm$  SD* bila je  $+2,65 \pm 0,46\text{ D}$ ; šest meseci nakon LASIK-a 87% očiju imalo je NVO = 20/20, a 96% očiju NVO  $\geq 20/40$ . U trećoj podgrupi preoperativna *mean RSE  $\pm$  SD* bila je  $+4,62 \pm 0,68\text{ D}$  i šest meseci nakon LASIK-a 64% očiju imalo je NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$ . U našoj studiji intraoperativne komplikacije javile su se kod šest očiju (1,86%): tanak flap kod dva oka (0,62%) i defekti epitela rožnjače kod četiri oka (1,24%), a postoperativne komplikacije kod 10 očiju (3,10%): nabiranje flapa kod dva oka (0,62%), epitelnog urastanja kod četiri oka (1,24%) i regresija dioptrijske kod četiri oka (1,24%). **Zaključak.** LASIK je uspešna i bezbedna refraktivna hirurška metoda u korekciji sfernih ametropija, miopije do  $-12\text{ D}$  i hipermetropije do  $+6\text{ D}$ .

### Ključne reči:

keratomileusis, laser *in situ*; miopija; hipermetropija; rožnjača, bolesti; vid, ispitivanje.

### Abstract

**Background/Aim.** Laser *in situ keratamileusis* (LASIK) is the most commonly used refractive surgical method worldwide. The aim of this study was to examine the effectiveness and safety of LASIK in the correction of myopia and hyperopia. **Methods.** The study included myopic and hyperopic eyes with preoperative best corrected visual acuity (BCVA) = 1 (20/20), of the total number of 322 divided

into 2 groups – 1) myopic eyes ( $n = 241$ ) which were divided into 4 subgroups according to the myopia strength: a)  $\leq -1,75\text{ D}$  ( $n = 23$ ), b) from  $-2$  to  $-3,75\text{ D}$  ( $n = 81$ ), c) from  $-4$  to  $-6,75\text{ D}$  ( $n = 113$ ), d)  $\geq -7\text{ D}$  ( $n = 24$ ); 2) hyperopic eyes ( $n = 81$ ) which were divided into 3 subgroups according to the hyperopia strength: a)  $\leq +1,75\text{ D}$  ( $n = 10$ ), b) from  $+2$  to  $+3,75\text{ D}$  ( $n = 46$ ), c)  $\geq +4\text{ D}$  ( $n = 25$ ). Myopic and hyperopic eyes with preoperative BCVA  $\leq 0,9$  (eyes with ambliopia) were excluded from the study, as well as

eyes with astigmatism  $> 1.5$  D. To assess the effectiveness of LASIK we examined the percentage of eyes in the mentioned subgroups, which derived uncorrected visual acuity (UCVA) 6 month after the intervention to the following: a) UCVA = 1 (20/20) and b) UCVA  $\geq 0.5$  (20/40). To assess the safety of LASIK we examined the frequency of intraoperative and postoperative complications. A prospective study was performed in a 6-months follow-up period. **Results.** Refractive spherical equivalent (RSE) of myopic eyes was in the range from -0.75 D to -12 D. In the first subgroup preoperative mean value of RSE with standard deviation (*mean* RSE  $\pm$  SD) was  $-1.39 \pm 0.36$  D, and 6 months after the LASIK 100% of the eyes had UCVA = 20/20. In the second subgroup preoperative *mean* RSE  $\pm$  SD was  $-2.85 \pm 0.50$  D, and 6 months after LASIK 93% of the eyes had UCVA = 20/20, but 100% of the eyes had UCVA  $\geq 20/40$ . In the third subgroup preoperative *mean* RSE  $\pm$  SD was  $-5.03 \pm 0.75$  D, and 6 months after the LASIK 90% of the eyes had UCVA = 20/20, but 100% of the eyes had UCVA  $\geq 20/40$ . In the fourth subgroup preoperative *mean* RSE  $\pm$  SD was  $-7.68 \pm 1.03$  D, and 6 months after the LASIK 96% of the eyes had UCVA = 20/20, but 100% of eyes had UCVA  $\geq 20/40$ . Refractive spherical

equivalent of hyperopic eyes was in the range from +1 D to +6 D. In the first subgroup preoperative *mean* RSE  $\pm$  SD was  $+1.50 \pm 0.30$  D, and 6 months after the LASIK 90% of the eyes had UCVA = 20/20, but 100% of the eyes had UCVA  $\geq 20/40$ . In the second subgroup preoperative *mean* RSE  $\pm$  SD was  $+2.65 \pm 0.46$  D, and 6 months after the LASIK 87% of the eyes had UCVA = 20/20, but 96% of the eyes had UCVA  $\geq 20/40$ . In the third subgroup preoperative *mean* RSE  $\pm$  SD was  $+4.62 \pm 0.68$  D, and 6 months after the LASIK 64% of the eyes had UCVA = 20/20, but 100% of the eyes had UCVA  $\geq 20/40$ . In our study intraoperative complications appeared in 6 eyes (1.86%): thin flap in 2 eyes (0.62%) and epithelial defects in 4 eyes (1.24%), yet postoperative complications appeared in 10 eyes (3.10%): flap folds in 2 eyes (0.62%), epithelial ingrowth in 4 eyes (1.24%) and regression in 4 eyes (1.24%). **Conclusion.** LASIK is effective and safe refractive surgical method for correcting myopia up to -12 D and hyperopia up to +6 D.

#### Key words:

keratomileusis, laser *in situ*; myopia; hyperopia; corneal diseases; vision tests.

## Uvod

Laser *in situ* keratomileusis (LASIK) najčešće je izvođena refraktivna hirurška metoda u svetu. Za njeno izvođenje koriste se dve tehnologije: *excimer* laser i mikrokeratom. *Excimer* (skraćenica od *excited dimer*) laser je ultraljubičasti gasni laser (argon-fluorid, ArF) talasne dužine 193 nm kojim se ostvaruje fotoablativni efekat na tkivo strome rožnjače. Prvo se mikrokeratomom zaseče rožnjača čime se načini intrastromalni flap na peteljci (*hinge*). Flap je prečnika 8–10 mm i debljina mu može biti 100–180  $\mu$ m, a najčešće 100–130  $\mu$ m (približno 15–35% od totalne debljine rožnjače). Flap se potom odigne, te se stroma rožnjače (*stromal bed*) izloži dejstvu *excimer* lasera čime se ona tanji i remodelira shodno vrsti ametropije i njenoj vrednosti. Po prestanku dejstva *excimer* flap se vraća na svoje mesto i za kratko vreme stabilno pozicionira bez potrebe za suturama. Postoperativna rehabilitacija vida je brza, ali praćena blagim diskomforom<sup>1,2</sup>. Kod većine bolesnika 16 sati nakon LASIK intervencije dostigne se 97% od preoperativne najbolje korigovane vidne oštirine<sup>3</sup>.

Prema preporuci Američke oftalmološke akademije (AAO) indikacije za LASIK metodu su miopija od -0,5 do -12 (i više) dioptrija (D), hipermetropija od +0,5 do +6 D i astigmatizam do 6 D<sup>4</sup>.

Cilj studije bio je da se ispita uspešnost i bezbednost LASIK metode u korekciji različitih dioptrijskih jačina miopije i hipermetropije. Izvedena je prospektivna studija s periodom praćenja od šest meseci.

## Metode

U Odeljenju za lasersku hirurgiju oka Klinike za očne bolesti Vojnomedicinske akademije u periodu od oktobra 2007. do oktobra 2008. godine LASIK metodom operisano je

ukupno 325 bolesnika, tj. 628 očiju (kod 22 bolesnika operisano je jedno oko). Operisani su 191 muškarac i 134 žene. Operacije su izvedene na *Wavelight Allegretto* (400 Hz) excimer laseru. Od navedenog broja operisanih očiju u ovu studiju bile su uključene miopne i hipermetropne oči s preoperativnom najbolje korigovanom vidnom oštirinom (NKVO) = 1 (20/20). Ukupan broj takvih očiju bio je n = 322. Iz studije su bile isključene miopne i hipermetropne oči s preoperativnom NKVO  $\leq 0,9$  (ambliopne oči), kao i oči s astigmatizmom  $> 1,5$  D.

Uspešnost metode ispitali smo tako što smo operisane oči s preoperativnom NKVO = 1 (20/20) podelili u dve grupe зависно od vrste ametropije. Grupa 1 – miopne oči (n1 = 241) koje su bile podeljene prema jačini miopije u sledeće četiri podgrupe: a)  $\leq -1,75$  D (n = 23); b) od -2 do -3,75 D (n = 81); c) od -4 do -6,75 D (n = 113) i d)  $\geq -7$  D (n = 24). Grupa 2 – hipermetropne oči (n2 = 81) koje su bile podeljene prema jačini hipermetropije u sledeće tri podgrupe: a)  $\leq +1,75$  D (n = 10); b) od +2 do +3,75 D (n = 46) i c)  $\geq +4$  D (n = 25).

U cilju procene uspešnosti LASIK metode u korigovanju miopije i hipermetropije ispitana je procenat očiju, u okviru gore navedenih podgrupa, kod kojih je šest meseci nakon izvedene intervencije nekorigovana vidna oštirina (NVO) bila: a) NVO = 1 (20/20) i b) NVO  $\geq 0,5$  (20/40) (vidna oštirina dovoljna za upravljanje motornim vozilom).

Za manifestni refraktivni sferni ekvivalent (MRSE), koji predstavlja postoperativnu sfernu refrakciju merenu automatskom refrokometrijom (ARK), a koja odstupa od ciljne refrakcije = 0 D spš uzeli smo  $\pm 1$  D.

U cilju procene bezbednosti LASIK metode ispitali smo učestalost intraoperativnih i postoperativnih komplikacija.

Svaki kandidat za izvođenje LASIK metode morao je biti stariji od 21 godine i imati stabilnu dioptriju u periodu od godinu dana. Bolesnici koji su nosili meka kontaktna sočiva pravili su pauzu u nošenju od 7 dana, a oni koji su

nosili tvrda ili rigidna gas-propustljiva kontaktna sočiva, 30 dana pre pregleda i 30 dana pre LASIK intervencije. Preoperativna evaluacija svakog kandidata podrazumevala je: opštu i oftalmološku anamnezu; ARK (KR 8100 P, Topcon, Japan); NVO i NKVO; Schirmerov test; pregled prednjeg segmenta oka na slit-lampi (SL-D8Z, Topcon, Japan); aplanacionu tonometriju (AT 900 Haag Streit, Swiss); pregled očnog dna na široku zenicu; pregled prednjeg segmenta oka na *Allegro Oculyzer-u* i *Allegro Analyzer-u* (Wavelight, Germany).

*Oculyzer* je beskontaktni optički sistem – rotirajuća *Scheimpflug* kamera koja kao svetlosni izvor koristi LED's plavo (475 nm UV-free) i koja pravi 50 procepcnih snimaka za manje od 2 sekunde. Na dobijenim snimcima sagledavali smo kornealnu topografiju (prednje i zadnje površine rožnjače) sa vrednostima keratometrije (K1 i K2) i postojećih elevacija; kornealnu pahimetriju (od limbusa do limbusa) sa centralnom pahimetrijom (*central corneal thickness – CCT*); krivu progresije kornealnog istanjenja (krivu keratokonusa); dubinu prednje komore (*anterior chamber depth – ACD*); pupilometriju.

Sledećom formulom procenjivali smo da li se nekom kandidatu može bezbedno izvršiti LASIK metoda:

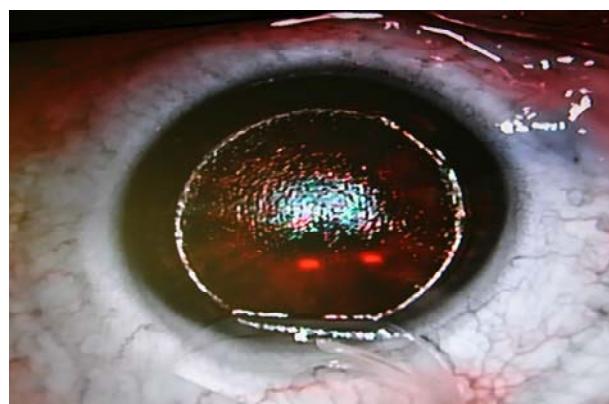
Centralna pahimetrija – debljina flapa – dubina ablacije = rezidualna debljina strome rožnjače.

Kao graničnu vrednost rezidualne debljine strome rožnjače (*residual stromal bed*) nakon njenog zasecanja i dejstva *excimer* lasera uzimali smo 300 µm; kao kritične vrednosti strmijeg meridijana rožnjače (*steep K*) uzimali smo < 39 D ili > 47 D, a kao graničnu vrednost elevacije zadnje površine rožnjače uzimali smo 50 µm. Za kreiranje flapa koristili smo mikrokeratom Moria M2 (Moria, France). Prilikom izbora ringa za mikrokeratom i brzine za njegov rad pridržavali smo se poslednje verzije M2 i M2SU nomograma, gde se kao ulazni parametri koristi vrednost strmijeg K (*steepest K*). Pravilo je da se teži odabiru ringa i stopa kojim se obezbeđuje veća vrednost peteljke flapa (*hinge*). Prilikom korigovanja miopije za izračunavanje vrednosti dioptrije koju treba ukloniti *excimer* laser ablacijom pridržavali smo se Wellington nomograma.

Na slikama 1 i 2 prikazani su postupci tokom izvođenja LASIK metode.



Sl. 1 - Postavljanje sukcionog prstena i mikrokeratoma na oko



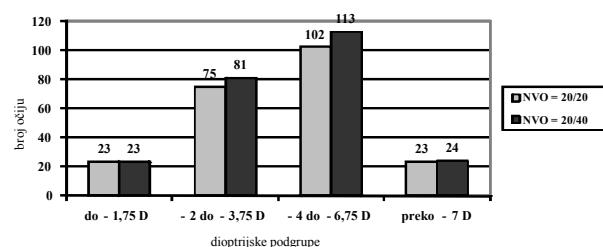
Sl. 2 - Formiran flap i stroma rožnjače spremna za excimer laser ablaciju

Bolesnici su redovno kontrolisani 1, 7. i 30. postoperativnog dana, kao i tri meseca i šest meseci nakon LASIK intervencije. Kontrolni pregledi na *Oculyzer-u* vršeni su trećeg i šestog meseca nakon intervencije.

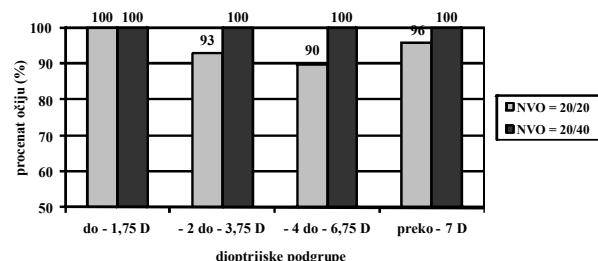
U našoj studiji podaci su obrađeni deskriptivnim statističkim metodama (minimalna, maksimalna i srednja vrednosti standardna devijacija).

## Rezultati

U našoj studiji broj miopnih očiju bio je 241, odnosno 74,84% od ukupnog broja. Refraktivni sferni ekvivalent (RSE) operisanih miopnih očiju bio je u rasponu od -0,75 D do -12 D. U okviru prve podgrupe ( $\leq -1,75$  D) preoperativna srednja vrednost refraktivnog sfernog ekvivalenta sa standardnom devijacijom ( $mean\ RSE \pm SD$ ) bila je  $-1,39 \pm 0,36$  D, šest meseci nakon primene LASIK metode 100% očiju imalo je NVO = 20/20 (slike 3 i 4). U okviru druge podgrupe (od -2



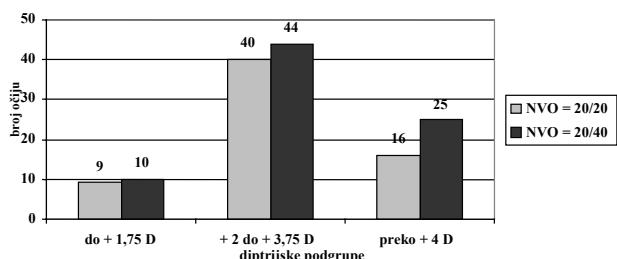
Sl. 3 - Broj miopnih očiju po dioptrijskim podgrupama kod kojih je šest meseci nakon izvedene LASIK intervencije NVO = 20/20, odnosno NVO  $\geq 20/40$



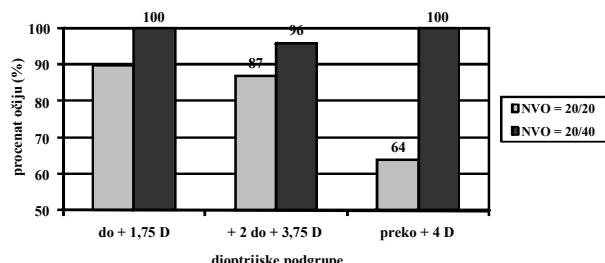
Sl. 4 - Procenat miopnih očiju po dioptrijskim podgrupama kod kojih je šest meseci nakon izvedene LASIK intervencije NVO = 20/20, odnosno NVO  $\geq 20/40$

do  $-3,75$  D) preoperativna  $mean\ RSE \pm SD$  bila je  $-2,85 \pm 0,50$  D, šest meseci nakon LASIK metode 93% očiju imalo je NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$  (slike 3 i 4). U okviru treće podgrupe (od  $-4$  do  $-6,75$  D) preoperativna  $mean\ RSE \pm SD$  bila je  $-5,03 \pm 0,75$  D, šest meseci nakon LASIK metode 90% očiju imalo je NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$  (slike 3 i 4). U okviru četvrte podgrupe ( $\geq -7$  D) preoperativna  $mean\ RSE \pm SD$  bila je  $-7,68 \pm 1,03$  D, šest meseci nakon LASIK metode 96% očiju imalo je NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$  (slike 3 i 4).

Broj hipermetropnih očiju bio je 81, odnosno 25,16% od ukupnog broja. Refraktivni sferni ekvivalent operisanih hipermetropnih očiju bio je u rasponu od +1 D do +6 D. U okviru prve podgrupe ( $\leq +1,75$  D) preoperativna  $mean\ RSE \pm SD$  bila je  $+1,50 \pm 0,30$  D, šest meseci nakon LASIK metode 90% očiju imalo je NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$  (slike 5 i 6). U okviru druge podgrupe (od +2 do +3,75 D) preoperativna  $mean\ RSE \pm SD$  bila je  $+2,65 \pm 0,46$  D, šest meseci nakon LASIK metode 87% očiju imalo je NVO = 20/20, a 96% očiju NVO  $\geq 20/40$  (slike 5 i 6). U okviru treće podgrupe ( $\geq +4$  D) preoperativna  $mean\ RSE \pm SD$  bila je  $+4,62 \pm 0,68$  D, šest meseci nakon LASIK metode 64% očiju imalo je NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$  (slike 5 i 6).



Sl. 5 – Broj hipermetropnih očiju po dioptrijskim podgrupama kod kojih je šest meseci nakon izvedene LASIK intervencije NVO = 20/20, odnosno NVO  $\geq 20/40$



Sl. 6 - Procenat hipermetropnih očiju po dioptrijskim podgrupama kod kojih je šest meseci nakon izvedene LASIK intervencije NVO = 20/20, odnosno NVO  $\geq 20/40$

U našoj studiji intraoperativne komplikacije javile su se kod šest očiju (1,86%) i to tanak flap kod dva oka (0,62%) i defekti epitela rožnjače kod četiri oka (1,24%).

Postoperativne komplikacije javile su se kod 10 očiju (3,10%) i to nabiranje flapa (makrostrije) kod dva oka (0,62%), epitelno urastanje kod četiri oka (1,24%) i regresija dioptrije kod četiri oka (1,24%).

## Diskusija

Miopne oči u našoj studiji činile su 3/4 od ukupnog broja tretiranih očiju. Među njima, najviše je bilo onih sa malom i srednjom miopijom (a, b i c podgrupa, n = 217). Bolesnici sa srednjom miopijom predstavljaju najčešće kandidate za LASIK intervenciju uopšte, te ne iznenađuje da je prvu dozvolu američka Uprava za hranu i lekove (FDA) za korišćenje *excimer* lasera u LASIK refraktivnoj hirurgiji dala baš za ove bolesnike<sup>1</sup>. Analizirajući raspon RSE u našoj studiji (od  $-0,75$  D do  $-12$  D) možemo reći da se uklapa u preporuku koju je dala AAO u vezi indikacija za LASIK metodu<sup>4</sup>. U našoj studiji u okviru prve podgrupe miopnih očiju ( $\leq -1,75$  D) 100% očiju imalo je NVO = 20/20; u okviru druge podgrupe (od  $-2$  do  $-3,75$  D) 93% očiju imalo je NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$ ; u okviru treće podgrupe (od  $-4$  do  $-6,75$  D) 90% očiju imalo je NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$ , u okviru četvrte podgrupe ( $\geq -7$  D) 96% očiju imalo je NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$  šest meseci nakon LASIK-a. Sakimoto i sar.<sup>1</sup> navode da je u FDA studijama (*custom FDA studies*) u grupi miopnih očiju do  $-2$  D, 96% očiju imalo NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$ , u grupi od  $-2$  do  $-4$  D 91% očiju imalo NVO = 20/20, a 98% očiju NVO  $\geq 20/40$ , u grupi od  $-4$  do  $-7$  D 80% očiju imalo NVO = 20/20, a 96% očiju NVO  $\geq 20/40$  šest meseci nakon LASIK intervencije. U studiji o uspešnosti LASIK intervencije kod male i srednje miopije Lee i sar.<sup>5</sup> dobili su da je šest meseci nakon intervencije 62,2% očiju imalo NVO = 20/20. Lin i Tsai<sup>6</sup> nalaze da je u grupi u kojoj je preoperativna  $mean\ RSE \pm SD = -3,52 \pm 0,43$  D, 100% očiju imalo NVO  $\geq 20/40$ ; u grupi u kojoj je preoperativna  $mean\ RSE \pm SD = -5,36 \pm 0,67$  D, 100% očiju imalo NVO  $\geq 20/40$  i u grupi u kojoj je preoperativna  $mean\ RSE \pm SD = -8,15 \pm 0,94$  D, 98% očiju imalo NVO  $\geq 20/40$  šest meseci nakon LASIK intervencije. Kulkamthorn i sar.<sup>7</sup> u studiji o uspešnosti LASIK intervencije kod visoke miopije sa preoperativnom  $mean\ RSE \pm SD = -7,38 \pm 1,20$  D dobijaju da je 58% očiju imalo NVO = 20/20 tri meseca nakon LASIK intervencije.

Hipermetropne oči su u našoj studiji činile 1/4 od ukupnog broja tretiranih očiju. Analizirajući raspon RSE (od +1 D do + 6 D) možemo reći da se i on uklapa u preporuku koju je dala AAO u vezi indikacija za LASIK metodu<sup>4</sup>. U našoj studiji u okviru prve podgrupe hipermetropnih očiju ( $\leq +1,75$  D) 90% očiju imalo je NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$ , u okviru druge podgrupe (od +2 do +3,75 D) 87% očiju imalo je NVO = 20/20, a 96% očiju NVO  $\geq 20/40$  i u okviru treće podgrupe ( $\geq +4$  D) 64% očiju imalo je NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$  šest meseci nakon LASIK intervencije. Sakimoto i sar.<sup>1</sup> navode da je u FDA studijama (*custom FDA studies*) u grupi hipermetropnih očiju do +2 D, 70% očiju imalo NVO = 20/20, a 98% očiju NVO  $\geq 20/40$ , u grupi od +2 do +4 D, 68% očiju imalo NVO = 20/20, a 100% očiju NVO  $\geq 20/40$ , i u grupi od +4 do +6 D 33% očiju imalo NVO = 20/20, a 87% očiju NVO  $\geq 20/40$  šest meseci nakon LASIK intervencije. Zadok i sar.<sup>8</sup> u studiji o uspešnosti LASIK intervencije kod različitih jačina hipermetropije dobijaju da je u grupi očiju sa hipermetropijom  $<+3$  D, 100% očiju imalo NVO  $\geq 20/40$ , a

u grupi od +3 do +6 D, 92,3 % očiju imalo NVO  $\geq 20/40$  12 meseci nakon LASIK intervencije.

U našoj studiji intraoperativne komplikacije javile su se kod šest očiju (1,86%), i to: tanak flap kod dva oka (0,62%) i defekti epitela rožnjače kod četiri oka (1,24%).

Melki i Azar<sup>9</sup> ističu da su predisponirajući faktori za nastanak tankog flapa strmija rožnjače, duboka orbita, konjunktivalna hemoza, neadekvatno postavljanje sukcionog ringa i oštećenje oštice nožića glave mikrokeratoma. Sakimoto i sar.<sup>1</sup> navode da je učestalost tankog flapa u FDA studijama 0,42%, a Nakano i sar.<sup>10</sup> u svojoj studiji dobijaju 0,08%.

Melki i Azar<sup>9</sup> ističu da se defekti epitela rožnjače najčešće javljaju kod bolesnika s prethodnom istorijom recidivirajućih erozija rožnjače i ukazuju da su takvi bolesnici pre kandidati za PRK. Sakimoto i sar.<sup>1</sup> navode da je učestalost defekata epitela rožnjače u FDA studijama 0,50%, a Tekwani i Huang<sup>11</sup> u svojoj studiji dobijaju čak 9,7%. Oni kao glavne faktore rizika navode starije životno doba, preoperativno povećanje debljine rožnjače (usled češćeg ukapavanja medikamenata pre i tokom intervencije) i održavanje vakuma na sukcionom ringu tokom vraćanja mikrokeratoma nakon zasecanja. Verovatnoća pojave defekata epitela rožnjače i na drugom oku, ukoliko su nastali na prvom, je 57% vs 1%<sup>11</sup>.

Pomenute intraoperativne komplikacije (tanak flap i defekti epitela rožnjače) uspešno smo rešili pozicioniranjem flapa i postavljanjem mekog terapeutskog sočiva.

U našoj studiji postoperativne komplikacije javile su se kod 10 očiju (3,10%): nabiranje flapa (makrostrije) kod dva oka (0,62%), epitelno urastanje kod četiri oka (1,24%) i regresija dioptrijske optike kod četiri oka (1,24%).

Melki i Azar<sup>9</sup> navode da se makrostrije (nabori punom debljinom flapa) najčešće javljaju usled nepravilnog naleganja ivice flapa uz periferni epitelni prsten rožnjače, a kao čest uzročni faktor navode i trljanje očiju nakon intervencije. Oni ističu da je učestalost ove komplikacije u različitim studijama od 0,2 do 1,5%. Sakimoto i sar.<sup>1</sup> navode da je učestalost nabiranja flapa u FDA studijama 1%. Kod naših bolesnika nabiranje flapa u prvom slučaju rešili smo dan posle primarne intervencije dizanjem flapa pod operacionim mikroskopom i njegovim pravilnim pozicioniranjem, a u drugom slučaju nežnom masažom prstom preko kapka pokretima koji su pravilno pozicionirali flap.

Asano-Kato i sar.<sup>12</sup> navode da je najčešći razlog za nastanak epitelnog urastanja nakon LASIK intervencije loša adhezija flapa usled prekomerne hidracije, postojanje defekata epitela rožnjače i prisustvo stranog tela ispod flapa. Oni navode da učestalost zavisi i od vrste mikrokeratoma: 0,94% (Mo-

ria, France) vs 2,0% (Nidek, Japan). Sakimoto i sar.<sup>1</sup> navode da je učestalost epitelnog urastanja u FDA studijama 0,14%. Naše bolesnike s epitelnim urastanjem redovno smo pratili i kod dva oka ono je nestalo, a kod dva bilo je bez progresije.

Melki i Azar<sup>9</sup> navode da se regresija dioptrijske optike najčešće javlja nakon korigovanja hipermetropije i visoke miopije i ističu da je uzrok ovoj komplikaciji postoperativna epitelna ili subepitelna i stromalna hiperplazija koja dovodi do postoperativnog povećanja zakriviljenosti rožnjače. Bragheeth i sar.<sup>13</sup> kod očiju sa miopijom i miopnim astigmatizmom LASIK retroman morali su da izvrše kod čak 8,89% očiju zbog supkorekcije ili regresije. Kezirian i sar.<sup>14</sup> ispitujući dugoročnu refraktivnu stabilnost nakon korigovanja hipermetropije LASIK intervencijom dobili su regresiju dioptrijske optike ( $> 1$  D) kod 4,7% očiju, pri čemu je kod 1,6% očiju ona nastavila da se uvećava. Kod naših bolesnika regresija dioptrijske optike javila se kod dva bolesnika, tj. četiri oka (1,24%). U prvom slučaju radilo se o bolesnici staroj 30 godina s visokom miopijom na oba oka (NKVOD = sa -9,5/-1,0 ax 5° = 0,9-1 i NKVOL = sa -9,5/-1,5 ax 20° = 0,9-1). Deset meseci nakon primarne LASIK intervencije zbog regresije dioptrijske optike na oba oka (NKVOD = sa -2,5 Dph = 0,9-1 i NKVOL = sa -2 Dph = 1) na desnom oku urađena je PRK, a na levom LASIK reintervencija. Pet meseci nakon izvršenih reintervencija refraktivno stanje bolesnice bilo je stabilno. U drugom slučaju radilo se o bolesniku starosti 49 godina s malom hipermetropijom na oba oka (NKVOD = sa +1,75 Dph = 1 i NKVOL = sa +1,75 Dph = 1). Devet meseci nakon primarne LASIK intervencije zbog regresije dioptrijske optike na oba oka (NKVOD = sa +1,5/+0,5 ax 167° = 1,0 i NKVOL = sa +0,75 Dph = 1,0) izvršena je LASIK reintervencija obosatrano. Četiri meseca nakon izvršenih reintervencija refraktivno stanje bolesnika bilo je stabilno.

### Zaključak

Naši rezultati pokazuju da je LASIK intervencija uspešna i bezbedna refraktivna hirurška metoda u korekciji sfernih ametropija, miopije do -12 D i hipermetropije do +6 D. Najčešću indikaciju za ovu metodu predstavlja miopija od -4 do -7 D. Metoda je uspešnija u korekciji miopije u odnosu na korekciju hipermetropije, svih dioptrijskih jačina, a posebno je uspešnija u korekciji visoke miopije u odnosu na korekciju visoke hipermetropije. Učestalost intraoperativnih i postoperativnih komplikacija je niska (u našem ispitivanju 1,86% odnosno 3,1%). Intraoperativno su se javljali tanak flap (0,62%) i defekti epitela rožnjače (1,24%), a postoperativno: nabiranje flapa (0,62%), epitelno urastanje (1,24%) i regresija dioptrijske optike (1,24%).

### LITERATURA

1. Sakimoto T, Rosenblatt MI, Azar DT. Laser eye surgery for refractive errors. Lancet 2006; 367(9520): 1432–47.
2. Wilson SE. Use of lasers for vision correction of nearsightedness and farsightedness. N Engl J Med 2004; 351 (5): 470–7.
3. Giessler S, Duncker GIW. Short-term visual rehabilitation after LASIK. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2001; 239(8): 603–8.
4. American Academy of Ophthalmology. Laser in situ keratomileusis (LASIK). In: American Academy of Ophthalmology. Refractive surgery, Section 13, 2007–2008. Singapore: American Academy of Ophthalmology; 2008. p. 106–33.
5. Lee JB, Kim JS, Choe C, Seong GJ, Kim EK. Comparison of two procedures: photorefractive keratectomy versus laser in situ keratomileusis for low to moderate myopia. Jpn J Ophthalmol 2001; 45(5): 487–91.

6. Lin JM, Tsai YY. Laser in situ keratomileusis for different degrees of myopia. *Acta Ophthalmol Scand* 2005; 83(1): 40–5.
7. Kulkamthorn T, Silao JN, Torres LF, Lim JN, Purcell TL, Tantayakom T, et al. Wavefront-guided laser in situ keratomileusis in the treatment of high myopia by using the customvue wavefront platform. *Cornea* 2008; 27(7): 787–90.
8. Zadok D, Rajkup F, Landau D, Frucht-Pery J. Long-term evaluation of hyperopic laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 2003; 29(11): 2181–8.
9. Melki SA, Aşar DT. Lasik complications: etiology, management, and prevention. *Surv Ophthalmol* 2001; 46(2): 95–116.
10. Nakano K, Nakano E, Oliveira M, Portellinha W, Alfarenga L. Intraoperative microkeratome complications in 47,094 laser in situ keratomileusis surgeries. *J Refract Surg* 2004; 20(5 Suppl): S723–6.
11. Tekwani NH, Huang D. Risk factors for intraoperative epithelial defect in laser in-situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol* 2002; 134(3): 311–6.
12. Asano-Kato N, Toda I, Hori-Komai Y, Takano Y, Tsubota K. Epithelial ingrowth after laser in situ keratomileusis: clinical features and possible mechanisms. *Am J Ophthalmol* 2002; 134(6): 801–7.
13. Bragheeth MA, Fares U, Dua HS. Re-treatment after laser in situ keratomileusis for correction of myopia and myopic astigmatism. *Br J Ophthalmol* 2008; 92(11): 1506–10.
14. Kezirian GM, Moore CR, Stonecipher KG. Four-year postoperative results of the US Allegretto Wave clinical trial for the treatment of hyperopia. *J Refract Surg* 2008; 24(4): S431–8.

Rad primljen 8. IV 2009.



## Evaluacija sistema za telemedicinsku dijagnostiku impaktiranih umnjaka

Evaluation of telemedicine systems for impacted third molars diagnosis

Miloš Duka\*, Branko Mihailović†, Milan Miladinović‡,  
Aleksandar Janković‡, Biljana Vujičić§

Vojnomedicinska akademija, \*Klinika za maksilofacialnu i oralnu hirurgiju i implantologiju, Beograd, Srbija; Medicinski fakultet Univerziteta u Prištini, †Klinika za stomatologiju, Kosovska Mitrovica, Srbija; Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu, §Klinika za stomatologiju, ‡Klinika za kožne i polne bolesti, Niš, Srbija

### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Zadnjih 20 godina na polju zdravstvene zaštite došlo je do značajnih promena u informatičkoj i telekomunikacionoj tehnologiji koje su imale pozitivan odraz na samu zdravstvenu praksu. Potreba za daljinskom dijagnostikom i planiranjem intervencija posebno je velika kod vojnika, nepokretnih osoba i osoba sa posebnim potrebama. U ovakvima slučajevima dostupnost lekara specijalista ograničena je, u prvom redu, geografskim i finansijskim mogućnostima. Cilj ovog rada bio je da se istraži praktična primenljivost telemedicinskih metoda u svakodnevnom zbrinjavanju oralnohirurških bolesnika u smislu pouzdanosti postavljanja dijagnoze i indikacije za oralnohirurški tretman trećih molara. **Metode.** U eksperimentalnoj randomizovanoj studiji učestvovala su 432 slučajno odabrana bolesnika starosti od 20 do 87 godina, oba pola, kojima je indikovano digitalno panoramsko snimanje u Centru za dentalno radiografsko snimanje u Beogradu. Uz radiografski (Rtg) snimak, urađeni su i fotografiski snimci lica i usta. Snimci su prebacivani na web server specijalno namenjen za ovo istraživanje pa, potom, prosleđeni stomatolozima i oralnim hirurzima koji su postavljali stomatološku dijagnozu na osnovu celokupnog materijala u digitalnoj formi. Određena je dijagnostička saglasnost Kohenovim kappa koeficijentom, dijagnostička senzitivnost (SE), specifičnost (SP) i efikasnost (EFF). Statistička značajnost i poređenja vršena su  $\chi^2$ -testom, a testiranje neparametarskih obeležja McNemarovim  $\chi^2$  kvadrat testom za prag značajnosti od  $p = 0,05$ . **Rezultati.** Rezultati pregledanih digitalnih slika i dijagnostičke proce- ne postavljene dijagnoze ( $\kappa = 0,99$ ; SE = 99%, SP = 99%, EFF = 99% za 95% IP) ukazali su na skoro potpuno postignutu dijagnostičku saglasnost. Dijagnostičke razlike nisu bile statistički značajne. **Zaključak.** Klinička procena dijagnoze impaktiranih ili poluimpaktiranih trećih molara metodom telemedicine jednaka je postavljanju kliničke dijagnoze u realnom vremenu. Telemedicine i telestomatologija kao njena grana jesu sadašnjost ali još više budućnost.

**Ključne reči:**  
telemedicine; hirurgija, oralna, procedure; umnjaci;  
osetljivost i specifičnost.

### Abstract

**Background/Aim.** In the last twenty years significant advances have been made in the fields of information and telecommunication technology in health care applications, with a positive impact on the health care practice. The need for remote diagnosis and planning of interventions is of special importance in military health care, and health management of immobile persons, and those with special needs. In cases such as these, availability of specialist health care is mainly limited by geographic and financial factors. The aim of this study was to investigate practical usability of telemedicine approaches in everyday management of oral surgery patients in terms of reliability of established diagnosis and indications for oral surgery treatment of the third molars. **Methods.** Our experimental randomized study enrolled 432 randomly selected patients of both genders, aged 20 to 87 years, undergoing panoramic radiography for some reason in the Centre for Dental Radiography in Belgrade. In addition to radiography, photographs of the face and mouth cavity were taken. These images were uploaded to the web server specially dedicated to the study purposes, and then transmitted to teledentists, *i.e.* oral surgeons, who made remote diagnoses. Diagnostic agreement was determined by way of the Cohen's kappa coefficient, and diagnostic sensitivity (SE), specificity (SP), and effectiveness (EFF) were also established. Statistical significance was determined and comparisons performed by using the z-test, and testing of non-parametric characteristics by using the McNemar's  $\chi^2$  test for  $p = 0,05$  significance cut-off. **Results.** The results obtained by analyzed images and diagnostic assessment of the clinical diagnosis ( $\kappa = 0,99$ , SE = 99%, SP = 99%, EFF = 99% for 95% CI) indicate an almost complete diagnostic agreement. The differences in diagnosis were not statistically significant. **Conclusion.** Diagnostic assessment of the clinical diagnosis of impacted or semi-impacted third molars assisted by the telemedicine approach was equal to the real-time assessment of clinical diagnosis. Telemedicine, and teledentistry as its branch, represent the present and even more the future of this field of health care.

**Key words:**  
telemedicine; oral surgical procedures; molar, third;  
sensitivity and specificity.

## Uvod

Ekspanzija i razvoj informatičke i telekomunikacione tehnologije brzo su pronašle primenu u sistemu zdravstvene zaštite unapređujući samu zdravstvenu praksu. Praktično korišćenje novih tehnologija olakšava i ubrzava proces zdravstvene zaštite. Zbog toga su telemedicina, telestomatologija i telefarmacija pobudile pažnju i zainteresovale najširu javnost. Mnoge discipline u medicini i sistemu zdravstvene zaštite danas imaju važan zajednički imenilac: praktično korišćenje telekomunikacione tehnologije<sup>1</sup>. Telemedicina je jedna od najstarijih grana zdravstvene informatičke tehnologije i datira od nastajanja prve telefonske konsultacije. Njen prevashodni zadatak će biti i već jeste postavljanje dijagnoze na daljinu jer se prirođan tok, dijagnostički i terapijski pristup mnogih bolesti već promenio<sup>2</sup>.

Telestomatologija, koja predstavlja telemedicinu primjenju u stomatologiji, nastala je 1994. godine kao projekt Američke vojske (U.S. Army's Total Dental Access Project) u cilju unapređenja zaštite bolesnika, pružanja dentalne edukacije i ostvarivanja komunikacije stomatolog-zubotehnička laboratorija. Pomoću telestomatologije dentalni profesionalci mogu međusobno da se konsultuju na udaljenim lokacijama. Vojni projekat pokazao je da telestomatologija snižava ukupne troškove, proširuje zaštitu na udaljene i ruralne predele i pruža kompletnejne informacije potrebne za analize<sup>3</sup>. Telestomatološki sistem omogućuje stomatolozima da dele informacije o bolesniku, radiološke snimke, grafičko predstavljanje periodontalnog i čvrstog tkiva, primenjenih terapija, napomena, fotografija i drugih informacija koje se mogu transportovati kroz multiple provajdere. Ovo deljenje podataka može biti od izuzetne važnosti za bolesnike, pogotovo za one kojima je potrebna specijalistička konsultacija, a saradnja između stomatologa olakšava i poboljšava donošenje kliničkih odluka<sup>4</sup>. Primeri dobre iskorišćenosti širokih kapaciteta telestomatologije predstavljaju 3D analitički sistemi u ortodonciji gde se putem interneta i centralizovanih uslužnih servera preuzima vektorski model vilica bilo pre ili posle analize od strane ortodontona<sup>5-8</sup>.

U oralnoj i maksilofacialnoj hirurgiji osim video konferencijske veze i prenosa operacija putem interneta, telestomatologija se koristi i u daljinskom planiranju ugradnje implantata<sup>9-10</sup>. Potreba za daljinskom dijagnostikom i planiranjem intervencija posebno je velika kod vojnika, nepokretnih osoba, osoba sa posebnim potrebama, i drugima<sup>11,12</sup>. U ovakvim slučajevima dostupnost lekara specijalista ograničena je geografskim, finansijskim i drugim mogućnostima. Rad u geografski izolovanim mestima, predstavlja izazov za lekara koji sve vreme sam vodi praksu. Glavna prepreka u ovakvim situacijama je odlazak bolesnika na dijagnostiku ili tretman koji može često biti težak, a nekada i nemoguć<sup>13</sup>.

Cilj ove studije bio je istraživanje praktične primenjivosti telemedicinskih metoda u uobičajenom i rutinskom zbrinjavanju oralnohirurških bolesnika u smislu pozidanosti postavljanja telemedicinske dijagnoze i indikacije za oralnohirurški tretman trećih molara.

## Metode

U našoj eksperimentalnoj randomizovanoj studiji učestvовало је 432 slučajно odabрана bolesnika uzrasta od 20 do 87 godina, оба пола, којима је индиковано digitalno panoramsко снимање ради постављања клиничке дјагнозе у Центру за dentalno radiografsko (Rtg) снимање у Београду. Bolesnicima је индикован ортопан од стране стоматолога различитих специјалности у разлиčите срве: планирање протетских радова, различити болови у вилицама, ортодонски разлози и сл. Bolesnicima је урађен digitalni ортопан помоћу *Cranex Tome Ceph* (производјач: Cranex Soredex; 19 sec/10mAsex od 63-81kV), који је претворен у binarni запис на HDD у JPEG величине 998 × 494 пиксела и разолуције 83 пиксела по инчу при 24-bitnoj paleti RGB боја. Digitalnim fotoaparatom марке *Nikon Coolpix 5 200* урађено је facialno i obostrano anfasno фотографисање bolesnika, као и фотографисање unutrašnjih структура уста, зуба горне и доње вилце техником dentalnog fotografског слиkanja зуба okluzalnom техником. Фотографије су складиштene у JPEG формату 2 592 × 1 944 пиксела и разолуције 300 пиксела по инчу при 24-bitnoj paleti RGB боја. Потом, intraoralnom камером марке *Cammy™* сликани су предели сва четри умнјака, сlike складиштene у TIFF формату димензија 640 × 480, разолуције 72 пиксела по инчу и 24-bitne palete RGB боја, тако да је сваки bolesnik имао урађен један digitalni ортопан, sliku lica napred, slike lica iz profila, intraoralnu фотографију горне и доње вилце, као и четири slike predela умнјака добијене intraoralnom камером. Сви ови подаци складиштени су у rendgen centru на HDD PC, а потом преbacivani на server помоћу ADSL приступа (1 024 kbps download i 128 kbps upload) internet konekcijom. Internet server је web aplikacija (<http://impact.prolom.com>), posebno razvijena за ово истраживање. Израђена је у Microsoft NET Framework 2,0 окружју у ASP.NET web formama у језику C# i bazi MS SQL 2005. Апликација има корисниčки интерфејс за директан унос лиčnih података bolesnika, преbacivanja пратеćih слика, анамnezу и питања у вези предела могућih impaktiranih умнјака. Прilikom приступа апликацији vrši se autorizacija i proverava autentičnost korisnika. Приступ серверу био је осигуран SSL протоколом криптографије (*Secure Sockets Layer*). Системом за slanje SMS порука ([www.infobip.com](http://www.infobip.com)), лекари (M.B, D.M. i V.B.) обавештавани су о приспелим подацима. Кorišćenjem ADSL Interneta u Kosovskoj Mitrovici, Beogradu i Nišu приступали су стручној анализи добијених digitalnih информација и постављали клиничку дјагноzu. Потом, bolesnici су клинички pregledani u realnom vremenu i postavljana im je direktna dijagnoza.

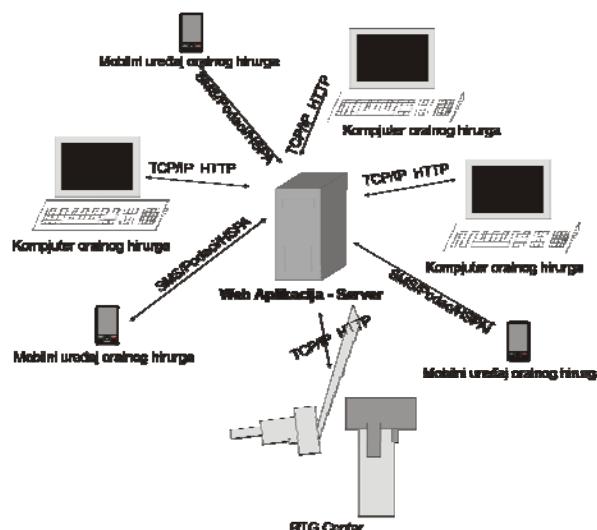
Stepen dijagnostičke preciznosti određivan je prema skali: tačno - ако је telemedicinska dijagnoza постavljena истоветно као и примарна или је постavljena i prihvatljiva као diferencijalna dijagnoza, и нетачно - ако је dijagnoza telemedicinskom методом потпуно različita od primarne dijagnoze ili сама dijagnoza nije постavljena.

Статистичка обрада података и анализа резултата извршена је коришћењем DAG softvera (*Diagnostic and Agreement Statistics Software* [http://www.mhri.edu.au/biostats/DAG\\_Stat](http://www.mhri.edu.au/biostats/DAG_Stat)) i softvera SPSS for Windows ver. 16. Дјагностичка сагласност одређена је бројем умнјака код којих је по-

stignuta saglasnost podjeljenim ukupnim brojem ispitivanih umnjaka. Određene su dijagnostička senzitivnost (SE), specifičnost (SP) i efikasnost (EFF). Stepen postignute dijagnostičke saglasnosti metodom telemedicine određen je Kohenovim kappa ( $\kappa$ ) koeficijentom. Kappa koeficijent, uz 95% interval poverenja, interpretiran je prema skali Landisa i Kocha. Statistička značajnost u razlikama između postavljenih tačnih i netačnih dijagnoza, dijagnostička preciznost, senzitivnost i specifičnost, i poređenje svih dobijenih vrednosti vršeno je  $z$ -testom, a testiranje neparametarskih obeležja Mc Nemarovim  $\chi^2$  kvadrat testom (tabela kontigencije  $2 \times 2$ ) za prag značajnosti  $p = 0,05$ .

## Rezultati

Teleoralni hirurzi (TOH) pregledali su telestomatološku dokumentaciju 432 bolesnika i postavili 1 728 dijagnoza umnjaka (slike 1 i 2, tabele 1 i 2). Sve slike i ortopane, teleo-

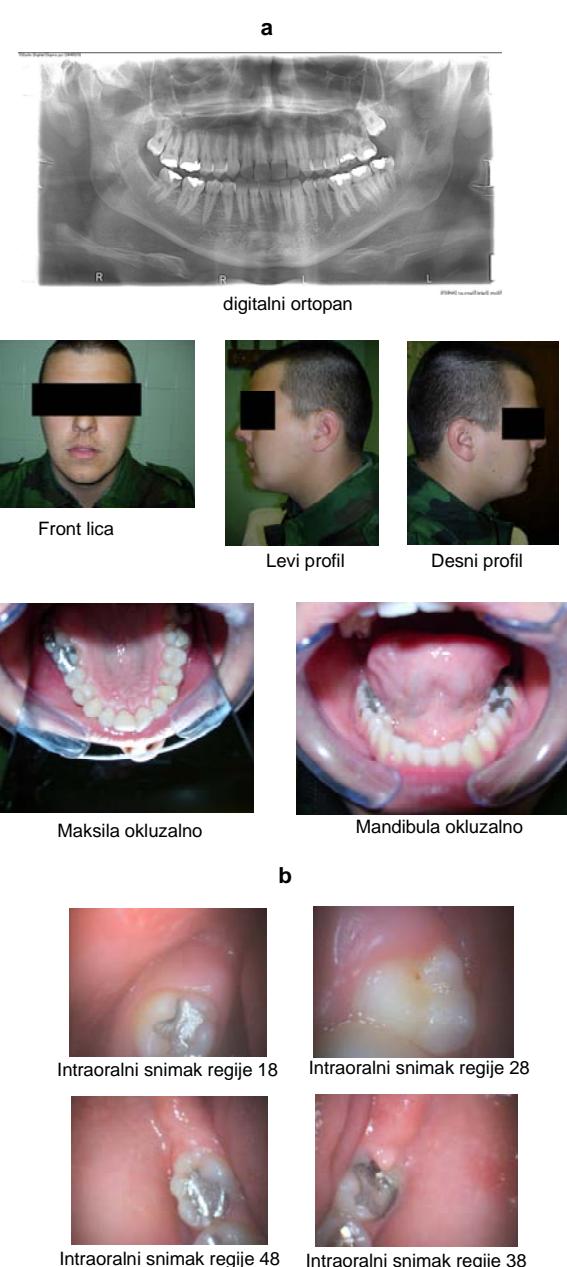


Sl. 1 – Šema telestomatološkog prenosa informacija – *Store-and-Forward* tehnologija

Koeficijent kappa ( $\kappa$ ) i ocena dijagnostičke saglasnosti (Landis i Koch)

Vrednosti $\kappa$	Stepen saglasnosti
< 0	Bez saglasnosti
0,01 – 0,20	Neznatna saglasnost
0,21 – 0,40	Dovoljna saglasnost
0,41 – 0,60	Umerena saglasnost
0,61 – 0,80	Značajna saglasnost
0,81 – 0,99	Skoro potpuna saglasnost
1	Potpuna saglasnost

Tabela 1



Sl. 2 – (a) Prikaz digitalnog ortopana, fotografija lica bolesnika, profila sa leve strane i sa desne, okluzalnih snimaka maksile i mandibule i (b) snimaka intraoralmom kamerom na osnovu kojih je vršena telemedicinska dijagnostika

ralni hirurzi proglašili su upotrebljivim. Nepostojećih umnjaka (usled nedostatka ili ekstrakcije) bilo je 217 (12,56%), funkcionalnih umnjaka bilo je po TOH1 914 (52,89%), po TOH2 919 (53,18%), a po TOH3 916 (53,01%), a impaktiranih (svi nefukcionalni umnjaci usled

Postavljene dijagnoze impaktiranih umnjaka po teleoralnom hirurgu (TOH)

TOH	Impaktirani	Funkcionalni	Nedostaju	Ukupno
TOH1	597 (34,55%)	914 (52,89%)	217 (12,56%)	1728 (100%)
TOH2	592 (34,26%)	919 (53,18%)	217 (12,56%)	1728 (100%)
TOH3	595 (34,43%)	916 (53,01%)	217 (12,56%)	1728 (100%)

Tabela 2

nedovoljne izniklosti: impaktirani, poluimpaktirani i retinirani) po TOH1 597 (34,55%), po TOH2 592 (34,26%) i po TOH3 595 (34,43%). Neslaganje u dijagnozama impaktiran/fukcionalan uočeno je kod pet bolesnika (1,16%), tj. pet zuba (0,29%). Najbolje slaganje bilo je između TOH1 i TOH3, a najgore između TOH1 i TOH2. Teleoralni hirurzi najčešće su grešili kod postavljanja dijagnoze vertikalne impakcije, gde je zabeleženo najveće neslaganje (tabela 3). Kod

### Diskusija

Prema dobijenim rezultatima, dijagnostička procena kliničke dijagnoze impaktiranih trećih molara učinjena metodom telestomatologije može da zameni dijagnostičku procenu kliničke dijagnoze u realnom vremenu, tj. direktno postavljanje dijagnoze.

**Tabela 3**  
**Učešće položaja impaktiranih umnjaka po teleoralnom hirurgu (TOH)**

TOH	Vertikalna impakcija	Horizontalna impakcija	Ostalo	Ukupno
TOH1	388 (64,99%)	77 (12,90%)	132 (22,11%)	597 (100%)
TOH2	384 (64,86%)	76 (12,84%)	132 (22,28%)	592 (100%)
TOH3	386 (64,87%)	76 (12,77%)	133 (22,36%)	595 (100%)

horizontalne impakcije primećena je apsolutna saglasnost između TOH2 i TOH3, i odstupanje kod TOH1 za jednu dijagnozu (0,06%) u odnosu na njih. Kod dijagnostike pojedinačnih zuba, dobijena je najmanja saglasnost za gornji desni umnjak između TOH1 (59 zuba ili 9,88%) i TOH2 (57 zuba ili 9,63%), a najveća kod donjeg desnog trećeg molara: TOH1 (210 zuba ili 35,19%), TOH2 (210 zuba ili 35,48%), TOH3 (210 zuba ili 35,29%) (tabela 4). Najveće slaganje u odnosu na klinički pregled u realnom vremenu imao je TOH3 sa greškom u dve dijagnoze (0,12%) kod dva bolesnika (0,46%), a najmanje TOH1 sa greškom od devet dijagnoza (0,52%) kod osam pacijenata (1,85%) (tabela 5).

Statistička obrada rezultata (tabela 6), kappa = 0,99, SE = 99%, SP = 99%, EFF = 99%, ukazuje na skoro potpuno dijagnostičku saglasnost. Dijagnostičke razlike nisu bile statistički značajne.

Postoje veoma bitni razlozi za pravovremenu dijagnostiku i terapiju impaktiranih ili poluimpaktiranih umnjaka. Treći molari najčešće su impaktirani zubi, a vađenje ovih impaktiranih (neizniklih ili delimično izniklih) molara, od kojih većina pripada donjoj vilici najčešća je hirurška procedura u stomatologiji. Najčešće impaktirani zub je gornji treći molar, a odmah zatim donji treći molar<sup>14</sup>. Istraživanja su pokazala da svaki peti čovek u tridesetim godinama ima najmanje jedan neiznikao ili nepotpuno iznikao umnjak<sup>15</sup>. Za nas su oni veoma značajni jer se zna da su povezani sa rizicima od različitih nepravilnosti i komplikacija. Oko 1/3 kompletno ili delimično neizniklih umnjaka u mandibuli sa sobom nosi patološke promene, a perikoronitis je najzastupljeniji problem<sup>16</sup>. Međutim, još veći problem su umnjaci koji nose velike ciste i duboke infekcije<sup>17,18</sup>. Danas postoje razjašnjene konkretne indikacije za vađenje umnjaka u šta, pored profilaktičkog vađenja, spadaju

**Tabela 4**  
**Učešće pojedinačnih zuba u impaktiranim umnjacima po teleoralnom hirurgu (TOH)**

TOH	Gornji desni (18)	Gornji levi (28)	Donji levi (38)	Donji desni (48)	Ukupno
TOH1	59 (9,88%)	73 (12,22%)	255 (42,71%)	210 (35,19%)	597 (100%)
TOH2	57 (9,63%)	72 (12,16%)	253 (42,73%)	210 (35,48%)	592 (100%)
TOH3	58 (9,75%)	72 (12,10%)	255 (42,6%)	210 (35,29%)	595 (100%)

**Tabela 5**  
**Broj tačnih i netačnih dijagnoza (dg) dobijenih od ispitača u odnosu na klinički pregled u realnom vremenu**

Teleoralni hirurg (TOH)	Tačne dg	Netačne dg	Ukupno dg
TOH1	1719	9	1728
TOH2	1722	6	1728
TOH3	1726	2	1728

**Tabela 6**  
**Stepen i ocena saglasnosti dijagnoza postavljenih telemedicinskim putem i u realnom vremenu**

Parametri	Stepen saglasnosti
Kappa koeficijent (95% interval poverenja)	0,9931 (0,9891 – 0,9970)
Senzitivnost	0,9965
Specifičnost	0,9965
Efikasnost	0,9965
Ocena	skoro potpuna saglasnost

hronični perikoronitis, celulitis, apses, osteomijelitis, folikularne ciste i tumori, duboki karijesi i periodontalni džepovi<sup>19-23</sup>. Stav većine oralnih hirurga je uklanjanje svih umnjaka koji nemaju funkciju, čime se smanjuje rizik od nastanka cisti i tumor, odnosno rizik od frakture angulusa mandibule<sup>24-26</sup>. Time se izbegavaju okolnosti otežavajućeg izvođenja hirurških intervencija kod starijih osoba<sup>20</sup>. Angulus mandibule sa impaktiranim trećim molarom daleko je podložniji frakturnama nego angulus bez umnjaka<sup>27-28</sup>. To je posebno važno kod sportista i druge populacije koja je profesionalno izložena takvim opasnostima<sup>20</sup>.

Klinička istraživanja tokom devedesetih godina koja je organizovao Nacionalni institut za zdravlje Amerike (*National Institute of Health*) u vidu mobilnog telemedicinskog projekta pokazala su da je evaluacija bolesnika metodom telesomatologije stručna i kvalitetna kao i u realnom vremenu sa primetnim smanjenjem troškova samog postupka<sup>29</sup>. Naši rezultati ukazuju na to da se telesomatološkim metodama skoro u potpunosti može zameniti prisustvo specijaliste, oralnog hirurga na udaljenom mestu u cilju postavljanja dijagnoze oboljenja i stanja vezanih za impaktirane i retinirane umnjake, a na osnovu kojih se mogu planirati naredni oralnohirurški tretmani. Poređenja koja su urađena pokazuju da nema statistički značajne razlike između rezultata dobijenih direktnim kliničkim pregledom bolesnika i pregledom snimaka bolesnika na daljinu putem svetske Internet mreže. Prednosti oralnog hirurga kada je bolesnik prisutan ogledaju se, pre svega, u mogućnosti palpacije, perkusije i subjektivnog osećaja od strane bolesnika i terapeuta.

Rezultati našeg istraživanja u skladu su sa rezultatima „Korejskog iskustva“, gde su tri armijska radiologa uspešno daljinskim putem interpretirala snimke, opslužujući time trupe od oko 40 000 ljudi, pri tome dajući instrukcije nekada i ne mnogo iskusnim kliničkim lekarima za sprovođenje komplikovanih tretmana<sup>11</sup>.

Iako se čini da se u literaturi ne nalaze slični slučajevi istraživanja, i, uopšte, istraživanja na temu telesomatologije, naše rezultate možemo uporediti sa telesomatološkom studijom oralnih oboljenja autora Torres-Pereira i sar.<sup>22</sup> u kojoj je postavljanje tačnih dijagnoza kod oba telesomatologa bila 15 od ukupno 25 slučajeva (60%), a kod 7 od 25 bolesnika (28%) samo je jedan telesomatolog postavio tačnu dijagnozu. Postavljanje tačne dijagnoze oralnih oboljenja telesmatičkim putem znatno je teže.

Rezultati naše studije mnogo više se slažu sa rezultatima Corr-a i sar.<sup>23</sup>, koji su našli tačnost od 94% za postavljanje dijagnoze preko digitalnih radiografija prenošenim putem Interneta.

Naša metodologija razlikovala se od metodologija ponutnih studija jer je u sebi sadržala prenos i digitalnog radiografskog snimka i ciljanih digitalnih fotografiskih snimaka i lica i oralne regije u celosti, ali i zuba kao ciljanih objekata.

Rezultati koje smo dobili mogu biti od velike koristi za predloge postupaka u urgentnoj telesomatologiji, a ugledajući se na odlična iskustva teleoftalmologije u provizornom medicinskom zbrinjavanju očiju bolesnika koji se nalaze na udaljenoj lokaciji od lekara specijaliste oftalmologa u vanrednim ili urgentnim situacijama<sup>24</sup>.

Sama daljinska komunikacija može biti *Real-Time* ili *Store-and-Forward*<sup>13</sup>. *Store-and-Forward* sistemi su jednostavniji, jeftiniji i ne zahtevaju sinhronu komunikaciju između dve stанице, učešnice u telemedicinskoj komunikaciji. Kao posledicu asinhronog prenosa podataka, kašnjenja u mreži manje su značajna, pa je potrebna i manja propusna snaga mrežne komunikacije i, samim tim, moguće je pristup i preko bežične mreže sa slabijim signalom<sup>30-32</sup>. U našem istraživanju korišćena je *Store-and-Forward* komunikacija, jer sama dijagnostika nije zahtevala urgentno prisustvo oralnog hirurga. Međutim, u situacijama u kojima je možda već započeta oralnohirurška intervencija od strane nespecijaliziranog stomatologa, u smislu ekstrakcije zuba i razvoja komplikacija, *Real-Time* komunikacija predstavlja metodu izbora, pa bi i naredna istraživanja trebalo usmeriti u tom pravcu.

Ovakvi zdravstveni sistemi povećavaju sigurnost bolesnika i efikasnost lekara i pomažu da se prebrodi nedostatak ljudskih resursa. Podaci koje smo mi u našem istraživanju slali preko web mreže u saglasnosti su sa elektronskim medicinskim zapisima (EMR) u koje kompjuterizovani zdravstveni informatički sistemi skladište detaljne informacije o bolesniku, kao što su demografski podaci, medicinska istorija, alergije, laboratorijske analize i testovi. Određeni EMR podržavaju zakazivanja, finansije (naplatu), kreiranje izveštaja, narudžbine, podržavaju upravljanje i pružaju pomoć u donošenju hirurških odluka<sup>33</sup>. Prema rezultatima našeg istraživanja i metodi koju smo koristili, možemo preporučiti obavezno uključivanje fotosnimaka lica, oba profila, unutrašnjosti gornje i donje vilice i zapisa intraoralne kamere u EMR pri svakom pravljenju digitalnog ortopana. Na ovaj način, nezavisno od namene producije samog ortopana, oralni hirurg može da dâ svoje mišljenje o eventualnom stanju trećih molaru prisutnih u ustima, tj. vilicama, a kao preventivu i sanaciju stanja koja su ranije objašnjena.

Opšte prihvaćeno stanovište telemedicine je da bi svaki lekar u toku postavljanja dijagnoze, donošenja odluka ili tretmana, trebalo da primi relevantnu medicinsku konsultaciju na svom radnom mestu i prema svojim potrebama<sup>29</sup>. Takav je slučaj i sa lekarima stomatoložima različitih specijalnosti, poput ortodonata, protetičara ili dečijih stomatologa koji zbog različitih razloga prave digitalne ortopantomografske snimke, a koji uz prateću digitalnu fotografiju i minimalni trošak mogu biti iskorisćeni za odličnu konsultaciju sa specijalistom oralne hirurgije.

Praljno postavljanje i arhitektura softvera veoma su važni za ispravno izvođenje telesomatoloških metoda. Kao i kod sličnih telesomatoloških aplikacija baziranih za prenos podataka preko Interneta, našoj aplikaciji bilo je moguće pristupiti preko web pretraživača pokrenutom na bilo kom terminalu (fiksiranom ili mobilnom)<sup>34</sup>. Web-bazirani interfejs omogućava brzu pretragu podataka o bolesnicima na aplikacijskom serveru preko protokola (TCP/IP, HTTP i FTP) kojima je sa njim povezan. Našim telesomatološkim metodama pomoć daje veliki napredak telekomunikacione tehnologije. Za džepne celularne sisteme i prenosne kompjuterske uređaje sada je dostupna 3G tehnologija za bežični prenos podataka pod nazivom HSPA. Ona je evoluirala predhodni WCDMA sistem, povećala brzinu prenosa i skratila kašnjenja transmi-

sije podataka, tako da kod većine mobilnih provajdera teoretski *download* link standardno predstavlja 10,7 Mbps koristeći 16-QAM modulaciju, dok standardni teoretski *uplink* prelazi 5,5 Mbps<sup>31</sup>.

Sve veću populaciju ljudi i starijih osoba koji imaju otežane mogućnosti kretanja, a koji imaju potrebu za zdravstvenim, pa i stomatološkim zbrinjavanjem, trebalo bi, takođe, uzeti u razmatranje za primenu što većeg broja telemedicinskih metoda koje će im olakšati zbrinjavanje.

Troškovi telemedicinskih sistema koje koriste lekari i konsultanti ne treba da prelaze 10% troškova korišćenja medicinskih instrumenata u dijagnostičkim ili hirurškim mestima<sup>32</sup>. A kao što se vidi iz metode koju smo primenili, troškovi koji prate samu proceduru ograničavaju se na stalno prisustvo u internet mreži, i cenu automatizovanog slanja SMS poruka.

Uopšte uzev, istraživanja telemedicine u Srbiji još uvek nisu zastupljena u većoj meri. Jedna od retkih, ali izuzetno praktičnih studija, koja je ukazala na visoki stepen uspešnosti telemedicinskih sistema i, ujedno, ogromno sniženje troškova i konsultacija u dermatovenerologiji, sprovedena je 2006. godine u Nišu, Skoplju, Novom Sadu i Kruševcu. Pokazala je da je dijagnostička procena kliničke dijagnoze metodom teledermatologije jednaka dijagnostičkoj proceni kliničke dijagnoze u realnom vremenu, da dijagnostičke razlike nisu statistički značajne, kao i da se metodom teledermatologije može postaviti klinička, dermoskopska i histološka dijagnoza<sup>31</sup>.

Slične telemedicinske metode, kao što je ova korišćena u našem istraživanju, mogu skratiti vreme dijagnostikovanja i terapijskog predloga, unaprediti kvalitet života bolesnika i njegovu satisfakciju i sniziti troškove i povećati dohodak sistemu zdravstvene zaštite.

### Zaključak

Našim istraživanjem pokazali smo da se metodom telestomatologije podjednako dobro kao i u realnom vremenu može sagledati problematika izniklosti, položaja i stanja trećih molara. Na osnovu podataka dobijenih u istraživanju može se napraviti plan oralnohirurškog zbrinjavanja u smislu lečenja ili ekstrakcije.

Metodom telestomatologije, panoramske snimke, digitalne fotografije i zapise intraoralne kamere mogu analizirati specijalisti-oralni hirurzi uz zanemarljive troškove.

### Zahvalnost

Autori se zahvaljuju firmi PlastDent iz Niša, generalnom distributeru firme Cammy™ na ustupanju intraoralne kamere koja je korišćena u ovom istraživanju, rentgen dijagnostici Roorto Digital iz Beograda na opštoj pomoći kod snimanja, Emili Miladinoviću zbog dizajna i kodiranja C# Asp.Net aplikacije koja je korišćena u ovom istraživanju.

### LITERATURA

- Chen JW, Hobdell MH, Dunn K, Johnson KA, Zhang J. Teledentistry and its use in dental education. *J Am Dent Assoc* 2003; 134(3): 342–6.
- Jertović I. Telemedicine – the future that has already begun. Kragujevac: School of Medicine Kragujevac; 2008. (Serbian)
- Rocca MA, Kudryk L, Pajak JC, Morris T. The evolution of a teledentistry. [accessed 2004 August 20]. Available from: <http://www.ama.org/pubs/symposia/D005388.pdf>
- Sanchez DE, Lefebvre C, Abeyta K. Teledentistry in the United States: a new horizon of dental care. *Int J Dent Hyg* 2004; 2(4): 161–4.
- Mullen SR, Martin CA, Ngan P, Gladwin M. Accuracy of space analysis with emodels and plaster models. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007; 132(3): 346–52.
- Redmond WJ, Redmond MJ, Redmond WR. The OrthoCAD bracket placement solution. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2004; 125(5): 645–6.
- Wittwer G, Adeyemo WL, Schicho K, Giger N, Turhani D, Ensilidis G. Computer-guided flapless transmucosal implant placement in the mandible: a new combination of two innovative techniques. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006. pp. 718–23.
- Schicho K, Ewers R. Teleplanning in image-guided dental implantology. Berlin: Springer Heidelberg; 2008.
- Mogel GT. The role of the department of defense in PACS and telemedicine research and development. *Comput Med Imaging Graph* 2003; 27(2–3): 129–35.
- Berndt J, Leone P, King G. Using teledentistry to provide interceptive orthodontic services to disadvantaged children. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008; 134(5): 700–6.
- Bonnardot L, Rainis R. Store-and-forward telemedicine for doctors working in remote areas. *J Telemed Telecare* 2009; 15: 1–6.
- Yamalik K, Bozkaya S. The predictivity of mandibular third molar position as a risk indicator for pericoronitis. *Clin Oral Investig* 2008; 12(1): 9–14.
- Hugoson A, Kugelberg CF. The prevalence of third molars in a Swedish population. An epidemiological study. *Comm Dent Health* 1988; 5: 121–38.
- Güven O, Keskin A, Akal UK. The incidence of cysts and tumors around impacted third molars. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2000; 29(2): 131–5.
- Westcott K, Irvine GH. Appropriateness of referrals for removal of wisdom teeth. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2002; 40: 304–6.
- Adeyemo WL. Do pathologies associated with impacted lower third molars justify prophylactic removal? A critical review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102(4): 448–52.
- Baykul T, Saglam AA, Aydin U, Basak K. Incidence of cystic changes in radiologically normal impacted lower third molar follicles. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 99: 542–5.
- Glosser JW, Campbell JH. Pathologic change in soft tissues associated with radiographically 'normal' third molar impactions. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1999; 37(4): 259–60.
- Güven O, Keskin A, Akal UK. The incidence of cysts and tumors around impacted third molars. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2000; 29: 131–5.
- Werkmeister R, Fillies T, Joos U, Smolka K. Relationship between lower wisdom tooth position and cyst development, deep abscess formation and mandibular angle fracture. *J Craniomaxillofac Surg* 2005; 33(3): 164–8.
- Dağtaş S, Pekhteryev G, Sabinoğlu Z, Cam H, Challa N. Real-time and secure wireless health monitoring. *Int J Telemed Appl* 2008; 135808.

22. Torres-Pereira C, Possebon RS, Simoes A, Bortoluzzi MC, Leao JC, Givanini AF, et al. Email for distance diagnosis of oral diseases: a preliminary study of teledentistry. *J Telemed Telecare* 2008; 14(8): 435–8.
23. Corr P, Couper I, Beningfield SJ, Mars M. A simple telemedicine system using a digital camera. *J Telemed Telecare* 2000; 6: 233–6.
24. Pavlopoulos S, Maglogiannis I. Teleophthalmology. Emergency Telemedicine in Eye Care. Heidelberg, Berlin: Springer; 2006.
25. Glaser J. Implementing electronic health records: 10 factors for success. *Healthc Financ Manage* 2009; 63(1): 50–2, 54.
26. Ludwick DA, Doucette J. Primary care physicians' experience with electronic medical records: barriers to implementation in a fee-for-service environment. *Int J Telemed Appl* 2009; 853524.
27. Yugesan K, Kumar S, Goldschmidt L, Cuadros J. Teleophthalmology. Berlin: Springer; 2006.
28. Anciaux N, Berthelot M, Braconnier L, Bouganim L, De la Blache M, Gardarin G, et al. A tamper-resistant and portable healthcare folder. *Int J Telemed Appl* 2008; 763534.
29. Komnatos D, Vouyioukas D, Maglogiannis I, Constantinou P. Performance evaluation of an enhanced uplink 3.5G system for mobile healthcare applications. *Int J Telemed Appl* 2008; 417870.
30. Jontell M, Mattsson U, Torgersson O. MedView: an instrument for clinical research and education in oral medicine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 99(1): 55–63.
31. Janković A. "Validity evaluation of clinical dermoscopic and histologic diagnosis by the method of teledermatology" [dissertation]. Niš: School of Medicine; 2007. (Serbian)
32. McGowan JJ. The pervasiveness of telemedicine: adoption with or without a research. *Base J Gen Intern Med* 2008; 23(4): 505–7.
33. Anciaux N, Berthelot M, Laurent Braconnier L, Bouganim L, Martine De la Blache M, et al. A Tamper-Resistant and Portable Healthcare Folder. *Int J Telemed Appl* 2008; 2008: 763534. (published online)
34. Jontell M, Mattsson U, Torgersson O. MedView: an instrument for clinical research and education in oral medicine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 99(1): 55–63.

Rad primljen 13. IV 2009.



## Pouzdanost primene Cobas Amplicor PCR testa za detekciju *Mycobacterium tuberculosis* iz respiratornih i nerespiratornih uzoraka

Reliability of Cobas Amplicor PCR test in detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory and nonrespiratory specimens

Zorica Lepšanović\*, Dejana Savić†, Branka Tomanović†

Vojnomedicinska akademija, \*Institut za epidemiologiju, †Institut za mikrobiologiju,  
Beograd, Srbija

### Apstrakt

**Uvod/Cilj.** Klasične metode za detekciju mikobakterija, kao što je detekcija acido-rezistentnih bacila mikroskopiranjem i njihova izolacija na kulturi, imaju nisku osetljivost i/ili specifičnost ili se rezultat mora čekati nekoliko nedelja. Molekularne metode, naročito one koje se baziraju na umnožavanju nukleinskih kiselina, brze su dijagnostičke metode, ujedno i jako osetljive i specifične. Cilj ovog rada bio je da se odredi koliko je Cobas Amplicor *Mycobacterium tuberculosis* polymerase chain reaction (CA-PCR) test koristan u detekciji uzročnika tuberkuloze iz respiratornih i nerespiratornih uzoraka. **Metode.** Uzorci su dekontaminirani primenom N-acetyl-L-cistein-NaOH metode. Od obrađenog uzorka, 500 µL je inokulirano na Löwenstein-Jensen (L-J) podlogu, 1 kap je korišćena za detekciju acidorezistentnih bacila (ARB), a 100 µL za CA-PCR, koji je rađen po uputstvu proizvođača. **Rezultati.** Ispitano je 110 respiratornih i 355 nerespiratornih uzoraka. Na osnovu dobijenih rezultata, revidiranih prema istoriji bolesti, kada se rezultati nisu podudarali, osetljivost, specifičnost, pozitivna prediktivna vrednost i negativna prediktivna vrednost CA-PCR testa u odnosu na kulturu iznosi su 83%, 100%, 100% i 96,8%, redom. Kod nerespiratornih uzoraka ove vrednosti bile su 50%, 99,7%, 87,5% i 98%. Inhibitori PCR reakcije bili su prisutni kod 2,8% respiratornih i 7,6% nerespiratornih uzoraka. **Zaključak.** CA-PCR pouzdan je test koji omogućava lekarima kliničarima da na osnovu pozitivnog rezultata rano otpočnu primenu antituberkulozne terapije. Na nižu osetljivost testa kod nerespiratornih uzoraka uticali su uzorci sa jako malim brojem mikobakterija.

**Ključne reči:**  
mycobacterium tuberculosis; polimeraza, reakcija lanaca; osetljivost i specifičnost.

### Abstract

**Background/Aim.** Traditional methods for detection of mycobacteria, such as microscopic examination for the presence of acid-fast bacilli and isolation of the organism by culture, have either a low sensitivity and/or specificity, or take weeks before a definite result is available. Molecular methods, especially those based on nucleic acid amplification, are rapid diagnostic methods which combine high sensitivity and high specificity. The aim of this study was to determine the usefulness of the Cobas Amplicor *Mycobacterium tuberculosis* polymerase chain reaction (CA-PCR) assay in detecting the tuberculosis cause in respiratory and nonrespiratory specimens (compared to culture). **Methods.** Specimens were decontaminated by the N-acetyl-L-cysteine-NaOH method. A 500 µL aliquot of the processed specimen were used for inoculation of Löwenstein-Jensen (L-J) slants, a drop for acid-fast staining, and 100 µL for PCR. The Cobas Amplicor PCR was performed according to the manufacturer's instructions. **Results.** A total of 110 respiratory and 355 nonrespiratory specimens were investigated. After resolving discrepancies by reviewing medical history, overall sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values for CA-PCR assay compared to culture, were 83%, 100%, 100%, and 96.8%, respectively. In comparison, they were 50%, 99.7%, 87.5%, and 98%, respectively, for the nonrespiratory specimens. The inhibition rate was 2.8% for respiratory, and 7.6% for nonrespiratory specimens. **Conclusion.** CA-PCR is a reliable assay that enables specialists to start treatment promptly on a positive test result. Lower value for specificity in a group of nonrespiratory specimens is a consequence of an extremely small number of mycobacteria in some of them.

**Key words:**  
mycobacterium tuberculosis; polymerase chain reaction; sensitivity and specificity.

### Uvod

Među oboljenjima koja izazivaju bakterije, tuberkuloza ima najveći mortalitet<sup>1</sup>. Od nje svake godine u svetu

umire preko 2 miliona ljudi, a 8 miliona je novoobolelih<sup>2</sup>. Incidencija tuberkuloze ponovo je u porastu od osamdesetih godina dvadesetog veka. Neki od razloga su pojave i širenje multirezistentnih sojeva *Mycobacterium tuberculosis*

**Correspondence to:** Lepšanović Zorica, Vojnomedicinska akademija, Institut za epidemiologiju, Crnotravska 17, 11 040 Beograd, Srbija.  
Tel.: +381 11 3609 349. E-mail: [zorilep@unet.rs](mailto:zorilep@unet.rs)

(*M. tuberculosis*)<sup>3,4</sup> i povećani broj osoba inficiranih HIV-om<sup>5,6</sup>.

Rod *Mycobacterium* obuhvata članove *M. tuberculosis* kompleksa i još preko 80 vrsta. Osim vrste *M. tuberculosis*, najznačajnijeg i najčešćeg uzročnika tuberkuloze kod ljudi, članovi kompleksa su i *M. africanum*, *M. bovis*, *M. microti* i *M. canettii* koji isto mogu biti patogeni za čoveka.

Tradisionalne mikrobiološke metode za detekciju mikobakterija su mikroskopsko dokazivanje acidorezistentnih bacila (ARB) nakon bojenja po Ziehl-Neelsenu (Z-N) ili auramin-rodaminom, izolacija kultivacijom na Löwenstein-Jensen (L-J) podlozi i identifikacija biohemskiim metoda. Dokazivanje acidorezistentnih bacila je brza dijagnostička metoda, ali ima nisku osetljivost (45–80%, ili najmanje  $10^4$  mikobakterija u mililitru uzorka) i specifičnost, zato što detektuje i atipične mikobakterije, kao i druge acidorezistentne bakterije<sup>7</sup>. Zbog sporog rasta mikobakterija, kultivacija traje 2–8 nedelja, ali je dovoljno da u uzorku bude 10–100 bacila da bi se detektovali<sup>7</sup>. Radi ovako visoke osetljivosti, kultivacija se i dalje smatra zlatnim standardom u dijagnostici tuberkuloze.

Krajem osamdesetih godina za detekciju mikobakterija počele su da se koriste molekularne metode koje se baziraju na umnožavanju nukleinskih kiselina, *nucleic acid amplification* (NAA) metode. Jedna od njih je lančana reakcija polimeraze, ili *polymerase chain reaction* (PCR). Prvi komercijalni test kod kojeg se detekcija mikobakterija zasniva na umnožavanju nukleinskih kiselina, a koji je odobrila za primenu američka Uprava za hranu i lekove (Food and Drug Administration – FDA) 1995. godine, bio je *Amplified Mycobacterium tuberculosis Direct Test*, čiji je proizvođač Gen-Probe, San Diego<sup>8</sup>. Godinu dana kasnije FDA je odobrila i *Amplicor Mycobacterium tuberculosis PCR*, proizvođača Roche Diagnostics, Basel. Istovremeno, upotrebljavani su i drugi slični testovi kod kojih su sami izvođači birali pravilne za umnožavanje, a nazivaju se *in-house* testovi.

Kada se uporede sa ARB mikroskopijom, NAA metode imaju veću pozitivnu prediktivnu vrednost (preko 95% prema 50–80% kod ARB) kod ARB pozitivnih uzoraka u sredinama u kojima su atipične mikobakterije često prisutne, kao i sposobnost da brzo detektuju *M. tuberculosis* kod 50–80% ARB negativnih uzoraka pozitivnih na kulturi<sup>9</sup>. U odnosu na kulturu, NAA metode detektuju prisustvo *M. tuberculosis* u uzorcima nekoliko nedelja ranije kod 80–90% bolesnika za koje se sumnja da imaju tuberkulozu pluća i za koje je to naknadno potvrđeno<sup>9</sup>.

U našoj laboratoriji za detekciju *M. tuberculosis* primenjuje se *Cobas Amplicor Mycobacterium tuberculosis PCR* test (CA-PCR). Iako se radi o komercijalnom testu, razlike u pouzdanosti primene postoje između laboratorija zbog toga što kompleti ne sadrže standardizovane proced ure i reagens za obradu uzoraka. Postupci sa uzorcima tokom obrade, kao što je pipetiranje, mešanje, inkubiranje, centrifugiranje, čuvanje i drugi, takođe doprinose međulaboratorijskim razlikama, pa se preporučuje da svaka laboratorija odredi karakteristike testa koji primenjuje<sup>10,11</sup>. Zato, cilj ovog rada bio je da se odredi osetljivost, specifičnost, pozitivna prediktivna vrednost (PPV) i negativna pre-

diktivna vrednost (NPV) testa koji se u našoj laboratoriji primenjuje za detekciju *M. tuberculosis* iz respiratornih i nerespiratornih kliničkih uzoraka, u odnosu na rezultate dobijene pomoću kulture.

## Metode

Ispitani su uzorci pristigli u mikrobiološku laboratoriju u periodu od maja 2005. do novembra 2008. godine. Detekcija mikobakterija primenom CA-PCR testa rađena je na zahtev lekara kliničara. Ukupno, obradeno je 465 kliničkih uzoraka, od toga 110 respiratornih i 355 nerespiratornih.

Svi uzorci, osim likvora, dekontaminirani su i koncentrovani primenom N-acetil-L-cistein (NALC)-NaOH metode<sup>12</sup>. Obrada je počela tako što su uzorci razblaženi destilovanom vodom do 10 mililitara. Zatim je dodat isti volumen NALC-NaOH rastvora (4% NaOH, 1,45% Na citrat, 0,5% NaCl). Mešano je na mešalici 15 minuta i razblaženo sterilnim 67 mM fosfatnim puferom pH 6,8 do zapremine od 50 mL. Centrifugirano je 15 min na 3 000 × g. Talog je rastvoren u 1 mL istog fosfatnog pufera. Od ovako pripremljenog uzorka 0,5 mL zasejano je na L-J podlogu, jedna kap nanesena je na mikroskopsku pločicu za ARB analizu, a ostatak je čuvan na -20°C do PCR analize, za koju je korišćeno 100 µL pripremljenog uzorka.

Osušen i fiksiran razmaz bojen je auramin-rodaminom. Slajdovi koji su sadržali acido-rezistentne bacile bojeni su po Ziehl-Neelsenu radi potvrde<sup>13</sup>.

Podloge L-J sa zasejanim uzorcima inkubirane su na 37°C do osam nedelja. Porast je kontrolisan dva puta nedeljno u prve tri nedelje, a zatim jednom nedeljno. Izolati su identifikovani biohemiskim testovima<sup>13</sup>.

Primenjen je komercijalni CA-PCR test (*Roche Molecular Systems, Inc. Branchburg, USA*). Analiza je rađena prema uputstvu proizvođača. U prvoj fazi rađena je priprema uzorka pomoću reagensa koji su sastavni deo kompleta, tako što je 100 µL uzorka pomešano sa 500 µL rastvora za ispiranje i centrifugirano 10 min na 12 500 × g. Talog je resuspendovan u reagensu za liziranje. Inkubirano je 45 min na 60°C. Lizirani uzorak neutralisan je reagensom za neutralizaciju. Po 50 µL ovako pripremljenog uzorka pomešano je sa istim volumenom PCR mešavine koja je sadržala nukleotide, prajmere, *Taq* polimerazu, internu kontrolu i uracil N-glikozilazu. Kao negativna kontrola korišćena je destilovana voda koja je dodana u PCR mešavinu umesto uzorka, a kao pozitivna kontrola DNK izolovana iz neinfektivnog soja *M. tuberculosis*. Amplifikacija i detekcija uzorka odvijali su se automatski.

## Rezultati

Primenom CA-PCR testa analizirano je 110 respiratoričnih i 355 nerespiratoričnih uzoraka. Najbrojniji respiratorični uzorci bili su sputumi (77 uzoraka) i bronhijalni aspirati (26 uzoraka), a nerespiratorični urini (196 uzoraka), pleuralni punktati i izlivni (75 uzoraka) i likvori (38 uzoraka) (tabela 1). Pleuralni punktati i izlivni svrstani su u nerespiratorične uzorke zbog toga što nisu među respiratoričnim uzorcima kod kojih je predviđena primena CA-PCR testa.

**Tabela 1****Analizirani uzorci, pozitivni rezultati i inhibicija polymerase chain reaction (PCR)**

Klinički uzorci	Broj uzoraka	ARB+	Kultura+	PCR+	Inhibicija [n(%)]
Respiratorični uzorci					
sputum	77	9	9	12	1 (1,3)
aspirat bronhija	26	8	3	2	2 (7,7)
bronhoalveolarna lavaža (BAL)	6	1	1	1	0
trahealni aspirat	1	0	0	0	0
<b>Ukupno</b>	<b>110</b>	<b>18</b>	<b>13</b>	<b>15</b>	<b>3 (2,7)</b>
Nerrespiratorični uzorci					
urin	196	6	4	3	14 (7,1)
pleuralni punkat i izliv	75	1	3	1	6 (8,0)
likvor	38	0	1	0	0
gastročni lavat	10	0	2	0	0
biopsija	8	0	0	0	1 (12,5)
stolica	7	2	0	1	5 (71,4)
ascit	6	1	1	0	1 (16,6)
punkcija promene	4	0	0	1	0
izliv i punkt. perikarda	3	0	0	0	0
abdominalni punktat	3	0	0	0	0
dren	2	2	1	2	0
bris rane	1	0	0	0	0
peritonealna tečnost	1	0	0	0	0
punktat zglobova kuka	1	0	0	0	0
<b>Ukupno</b>	<b>355</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>8</b>	<b>27 (7,6)</b>
<b>Ukupno</b>	<b>465</b>	<b>30</b>	<b>25</b>	<b>23</b>	<b>30 (6,4)</b>

Upoređivanjem PCR rezultata sa kulturom kod respiratoričnih uzoraka, pokazano je da je osam uzoraka bilo pozitivno primenom obe metode (tabela 2). Rezultati se nisu poštovali kod sedam uzoraka koji su bili PCR pozitivni, a na kulturi negativni, kao i kod pet koji su porasli na kulturi, ali su bili PCR negativni ili pokazivali inhibiciju PCR. Preostali uzorci bili su negativni primenom obe metode. Analizom sedam uzoraka koji nisu porasli na kulturi ustanovljeno je da je kod tri kultura bila kontaminirana, ali je kroz istoriju bolesti bolesnika čiji su uzorci analizirani ustanovljeno da oni jesu bolevali i lečeni od tuberkuloze. Za tri uzorka nađeno je da su drugi uzorci istog bolesnika, iz kojih nije rađena PCR analiza, bili pozitivni na kulturi. Preostali uzorak pripadao je pacijentu koji je bio pod antituberkuloznom terapijom u momentu kada je davao uzorak na analizu. Zbog toga, ovi uzorci prikazani su kao TBC pozitivni (tabela 3).

Od pet uzoraka koji su bili pozitivni na kulturi, a PCR negativni, kod dva su porasle samo po tri kolonije, u jednom su bili prisutni inhibitori PCR, a kod dva su porasle atipične mikobakterije. Poslednja dva uzorka isključena su iz dalje analize (tabela 3). Inhibitori PCR bili su prisutni u još dva uzorka koja su bila negativna na kulturi (ukupno 2,7% respiratoričnih uzoraka).

Na osnovu promenjenih rezultata (tabela 3), osetljivost PCR testa u odnosu na kulturu kod respiratoričnih uzoraka iznosila je 83%, specifičnost 100%, PPV 100% i NPV 96,8%.

Od 355 analiziranih nerrespiratoričnih uzoraka, četiri su bila pozitivna primenom obe metode, četiri PCR pozitivna, a na kulturi negativno i osam PCR negativnih, a na kulturi pozitivnih (tabela 4).

**Tabela 2****Respiratorični uzorci: rezultati polymerase chain reaction (PCR) analize i kultura**

PCR	Respiratorični uzorci kultura		Ukupno
	pozitivni	negativni	
Pozitivni	8	7	15
Negativni	4	88	92
Inhibicija	1	2	3
<b>Ukupno</b>	<b>13</b>	<b>97</b>	<b>110</b>

**Tabela 3****Respiratorični uzorci: izmenjeni rezultati na osnovu istorije bolesti**

PCR	Respiratorični uzorci TBC		Ukupno
	pozitivni	negativni	
Pozitivni	15	0	15
Negativni	2	88	90
Inhibicija	1	2	3
<b>Ukupno</b>	<b>18</b>	<b>90</b>	<b>108</b>

**PCR – polymerase chain reaction**

**Tabela 4**  
**Nerespiratori uzorci: rezultati polymerase chain reaction (PCR) analize i kulture**

PCR	Nerespiratori uzorci kultura		Ukupno
	pozitivni	negativni	
Pozitivni	4	4	8
Negativni	8	312	320
Inhibicija	0	27	27
Ukupno	12	343	355

Od četiri uzorka koja nisu izrasla na kulturi, kod dva je kultura bila kontaminirana. Na osnovu drugih uzoraka istih bolesnika ustanovljeno je da ova dva, kao i još jedan uzorak koji nije porastao na kulturi, pripadaju bolesnicima koji su bolovali od tuberkuloze. Ova tri uzorka prikazana su kao TBC pozitivna (tabela 5). Preostali uzorak iz ove grupe bio je jedini uzorak bolesnika čije dalje eventualno lečenje nije moglo biti praćeno, pa je ovaj uzorak isključen iz dalje analize (tabela 5).

rije jednu ili više nedelja pre kulture<sup>14</sup>. To omogućava ranije otpočinjanje adekvatne terapije, redukciju primene fluorohinolona kao empirijske terapije pneumonije koja dovodi do pojave fluorohinolona rezistentnih *M. tuberculosis*, brže izlječenje bolesnika i efikasnije sprečavanje širenja oboljenja<sup>15, 16</sup>. Najnovija istraživanja pokazala su da lekari kliničari i lekari specijalisti iz oblasti javnog zdravlja imaju sve više zahteva za PCR analizom i da su rezultati ovih analiza odlučujući faktor za otpočinjanje terapije kod 20–50% bolesnika

**Tabela 5**  
**Nerespiratori uzorci: izmenjeni rezultati na osnovu istorije bolesti**

PCR	Nerespiratori uzorci TBC		Ukupno
	pozitivni	negativni	
Pozitivni	7	0	7
Negativni	7	312	319
Inhibicija	0	27	27
Ukupno	14	339	353

#### PCR – polymerase chain reaction

Analizom osam nerespiratornih uzorka koji su porasli na kulturi, ali su bili PCR negativni, pokazano je da je jedan od njih sadržao atipične mikobakterije i on je isključen iz dalje analize (tabela 5). Preostali uzorci sadržali su jako mali broj mikobakterija i na kulturi je porasla samo po jedna ili nekoliko kolonija.

Inhibitori PCR bili su prisutni kod 27 (7,6%) nerespiratornih uzorka koji su svi bili negativni i na kulturi.

Na osnovu promenjenih rezultata (tabela 5), osetljivost PCR testa u odnosu na kulturu kod nerespiratornih uzorka iznosila je 50%, specifičnost 100%, PPV 100% i NPV 98% (tabela 5).

Rezultati CA-PCR testa mogu se uporediti i sa ARB mikroskopijom. Kod ARB pozitivnih uzorka, svih 10 PCR pozitivnih respiratornih uzorka i jedan sa inhibicijom PCR, kao i svih šest PCR pozitivnih nerespiratornih uzorka poticali su od bolesnika koji su bolovali od tuberkuloze. Nijedan od 11 PCR negativnih nije pripadao bolesniku koji je bolovao od tuberkuloze.

Kod ARB negativnih uzorka, pet od sedam (71%) TBC pozitivnih respiratornih uzorka bilo je detektovano PCR analizom. Istovremeno, samo jedan od osam (12,5%) TBC pozitivnih nerespiratornih uzorka bio je detektovan PCR analizom.

#### Diskusija

Primena PCR testova za detekciju *M. tuberculosis* poslala je rutinska procedura u mnogim mikrobiološkim laboratorijama zbog toga što oni pouzdano detektuju mikobakte-

sa tuberkulozom u onim sredinama u kojima je molekularno testiranje rutinska praksa<sup>15, 17</sup>. U najnovijem Vodiču za primenu testova koji se baziraju na amplifikaciji nukleinskih kiselina, Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (*Centre for Disease Control and Prevention* – CDC) preporučuje se da se ovi testovi primenjuju na najmanje jednom respiratornom uzorku iz svakog bolesnika sa simptomima tuberkuloze pluća, ako ona još nije dokazana i kod kojih će rezultati testa uticati na postupak lečenja ili kontrole oboljenja<sup>9</sup>.

U našem radu osetljivost primjenjenog PCR testa u odnosu na kulturu bila je 83% za sve respiratorne uzorke, a 92% samo za sputume. Na osetljivost testa uticali su po jedan PCR negativan uzorak sputuma i bronhijalnog aspirata u kojima je bilo jako malo mikobakterija, tako da su na kulturi porasle samo po tri kolonije, kao i jedan pozitivan uzorak bronhijalnog aspirata u kojem su bili prisutni inhibitori PCR i sprečili amplifikaciju nukleinskih kiselina. Na osnovu ispitivanja više autora, Soini i sar.<sup>18</sup> navode da je osetljivost CA-PCR testa u odnosu na kulturu 79,4–91,9% za respiratorne uzorke. U svom radu Fegou i sar.<sup>19</sup> primenili su isti komercijalni test za detekciju mikobakterija. Osetljivost testa računali su za svaku vrstu uzorka posebno, pa je kod Z-N pozitivnih sputuma ona bila 73,6%, a kod Z-N negativnih 52,1%. Najveću osetljivost dobili su kod bronhoskopskih uzorka, 93,3% kod Z-N pozitivnih i 70% kod Z-N negativnih. U radu čiji je cilj bio da se evaluira uloga *Cobas Amplicor* testa za brzu dijagnostiku plućne tuberkuloze, Lim i sar.<sup>20</sup> dobili su osetljivost od 88% u odnosu na kulturu, a Rajalahti i sar.<sup>21</sup> 83%. Slične vrednosti dobili su i autori koji su za detekciju *M. tuberculosis* primenili drugi komercijalni NAA test. Kod

njih je ukupna osetljivost testa bila 91,7%, odnosno 98,7% za ARB pozitivne i 62,2% za ARB negativne uzorke<sup>17</sup>.

Visoka osetljivost NAA testova ispoljava se i analiziranjem uzorka iz bolesnika koji primaju antituberkuloznu terapiju. Ovakvi uzorci često su PCR pozitivni iako sadrže nevjabilne bakterije koje ne mogu porasti na kulturi<sup>19</sup>. Zbog toga, metode amplifikacije ne treba primenjivati nakon otpočinjanja antituberkulozne terapije za proveru njenog efekta. U našem radu za jedan uzorak koji je bio PCR pozitivan, a na kulturi negativan (ARB pozitivan), naknadnom analizom ustanovljeno je da je bolesnik već počeo da prima terapiju.

Test CA-PCR, kao i drugi NAA testovi koji se primenjuju za detekciju mikobakterija, sadrži prajmere koji su specifični za *M. tuberculosis* kompleks, pa imaju tu prednost da, za razliku od kulture, ne detektuju atipične mikobakterije. U našem radu za dva respiratorna i jedan nerespiratorni uzork, koji su porasli na kulturi i bili PCR negativni, pokazalo se da su sadržali atipične mikobakterije. Iako su ovi uzorci isključeni iz statističke analize, ova činjenica potencira specifičnost PCR testa. Među ispitanim uzorcima nismo imali lažno pozitivne rezultate, pa je specifičnost testa bila 100%. Slične vrednosti za specifičnost istog komercijalnog kompleta dobili su i drugi autori<sup>18, 20, 21</sup>. U multicentričnoj studiji kontrole kvaliteta kod detekcije *M. tuberculosis* primenom različitih NAA metoda, ukupno je bilo 4,3% lažno pozitivnih uzorka, što je prikazano kao napredak u odnosu na prethodnu sličnu studiju u kojoj je osam od 17 laboratorija negativne uzorke detektovale kao pozitivne<sup>10, 11</sup>. Preporučeno je da treba odvojiti različite korake procedure i sprečiti unakrsnu kontaminaciju drugim uzorcima.

Nerespiratorni uzorci predstavljaju veliki problem u dijagnostici tuberkuloze. U našem radu analizirano je 355 nerespiratornih uzorka na zahtev lekara kliničara, ili 3,2 puta više nego respiratornih. To najbolje ilustruje potrebu za brzom i specifičnom dijagnostikom tuberkuloze iz ovih uzorka, ali ukazuje i na neadekvatnu selekciju uzorka i bolesnika za analizu. Komercijalni NAA testovi za detekciju *M. tuberculosis*, namenjeni su samo za respiratorne uzorke. Jedan od razloga je taj što se u nerespiratornim uzorcima češće nalaze inhibitori PCR reakcije. Komplet koji smo mi upotrebjavali sadržao je internu kontrolu pomoću koje smo detektovali prisustvo inhibitora kod 2,7% respiratornih i 7,6% nerespiratornih uzorka, pa su oni bili potencijalno lažno negativni. Najmanje inhibitora bilo je kod sputuma, 1,3%, a najviše kod stolica, gde je pet od sedam uzorka sadržalo inhibitor (tabela 1). Značaj detekcije inhibitora PCR u uzorcima potenciraju i drugi autori, a procenat uzorka koji su sadržali inhibitor bio je sličan kao u našem radu<sup>10, 21, 22</sup>.

U izveštaju o primeni NAA testova za dijagnostiku tuberkuloze CDC preporučuje da svaka laboratorija ustanovi nivo inhibicije i na osnovu toga odluci da li treba rutinski testirati inhibiciju<sup>8</sup>. Test za inhibitor trebalo bi obavezno primeniti kod ARB pozitivnih uzorka kod kojih je amplifikacija izostala. Ako se detektuju inhibitori, test amplifikacije ne može pomoći u dijagnostici iz ovih uzorka<sup>9</sup>.

Sledeći razlog zbog kojeg su komercijalni kompleti namenjeni samo za respiratorne uzorke je što su u nerespi-

ratornim uzorcima mikobakterije češće prisutne u malom broju. Od sedam nerespiratornih uzorka koje nismo detektovali PCR metodom, kod pet je na kulturi porasla samo po jedna kolonija, kod jednog pet, a kod jednog 10 kolonija. Fegou i sar.<sup>19</sup> navode podatak da je granica detekcije za PCR 42 colony forming units (CFU) po uzorku, a proizvođač navodi da je za CA-PCR analitička osetljivost 20 ili više organizama po reakciji<sup>18</sup>. Na osetljivost PCR u odnosu na kulturu utiče i nejednaka količina uzorka koja se uzima za analizu. Prilikom zasejavanja obradenog uzorka, za kulturu uzima se 500 µL. To je pet puta više nego za PCR (100 µL), pa ne iznenađuje što je kultura često osetljivija. Neravnometernoj raspodeli mikobakterija doprinosi i njihovo grupisanje u aggregate koji se tokom obrade uzorka često ne razbijaju do pojedinačnih ćelija<sup>19</sup>. Reischl i sar.<sup>22</sup> predlažu da se tokom obrade uzorka, nakon dekontaminacije i koncentrovanja, talog rastvori u fosfatnom puferu koji sadrži 0,5% Tween 80. Na ovaj način postigli su bolju homogenizaciju taloga i ravnomerniju distribuciju bakterija u rastvoru.

Pozitivna prediktivna vrednost predstavlja odnos broja uzorka koji su bili pozitivni i na kulturi i u PCR analizi i uzorka pozitivnih primenom PCR, izraženo u procentima. U našem ispitivanju ova vrednost bila je 100% i za respiratorne i za nerespiratorne uzorke. Ona je pokazatelj lekarima kliničarima u kojoj meri se mogu osloniti na pozitivne PCR rezultate i da li mogu na osnovu njih započeti antituberkuloznu terapiju.

Negativna prediktivna vrednost je odnos broja uzorka koji su bili negativni i na kulturi i u PCR analizi i negativnih uzorka primenom PCR. Za obe vrste uzorka bila je podudarna i iznosila je 96,8% za respiratorne i 98% za nerespiratorne uzorke. Fegou i sar.<sup>19</sup> u svom radu, u kojem su analizirali ukupno 3 414 uzorka, izračunali su PPV, posebno za Z-N pozitivne uzorke, i ona je bila 95,7% a za Z-N negativne, 66,4%. NPV iznosila je 53,6% kod Z-N pozitivnih i 96,8% kod Z-N negativnih uzorka. Lim i sar.<sup>20</sup> analizirali su u kojoj meri lekari ispravno postupaju kada odluku o otpočinjanju antituberkulozne terapije donose na osnovu PPV i NPV komercijalnog PCR testa, na osnovu rezultata ARB testa ili kliničkog pristupa. Iako antituberkuloznu terapiju najčešće počinju na osnovu pozitivnog ARB rezultata, najčešniju dijagnozu (> 95%) dobili su kada su kombinovali rezultate testa amplifikacije sa kliničkim podacima. Guerra i sar.<sup>17</sup> navode da lekari započinju terapiju kod polovine ARB pozitivnih bolesnika čiji su im negativni PCR rezultati u tom momentu dostupni. Nijedan od ovih bolesnika nije imao konačnu dijagnozu tuberkuloze. Autori navode da u situaciji kada je NPV testa amplifikacije kod ARB pozitivnih uzorka vrlo visoka, ali ipak nije 100%, potencijalni rizik po bolesnika od pogrešne terapije mora da se odvaja sa potencijalnim posledicama kašnjenja terapije.

## Zaključak

Rezultati ovog rada pokazuju da CA-PCR test primenjen za dijagnostiku TB u našoj laboratoriji ima visoku osetljivost, naročito kod respiratornih uzorka, kao i visoku specifičnost, PPV i NPV i kod respiratornih i nerespiratornih

uzoraka, što omogućava lekarima kliničarima da se oslove na rezultate testa pri odluci o otpočinjanju terapije. To se pre svega odnosi na grupu ARB pozitivnih uzoraka, u kojoj su se PCR rezultati potpuno poklapali sa definitivnom dijagnozom tuberkuloze. Problem u PCR dijagnostici predstavlja su

uzorci sa malim brojem mikobakterija, kojih je više bilo kod nerespiratornih uzoraka. Veliki broj analiziranih nerespiratornih uzoraka u odnosu na respiratorne i mali procenat pozitivnih uzoraka ukazuje na potrebu za boljom selekcijom nerespiratornih uzoraka za PCR analizu.

## LITERATURA

1. WHO. Global Tuberculosis Programme, Geneva. Guidelines for the Management of drug-resistant tuberculosis 1997. Available from: [www.who.int/gtb/publications/gmdrt.htm](http://www.who.int/gtb/publications/gmdrt.htm)
2. Fact sheet n° 104; revised. March 2004: Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/>
3. Gillespie SH. Evolution of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: clinical and molecular perspective. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(2): 267–74.
4. Sam IC, Drobniowski F, More P, Kemp M, Brown T. Mycobacterium tuberculosis and rifampin resistance. United Kingdom. *Emerg Infect Dis* 2006; 12(5): 752–9.
5. Davies PD. The world-wide increase in tuberculosis: how demographic changes, HIV infection and increasing numbers in poverty are increasing tuberculosis. *Ann Med* 2003; 35(4): 235–43.
6. Crampin AC, Glynn JR, Traore H, Yates MD, Mwaungulu L, Mwenehabu M, et al. Tuberculosis transmission attributable to close contacts and HIV status, Malawi. *Emerg Infect Dis* 2006; 12(5): 729–35.
7. Meya DB, McAdam KPWJ. The TB pandemic: an old problem seeking new solution. *J Internal Medicine* 2007; 261: 309–29.
8. CDC. Report on an Expert Consultation on the Uses of Nucleic Acid Amplification Tests for the Diagnosis of Tuberculosis. [Last modified: 11/25/2008]. Available from: [http://www.cdc.gov/tb/amplification\\_tests/default.htm](http://www.cdc.gov/tb/amplification_tests/default.htm)
9. CDC. Update Guidelines for the Use of Nucleic Acid Amplification Tests in the Diagnosis of Tuberculosis MMWR 2009; 58(01): 7–10.
10. Noordhoek GT, van Embden JDA, Kolk AHJ. Reliability of nucleic acid amplification for detection of mycobacterium tuberculosis: an International Collaborative Quality Control Study among 30 Laboratories. *J Clin Microbiol* 1996; 34(10): 2522–5.
11. Noordhoek GT, Mulder S, Wallace P, van Loon AM. Multicentre quality control study for detection of mycobacterium tuberculosis in clinical samples by nucleic amplification methods. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10(4): 295–301.
12. Kubica GPW, Dye E, Cohn ML, Middlebrook G. Sputum digestion and decontamination with N-acetyl-L-cysteine-sodiumhydroxide for culture of mycobacteria. *Am Rev Respir Dis* 1963; 87(5): 775–9.
13. Kent PT, Kubica G. Public health mycobacteriology. A guide for the level III laboratory. US, GA, Atlanta: Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control; 1985.
14. Moore DF, Guzman JA, Mikhail LT. Reduction in turnaround time for laboratory diagnosis of pulmonary tuberculosis by routine use of a nucleic acid amplification test. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 52(3): 247–54.
15. Taegtmeyer M, Beeching NJ, Scott J, Seddon K, Jamieson S, Squire SB et al. Clinical impact of nucleic acid amplification tests on the diagnosis and management of tuberculosis in a British hospital. *Thorax* 2008; 63(4): 317–21.
16. Wang Y, Hsueh PR, Jan IS, Lee LN, Liaw YS, Yang PC, et al. Empirical treatment with a fluoroquinolone delays the treatment for tuberculosis and is associated with a poor prognosis in endemic areas. *Thorax* 2006; 61(10): 903–8.
17. Guerra RL, Hooper NM, Baker JF, Alborz R, Armstrong DT, Matlas G, et al. Use of the amplified mycobacterium tuberculosis direct test in a public health laboratory: test performance and impact on clinical care. *Chest* 2007; 132(3): 946–51.
18. Soini H, Musser JM. Molecular diagnosis of Mycobacteria. *Clinical Chemistry* 2001; 47(5): 809–14.
19. Fegou E, Jelastopulu E, Sevdali M, Anastassiou ED, Dimitracopoulos G, Spiliopoulou I. Sensitivity of the cobas amplicor system for detection of mycobacterium tuberculosis in respiratory and extrapulmonary specimens. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11(7): 593–6.
20. Lim TK, Mukhopadhyay A, Gough A, Khoo KL, Khoo SM, Lee KH, et al. Role of clinical judgment in the application of a nucleic acid amplification test for the rapid diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Chest* 2003; 124(3): 902–8.
21. Rajalahti I, Vuorinen P, Nieminen MM, Miettinen A. Detection of mycobacterium tuberculosis complex in sputum specimens by the automated roche cobas amplicor mycobacterium tuberculosis test. *J Clin Microbiol* 1998; 36(4): 975–8.
22. Reischl U, Lehn N, Wolf H, Naumann L. Clinical evaluation of the automated cobas amplicor MTB assay for testing respiratory and nonrespiratory specimens. *J Clin Microbiol* 1998; 36(10): 2853–60.

Rad primljen 11. VI 2009.



## Influence of intracoronary injections of bone-marrow-derived mononuclear cells on large myocardial infarction outcome: quantum of initial necrosis is the key

Uticaj intrakoronalne primene mononuklearnih ćelija poreklom iz koštane srži na ishod velikog infarkta miokarda: veličina inicijalne nekroze je ključ

Slobodan Obradović\*, Bela Balint†, Radoslav Romanović\*, Zoran Trifunović‡,  
Siniša Rusović§, Branislav Baškot¶, Marija Dopudja||, Gordana Trifunović†,  
Sašo Rafajlović\*, Robert Jung¶, Branko Gligić\*

**Military Medical Academy**, \*Clinic of Emergency Medicine, †Institute of Transfusioniology, ‡Clinic of Cardiac Surgery, §Institute of Radiology, ||Institute of Nuclear Medicine, Belgrade, Serbia;  
¶Institute for Cardiovascular Diseases of Vojvodina, Sremska Kamenica, Serbia

### Abstract

**Background/Aim.** Autologous bone-marrow-derived intracoronary injection of mononuclear cells (MNC) modestly improved left ventricular ejection fraction (LVEF) in the selected patients after acute ST elevation myocardial infarction (STEMI). Major determinants of stem cell therapy outcome in the subacute phase of STEMI still remain unknown. Therefore, the aim of this study was to determine modifying factors for the outcome of stem cell therapy after STEMI.

**Methods.** Eighteen patients in the stem cell therapy group and 24 patients in the control group with the successfully reperfused first large STEMI ( $LVEF \leq 40\%$ ) were enrolled in the study. The stem cell group was submitted to autologous bone-marrow-derived MNC injection between 7–12 days after MI. Left ventricular ejection fraction and infarction size at baseline and after 4 months were determined by echocardiography and scintigraphy examination. Age, pain onset to reperfusion time, admission glycemia, maximum lactate dehydrogenase (LDH) activity and C-reactive protein level, baseline LVEF and infarction size, and the number of MNC in-

jected were compared between patients with and without significant improvement of LVEF and decrease of myocardial infarct size after 4 months. **Results.** In the stem cell group, patients with the improvement of LVEF for more than 5.1% had significantly lower levels of LDH than patients without such improvement ( $1689 \pm 139$  vs  $2133 \pm 215$  IU/L,  $p < 0.001$ ) and lower baseline infarction size on scintigraphy ( $26.7 \pm 5.2$  vs  $34.9 \pm 3.7\%$ ,  $p < 0.001$ ). Such dependence was not found in the control group. **Conclusion.** In the patients with first large STEMI intracoronary injection of autologous bone-marrow-derived MNC leads to the significant decrease of myocardial infarction size but not the significant improvement of LVEF after four months. Higher serum LDH levels after STEMI and very large baseline infarction size are predictors of failure of stem cell therapy in our group of STEMI patients.

**Key words:**  
myocardial infarction; stem cell transplantation;  
regeneration; treatment outcome; ventricular  
dysfunction, left; l-lactate dehydrogenase.

### Apstrakt

**Uvod.** Primena autologne intrakoronalne implantacije matičnih ćelija poreklom iz koštane srži kod izabranih bolesnika sa infarktom miokarda (IM) sa ST elevacijom dovela je do skromnog poboljšanja ejekcione frakcije leve komore (EFLK). Nepoznato je koji faktori utiču na rezultat ćelijske terapije u akutnom IM. Cilj rada bio je da se utvrde faktori koji utiču na ishod lečenja stem ćelijama posle IM. **Metode.** Osamnaest bolesnika činilo je eksperimentalnu, a 24 kontrolnu grupu sa prvim velikim infarktom miokarda ( $EFLK \leq 40\%$ ) i uspešnom reperfuzijom. Eksperimentalna grupa primila je intrakoronalne injekcije suspenzije mononuklearnih ćelija

(MNČ) od 7. do 12. dana nakon IM. I EFLK i veličina infarkta mereni su između 5. i 7. dana i u 5. mesecu od IM. Životno doba bolesnika, vreme od početka bolova do reperfuzije, glikemiju na prijemu, maksimalnu aktivnost laktat-dehidrogenaze (LDH) i nivo C-reaktivnog proteina, broj datih MNČ, kao i bazalni nivo EFLK i veličinu infarkta poredili smo između grupe bolesnika sa značajnim povećanjem EFLK ( $>5,1\%$ ) i bez njega. **Rezultati.** Bolesnici sa ćelijskom terapijom kod kojih je registrovano značajno poboljšanje EFLK imali su značajno niže maksimalne aktivnosti LDH ( $1689 \pm 139$  vs  $2133 \pm 215$  IU/L,  $p < 0,001$ ) i manju početnu infarktnu zonu na scintigrafskoj miokarda ( $26,7 \pm 5,2$  vs  $34,9 \pm 3,7\%$ ,  $p < 0,001$ ) od onih kod kojih nije registrovano

značajno poboljšanje EFLK. Ovakva zavisnost nije registrovana u kontrolnoj grupi bolesnika. **Zaključak.** Bolesnici sa prvim velikim IM sa ST-elevacijom kod kojih se registruje značajno poboljšanje EFLK nakon primene matičnih ćelija sa poreklom iz koštane srži u subakutnoj fazi IM imaju manju aktivnost LDH i niži defekt perfuzije na scintigrafiji miokarda

od bolesnika kod kojih primena ove terapije nije dovela do željenog rezultata.

#### Ključne reči:

*infarkt miokarda; transplantacija matičnih ćelija; regeneracija; lečenje, ishod; disfunkcija leve komore; laktat dehidrogenaza.*

## Introduction

Several randomized clinical studies evaluating intracoronary application of autologous bone-marrow-derived stem cells in the subacute phase of ST elevation myocardial infarction (STEMI) have showed modest improvement of global left ventricular ejection fraction (LVEF), and moderate improvement of regional myocardial function and perfusion<sup>1-7</sup>. Several factors may hypothetically determine the success of bone-marrow-derived stem cell therapy after myocardial infarction (MI). Age of patients, timing from pain onset to reperfusion, timing of stem cell therapy, the number and quality (viability and subpopulation) of injected cells, initial size of infarction, inflammatory response to necrosis and the route of cell delivery are only some of the potential modifying factors which can influence the results of stem cell therapy after STEMI. Elderly patients have lower bone marrow stem cell capacity<sup>8</sup>. Longer duration of critical ischemia, especially at the large myocardial area without developed collaterals resulted with greater necrosis, inflammation, thinning and remodelling of infarcted left ventricle wall. Too early application of cells may bring them in the very hostile environment, during the time of extreme edema, oxidative stress and inflammation. For instance, too early intracoronary transfer of bone-marrow-derived stem cells very probably contribute to the failure of Janssens's trial<sup>4</sup>, where stem cells were given only 24 hours after STEMI onset. Too late cell transfer may diminish engraftment and survival of stem cells because of a lack of chemotactic and growth factors in the infarction area, and the valuable time is lost for the attenuation of beneficial paracrine effect of these cells on reperfusion injury and local inflammation. Higher number of stem cells and repeated cell therapy might be required for substantial benefit in the process of myocardial reparation. Selection of patient may be crucial. Patients with small infarctions do not need any regeneration support because they have no any significant remodelling after infarction. On the other side, in patients with huge STEMI, it is hard to believe that one intracoronary application on stem cells can permanently improve cardiac function at the level of clinical relevance. The results of stem cell trafficking after intracoronary application have showed that a small number of cells are sited in the infarction area several hours after<sup>9</sup>, and that direct intramyocardial injections of stem cells via transendocardial route using electromechanical guidance might be a better way for cell delivery<sup>10</sup>.

The most often used primary endpoint in the stem cell trial in acute STEMI was the change of LVEF during follow-up (mostly the period of 4-6 months). The standard variation of this endpoint was much larger in experimental groups than

in controls in almost all studies published till now, which means that some patients have probably the benefit of stem cell therapy, while some even harmful effect of it. Unfortunately, these modifying factors for the outcome of stem cell therapy after MI are mainly unknown.

Primary endpoints were the increase of LVEF (measured by echocardiography) and decrease of infarction size (measured by myocardial perfusion scintigraphy) by 5% (both parameters) using intracoronary injections of autologous bone-marrow-derived MNC in 7-14 days after huge, reperfused STEMI involving major branches of left coronary arteries as the culprit vessels. Secondary endpoint of the study was a reduction of major adverse cardiac events (MACE) during follow-up of at least 2 years. Also, the aim of this study was to determine factors which influence the efficacy of MNC therapy for myocardial regeneration in the subacute phase of large STEMI.

## Methods

The study was a non-randomized, open, single centre study, in which the experimental group was compared with the well-matched control group. All consecutive patients with the eligible inclusion criteria, admitted in the Clinic of Emergency Internal Medicine, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia, in a 5-year period (February 2004 to February 2009) were enrolled in this study. The study was approved by the local Ethics Committee of the institution and a written informed consent was obtained from all participating patients.

Inclusion criteria for intracoronary bone-marrow-derived MNC injections were the first large STEMI at the territory of the left coronary artery, age between 18 and 71 years, LVEF between 24 and 41% measured on the fifth day from the infarction, the absence of previously known cardiac disease that could influence the myocardial function before STEMI, and the successful reperfusion either by percutaneous coronary intervention (PCI) or with fibrinolysis during the first 2-12 hours from the pain onset. The patients with electrocardiography (ECG) signs of a successful reperfusion (resolution of ST segment elevation for more than 50% in the ECG lead with the highest ST elevation at admission) at the 90 minutes from the start of fibrinolysis had successful PCI in 48 hours from admission. The patients with no early ECG signs of reperfusion were submitted to rescue PCI immediately after failed fibrinolysis. The main exclusion criteria were the presence of any chronic inflammatory or malignant disease, nonresponsiveness to clopidogrel at the fifth day of STEMI, and allergy on either aspirin or clopidogrel. The responsiveness to clopidogrel was determined by platelet ag-

gregometry on adenosine diphosphate (ADP), and it was added to exclusion criteria during the study, when one patient had stent thrombosis several days after discharge in whom we confirmed the resistance to clopidogrel therapy after that event. The control group included the patients with the same inclusion and exclusion criteria as the study group with no cell therapy because of technical reasons (9 patients) and the part of them were a historical control group – 15 patients treated before introduction of cell therapy in our institution between 2000 and 2003.

#### *Bone marrow harvest and cell processing and implantation*

We harvested bone marrow 7–14 days after STEMI, under general anesthesia. The target volume of bone marrow was 250 mL. Bone marrow was filtered and processed to get cell suspension enriched with MNC (40–50% of all nuclear cells) with lower hematocrit (Ht) (Ht target less than 0.3) and platelet number (less than 100 000/microliter). Cell viability was estimated by trypan-blue test, and it was always above 95%.

The final volume of 160 mL of resuspended cells was infused into the left main coronary artery as slow - 2 minutes boluses of 20 mL, with the one-minute pause between, through the diagnostic catheter.

#### *Echocardiography examination*

Transthoracic echocardiography examination was performed between 5 and 7 days and at the fifth month after MI. Simpson biplane method was used for the determination of LVEF.

#### *Myocardial scintigraphy*

Single photon emission computed tomography was done between 5 and 9 days after STEMI and in the fifth month. The first examination was the rest scintigraphy only using Tc99m-MIBI (740 MBq) and the second one was performed in stress (Tc99m-MIBI 370 MBq) and 3 hours later in rest (Tc99m-MIBI 740 MBq). Stress was induced as a “hybrid protocol” using adenosine 140 µg/kg/min intravenously for 4 minutes together with low level exercise – 25–50 W on the ergometry bicycle. Segmental model technique using 20 segments of myocardium (AutoQuant software, Cedars-Sinai QPS/QGS component of AutoQuant) was used to determine the size of perfusion defect. All segments with the tracer uptake lesser than 50% than normal were considered nonviable.

#### *Biochemical analysis*

Admission serum glucose level was measured by the standard hexokinase-glucose-6-phosphate dehydrogenase method (Dade Behring XPAND, Germany). C-reactive protein (CRP) was measured daily in 1–3 days after MI by the immunonephelometric method (BNTM II System, Dade Behring, Germany) and the highest level was included in the analysis. The cardiac-specific isoenzyme of creatine kinase (CK-MB) and LDH serum levels were determined every 6 hours after the admission for 3 days by standard tests (Dade Behring XPAND, Germany).

#### *Patient follow-up*

All the patients in both groups were clinically examined after 1, 4 and 6 months with echocardiography and SPECT examination in the fifth month. All the patients also submitted to adenosine-exercise stress testing after 4 months from infarction.

Routine coronarography performed in all the patients in the cell therapy group, and ischemia-driven (typical chest pain inside 6 months from the infarction or positive ischemia on SPECT) coronarography performed in the control patients.

After six months the patients were examined routinely every six months and all other diagnostic measures were taken depending on symptoms.

#### *Statistical analysis*

Sample size calculation was based on the expectation that a treatment difference in primary endpoints would be 4% with SD of 5% between the experimental and the control group, indicated that at least 26 should have been enrolled in each group with 0.05 two-sided significance and 90% power.

Discrete variables are reported as counts (percentages), and continuous variables as mean  $\pm$  SD (if data were normally distributed), or median with interquartile range (IQR) if data were skewed. Baseline characteristics of patients, endpoints and MACE, were compared between groups with the chi-square test for discrete variables. Differences between groups for continuous variables with normal distribution compared with Student *t* test and if it is not normally distributed with Mann-Whitney *U* test. A value of  $p < 0.05$  was considered statistically significant.

#### **Results**

The cell therapy group included 19 patients and the control group 24 patients. One patient in the cell therapy group had early stent thrombosis (seven days from the discharge). In that patient we found poor platelet response to ADP (platelet aggregability to ADP was more than 50% during the maintenance dual antiaggregatory therapy) and excluded him from further study. There were no significant differences between baseline patient characteristics which we consider important for the study results, except that the patients from the control group had higher frequency of hypertension, and the cell therapy group patients received borderline significant longer stents cover on infarct-related lesion than the control (Table 1). However, we think that these differences had no influence upon the main results of our study.

Both baseline and a 4-month infarction size and LVEF were similar in the groups (Table 2). However, patients in the cell therapy group had greater decrease in infarction size measured by myocardial perfusion scintigraphy, but this did not result into the greater increase of LVEF in the cell therapy group as compared with the controls (Table 2).

Nine of 18 patients in the cell therapy group and 7 out of 24 patients in the control group had  $\Delta$ LVEF greater than 5% after 4 months ( $p = 0.210$ ) (Table 3). Inside the experi-

**Table 1****Characteristics of the patients**

Patients' Characteristics	Group of patients		<i>p</i>
	cell therapy (n = 18)	control (n = 24)	
Age (years; $\bar{x} \pm SD$ )	50 ± 10	56 ± 11	
Males, [n(%)]	15 (83.3)	22 (90.1)	
Risk factors (n)			
smoking	11	12	
hypertension	7	19	0.017
hypercholesterolemia	10	12	
diabetes mellitus	2	3	
Infarction-related artery (n)			
LAD artery	17	21	
ACX	1	3	
Reperfusion therapy (n)			
primary PCI	10	15	
rescue or urgent PCI after fibrinolysis	8	9	
Stenting (n)	13	20	
Average stent length (mm, median [IQR])	23 (19-28)	16(14-26)	0.053
TIMI flow 3 after PCI (n)	14	20	
TIMI flow 2 after PCI (n)	2	4	
Time from pain onset to reperfusion (h, median [IQR])	4.0 (2.25-7.5)	4.0(2.12-8.75)	
Therapy at discharge (n)			
aspirin	18	24	
clopidogrel	18	24	
carvedilol or bisoprolol	18	22	
ACE inhibitor	16	20	
statins	15	20	

LAD – left anterior descending, ACX – circumflex artery, PCI – percutaneous coronary intervention, TIMI – thrombolysis in myocardial infarction, IQR – interquartile range, ACE – angiotensin – converting enzyme

**Table 2****Left ventricle ejection fraction and myocardial infarction size at baseline and at a 4 month follow-up**

Parameters (%, median [IQR])	Group of patients		<i>p</i>
	Cell therapy (n = 18)	Control (n = 24)	
Baseline infarction size	29.0 (25.7-35.3)	29.0 (26.7-33.7)	
Six months infarction size	26.0 (19.7-33.0)	27.0 (22.3-32.0)	
Delta infarction size	-4.50± (2.0-9.0)	-3.00 (1.0-4.0)	0.020
Baseline LVEF	34.5 (31.5-35.0)	35.0 (33.5-37.0)	
Six months LVEF	37.0 (32.7-43.7)	38.0 (35.0-42.0)	
Delta LVEF	4.0 (0.0-8.5)	3.0 (-0.7-6.0)	

LVEF – left ventricular ejection fraction; IQR – interquartile range

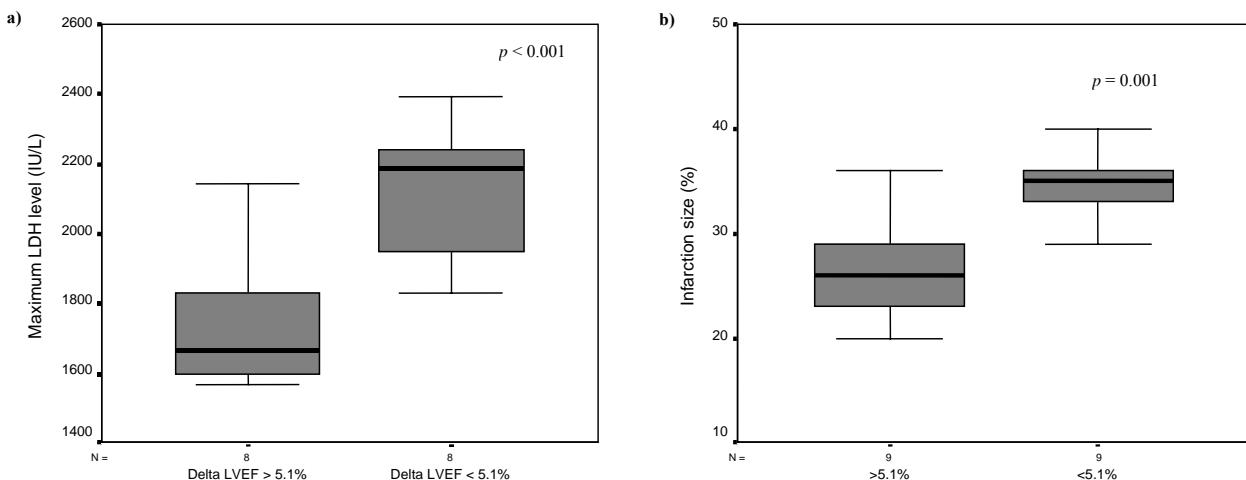
**Table 3****Factors that could influence the improvement of left ventricular ejection fraction (LVEF) in the patients with cell therapy and the control group**

	Cell therapy group (n = 18)		<i>p</i>	Control group (n = 24)		<i>p</i>
	ΔLVEF > 5.1% (n = 9)	ΔLVEF < 5.1% (n = 9)		ΔLVEF > 5.1% (n = 7)	ΔLVEF < 5.1% (n = 17)	
Age (years; median [IQR])	53 (50-59)	46 (39-58)	0.234	59 (50-65)	53 (46-67)	0.951
Time pain/reperfusion (h; median [IQR])	3.5 (2.0-7.2)	4.0 (3.2-9.7)	0.382	4.0 (1.5-9.0)	4.0 (2.7-8.5)	0.576
Glycemia at admission (mmol/L, median [IQR])	7.5 (6.8-19.1)	7.3 (5.5-8.1)	0.534	8.9 (8.0-9.0)	8.0 (7.1-10.7)	0.671
CRP at 48 h (mg/L, median [IQR])	45.8 (17.2-69.8)	49.2 (6.5-52.0)	0.798	45.9 (29.7-93.5)	37.7 (17.4-86.0)	0.548
LDH maximum (IU/L, mean ± SD)	1689 ± 139	2133 ± 215	< 0.001	1945 ± 402	2369 ± 872	0.236
Baseline LVEF (%, median [IQR])	35.0 (33.2-38.0)	31.0 (30.0-34.7)	0.065	35.0 (34.0-36.0)	35.0 (32.5-37.5)	0.576
Baseline MI size (%, mean ± SD)	26.7 ± 5.2	34.9 ± 3.7	0.001	27.0 ± 2.8	30.2 ± 5.60	0.448
Number of MNC injected (n × 10 <sup>8</sup> /L; mean ± SD)	4.2 (2.1-6.9)	6.2 (3.8-10.8)	0.234	–	–	–

IQR – interquartile rang; CRP – C-reactive protein; LDH – lactate dehydrogenase; MI – myocardial infarct; MNC – mononuclear cells

mental group we compared presumable important variables which might influence the outcome of MNC therapy. There was no difference in age, time from the pain onset to reperfusion, glycemia on admission, maximum level of CRP after STEMI, and the number of injected MNC between the group with and the group without a significant improvement of LVEF and a decrease of infarction size, both prespecified as 5%. The patients with an improvement in LVEF more than 5% had significantly lower maximal LDH levels ( $p < 0.001$ ) and smaller baseline infarction size ( $p = 0.001$ ) than the group with a treatment failure (Figure 1). In the control

LVEF in those two studies were 48.9% and 37% and that were much higher than median value in our study. The question is what baseline LVEF is optimal for the cell therapy. But, when we consider this question one more thing must be included, and that is the timing of a baseline LVEF estimation. If it is estimated too early, the influence of stunning may be too strong and patients with viable but severely stunned myocardium would be submitted to cell therapy. In our study "inclusion" of LVEF measurement were done 5-7 days after STEMI, in attempt to avoid a strong influence of inevitable stunning on LVEF. That was unlike to large ran-



**Fig. 1 – (a) Maximum lactate dehydrogenase (LDH) levels and (b) baseline infarction size according to a significant improvement of left ventricular ejection fraction (LVEF) after 4 months**

group there were no significant differences for all variables between those who had a significant improvement of LVEF as compared with the patients with no such improvement.

There was no difference in MACE between the two groups (Table 4).

domized studies<sup>2-5</sup> where recruitment of patients did not include the baseline LVEF at all, or the inclusion-baseline measurement of LVEF was performed earlier in the course of STEMI<sup>1,6</sup>. The studies using magnetic resonance imaging (MRI) estimation of LVEF and left ventricle volumes had a

**Major adverse cardiac events (MACE) during follow-up  
(from 6 months to 5 years)**

MACE	Group of patients	
	cell therapy (n = 18)	control group (n = 24)
Restenosis [n(%)]	7 (38.9)	7 (29.2)
TVR [n(%)]	5 (27.8)	6 (25.0)
Coronary death [n(%)]	0 (0.0)	2 (8.3)
Hospitalization for heart failure [n(%)]	0 (0.0)	4 (16.7)
*Composite of death, TVR and heart failure [n(%)]	5 (27.8)	11 (45.8)

TVR – target vessel revascularization; \*hierarchical composite (when a patient who had died have submitted to TVR or had heart failure, he was counted only once).

## Discussion

The main result of this study was that the patients with too large infarction measured by the maximum LDH release had no benefit of intracoronary MNC infusion in the subacute phase of large STEMI. In two large randomized trials REPAIR-AMI<sup>1</sup> and REGENT<sup>6</sup> the patients with baseline LVEF lower than median had greater increase in LVEF after a 6-month follow-up. However, median values of baseline

somewhat opposite problem, because a baseline MRI was performed in days, or even weeks after intracoronary transfer of stem cells<sup>5,6</sup> when some effects of stem cells may already present and it would be diminished in such approach. The second question about using LVEF as a primary endpoint is if we need some other more sophisticated, but simple parameters for the initial recruitment and follow-up of patients. The change in global LVEF is probably a too rough surrogate endpoint for the estimation of efficacy in stem cell ther-

apy studies at this stage of investigation. Serial regional changes in systolic and diastolic function in the infarction zone especially during exercise or pharmacological stress are probably better tool for the estimation of stem cell therapy after STEMI. Some other more sophisticated echocardiography methods like myocardial strain or some parameters of diastolic function had even better prognostic value for patients with severely damaged myocardium<sup>11,12</sup>.

Our results also showed that maximum lactate dehydrogenase (LDH) levels and the baseline infarction size measured by single photon emission computed tomography (SPECT) were good predictors for the success/failure of intracoronary mononuclear cell (MNC) therapy. The patients with too large increase in LDH and too large infarction area on SPECT did not have benefit of MNC therapy after STEMI. The reason for that may be that maximum LDH level after myocardial infarct (MI) mirrored two important partly connected events: necrosis (release of LDH from the necrotic cardiomyocytes) and reperfusion injury (release of LDH by the activated leukocytes in the infarction zone), and both of them can influence the outcome of cell therapy after MI. It is interesting that CRP level was not different between the patients with and without benefit of cell therapy. It may be that a systemic inflammatory response after infarction depends on the size of infarction but also on the presence of heart failure and specific, individual immunogenic reaction to injury, and the correlation between necrosis quantum and CRP levels is only partial. However, the role of CRP in myocardial reparation process may be more direct. In a recently published study, Turan et al.<sup>13</sup> found that patients with higher CRP levels after infarction have decreased mobilization of bone-marrow-derived stem cells. According to our and Turan's results, it seems that a higher systemic inflammatory response can influence the mobilization of stem cells to blood – natural regeneration process, but do not impair a positive effect on cardiac remodelling of the intracoronary stem cell implantation. As far as we know, there is no such study which connects any biomarker to the outcome of the cell therapy after STEMI.

Age was not an important factor for the prediction of LVEF increase or infarction size decrease after MNC implantation in our study. Although an advanced age can lower the mobilization of stem cells after infarction<sup>13</sup> and decrease angiogenic capacity of stem cells<sup>8</sup>, we found the opposite, i.e. the patients with a significant improvement of LVEF tended to be older (not significantly). The explanation for that is, maybe, a longer duration of coronary disease with more developed collaterals which may be important for the deliverability and engraftment of stem cells in the infarction area.

It should be logically that a higher number of intracoronary injected stem cells means the better results for regen-

erative cell therapy after STEMI. However, REGENT<sup>6</sup>, as well as our trial, found no correlation between LVEF improvement and the number of bone-marrow-derived cells injected intracoronary. There is, maybe, a saturation level for the number of stem cell engraftment in the infarction area for one occasion in the short time of delivery. The results of Yao et al.<sup>14</sup>, show that the patients treated with repeated intracoronary implantation of bone-marrow-derived stem cells, first in 3-7 days after STEMI and then 3 months later, had larger increase of LVEF than patients in whom cell therapy was done only once in the subacute phase of STEMI.

The longer time from the pain onset to the primary PCI was reported to be a significant predictor for the improvement of LVEF after a stem cell therapy. We found no such dependence, and the reason for that was that all the patients in the REGENT trial were treated by primary PCI and the exact time of reperfusion was precisely known, and in our study almost a half of patients received fibrinolytic therapy first and the timing of reperfusion in those patients were estimated approximately by the timing of electrocardiogram changes typical for reperfusion.

The second, but very important, result of our study was that MACE tended to be higher in the control group than in the stem cell group. The only trial that published a reduced MACE rate after a year of intracoronary stem cell therapy after STEMI was the largest REPAIR-AMI<sup>15</sup> trial.

The main limitation of this preliminary study was its non-randomized character but we tried to avoid that with a well-matched control group. A small number of patients is the second huge limitation, but that number of patients enrolled was the maximum achievement for our institution during a 5-year study. The two largest trials of bone-marrow-derived stem cell therapy show that the patients treated with intracoronary transfer of MNC or their CD34+CXC4R+ subpopulation in the second week of a successfully reperfused STEMI have a significant improvement of LVEF only if they have a baseline LVEF lower than median values for these studies. On the contrary, the results of our study open the question of the lowest limit of baseline myocardial damage.

## Conclusion

According to our results, the patients with extremely large infarction, estimated by infarction scintigraphy size and the maximum increase of LDH, have no benefit of intracoronary MNC transfer as compared with the patients with lesser, but severe degree of myocardial damage. We suppose that the STEMI patients with relatively narrow range of baseline infarction size or LVEF between 25 - 40% may have some benefit of early treatment with bone-marrow-derived MNC.

## R E F E R E N C E S

1. Schächinger V, Erbs S, Elsässer A, Haberbosch W, Hambrecht R, Hölschermann H, et al. Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction: final 1-year results of the REPAIR-AMI trial. Eur Heart J 2006; 27(23): 2775–83.
2. Schächinger V, Assmus B, Britten M, Honold J, Lebmann R, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration

- enhancement in acute myocardial infarction Final one-year results of the TOPCARE-AMI trial. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1690–9.
3. Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, Steffens J, Lippolt P, Fichtner S, et al. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (BOne marrOw transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) trial. *Circulation* 2006; 113: 1287–94.
  4. Janssens S, Dubois C, Bogaert J, Theunissen K, Deroose C, Desmet W, et al. Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2006; 367: 113–21.
  5. Lunde K, Solheim S, Aakhus S, Arnesen H, Abdelnoor M, Egeberg T, et al. Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355: 1199–209.
  6. Tendera M, Wojakowski W, Ruszytto W, Chojnowska L, Kepka C, Tracz W, et al. Intracoronary infusion of bone-marrow derived selected CD34+CXCR4+ cells and non-selected mononuclear cells in patients with acute STEMI and reduced left ventricular ejection fraction: results of randomized, multicentre Myocardial Regeneration by Intracoronary Infusion of Selected Population of STEM Cells in Acute Myocardial Infarction (REGENT) Trial. *Eur Heart J* 2009; 30(11): 1313–21.
  7. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Köstering M, Hernandez A, Sorg RV. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002; 106(15): 1913–8.
  8. Li TS, Kubo M, Ueda K, Murakami M, Mikamo A, Hamano K. Impaired angiogenic potency of bone marrow cells from patients with advanced age, anemia, and renal failure. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009.
  9. Hofmann M, Wollert KC, Meyer GP, Menke A, Arsenier L, Hertenstein B, et al. Monitoring of bone marrow cell homing into the infarcted human myocardium. *Circulation* 2005; 111: 2198–202.
  10. Krause K, Jaquet K, Schneider C, Haupt S, Liao Znor MV, Otte KM, et al. Percutaneous intramyocardial stem cell injection in patients with acute myocardial infarction: first-in-man study. *Heart* 2009; 95: 1145–152.
  11. Hirata K, Hyodo E, Hozumi T, Kita R, Hirose M, Sakanoue Y, et al. Usefulness of a combination of systolic function by left ventricular ejection fraction and diastolic function by E/E' to predict prognosis in patients with heart failure. *Am J Cardiol* 2009; 103(9): 1275–9.
  12. Cho GY, Marwick TH, Kim HS, Kim MK, Hong KS, Oh DJ. Global 2-dimensional strain as a new prognosticator in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54(7): 618–24.
  13. Turan RG, Brehm M, Koestering M, Tobias Z, Bartsch T, Steiner S, et al. Factors influencing spontaneous mobilization of CD34+ and CD133+ progenitor cells after myocardial infarction. *Eur J Clin Invest* 2007; 37(11): 842–51.
  14. Yao K, Huang R, Sun A, Qian J, Liu X, Ge L, et al. Repeated autologous bone marrow mononuclear cell therapy in patients with large myocardial infarction. *Eur J Heart Fail* 2009; 11(7): 691–8.
  15. Schächinger V, Erbs S, Elsässer A, Haberbusch W, Hambrecht R, Hölschermann H, et al. Improved clinical outcome after intra-coronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction: final 1-year results of the REPAIR-AMI trial. *Eur Heart J* 2006; 27(23): 2775–83.

The paper received on September 22, 2009.



## Kardiovaskularni skrining sportista

## Cardiovascular screening of athletes

Zoran Stajić\*, Zdravko M. Mijailović†

**Kliničko-bolnički centar Zemun, \*Odeljenje kardiologije, Beograd, Srbija;**  
**Vojnomedicinska akademija, †Klinika za kardiologiju, Beograd, Srbija**

### Ključne reči:

sport; kardiovaskularne bolesti; dijagnoza; smrt, iznenadna, srčana; masovno ispitivanje.

### Key words:

sports; cardiovascular diseases; diagnosis; death, sudden, cardiac; mass screening.

### Uvod

Iznenadna smrt mladih takmičarskih sportista predstavlja izuzetno redak događaj sa procenjenom incidencijom 1:200 000 u Evropi i SAD<sup>1</sup>. Imajući u vidu da u našoj zemlji ne postoji nacionalni registar bolesti, povreda i uzroka smrti kao ni obaveza prijavljivanja i registrovanja iznenadne srčane smrti, tačnih statističkih podataka o incidenciji nema, ali se prepostavlja da je ona približna kao i u drugim evropskim zemljama. Međutim, iako veoma redak, zbog svoje tragičnosti svaki slučaj iznenadne smrti sportista uvek izaziva ogroman publicitet i opšte društvene javnosti i zdravstveno-sportskih institucija i pokreće neizbežno pitanje da li je mogao biti sprečen i da li su bile preduzete sve neophodne mere da se izbegne.

Trebalo bi sve učiniti da se ovakvi tragični događaji efikasno spreče. Predtakmičarski skrining (kontrola) sportista na okultna kardiovaskularna oboljenja najefikasniji je način prevencije. Imajući u vidu veliki broj mladih osoba koje se redovno bave sportom, uključujući i đake i studente na obaveznoj nastavi fiskulture, skrining mora biti tako organizovan da bude efikasan u otkrivanju mogućih uzroka iznenadne srčane smrti s jedne strane, i ekonomski održiv i prilagođen specifičnostima svake zemlje, s druge strane.

U cilju sniženja broja tragičnih smrtnih događaja u sportu, u Italiji<sup>2</sup>, skandinavskim zemljama<sup>3</sup>, i, posebno, Sjedinjenim Američkim Državama<sup>4,5</sup> već nekoliko decenija redovno se sprovode programi predtakmičarskog kardiovaskularnog skrininga. Nedavno je i Evropsko udruženje kardiologa publikovalo zajedničke evropske preporuke za kardiovaskularni skrining takmičarskih sportista<sup>2</sup>. Osnovni cilj evropskih preporuka je sprovođenje minimalnih osnovnih dijagnostičkih kardiovaskularnih pretraga takmičarskih sportista u svim evropskim zemljama.

U našoj zemlji, nažalost, još uvek ne postoje nacionalne preporuke koje bi bile obavezne za skrining takmičar-

skih sportista. Sportski savezi i klubovi odgovorni su za organizovanje skrininga i redovnih sistematskih pregleda sportista.

Cilj ovog rada bio je da ukaže na najvažnije elemente aktuelnih evropskih i američkih preporuka za kardiovaskularni skrining sportista koji su važni za svakodnevnu rutinsku kliničku praksu.

### Uzroci iznenadne smrti sportista

Iznenadna smrt definiše se kao nenasilna, prirodna smrt koja nastaje kao posledica srčanog zastoja, neočekivano, unutar jednog sata kod prethodno zdrave osobe<sup>6</sup>. Mechanizam iznenadne srčane smrti nastale tokom intenzivne fizičke aktivnosti još uvek nije u potpunosti poznat. Smatra se da udruženo delovanje više faktora (povećana potreba organizma za kiseonikom, skraćeno trajanje dijastole i smanjenje koronarne perfuzije, promena simpatičkog i parasympatičkog tonusa, oslobođanje tromboksana A2 – potentnog vazokonstriktora, povećanje koagulabilnosti krvi, laktatna acidozna, povećanje telesne temperature, promena koncentracije intracelularnih i ekstracelularnih koncentracija jona) može dovesti do iznenadne srčane smrti tokom intenzivnog fizičkog napora<sup>7</sup>. Najveći broj slučajeva iznenadne srčane smrti registruje se u poslepodnevnim i ranim večernjim satima, jer se tada uglavnom i održavaju treninzi i sportska takmičenja<sup>8</sup>.

Kod mladih sportista, do 35 godina starosti, više od 90% slučajeva iznenadne smrti nastupa tokom ili neposredno nakon intenzivnog fizičkog napora (trening, takmičenja)<sup>9</sup>. Više od 90% ovih slučajeva nastaje, pak, kod sportista koji imaju kardiovaskularno oboljenje, najčešće urođeno i prethodno nedijagnostikovano<sup>10</sup>.

Najčešći uzrok iznenadne smrti kod mladih sportista je hipertrofična kardiomiopatija. Drugi najčešći uzrok su uro-

đene anomalije koronarnih arterija, dok je na trećem mestu idiopatska hipertrofija leve komore. Manje od 5% uzroka iznenadne smrti čine ostala oboljenja. Neka oboljenja imaju veću prevalenciju u određenim zemljama (npr. aritmogena displazija desne komore vodeći je uzrok iznenadne srčane smrti mlađih sportista u Italiji, ali ne i u drugim evropskim zemljama i SAD)<sup>11</sup>.

Iako su kardiovaskularni uzroci iznenadne smrti sportista najčešći, važno je spomenuti i ostale nekardiovaskularne uzroke kao, na primer, nepenetrantne povrede grudnog koša (*commotio cordis*), bronhijalnu astmu, topotni udar, zloupotrebu lekova i traume<sup>12</sup>. *Commotio cordis* je jedinstven funkcionalni uzrok iznenadne smrti, kod kojeg mali projektil (npr. hokejski pak ili lopta) velikom brzinom udara u prednji zid grudnog koša i dovodi do nastanka malignih ventrikularnih tihiaritmija koje su uzrok smrti, a ne kontuzija srca<sup>13</sup>. Ovo je potrebno razlikovati od traume grudnog koša koja dovodi do kontuzije i morfoloških oštećenja srčanosudovnih struktura grudnog koša.

Takođe, veliki broj različitih urođenih i stičenih srčanih oboljenja može predstavljati predispoziciju za iznenadnu smrt. Skrining program koji bi obuhvatao sva potencijalna oboljenja ne bi mogao da bude efikasan. Upravo zato, kardiovaskularni skrining programi fokusiraju se na detekciju najčešćih oboljenja (hipertrofična kardiomiopatija u SAD i Evropi, aritmogena displazija desne komore u Italiji).

Iznenadna srčana smrt je oko 5–9 puta češća kod muškaraca nego kod žena; objašnjenje leži u činjenici da se muškarci bave sportovima sa intenzivnjim fizičkim naporima. Uprkos tome, skrining programi ne razlikuju se u odnosu na pol.

Uzroci iznenadne smrti sportista prikazani su u tabeli 1.

nje, dovode do uvećanja srčanih šupljina i mase miokarda leve komore. Statički sportovi, npr. dizanje tegova, uzrokuju uvećanje debljine zidova leve komore i mase leve komore, ali bez uvećanja srčanih šupljina. Navedene promene u veličini i debljini zidova leve komore mogu promeniti elektrokardiografski (EKG) nalaz koji se tada može pogrešno protumačiti kao patološko opterećenje leve komore, ischemija ili inflamacija miokarda. Dinamički sportovi, takođe, dovode do ubrzanja srčane frekvencije (pulsa) u miru i povećanja vagalnog tonusa dovodeći do nastanka atrioventrikularnog bloka I stepena i lutajućeg atrijalnog vodiča srčanog ritma. Bradikardija može provocirati pojavu većeg broja ventrikularnih ekstrasistola i kratkotrajnu ventrikularnu tahikardiju. Svi ovi poremećaji ritma normalno nestaju tokom fizičkog opterećenja sportista (tokom treninga kao i tokom testa fizičkim opterećenjem)<sup>15</sup>.

Stepen uvećanja dimenzija i hipertrofije leve komore dobro koreliše sa stepenom aerobnog treninga što se iskazuje maksimalnom potrošnjom kiseonika (MVO<sub>2</sub>) pri vršnom opterećenju. Otuda, sportisti sa najvećim MVO<sub>2</sub> (npr. biciklisti i maratonci) imaju veoma uvećano srce. S druge strane, sportisti sa niskoerobnim treningom (npr. igrači golfa) nemaju uvećano srce. Dizaci tegova (statički sport) imaju često veoma zadebljane zidove leve komore, i do 16 mm<sup>16</sup>.

Sportisti sa uvećanim srčanim komorama mogu imati i izmenjen fizikalni nalaz, sistolni šum, čujan treći i četvrti srčani ton. Lažno pozitivan (abnormalan) EKG u velikom broju slučajeva čini dijagnostički proces još kompleksnijim. Tako su Pelliccia i sar.<sup>17</sup> procenjujući EKG kod više od 1 000 sportista pokazali da je 17% muškaraca i 8% žena imalo jasno abnormalan EKG, a još dodatnih 28% muškar-

**Tabela 1**

**Uzroci i učestalost iznenadne smrti kod sportista\***

Uzroci	Učestalost (%)
Hipertrofična kardiomiopatija i abnormalna (neobjašnjena) hipertrofija miokarda	46
Anomalije koronarnih arterija	19
Miokarditis	< 5
Ruptura aneurizme aorte (Marfanov sindrom)	
Aritmogena displazija desne komore	
Stenoza aortne valvule	
<i>Bridge</i> sindrom epikardnih koronarnih arterija	
Prolaps mitralne valvule	
Dilatativna kardiomiopatija	
<i>Commotio cordis</i>	
Produžen QT sindrom	
Brugada sindrom	
<i>Wolff-Parkin-ov-White</i> (WPW) sindrom	< 1
Elektrolitni disbalans (hipokaliemija i hiperkaliemija)	
Hipotermija i hipertermija	
Zloupotreba lekova (amfetamin i kokain)	
Traume	

\* modifikovano prema ref.<sup>14</sup>

**Sportsko srce – razlikovanje normalnog od patološkog nalaza**

Fiziološka adaptacija sportista na intenzivan fizički napor obuhvata strukturne i funkcionele promene kardiovaskularnog sistema koje se ponekad mogu pogrešno proglašiti patološkim. Dinamički sportovi, npr. veslanje i pliva-

ca i 14% žena blago abnormalan EKG. Kada su dalje evaluirali sportiste čiji je EKG bio jasno abnormalan, pokazalo se da se većina ovih sportista bavila visoko aerobnim sportovima. Od 145 osoba sa jasno promenjenim EKG nalazom, dajjom evaluacijom utvrđeno je da 14 ima kardiovaskularno oboljenje, a kod preostalih 131 ehokardiografski su utvrđeni hipertrofija i/ili uvećanje leve komore. Iz ovoga proizilazi da

velika većina sportista sa abnormalnim EKG nema kardiovaskularno oboljenje, već se radi o lažno pozitivnim nalazima.

### Preporuke za skrining

Ciljevi kardiovaskularnog skrininga su: prevencija iznenadne smrti, prevencija povreda, kao i prevencija egzacerbacije preegzistentnih, nedijagnostikovanih bolesti<sup>2-4</sup>. Šta više, u pojedinim zemljama to je i zakonska obaveza kao i zahtev osiguravajućih društava<sup>18</sup>.

Idealno vreme za skrining sportista je pre započinjanja intenzivnih treninga tj. na samom početku karijere (između 12. i 14. godine života). Preporuke američkog kardiološkog udruženja sugeriraju sprovođenje prvog skrininga pre započinjanja bavljenja sportom, a zatim redovno, svake četvrte godine, počev od gimnazije ili koledža<sup>4</sup>. Američko kardiološko udruženje sastavilo je jednostavan skrining program od 12 tačaka koji uključuje uzimanje anamneze i osnovnog fizičkog pregleda (tabela 2)<sup>4</sup>. Prema ovim preporukama,

konzensus konferencije eksperata o preporukama za bavljenje sportom osoba sa kardiovaskularnim oboljenjem, održane 2005. godine u Bethesda, SAD, daje detaljan pregled svih glavnih sportova, intenzitet fizičkog npora u svakom sportu pojedinačno, kao i preporuke o tome koji je nivo fizičke aktivnosti prihvatljiv kod sportista sa dijagnostkovanim strukturalnim i/ili funkcionalnim poremećajima kardiovaskularnog sistema<sup>21</sup>. Tako, na primer, osobe sa blagom aortnom stenozom mogu učestvovati u svim takmičarskim sportovima, dok se osobe sa umereno teškom aortnom stenozom mogu baviti samo nisko do umereno intenzivnim statičkim i dinamičkim sportovima. Osobe koje dobijaju antikoagulantnu terapiju ne bi trebalo da se bave naornijim sportovima i aktivnostima u kojima postoji mogućnost povređivanja.

Opšte poznata činjenica je da je obaveza svakog lekara da radi u najboljem interesu svog pacijenta (što važi naravno i za sportiste). Iz ovoga proizilazi da je lekar, ukoliko posumnja na postojanje kardiovaskularnog oboljenja, dužan

**Tabela 2**  
**Skrining program Američkog kardiološkog udruženja (AHA)<sup>4</sup>**

Anamneza	bol u grudima (diskomfor) pri naporu sinkopa / presinkopa veoma izražena dispnea ili malaksalost neproporcionalna naporu postojanje srčanog šuma postojanje povиšenog krvnog pritiska
Porodično opterećenje za KVO	smrt najbližih srodnika pre 40 godine života (netraumatska) nesposobnost za rad zbog KVO pre 50 godine života KVO u porodici: HCM, DCM, Marfanov sindrom, produžen QT interval
Fizički pregled	auskultacija srca (prisustvo šumova) pregled femoralnih i radijalnih pulseva identifikacija fizičkih stigmata Marfanovog sindroma merenje krvnog pritiska

AHA – American Heart Association; KVO – kardiovaskularna oboljenja; HCM – hipertrofična kardiomiopatija;  
DCM – dilatativna kardiomiopatija.

EKG snimanje ne obavlja se rutinski iz finansijskih razloga, zbog suviše visoke cene (*cost-benefit*) evaluacije velikog broja lažno pozitivnih nalaza. Tek ukoliko se skriningom posumnja na postojanje kardiovaskularnog oboljenja, sportisti se upućuju na EKG, kao i druge dopunske preglede (ehokardiografiju, kompjuterizovana tomografiju (CT), nuklearnu magnetnu rezonancu (NMR) i/ili invazivnu kardiološku dijagnostiku).

Evropsko kardiološko udruženje i Italijanski nacionalni skrining program u svojim preporukama zauzimaju bitno drugačiji stav: EKG je obavezan u sklopu svakog pregleda<sup>2,19</sup>. Njihove preporuke su bazirane na stavu da se EKG nalazom može otkriti najveći broj osoba sa hipertrofičnom kardiomiopatijom i aritmogenom displazijom desne komore<sup>20</sup>. Za sada, međutim, nema dovoljno podataka koji bi potvrdili *benefit* evropskog pristupa u smanjenju rizika od iznenadne smrti u odnosu na američki pristup.

Za evaluaciju sportista je takođe neophodno poznavanje i tipa sporta kojim se osoba bavi – dinamički ili statički sport i stepen intenziteta fizičke aktivnosti. Izveštaj 36.

da uskrati dozvolu takvoj osobi za dalje bavljenje sportom, dok se suspektno oboljenje ili poremećaj ne potvrdi ili isključi. Ali isto tako, s obzirom na značajne prateće psihičke i finansijske posledice diskvalifikacije profesionalnih sportista lekar, mora izbeći svaku nepotrebnu diskvalifikaciju. Lekar se mora odupreti i svakom pritisku sportiste, njegove porodice, trenera, kluba ili sportske organizacije i donositi medicinske odluke isključivo u najboljem medicinskom interesu sportiste. O odluci da dozvoli ili diskvalifikuje sportistu, neophodno je dostaviti pisani medicinski izveštaj sportisti o kome se radi (ili njegovoj porodici ukoliko je maloletan), kao i sportskom klubu ili organizaciji koja ga upućuje i finansira pregled.

Skrining starijih sportista (preko 35 godine starosti) koji žele da se bave rekreativnim fitnes programima poseban je izazov<sup>22</sup>. Ovde je potrebno proceniti zdravstveni *benefit* koji se postiže primenom umerene fizičke aktivnosti kao i mogući rizik. Regularna fizička aktivnost snižava rizik od iznenadne srčane smrti, ali iznenadna srčana smrt najčešće i nastupa tokom fizičke aktivnosti. Kod ovih sportista neophodno je is-

ključiti postojanje, pre svega, koronarne bolesti – savetuje se izvođenje testa fizičkim opterećenjem pre započinjanja aktivnosti, a zatim redovno na godinu dana.

### Kontroverze skrining programa

S obzirom na veliki broj osoba koje se bave sportom na različitim nivoima (gimnazije, fakulteti, profesionalci, amateri), nisku incidenciju iznenadne srčane smrti kod sportista, kao i potrebu za finansijski održivim zdravstvenim sistemom, u nekim zemljama (SAD) kardiovaskularni skrining sportista izvode i „dobro trerirani zdravstveni profesionalci“ nelekari (medicinski tehničari)<sup>23</sup>. Po evropskim preporukama skrining sportista mogu vršiti isključivo lekari, sa adekvatnim znanjem sportske medicine.

Dosadašnja iskustva u efikasnosti postojećih skrining programa (posebno američkog koji ne obuhvata obavezan EKG) u prevenciji iznenadne srčane smrti nisu, na žalost, preterano ohrabrujuća. Na primer, u jednoj retrospektivnoj studiji<sup>24</sup> od 134 mladih sportista koji su umrli iznenadnom smrću, 115 je bilo podvrgnuto skrining programu, kod samo četiri bio je postavljen izvestan stepen sumnje na postojanje nekog kardiovaskularnog poremećaja (bez traženja dopunske dijagnostike), a kod samo jednog sportiste bila je jasno postavljena dijagnoza kardiovaskularnog oboljenja. Ova studija potkrepljuje sumnju da američki skrining program nije dovoljno senzitivan za otkrivanje važnih kardiovaskularnih oboljenja mladih sportista (senzitivnost oko 3%).

Kardiovaskularni skrining sportista ima i brojne objektivne poteškoće<sup>25</sup>. Anamneza i fizikalni pregled imaju malu specifičnost za otkrivanje oboljenja koja mogu dovesti do iznenadne srčane smrti: ventrikularne tahiaritmije, anomalije koronarnih arterija i koronarna bolest imaju uglavnom negativan fizikalni nalaz. Specifičnost EKG nalaza je niska. Takođe, i drugi neinvazivni testovi (test opterećenja, ehokardiografija) su u nekim slučajevima nesenzitivni (anomalije koronarnih arterija, npr.). Sofisticiranija tehnologija (*multi-slice* CT, NMR) zbog visoke cene nema mesto u skriningu, već isključivo kod simptomatskih sportista u daljem dijagnostičkom postupku. Čak i na obdukciji, uzrok smrti nije uvek moguće utvrditi. Tako je, na primer, u jednoj autopsijskoj studiji vojnih regruta<sup>26</sup> koji su umrli iznenadnom netraumatiskom smrću, kod 51% utvrđeno kardiovaskularno oboljenje, dok je kod 35% uzrok smrti ostao nerazjašnjen i nakon obdukcije.

### Evaluacija sportista sa bolom u grudima u službi hitnog prijema

Bol u grudima kod mladih sportista relativno je česta tegoba zbog koje se i obraćaju dežurnim službama hitnog internističkog prijema. Međutim, bol u grudima kod mladih sportista najčešće je benigne prirode<sup>27</sup>. Posle dijagnostičkog postupka koji uključuje uzimanje anamneze, podataka o kar-

diovaskularnim oboljenjima u porodici, fizikalnog pregleda, EKG i dopunskih pretraga po potrebi, najčešće se postavlja dijagnoza idiopatskog bola u grudima. *Costochondritis*, refluksnu bolest jednjaka, bronhijalnu astmu i bol psihogenog porekla treba uvek diferencirati od bola kardijalnog porekla.

Bol u grudima koji se kod sportista javlja kratkotrajno i retko, najčešće je benigne prirode. Prolongirani bol u grudima, kao i bol koji se često javlja i pri naporu manjeg intenziteta zahteva posebnu pažnju lekara. Sinkopa, presinkopa i omaglice pri naporu kod mladih sportista uvek predstavljaju alarmantan znak koji zasluguje najveću pažnju lekara<sup>28</sup>. Ehokardiogram je u ovim slučajevima apsolutno neophodan i može biti od velike pomoći (potvrđivanje dijagnoze hipertrofične kardiomiopatije i drugih srčanih oboljenja). Takođe, kateterizacija srca sa selektivnom koronarografskom može biti indikovana u daljem dijagnostičkom postupku radi ispitivanja morfologije koronarnih arterija (anomalije kod mladih sportista, koronarna bolest kod starijih).

Kod sumnje na postojanje sprovodnih abnormalnosti indikovan je Holter-EKG monitoring uz eventualno dopunsko elektrofiziološko ispitivanje.

Sportisti kod kojih nastane kardiorespiratorični arest najčešće ne prežive ovaj događaj<sup>29</sup>. Upravo zbog toga, poslednjih godina aktuelizovano je pitanje instaliranja automatskih spoljnih defibrilatora u sportskim objektima, kao i njihove primene od strane nemedicinskog osoblja. Evropski savet za reanimaciju u našoj zemlji kontinuirano sprovodi kurseve kardiopulmonalne reanimacije, na različitim nivoima (osnovni, napredni, specijalizovani), kako za zdravstvene, tako i za nezdravstvene radnike. U nekim zemljama (SAD npr.) i službe spasavanja (vatrogasci, policija, službe obezbedenja) imaju zakonsku obavezu započinjanja reanimacije i primene spoljnog automatskog defibrilatora na javnim mestima. Ukoliko bi se ove mere ubuduće obavezno sprovodile i na sportskim terenima, smatra se da bi se verovatno smanjio broj smrtnih ishoda sportista koji dožive srčani zastoj<sup>30</sup>.

### Zaključak

Sprovođenje kardiovaskularnog skrining programa ima za cilj smanjenje učestalosti iznenadne srčane smrti kod sportista.

Potrebno je doneti nacionalne preporuke koje bi trebalo da jasno definisu obim, organizaciju i sprovođenje skrininga i redovnih sistematskih pregleda sportista.

U međuvremenu, dok se ne donesu posebne nacionalne preporuke, smatramo da je neophodno da se svi klinički lekari koji se bave sportskom medicinom detaljno upoznaju sa važećim evropskim i američkim preporukama, a za praktičnu primenu u svakodnevnoj rutinskoj kliničkoj praksi predlažemo primenu modifikovanog američko-evropskog skrining programa koji bi se sastojao od 12 tačaka iz američkih preporuka (navedeno u tabeli 2) i obavezogn 12-kanalnog EKG-a.

## LITERATURA

1. Maron BJ, Gohman TE, Aeppel D. Prevalence of sudden cardiac death during competitive sport activities in Minnesota high school athletes. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 1881–4.
2. Corrado D, Pelliccia A, Björnstad H, Vanhees L, Biffi A, Borjesson M, et al. Cardiovascular pre-participation screening of young competitive athletes for prevention of sudden death: proposal for a common European protocol: consensus statement of the study group of sport cardiology of the Working Group of Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology and the Working Group of Myocardial and Pericardial Diseases of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2005; 26: 516–24.
3. Hernelahti M, Heinonen OJ, Karjalainen J, Nylander E, Borjesson M. Sudden cardiac death in young athletes: time for a Nordic approach in screening? *Scand J Med Sci Sports* 2008; 18: 132–9.
4. Maron BJ, Douglas PS, Graham TP, Nishimura RA, Thompson PD. Task Force 1: Preparticipation screening and diagnosis of cardiovascular disease in athletes. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1321–5.
5. Maron BJ. How should we screen competitive athletes for cardiovascular disease? *Eur Heart J* 2005; 26: 428–30.
6. Maron BJ, Epstein SE, Roberts WC. Causes of sudden death in competitive athletes. *J Am Coll Cardiol* 1986; 7: 204–14.
7. Franklin BA, Fletcher GF, Gordon NF, Noakes TD, Ades PA, Balady GJ. Cardiovascular evaluation of the athlete. Issues regarding performance, screening and sudden cardiac death. *Sports Med* 1997; 24: 97–119.
8. Cook S, Franklin WH. Evaluation of the athlete who ‘goes to ground’. *Progress in Pediatric Cardiology* 2001; 13: 91–100.
9. Basavarajiah S, Shah A, Sharma S. Sudden cardiac death in young athletes. *Heart* 2007; 93: 287–9.
10. Maron BJ. Sudden death in young athletes. *N Engl J Med* 2003; 349: 1064–75.
11. Shirley KW, Adirim TA. Sudden cardiac death in young athletes. *Clin Ped Emerg Med* 2005; 6: 194–9.
12. Fabre A, Sheppard MN. Sudden adult death syndrome and other non-ischaemic causes of sudden cardiac death. *Heart* 2006; 92: 316–20.
13. Madias C, Maron BJ, Weinstock J, Estes MNA, Link MS. Commotio cordis – sudden cardiac death with chest wall impact. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2007; 18: 115–22.
14. Cranford MH. Screening athletes for heart disease. *Heart* 2007; 93: 875–9.
15. Pluim BM, Zwinderman AH, van der Laarse A, van der Wall EE. The athlete’s heart. A meta-analysis of cardiac structure and function. *Circulation* 1999; 100: 336–44.
16. Stout M. Athletes’ heart and echocardiography: athletes’ heart. *Echocardiography* 2008; 25: 749–54.
17. Pelliccia A, Maron BJ, Cullas F, Di Paolo FM, Spataro A, Biffi A, et al. Clinical significance of abnormal electrocardiographic pattern in trained athletes. *Circulation* 2000; 102: 278–84.
18. Paterick TE, Paterick TJ, Fletcher GF, Maron BJ. Medical and legal issues in the cardiovascular evaluation of competitive athletes. *JAMA* 2005; 294: 3011–8.
19. Pelliccia A, Maron BJ. Preparticipation cardiovascular evaluation of the competitive athlete: perspectives from the 30-year Italian experience. *Am J Cardiol* 1995; 75: 827–9.
20. Corrado D, Bassi C, Schiavon M, Thiene G. Screening for hypertrophic cardiomyopathy in young athletes. *N Engl J Med* 1998; 339: 364–9.
21. Maron BJ, Zipes DP. 36<sup>th</sup> Bethesda Conference: eligibility recommendations for competitive athletes with cardiovascular abnormalities. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1313–75.
22. Maron BJ, Araujo CGS, Thompson PD, Fletcher GF, Bayes de Luna A, Fleg JL, et al. Recommendations for preparticipation screening and the assessment of cardiovascular disease in masters athletes: an advisory for healthcare professionals from the working groups of the World Health Federation, the International Federation of Sports Medicine, and the American Heart Association Committee on Exercise, Cardiac Rehabilitation, and Prevention. *Circulation* 2001; 103: 327–33.
23. Maron BJ, Thompson PD, Puffer JC, McGraw CA, Strong WB, Douglas PS, et al. Cardiovascular preparticipation screening of competitive athletes. *Circulation* 1996; 94: 850–6.
24. Maron BJ, Shirani J, Poliac IC, Mathenge R, Roberts WC, Mueller FO. Sudden death in young competitive athletes. Clinical, demographic, and pathological profiles. *JAMA* 1996; 276: 199–204.
25. Carek PJ, Mainous III A. The preparticipation physical examination for athletics: a systematic review of current recommendations. *BMJ* 2002; 2: 661–4.
26. Oakley D. The athlete’s heart. *Heart* 2001; 86: 722–6.
27. Belonje A, Nangraharay M, de Swart H, Umans V. Major adverse cardiac events during endurance sports. *Am J Cardiol* 2007; 99: 849–51.
28. Drezner JA. Sudden cardiac death in young athletes. *Postgrad Med* 2000; 108: 37–50.
29. Sen-Chowdhury S, McKenna WJ. Sudden cardiac death in the young: a strategy for prevention by targeted evaluation. *Cardiology* 2006; 196–206.
30. Koestner MC. A review of sudden cardiac death in young athletes and strategies for preparticipation cardiovascular screening. *J Athletic Training* 2001; 36: 197–204.

Rad primljen 2. II 2009.



# Teška forma legionarske bolesti kod imunokompetentnog bolesnika

Severe form of Legionnaires' disease in an immunocompetent patient

Ilija Andrijević, Jovan Matijašević, Djordje Považan,  
Marija Kojičić, Uroš Batranović

Institut za plućne bolesti Vojvodine, Sremska Kamenica, Srbija

## Apstrakt

**Uvod.** Legionarska bolest (LB) je pneumonija koju izaziva *Legionella pneumophila* (LP). Bolest je česta kod imunokompromitovanih osoba, a može se manifestovati teškom upalom pluća, otkazivanjem organa i visokom smrtnošću. **Prikaz bolesnika.** Prikazan je bolesnik imunokompetentan muškarac star 53 godine, sa teškom formom LB. Početni simptomi bolesti bili su febrilnost, kašalj, opšta slabost i prolivaste stolice. U laboratorijskim nalazima postojale su povisene vrednosti leukocita, proteina akutne faze, jetrenih enzima i hiponatrijemija. Kompjuterizovanom tomografijom pluća otkrivene su izražene inflamatorne lezije obostrano. Patohistološki nalaz dobijen bronhoskopijom ukazivao je na pneumoniju, a dijagnoza LB potvrđena je pozitivnim nalazom antiga na LP u urinu. U daljem toku bolest je bila komplikovana razvojem adultnog respiratornog distres sindroma (ARDS). Antibiotička terapija (eritromicin, rifampicin, azitromicin), uz lečenje ARDS, dovela je do kliničkog oporavka bolesnika uz kompletну rezoluciju inflamatornih promena na radiografiji pluća. **Zaključak.** U teškim pneumonijama neophodno je razmišljati i o LB kao mogućoj dijagnozi, uraditi testove sa ciljem detekcije LP i primeniti odgovarajuću antibiotičku terapiju radi sprečavanja komplikacija i pospešenja pozitivnog ishoda lečenja.

## Ključne reči:

legionarska bolest; pneumonija; dijagnoza, diferencijalna; respiratorni distres sindrom odraslih; lečenje, ishod.

## Uvod

Legionarska bolest (LB) je prvi put registrovana 1976. godine u Sjedinjenim Američkim Državama nakon epidemije pneumonije nepoznatog uzroka koja se javila među učesnicima konferencije Udrženja američkih legionara u Filadeliji. Tom prilikom oboleo je 221 (4,9%) od ukupno 4 500 učesnika konferencije, od kojih je 34 (15,3%) umrlo<sup>1</sup>. Istraživanja su pokazala da je uzročnik bolesti aerobni, gram negativni štapić koji je nazvan *Legionella pneumophila* (LP).

## Abstract

**Background.** Legionnaires' disease (LD) is a pneumonia caused by *Legionella pneumophila* (LP). The disease occurs more often in immunocompromised persons and can be manifested by severe pneumonia, multiple organ failure and has a high mortality. **Case report.** Immunocompetent patient, male, 53-year old, with severe form of LB had fever, cough, weakness and diarrhea as the initial symptoms of the disease. Laboratory results showed increased number of leukocytes, increased values of acute phase proteins, liver enzymes and hyponatremia. Computed tomography of the chest showed the marked inflammatory lesions on both sides. Pathohistological analysis of the samples retrieved by bronchoscopy pointed to a pneumonia, and diagnosis of LD was confirmed by positive urine test for LP antigen. Later, the disease was complicated by acute adult respiratory distress syndrome (ARDS). Treatment with antibiotics (erythromycin, rifampicin, azithromycin) combined with ARDS treatment led to a clinical recovery of the patient together with complete resolution of inflammatory lesions seen on chest radiography. **Conclusion.** In severe pneumonias it is necessary to consider LD in differential diagnosis, perform tests with aim of detecting LP and apply adequate antibiotic treatment in order to accomplish positive outcome of the therapy and prevent complications.

## Key words:

legionnaires' disease; pneumonia; diagnosis, differential; respiratory distress syndrome, adult; treatment outcome.

Najčešći uzročnik bolesti kod ljudi je LP tip 1, pri čemu izaziva dva klinička sindroma – LB i pontijačnu groznicu. Za razliku od pontijačne groznice koja se ispoljava kao kratkotrajno febrilno stanje sa spontanom rezolucijom, LB može biti praćena teškom upalom pluća, otkazivanjem funkcije organa i visokom smrtnošću<sup>2-4</sup>.

Čovek se inficira inhalacijom vodenog aerosola kontaminiranog LP. U faktore rizika od nastanka LB, pored stanja imunodeficijencije, spadaju i starije životno doba, muški pol, pušenje i alkoholizam. Incidencija LB kreće se od 0,5% do

**Correspondence to:** Ilija Andrijević, Institut za plućne bolesti Vojvodine, Institutski put 4, 22 204 Sremska Kamenica, Srbija.  
E-mail: [ipb@eunet.rs](mailto:ipb@eunet.rs)

15% svih vanbolnički stečenih pneumonija kod odraslih koje zahtevaju hospitalizaciju. Mada se bolest javlja i kod prethodno zdravih ljudi svih starosnih grupa, češća je i teža kod imunokompromitovanih osoba. Mortalitet od LB iznosi 5–25%, pri čemu je viši kod imunokompromitovanih bolesnika<sup>5, 6</sup>. Bolest se javlja sporadično i epidemijski, ali i kao bolnička infekcija. Ne prenosi se sa čoveka na čoveka.

S obzirom na to da se LB ne ispoljava tipičnim kliničko-laboratorijskim pokazateljima, u nedostatku specifičnih testova za potvrdu LP moguće su dijagnostičke greške a s tim i pogrešni terapijski pristupi. Dosadašnja ispitivanja pokazala su da je bolest češća nego što se dijagnostikuje, ali i da je povoljan ishod bolesti usko povezan sa ranom i adekvatnom antibiotskom terapijom<sup>5, 6</sup>.

Prvi slučaj LB u našoj zemlji registrovan je u Vojvodini 1981. godine<sup>7</sup>. Nakon toga novi slučajevi oboljenja nisu zabeleženi, mada je bilo više epidemija LB na prostorima bivše Jugoslavije<sup>8, 9</sup>. Postoje mišljenja kompetentnih stručnjaka da se razlog za to krije u nedostatku odgovarajućih testova za dokazivanje LP kao uzročnika bolesti.

U radu je prikazan imunokompetentan bolesnik sa teškom formom LB i adultnim respiratornim distres sindromom (ARDS).

Cilj prikaza bio je da se ukaže na značaj razmišljanja LB u diferencijalnoj dijagnozi teških pneumonija, kada je neophodno sprovesti mikrobiološka istraživanja sa ciljem detekcije LP, kao i na potrebu što ranijeg započinjanja adekvatne antibiotske terapije radi sprečavanja komplikacija i postizanja pozitivnog ishoda lečenja.

### Prikaz bolesnika

Bolesnik u životnoj dobi od 53 godine hospitalizovan je u Opštoj bolnici Bjeljina 5. jula 2007. godine zbog malakslosti, bržeg zamaranja, visoke temperature i proličnih stolica prethodnih pet dana. Odmah po prijemu, kod njega se javljuju suv kašalj i otežano disanje zbog čega su u terapiju bili uključeni ceftriakson i ciprofloksacin. Međutim, i pored toga, njegovo opšte stanje se pogoršava pa je 14. jula 2007. godine premešten u Institut za plućne bolesti Vojvodine u Sremskoj Kamenici. Iz lične anamneze dobijeni su podaci o arterijskoj hipertenziji, a epidemiološkom anketom da godišnje popuši po 50–60 kutija cigareta i da je švedski državljanin.

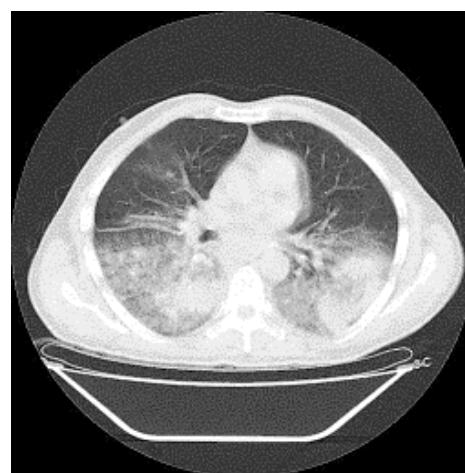
Pri prijemu bolesnik je bio febrilan, konfuzan, dezorientisan, dispnoičan, tahipnoičan (40 respiracija u minutu) i odavao je utisak teškog bolesnika. Na plućima je auskultatorno registrovan obostrano bazalno pojačan disajni šum uz kasnoinspirijske pukote, srčana frekvencija bila je 100 u minutu, a krvni pritisak 110/70 mmHg.

U laboratorijskim nalazima na prijemu registrovane su povišene vrednosti leukocita (Le) od  $12,3 \times 10^9/L$  (referentna vrednost  $4,0\text{--}10 \times 10^9/L$ ), neutrofila (Ne)  $10,2 \times 10^9/L$ , (referentna vrednost  $1,7\text{--}7,7 \times 10^9/L$ ), C-reaktivnog proteina (CRP) 100 mg/L (referentna vrednost < 6 mg/L), prokalcitonina (PC) 9,25 ng/mL (referentna vrednost < 0,01 ng/mL), fibrinogena 9,1 g/L (referentna vrednost 2–4 g/L), aspartataminotransferaze (AST) 5,34 kat/L (referentna vrednost do 0,6 kat/L), alaninaminotransferaze (ALT) 2,62 kat/L (referentna vrednost do 0,66 kat/L), laktat dehidrogenaze (LDH) 14,58 kat/L (referentna vrednost 3,80 do 7,60 kat/L) i gama glutamil transferaze ( $\gamma$ GT) 2,13 kat/L (referentna vrednost 0,03 do 0,50 kat/L). Takode, kod bolesnika prvo dana hospitalizacije zabeležena je hiponatremija, a vrednost natrijuma ( $\text{Na}^+$ ) iznosila je 3,8 mmol/L (referentna vrednost je 4,1–5,1 mmol/L).

Radiogram grudnog koša pokazao je infiltrativne promene obostrano, više desno, sa zahvatanjem pleure sa te strane (slika 1). Na kompjuterizovanoj tomografiji (CT) grudnog koša registrovane su izražene inflamatorne lezije obostrano, dominantno u donjim lobusima gde su postojale i fokalne promene izražene konsolidacije plućnog parenhima (slika 2).



Sl. 1 – Radiografija grudnog koša na prijemu – bilaterale infiltrativne promene plućnog parenhima



Sl. 2 – Nalaz kompjuterizovane tomografije grudnog koša – bilateralno izražena konsolidacija plućnog parenhima

U gasnim analizama arterijske krvi registrovana je manifestna parcijalna respiratorna insuficijencija sa sledećim vrednostima respiracijskih gasova: parcijalni pritisak kiseonika u arterijskoj krvi ( $\text{PaO}_2$ ) 6,91 kPa, parcijalni pritisak ugljen-dioksida u arterijskoj krvi ( $\text{PaCO}_2$ ) 4,19 kPa, saturacija hemoglobina kiseonikom ( $\text{SaO}_2$ ) 89,1%, i pH 7,48.

Izračunat *Acute Physiology And Chronic Health Evaluation* (APACHE) II skor po prijemu iznosio je 9, sa procjenom stopom smrtnosti (*predicted death rate*) 25%.

Bolesnik je inicijalno bio hemodinamski nestabilan sa vrednostima srednjeg arterijskog pritiska (MAP) < 65 mmHg. Zbog produbljivanja respiratorne insuficijencije i zamora respiratore muskulature kod bolesnika je primenjena mehanička ventilacija. S obzirom na postojanje *Systemic inflammatory response syndrome* (SIRS) kriterijuma i radiološki verifikovanog izvora infekcije, započeta je deescalaciona antibiotska terapija [meropenem intravenski – (iv) 1 g na 8 h, azitromicin oralno 500 mg na 24 h i vankomicin iv 1 g na 24 h] uz kristaloide i niske doze vazopresora u skladu sa kriterijumima *Surviving Sepsis Campaign* i *Early Goal Directed Therapy in Sepsis*<sup>10-11</sup>. Putem nazogastrične sonde započeta je enteralna ishrana prema izračunatim kalorijskim potrebama. Ordinirana je profilaksa stres ulkusa i duboke venske tromboze.

Drugog dana urađena je fiberbronhoskopija a patohistološki nalaz materijala dobijen transbronhijalnom biopsijom iz desne baze odgovarao je pneumoniji u fazi organizacije. Nalaz bronhoalveolarnog lavata (BAL) bio je negativan u smislu bojenja na *Pneumocystis jiroveci*, gljivica i acidokholno rezistentnih bacila.

I pored primenjene terapije, u daljem toku, bolest se komplikovala razvojem ARDS na šta su ukazivali bilateralni infiltrati u plućima, odnos PaO<sub>2</sub> i koncentracije kiseonika u udahnutom vazduhu (FiO<sub>2</sub>) (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>) koji je iznosio < 200 – PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> = 160, sa pulmonalnim kapilarnim wedge pritiskom (PCWP) < 18 mmHg, pa je nastavljena mehanička ventilacija u skladu sa preporukama ARDS Net Group<sup>12</sup>.

Dijagnoza LB potvrđena je po pristizanju pozitivnog nalaza urinarnog antigen testa na LP serotip 1 (urinarni antigen test Binax, Institut za mikrobiologiju, Vojnomedicinska akademija Beograd, 19.07.2007).

Nakon toga započeta je antibiotska terapija: eritromicin iv 1 g na 6 h, zatim azitromicin peroralno 500 mg na 24 h i rifampicin iv 600 mg na 24 h, a iz terapije su isključeni meropenem i vankomicin.

Nakon incijalnog poboljšanja, sedmog dana došlo je do pogoršanja bolesti uslovjenog intrahospitalnom pneumonijom koja je potvrđena i radiografskim nalazom, porastom PC 5 ng/mL, pogoršanjem respiratornih parametara (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> < 92,5), a nalaz hemokultura, trahealnog aspirata i vrhova intravaskularnog katetera bio je pozitivan na multirezistentan *Pseudomonas species*. Nakon dobijanja rezultata hemokulture ordinirana je terapija u skladu sa preporukama za ventilatorom-uzrokovani pneumoniju (VAP): piperacilin-tazobaktam iv 4,5 g na 6 h, aztreonam iv 2 g na 8 h, vankomicin iv 1 g na 24 h. Usled potrebe za prolongiranom mehaničkom ventilacijom, jedanaestog dana urađena je traheostoma.

Četrnaestog dana došlo je do poboljšanja opštег stanja. Bolesnik je bio hemodinamski stabilan, sa značajnom regresijom infiltrativnih promena na radiogramu grudnog koša. Osamnaestog dana lečenja bolesnik je bio afebrilan, sa vrednostima Le  $6,7 \times 10^9/L$ , Ne  $5,1 \times 10^9/L$ , CRP 48 mg/L, PC 2,8 ng/mL, fibrinogena 5,6 g/L, K 3,8 mmol/L, AST 0,49 kat/L, ALT 0,72 kat/L, LDH 9,02 kat/L, γGT 6,17 kat/L, PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> 264, te je sledećeg dana odvojen od mehaničke ventilacije, a nakon dva dana dekanulisan. Laboratorijske analize urađene 10. avgusta bile su u granicama referentnih

vrednosti. Dvadesetdrugog dana lečenja obustavljena je antibiotska terapija. Započeta je rehabilitacija uz vertikalizaciju bolesnika.

U daljem toku bolesnik je bio hemodinamski i respiratorno stabilan, urednih gasnih analiza, sa gotovo kompletom rezolucijom inflamacijskih promena na radiogramu grudnog koša (slika 3), spontane izdašne diureze, afebrilan, bez neurološkog deficit-a, sposoban da hoda uz tuđu pomoć. Otpušten je u dobrom opštem stanju na dalji rehabilitacijski tretman u Švedskoj u pratinji lekara osiguravajućeg društva.



Sl. 3 – Radiografija grudnog koša pri otpustu – potpuna regresija infiltrativnih promena u plućima

## Diskusija

Termin legioneloza odnosi se na dva klinička sindroma: LB koja se manifestuje teškom upalom pluća, često praćenom multiorganskom insuficijencijom i pontijačnu groznicu koja se odlikuje akutnim febrilnim stanjem sa blagom kliničkom slikom i spontanom rezolucijom<sup>2,3</sup>. Ekstrapulmonalna legioneloza je retka, najčešće zahvata srce, ređe se javlja kao sinusitis, celulitis, peritonitis, pijelonefritis i infekcija rana<sup>4-6</sup>. U proteklih dvadeset godina LP je identifikovana kao čest uzročnik vanbolničkih pneumonija. U SAD godišnje oboleva 25 000–50 000 ljudi, a 10% do 20% odraslih osoba ima specifična antitela na LP<sup>9</sup>.

Prvi verifikovani slučaj LB u našoj zemlji zabeležen je u Vojvodini 1981. godine<sup>7</sup>. Kasnije epidemiolozi i mikrobiolozi napominju da u našoj zemlji nije registrovana sve do februara 2009. godine, kada je LB dijagnostikovana kod 14 osoba muškog pola koje su boravile kao navijači na Svetском rukometnom prvenstvu u Hrvatskoj, u Poreču. Kod jednog bolesnika bolest se manifestovala upalom pluća, a ostali su imali blaži oblik LB. Prva epidemija LB u bivšoj Jugoslaviji je, takođe, registrovana u Hrvatskoj, na Visu 1985. godine. Nakon toga zabeležene su još tri epidemije: 1987. u Cavtatu, 1989. u splitskom brodogradilištu i 1995. na Rabu<sup>8</sup>. Od ukupnog broja (1 710) odraslih bolesnika koji su zbog pneumonije lečeni u Klinici za infektivne bolesti u Zagrebu u periodu od 1. januara 2000. do 31. decembra 2003. godine, kod 60 bolesnika dokazana je LB, što čini 3,51% svih hospitalizovanih bolesnika s pneumonijom<sup>8</sup>.

U našoj sredini iz nepoznatih razloga LB javlja se veoma retko, pa sa ovim entitetom lekari nemaju puno iskustva. Postoje mišljenja kompetentnih stručnjaka da se, zbog nedostatka dijagnostičkih testova, u našoj sredini infekcija LP, ako se i javlja, dijagnostikuje veoma retko ili se uopšte ne dijagnostikuje. Glavni razlog krije se u tome što mikrobiološki testovi sa ciljem detekcije legionele nisu standardno dostupni u većini naših bolnica.

Čovek se inficira inhalacijom zaraženog aerosola koji stvaraju uređaji za kondicioniranje vazduha, tuševi i slični izvori vodenog aerosola. Bolest se javlja tokom čitave godine, ali je češća u topljem delu godine. Nakon inkubacije (2–10 dana) javljaju se nespecifični simptomi kao što su visoka febrilnost, opšta slabost, glavobolja i mijalgije. Respiratori simptomi manifestuju se kao suv, a zatim i produktivan kašalj sa gnojavom ekspektoracijom i retko hemoptizijama. Prikazani bolesnik bio je hospitalizovan tokom jula i avgusta, nakon boravka u Španiji, a inicijalni simptomi bolesti bili su slabost, malakslost, febrilnost i kašalj.

Laboratorijske analize su nespecifične i obično ukazuju na leukocitozu ili leukopeniju sa pomeranjem ulevo, povišene reaktante akutne faze zapaljenja, što može stvoriti dijagnostičke poteškoće prema bakterijskim pneumonijama.

Ostali laboratorijski nalazi uključuju patološke vrednosti transaminaza, LDH, hiponatremiju i hipofosfatemiju. Kod prikazanog bolesnika registrovane su nekoliko puta više vrednosti AST, ALT, γGT i LDH u odnosu na normalne. Porast AST, ALT, γGT i LDH veći je u infekcijama sa LP nego kod drugih vanbolničkih pneumonija, ali je statistički značajna razlika nađena samo u porastu AST<sup>13</sup>.

Laboratorijske analize kod prikaznog bolesnika su inicijalno ukazivale na hiponatrijemiju. Hiponatrijemija se registruje znatno češće kod LB nego kod drugih pneumonija. Neki autori smatraju da je hiponatrijemija verovatno rezultat sindroma neadekvatne sekrecije antidiuretskog hormona koja je nastala kao posledica pneumonije, a drugi da hiponatrijemija nastaje iz više ralog i to hipotenzije, oligurije, prolija, adrenalne insuficijencije i infuzije hipotoničnih rastvora. Postoji mišljenje da visoka febrilnost, hiponatrijemija i povišene vrednosti LDH upućuju na infekciju LP<sup>13</sup>.

Na radiogramu grudnog koša kod prikazanog bolesnika postojale su bilateralne infiltrativne promene, izraženije desno, sa zahvatanjem pleure sa te strane. Radiografski nalaz u LB nije karakterističan i uglavnom su prisutne unilateralne ili obostrane infiltrativne promene. Pleuralni izlivи javljaju se kod trećine bolesnika. Pogoršanje radiografskog nalaza često je i pored primene adekvatne antibiotske terapije, a za potpunu radiografsku regresiju potreban je jedan do četiri meseca<sup>5, 14, 15</sup>. Kod prikazanog bolesnika značajna regresija radiografskih promena uočena je nakon 14 dana, a potpuna regresija infiltrativnih promena nastupila je nakon mesec dana. Zbog navedenog, radiografski snimak pluća u LB koristi se samo za praćenje bolesti, a bez diferencijalno-dijagnostičkog značaja.

Budući da su klinički, laboratorijski i radiološki pokazatelji nedovoljni za konačnu dijagnozu, LB se uspešno dijagnostikuje specifičnim mikrobiološkim testovima. U kliničkoj praksi LB se najčešće dijagnostikuje serološki, otkrivanjem visokog titra antitela u serumu. Najprikladnija i najus-

pešnija je metoda indirektnе imunofluorescencije, a zatim *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) test. Brzi dijagnostički test za otkrivanje antigena u mokraći ima sličnu osjetljivost kao druge metode i vrlo visoku specifičnost (sensitivnost 70%, a specifičnost približno 100%). Test je jednostavan za izvođenje, uzorak se lako dobija i jestin je. Nadostatak mu je što otkriva samo serotip 1, ali je u praksi to manje važno s obzirom na to da je ovaj serotip najčešći uzročnik bolesti, pa se upotreba ovog testa preporučuje kao standardni dijagnostički postupak<sup>16</sup>. Dijagnoza LB kod prikazanog bolesnika potvrđena je pozitivnim nalazom urinarnog antigena testa na LP serotip 1 (urinarni antigen test – Binax).

Ako se adekvatna antibiotska terapija ne započne na vreme, značajno se povećava mortalitet u LB. Zbog toga, preporučuje se empirijska terapija sa antibiotskim spektrom delovanja na LP (makrolidi, fluorohinoloni, tetraciklini, rifampicin, trimetoprim/sulfametaksazol)<sup>5, 17, 18</sup>.

Letalitet u jedinicama intenzivne nege iznosi od 15% do 25% i ne odstupa značajno od smrtnosti od teških vanbolničkih pneumonija izazvanih drugim mikroorganizmima<sup>19–22</sup>. Starije životno doba, muški pol, imunosupresija, nozokomijalna infekcija, renalna insuficijencija, malignitet i infekcija sa LP tip 6 nezavisni su činioци udruženi sa povećanom smrtnošću<sup>21–23</sup>. Kod prikazanog bolesnika, faktori rizika povezani sa većom smrtnošću bili su muški pol, pušenje i nozokomijalna infekcija.

Laboratorijski i radiološki nalazi povezani sa povećanom smrtnošću su hiponatrijemija, hipoalbuminemija, hipoksemija, abnormalnost funkcije jetre, renalna insuficijencija, pleuralni izliv i neblagovremeno započinjanje antibiotske terapije<sup>5, 15, 24–31</sup>. Takođe, dokazano je da je visoka koncentracija gvožđa faktor rizika od težeg oblika LB, jer rast i razmnožavanje LP u monocitima zavisi od koncentracije gvožđa. S druge strane, interferon  $\gamma$  ima važnu ulogu u metabolizmu gvožđa u monocitima i snažan je aktivator makrofaga i u eksperimentalnim modelima uspešno se koristi u terapiji LB<sup>8</sup>. Kod prikazanog bolesnika od laboratorijskih, radioloških i kliničkih parametara udruženih sa povećanom smrtnošću bili su prisutni višestruko povišeni jetreni enzimi, hipoksija, hipoalbuminemija, bilateralne infiltrativne promene na plućima, septični šok i potreba za mehaničkom ventilacijom.

El-Ebiary i sar.<sup>32</sup> koristeći logističku regresiju pokazali su da su APACHE II skor  $> 15$  na prijemu, kao i serumski nivo  $\text{Na}^+ \leq 136 \text{ mmol/L}$  jedini nezavisni faktori udruženi sa lošim ishodom. Koristeći univarijantnu analizu ovi autori ukazali su na to da su bilateralne promene, septični šok i potreba za mehaničkom ventilacijom takođe povezani sa povećanim mortalitetom, što je slučaj i u studijama koje su se bavile teškom vanbolničkom i nozokomijalnom pneumonijom izazvanom drugim mikroorganizmima<sup>9, 33, 34</sup>. Smrtnost bolesnika sa teškom vanbolničkom pneumonijom pokazuje značajan porast (sa 10% na 27%) kod onih bolesnika koji nisu inicijalno lečeni eritromicinom<sup>35</sup>.

Odmah na prijemu započeta je empirijska antibiotska terapija sa spektrom delovanja na atipične mikroorganizme, a nakon detekcije LP nastavljeno je sa antibiotskom terapijom, eritromicinom, u ukupnom trajanju od tri nedelje. U ovom slučaju važno je naglasiti razvoj intrahospitalne infekcije, što je dodatno doprinelo većoj težini kliničke slike.

## Zaključak

Iako značajan uzročnik pneumonija, LP je često nedijagnostikovan. Kod teških pneumonija potrebno je uraditi mikrobiološke testove sa ciljem detekcije LP i prime-

niti adekvatnu antibiotsku terapiju u cilju sprečavanja komplikacija i pospešenja pozitivnog ishoda lečenja. Smrtnost u LB zavisi od težine kliničke slike, imunološkog stanja obolelog i od inicijalnog empirijskog antibiotskog lečenja.

## LITERATURA

1. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W, Parkin WE, Beecham HJ, Sharrar RG, et al. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. *N Engl J Med* 1977; 297: 1189–97.
2. American Academy of Pediatrics. *Legionella pneumophila infections*. In: McMillan JA, editor. Red Book: 2006 Report of the Committee on Infectious Diseases. 27<sup>th</sup> ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2006. p. 417–18.
3. Rubin LG. *Legionella species*. In: Long SS, Pickering LK, Prober CG, editors. *Principles and practice of pediatric infectious diseases*. 2<sup>nd</sup> ed. New York, NY: Churchill Livingstone; 2003. p. 938–42.
4. Lowry PW, Tompkins LS. Nosocomial legionellosis: a review of pulmonary and extrapulmonary syndromes. *Am J Infect Control* 1993; 21: 21–7.
5. Stout JE. Legionellosis. *N Engl J Med* 1997; 337: 682–7.
6. Johnson JT, Yu VL, Best MG, Vickers RM, Goetz A, Wagner R, et al. Nosocomial legionellosis in patients with head-and-neck cancer: implications for epidemiological reservoir and mode of transmission. *Lancet* 1985; 2: 298–300.
7. Vučović B, Ovčarić A, Rončević N, Šeguljev Z, Laušerić N. The first registered patient with legionnaires' disease in Vojvodina. *Med Pregl* 1981; 7–8: 327–9. (Serbian)
8. Pušić I, Kužman I, Đaković Rode O, Vučović B. Clinical and epidemiological characteristics of legionnaires' disease in our hospitalized patients. *Croatian Journal of Infection* 2007; 27: 3, 115–22.
9. Kužman I, Pušić I. Legionnaires' disease. *Medicus* 2005; 14(1): 107–13. (Serbian)
10. Surviving Sepsis Campaign Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock. *Crit Care Med* 2004; 32(3): 858–73.
11. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2001; 345(2): 1368–77.
12. ARDSN: Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. *N Engl J Med* 2000; 342(18): 1301–8.
13. Agulló-Ortuño MT, García-Mancebo ML, Montes-Ares O, Noguera-Velasco JA. Biochemical and immunologic features of an outbreak of legionnaires' disease: comparative study between community-acquired pneumonias. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 56(1): 7–11.
14. Fields BS, Benson RF, Besser RE. Legionella and legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 506–26.
15. Fernández JA, López P, Orozco D, Merino J. Clinical study of an outbreak of legionnaires' disease in Alcoy, Southeastern Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21: 729.
16. Murdoch DR. Diagnosis of legionella infection. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 64–9.
17. Heath CH, Grove DI, Looke DFM. Delay in appropriate therapy of legionella pneumonia associated with increased mortality. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15: 286–90.
18. Bartlett G, Dowell SF, Mandell LA, File TM, Musher DM, Fine MJ. Practice guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 347–82.
19. Moiné P, Vercken JB, Chevret S, Chastang C, Gajdos P, and the French Study Group for Community-Acquired Pneumonia in the pneumonia. Etiology, epidemiology, and prognosis factors. *Chest* 1994; 105: 1487–95.
20. Torres A, Serra-Batlles J, Ferrer A, Jiménez P, Celis R, Cobo E, et al. Severe community-acquired pneumonia. Epidemiology and prognostic factors. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144(2): 312–18.
21. Carratalá J, Gudiol F, Pallares R, Doria J, Verdaguera R, Ariza J, et al. Risk factors for nosocomial *Legionella pneumophila* pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 625–29.
22. Roig J, Aguilar X, Ruiz J, Domingo C, Mesalles E, Manterola J, et al. Comparative study of *legionella pneumophila* and other nosocomial-acquired pneumonias. *Chest* 1991; 99: 344–50.
23. Marston BJ, Lipman HB, Breiman RF. Surveillance for legionnaires' disease: risk factors for morbidity and mortality. *Arch Intern Med* 1994; 154: 2417–22.
24. Fine MJ, Auble TE, Yealy DM, Hanusa BH, Weissfeld LA, Singer DA, et al. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *N Engl J Med* 1997; 336: 243–50.
25. Sopena N, Pedro-Botet ML, Sabria M, García-Paredes D, Reynaga E, García-Núñez M. Comparative study of community-acquired pneumonia caused by streptococcus pneumoniae, *legionella pneumophila* or chlamydia pneumoniae. *Scand J Infect Dis* 2004; 36: 330–34.
26. O'Reilly KM, Urban MA, Barriero T, Betts RF, Trawick DR. Persistent culture-positive *legionella* infection in an immunocompromised host. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 87–9.
27. Daley J, Jencks S, Draper D, Lenhart G, Thomas N, Walker J. Predicting hospital-associated mortality for medical patients. *JAMA* 1990; 264: 1962–68.
28. Ortqvist A, Hedlund J, Grillner L, Jalonen E, Kallings I, Leinonen M, et al. Aetiology, outcome and prognostic factors in community-acquired pneumonia requiring hospitalization, *Eur Respir J* 1990. pp. 1105–13.
29. Gutiérrez F, Masía M, Rodríguez JC, Mirete C, Soldán B, Padilla S, et al. Epidemiology of community-acquired pneumonia in adult patients at the dawn of the 21st century: a prospective study on the Mediterranean coast of Spain. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 788–800.
30. Hasley PB, Albaum MN, Li YH, Fuhrman CR, Britton CA, Marrie TJ, et al. Do pulmonary radiographic findings at presentation predict mortality in patients with community-acquired pneumonia? *Arch Intern Med* 1996; 156: 2206–12.
31. Genne D, Kaiser L, Kinge TN, Lew D. Community-acquired pneumonia: causes of treatment failure in patients enrolled in clinical trials. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9: 949–54.
32. El-Ebiary M, Saramiento X, Torres A, Nogue S, Mesalles E, Bodi M, et al. Prognostic factors of severe *legionella* pneumonia requiring admission to ICU. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156(5): 1467–72.
33. Örtqvist A, Sterner G, Nilsson JA. Severe community-acquired pneumonia requiring hospitalization: factors influencing need of intensive care treatment and prognosis. *Scand J Infect Dis* 1985; 17: 377–86.
34. Torres A, Aznar R, Gatell JM, Jiménez P, González J, Ferrer A, et al. Incidence, risk, and prognosis factors of nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 523–28.
35. Falor V, Fernández de Sevilla T, Alegre J, Ferrer A, Vázquez J. *Legionella pneumophila*: a cause of severe community-acquired pneumonia. *Chest* 1991; 100: 1007–11.

Rad primljen 24 XI 2008.



## Hernija prednjeg tibijalnog mišića – rekonstrukcija periost *patch* plastikom

Anterior tibial muscle hernia – reconstruction with periosteal patch plasty

Dušan Marić\*, Dejan Madić†, Dušica Marić‡, Milan Stanković§,  
Miroslav Smajić†

Institut za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine, \*Klinika za dečju hirurgiju, Novi Sad, Srbija; †Fakultet sporta i fizičkog vaspitanja, Novi Sad, Srbija; Medicinski fakultet Univerziteta u Novom Sadu, ‡Katedra za anatomiju, Novi Sad, Srbija; Klinički Centar Vojvodine, §Klinika za ortopediju, Novi Sad, Srbija

### Apstrakt

**Uvod.** Hernija prednjeg tibijalnog mišića najčešća je hernija mišića donjih ekstremiteta. Cilj ovog rada bio je da se prikaže mogućnosti nove hirurške tehnike u rekonstrukciji hernije prednjeg tibijalnog mišića. **Prikaz bolesnika.** Prikazana su tri bolesnika sa hernijom prednjeg tibijalnog mišića. Dijagnoza je postavljena klinički i ultrasonografski. Kod sva tri bolesnika, rekonstrukcija fascijalnog defekta urađena je periost *patch* plastikom. **Zaključak.** Lako pristupačan, jeftin, autologni materijal, periost, u okviru tehnike *patch* plastike može biti jedan od mogućih načina u lečenju hernije prednjeg tibijalnog mišića.

### Ključne reči:

prednji kompartment sindrom; dijagnoza; ortopediske procedure; lečenje, ishod.

### Abstract

**Introduction.** Anterior tibial muscle hernia is the most frequent lower extremities muscle hernia. The aim of this paper was to present a possibility of a new surgical technique for anterior tibial muscle hernia reparation. **Case report.** We presented three cases of anterior tibial muscle hernia in adolescents. The cases were diagnosed clinically and ultrasonographically. In all three cases reconstruction was done with periosteal patch plasty of fascial defect. **Conclusions.** Easy approachable, cheap, autologous material, periost, in the frame of periosteal patch plasty, could be one of the possible solutions in anterior tibial muscle hernia treatment.

### Key words:

anterior compartment syndrome; diagnosis; orthopedic procedures; treatment outcome.

### Uvod

Mišićna hernija predstavlja fokalnu protruziju tkiva mišića kroz fascijalni defekt. Hernija prednjeg tibijalnog mišića najčešća je hernija prednjeg dela potkoljenice. Literatura opisuje i herniju *m. extensor digitorum longusa*<sup>1</sup>.

Mišićne hennije dele se na konstitucijske i traumatske<sup>2</sup>. Konstitucijske hennije najverovatnije prouzrokuje hronično naprezanje, odnosno mišićno preopterećenje fascije. Fenestracije fascije kroz koje prolaze venski sudovi uvećavaju se i mogu da dovedu do formiranja hennijske formacije<sup>3</sup>.

Traumatske hennije mogu nastati direktno, kao posledica otvorenih povreda noge, ali i indirektno, usled udarca na mišić u toku kontrakcije<sup>4</sup>.

Iz tog razloga, mišićne hennije najčešće se javljaju kod sportista, vojnika i kod profesija sa velikim opterećenjem mišića potkoljenice<sup>5,6</sup>.

Hennije mogu biti unilateralne, multiple i bilateralne<sup>7,8</sup>.

Dijagnostika mišićnih hennija postavlja se klinički. Njihova klinička prezentacija je tumefakcija u delu fascijalnog defekta koji se smanjuje ili nestaje prilikom mišićne kontrakcije. U radu Agarwai i sar.<sup>9</sup> opisuje se i obrnuta klinička slika, kada se prilikom mišićne kontrakcije promena uvećava. Primena ultrasonografije mišićnih hennija, odnosno dijagnostika pomoću magnetne rezonancije, omogućava precizniju i kvalitetnu analizu patoanatomskog supstrata<sup>1,10,11</sup>.

Lečenje je kontroverzno. U literaturi je prikazano više hirurških tehnika zaštite prednjeg tibijalnog mišića, u cilju odsustva ili sprečavanja nastanka kompartment sindroma. Miniaci i Rorabeck<sup>12</sup> ukazali su na mogućnost direktnog zatvaranja povrede fascije, što je dovodilo do nastanka sindroma kompartment. Preporučuje se longitudinalna fasciotomijska metoda izbora kod hennija rezistentnih na nehirurško lečenje.

Aktuelna literatura opisuje rekonstrukcije hernija mersilenskim mrežicama, koje dovode do odličnog kozmetskog i funkcionalnog rezultata<sup>13</sup>. Takođe, u literaturi se navodi mogućnost rekonstrukcije sa alograftnim materijalom (*bovine pericardium* - govedi perikard), kao i živim autograftnim materijalom<sup>14</sup>.

Hernija prednjeg tibijalnog mišića može se manifestovati u obliku akutnog i hroničnog kompartment sindroma, odnosno prednjeg tibijalnog sindroma<sup>15, 16</sup>.

Predstavili smo tri bolesnika sa hernijom prednjeg tibijalnog mišića i njihovo lečenje primenom periostalnog flapa (*periostal patch plasty*).

### Prikaz bolesnika

#### Bolesnik 1

Pitomac policijske akademije, star 17 godina, povređen je prilikom profesionalne vežbe, kada je zadobio lacerokontuznu ranu u predelu leve potkolenice, dimenzija 10×5 cm. Rana je rekonstruisana. Distalni deo rane dehiscirao je i zaraštao *per secundam intentionem*. Nakon 35 dana od povrede, rana je zarašla, a bolesnik upućen na fizikalnu terapiju. Svakodnevnim fizičkim i profesionalnim aktivnostima bolesnik se vratio šest nedelja od povrede. Posle minimalnog napora u predelu postoperativnog ožiljka, javila se tumefakcija dimenzija 10×2 cm (slika 1), koja je bila malo bolna na dodir. Tumefakcija je bila bolna pri fizičkim aktivnostima što je uticalo na svakodnevni kvalitet života.



Sl. 1 – Defekt na potkolenici posle zarastanja rane dimenzija oko 10×2 cm

Klinički nalaz ukazao je na mekoelastičnu tumefakciju u središnjem delu dijafize potkolenice, bolnu na palpaciju, i reponabilnu. Posle repozicije tumefakcija se vratila u prvočitni položaj, a koža iznad ostala nepromenjena. Neurovascularni status nad ekstremitetom bio je uredan.

Dijagnoza hernija prednjeg tibijalnog mišića postavljena je klinički i ultrazvukom.

#### Bolesnik 2

Šesnaestogodišnji aktivni fudbaler zadobio je povredu u toku utakmice. Suparnički igrač direktno ga je udario kop-

čkom u potkolenicu. Nakon povrede i ukazane prve pomoći, vratio se i završio utakmicu. Posle dva dana, došlo je do pojave bola i otoka na mestu udarca. Bolesnik je upućen sportskom lekaru koji ga je lečio tri nedelje. Nastavio je sa treningzima. U toku treninga, pod punim opterećenjem, ponovo je došlo do pojave otoka praćenog bolom. Posle tri meseca od prvobitne povrede, sa trajno formiranom tumefakcijom u predelu potkolenice i bolom koji se javlja prilikom svake fizičke aktivnosti, bolesnik se javio ortopedu koji je klinički i ultrazvučno dijagnostikovao herniju prednjeg tibijalnog mišića, dimenzija 5×3 cm.

#### Bolesnik 3

Sedamnaestogodišnjak povređen je u saobraćajnoj nesreći. U sklopu politraume, zadobio je otvoreni prelom desne potkolenice. Prelom je lečen spoljnom fiksacijom, a defekt mekog tkiva delimičnom rekonstrukcijom. Rana je zarašla *per secundam intentionem*. Hod sa štakama uz oslonac do 75% započet je šest meseci nakon povrede. Bolesnik je uočio promenu na mestu preloma koja je bila bolna pri fleksionoekstenzionim pokretima stopala i onemogućavala dobar oslonac na nogu. Na kontrolnom pregledu, sedam meseci od povrede, klinički je verifikованo postojanje hernije prednjeg tibijalnog mišića (klinički merenih dimenzija 4×2 cm). Hirurško lečenje sprovedeno je godinu dana od prvobitne povrede.

Kod prikazanih bolesnika primenjena je istovetna hirurška tehnika *periostal patch plastika*.

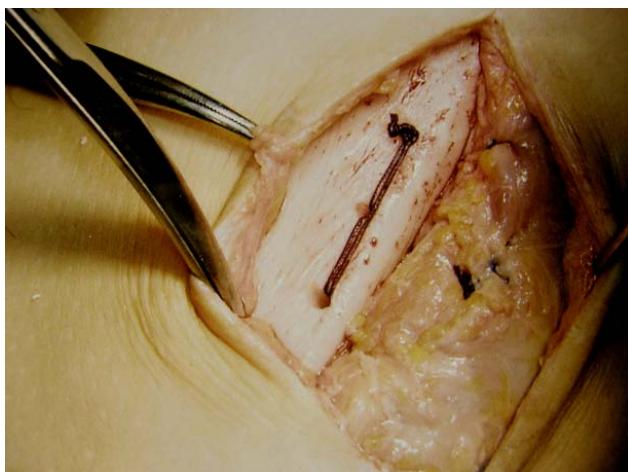
Hirurška intervencija radi se u opštoj anesteziji. Bolesnik se pozicionira na leđa. Vertikalnom incizijom iznad fascijalnog defekta, pažljivim preparisanjem mekog tkiva odvajaju se priraslice i fibrozne strukture od mišićnog tkiva. Na ovaj način može se ispreparisati fascijalni defekt sa svih



Sl. 2 – Periost se mobiliše sa lateralne strane i posuvrati medialno

strana. Kod prvog bolesnika fascijalni defekt bio je oko 10×4 cm, drugog 5×3 cm i trećeg 4×2 cm. Od lateralne prema medialnoj strani mobiliše se periostalni *patch* (slika 2), za 5 mm duži od samog defekta, posuvrati se medialno, kako bi se prekrio fascijalni defekt. Periost se suturira za ivice očuvane fascije bez tenzije. Pri intraoperativnom testiranju fleksionih i ekstenzionih pokreta stopala, dolazi do veće ekskurzije re-

konstruisanog defekta, koji prelazi prednju ivicu tibije. Načini se fenestracija tibije na tri nivoa kroz koje se postavi konac (2-0 PDS II), te sam periost dodatno fiksira za unutrašnju stranu tibije. Definitivno završena rekonstrukcija defekta uz fiksiranje za unutrašnju stranu tibije dovodi do zadovoljavajuće pozicije rekonstruisanog defekta, koji estetski ne odstupa od fiziološke pozicije (slika 3).



**Sl. 3 – Definitivni izgled rekonstruisane mišićne hernije pre zatvaranja mekog tkiva**

Drenaža nije bila postavljena. Postoperativno stavljen je elastični zavoj. Operacije su rađene u ishemiji, prosečnog trajanja oko 60 minuta. Rane su zarastale *per primam intentionem*. Nije bilo znakova neurovaskularnog ispada. U postoperativnom toku, prvi 14 dana korišćena je mašina za kontinuiranu pasivnu pokretljivost (*continuous passive motion* – CPM), a u cilju prevencije eventaulnih priraslica između mišića i periosta. Vertikalizacija je dozvoljena prvog postoperativnog dana. Hod sa štakama sproveden je uz oslonac na operisanu nogu do 75% telesne mase, sa stopalom fiksiranim do 90 stepeni, a koleno u punoj ekstenziji. Hospitalizacija bolesnika trajala je četiri dana. Nakon 14 dana bolesnici su bili upućeni na intenzivnu fizikalnu terapiju.

Bolesnici 1 i 2 vratili su se prvo bitnim aktivnostima posle četiri meseca od operacije. Dvanaest meseci posle operativnog lečenja funkcionalni i estetski efekat lečenja omogućavali su pun kvalitet svakodnevног života i profesionalnih aktivnosti. Bolesnik 3 vratio se u potpunosti punom kvalitetu života godinu dana nakon operacije.

### Diskusija

Hernija prednjeg tibijalnog mišića najčešća je hernija mišića donjih ekstremiteta. U njenom lečenju primenjuju se različiti modaliteti, ali sa nejednakim uspehom. Asimptomatske hernije zahtevaju praćenje, ali ne i hitno hirurško lečenje. Kod minimalno simptomatskih hernija dovoljna je aplikacija elastičnog zavoja, kao i promena načina fizičke aktivnosti<sup>17</sup>.

Mavor<sup>18</sup> je 1956. godine opisao bolesnika, mladog fudbalera sa hroničnom i intermitetnom ishemijom prednjeg ti-

bijalnog mišića. Bolesnik je oslobođen tegoba uzdužnom fascijalnom incizijom. Savremena literatura opisuje fasciotomije kod prednjeg tibijalnog sindroma minimalno invazivnim perkutanim i/ili endoskopskim putem<sup>19</sup>.

Hirurško rešavanje hernije na prvom mestu podrazumeva direktnu rekonstrukciju defekta fascije. Ovo često nije moguće usled veličine defekta samog tkiva fascije, te se javlja brzi recidiv hernije. Primarna rekonstrukcija može dovesti do naglog povećanja intrakompartmentnog pritiska u prednjem delu potkoljenice, što dovodi do kompartment sindroma<sup>20</sup>. Iz ovih razloga preporučene longitudinalne incizije fascije sprečavaju nastanak sindroma kompartment, ali ne i definitivno lečenje same hernije. Nakon fascijalne incizije mogu se razviti adhezije između mišića i ožiljka, stvarajući vidljiv deformitet prilikom mišićnih kontrakcija. Loš kvalitet potkožnog tkiva iznad rekonstruisanog mišića može dovesti do recidiva hernije<sup>21</sup>.

Korišćenje sintetičkog pača za rekonstrukciju fascijalnog defekta može biti uspešno, kao i upotreba mersilinskih ili propilenskih mrežica koje se suturiraju za periost tibije i ostatak mišićne fascije. Ove tehnike pokazuju zadovoljavajuće funkcionalne i kozmetske rezultate.

Periost se sastoji iz dva sloja, površnog fibroznog i unutrašnjeg kambijalnog sloja koji je bogat progenitornim ćelijama, te se kao autologno tkivo često koristi za razne rekonstruktivne procedure u ortopediji<sup>22</sup>. Specifičnost vaskularizacije periosta u predelu tibije omogućava da se koristi kako u bazičnim rekonstruktivnim procedurama, tako i u procesima nadoknade tkiva<sup>23</sup>.

Tehnika koja je korišćena prilikom rekonstrukcije bazirana je na ovim principima. Sam periost je kod mlađih osoba i dece debeo do 2 mm<sup>24,25</sup>, lako se može mobilisati u potrebnim dimenzijama i koristiti za rekonstrukciju defekata, čak i struktura hrskavice<sup>26</sup>. Smatramo da on poseduje dovoljnu elastičnost za kvalitetnu preparaciju i mobilizaciju koja se može iskoristiti za rekonstrukciju defekta fascije. Kako se radi o vaskularizovanom graftu, spajanje potkožnog tkiva sa graftom može dovesti do dodatnog ojačanja rekonstruisanog defekta. Osim toga, sam periost može se fenestrirati na više mesta. Na ovaj način dodatno se smanjuje rizik od povećanja pritiska u prednjem delu, a ujedno se istim periostalnim flapotom može rekonstruisati veća površina defekta.

Da bi se sprečile ili na minimum smanjile eventualne priraslice između mišićnog tela i fascijalnog pokrivača, na koje ukazuju Lewis i sar.<sup>27</sup>, sproveden je neposredni postoperativni tretman mašinom za kontinuiranu pasivnu pokretljivost za koji pretpostavljamo da može da svede na minimum stvaranje priraslica.

### Zaključak

Lako pristupačan, autologni materijal, periost, u okviru tehnike *patch* plastika daje zadovoljavajuće funkcionalne i kozmetske rezultate, te može biti jedan od mogućih izbora u lečenju hernija prednjeg tibijalnog mišića u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

## LITERATURA

1. Mellado JM, Perez de Palomar L. Muscle hernia of the lower leg: MRI findings. *Skeletal Radiol* 1999; 28: 465–9.
2. Ihde H. On muscular hernia of the leg. *Acta Chir Scand* 1929; 65: 97–127.
3. Obermayer ME, Wilson I. Fascial hernias of the legs. *JAMA* 1951; 145: 548–9.
4. Marques A, Brenda E, Amarante TJ. Bilateral multiple muscle hernias of the leg repaired with marlex mesh. *Brit J Plast Surg* 1994; 47: 444–6.
5. Gupta R, Singh D, Kansan R, Singh H. Cricket ball hernia injury: a cause of symptomatic muscle hernia of the leg. *Br J Sports Med* 2008; 42: 1002–3.
6. De Fijter R, Marnixde W, Reinoud M, Martinus L. Minimally invasive fasciotomy in chronic exertional compartment syndrome and fascial hernias of the anterior lower leg: short-and long-term results. *Military Medicine* May; 2006. pp. 399–403.
7. Kim M, Hong SP, Hwang SM, Park H, Ahn SK. Tibialis anterior muscle herniation developed after trauma. *Int J Dermatol* 2008; 47(8): 845–7.
8. Lee HS, James M. Painful bilateral herniation of the anterior tibial muscle: a case report. *Foot Ankle Int* 2006; 27(7): 552–5.
9. Agarwal A, Agarwal R. Abnormal presentation of tibialis anterior herniation. *E J Ortop Surg Traumat* 2006; 16(3): 271–2.
10. Beggs I. Sonography of muscle hernias. *AJR* 2003; 180(2): 395.
11. Gokhale S. Three Dimensional sonography of muscle hernias. *J Ultrasound Med* 2007; 26: 239–42.
12. Miniaci A, Rorabeck C. Compartment syndrom as a complication of repair of a hernia of the tibialis anterior muscle. *J Bone Joint Surg AM* 1986; 68(9): 1444–5.
13. Siliprandi L, Martini G, Chiarelli A, Mazzoleni F. Surgical repair of an anterior tibialis muscle hernia with mersilene mesh. *Plast Reconstr Surg* 1993; 92(4): 768.
14. Hartzell J. The use of living fascia transplant to repair hernia of tibialis anterior muscle, *JAMA* 1936; 107: 492–3.
15. Wolfson GF, Mogelvang C, Filtzer HS. Anterior tibial compartment syndrome following muscle hernia repair. *Arch Surg* 1973; 106(1): 97–9.
16. Paton DF. The pathogenesis of anterior tibial syndrome. *JBJS* 1968; 50B(2): 383–5.
17. Wolfson GF, Mogelvang C, Filtzer HS. Anterior tibial compartment syndrome following muscle hernia repair. *Arch Surg* 1973; 106(1): 97–9.
18. Mavor GE. The anterior tibial syndrome. *J Bone Joint Surg Br* 1956; 38-B(2): 513–7.
19. Sebik A, Dogan A. A technique for arthroscopic fasciotomy for chronic exertional tibialis anterior compartment syndrome. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy* 2008; 4: 531–4.
20. Williams DP, Hassan AI. Undiagnosed compartment syndrome following anterior tibialis muscle hernia repair. *Injury Extra* 2007; 38: 59–60.
21. Bloem JM. The treatment of muscular hernias by fascial splitting. *Br J Plast Surg* 1976; 29: 291–4.
22. Ortak T, Ozdemir R, Uysal A, Ulusoy MG, Sungur N, Sahin B, et al. Osteogenic capacities of periost grafts, periost flaps and prefabricated periostal flaps: experimental study. *J Craniofac Surg* 2005; 16(4): 594–600.
23. Simpson AH. The blood supply of the periosteum. *J Anat* 1985; 140(4): 697–704.
24. Penteado CV, Masquelet AC, Romana MC, Chevrel JP. Periosteal flaps: anatomical bases of sites of elevation. *Surgical and Radiological Anatomy* 1990; 12(1): 3–7.
25. Crock JG, Morrison W. A vascularised periostal flap: anatomical study. *Int J Surg Rec* 1992; 45(6): 474–8.
26. Spahn G, Kirschbaum S. Operative treatment of deep chondral defects of the patella: results after abrasive arthroplasty and periosteal arthroplasty. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy* 2005; 13(5): 352–6.
27. Lewis JR, Shaw A, Arrowsmith J, Stephen AB. The symptomatic tibial anterior hernia: Case report and rationale for treatment. *Injury Extra* 2008; 39(1): 4–6.

Rad primljen 27. I 2009.



## Tuberculous synovitis of the knee in a 65-year-old man

Tuberkulozni sinovitis kolena kod muškarca starog 65 godina

Laura D. Ciobanu\*, Dragica P. Pešut†

University of Medicine and Pharmacy "Gr T Popa" Iasi, \*Clinical Hospital of Rehabilitation Iasi, Romania; School of Medicine, Belgrade, †Institute of Lung Diseases and Tuberculosis, Belgrade, Serbia

### Abstract

**Introduction.** Tuberculous (TB) synovitis is a rare, treatable, potentially lethal form of extrapulmonary TB resulting from massive lymphohematogenous dissemination of *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). We presented a case of TB synovitis of the knee in a Caucasian HIV-negative man from Romania, a high TB incidence country.

**Case report.** A 65-year old man presented with cough, high fever, mild wheezing, and swelling of the left knee. Chest radiography was normal. Sputum smears were Acid Fast Bacilli negative and Löwenstein-Jensen (L-J) culture negative for *M. tuberculosis*. Tuberculin skin test was negative. Respiratory symptoms disappeared in a week under antibiotics. Positive L-J cultures of knee punctation and favourable treatment outcome following standardized antituberculous treatment regimen confirmed the diagnosis of specific synovitis, which was also demonstrated by Magnetic Resonance Imaging (MRI). **Conclusion.** Tuberculous synovitis is important differential diagnosis in patients with arthropathies and risk factors for TB in all the countries and all patients' ages even when tuberculin skin test is negative.

**Key words:**  
synovitis; knee; tuberculosis, osteoarticular;  
Romania.

### Apstrakt

**Uvod.** Tuberkulozni (TB) sinovitis spada u retke, izlečive oblike vanplućne tuberkuloze sa mogućim letalnim ishodom. Posledica je masivne limfohematogene diseminacije *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). Prikazali smo bolesnika sa TB sinovitisom kolena, HIV-seronegativnog stanovnika Rumunije, zemlje sa visokom incidencijom TB. **Prikaz bolesnika.** Šezdesetpetogodišnji muškarac javio se sa kašljem, jakom groznicom, blagim šištanjem i otokom levog kolena. Radiogram pluća bio je normalan. Razmaz sputuma na acidorezistentne bacile bio je negativan, a kultura Löwenstein-Jensen (L-J) negativna na *M. tuberculosis*. Tuberkulinska kožna proba bila je, takođe, negativna. Respiratori simptomi nestali su tokom jedne nedelje terapije antibioticima. Pozitivne L-J kulture punktata iz kolena i povoljan ishod lečenja uz primjeno standardno antituberkulozno lečenje potvrdili su dijagnozu specifičnog sinovitisa koji je, takođe, pokazan snimanjem magnetnom rezonancijom. **Zaključak.** Tuberkulozni sinovitis predstavlja važnu diferencijalnu dijagnozu kod bolesnika sa artropatijom i faktorima rizika od TB širom sveta u svakom životnom dobu, čak iako je tuberkulinska kožna proba negativna.

**Ključne reči:**  
sinovitis; koleno; tuberkuloza, osteoartikularna;  
Rumunija.

### Introduction

Although tuberculosis (TB) usually affects lungs, TB bacilli can spread through the blood stream and involve other sites, leading to extrapulmonary tuberculosis (EPTB). Increasing number of immunodeficient persons in the world makes EPTB incidences rise<sup>1-5</sup>. Where these two infections, TB and HIV are prevalent, TB case rates rise dramatically and will continue to do so unless either infection can be curtailed<sup>6</sup>.

However, some forms of osteoarticular TB are rare and only a few cases have been reported<sup>7-11</sup>. Trikha et al.<sup>9</sup> re-

ported two cases of TB of the ilium as a rare form, accounting for less than one percent of all skeletal TB and both cases were immunocompetent individuals<sup>9</sup>. Recently, a Serbian case of TB synovitis of the knee, which was the first manifestation of life threatening generalized miliary tuberculosis, was published<sup>10</sup>. It was in 1981 when Borisov et al.<sup>3</sup> reported a similar case, and the paper seemed to be less accessible. Diagnosis of TB infection in a joint is increasingly difficult<sup>12</sup>. The main reasons for this are atypical clinical presentation, wide use of antibiotics and lack or low specificity of diagnostic tools, misdiagnosis, and sometimes, lack of clinicians' knowledge about TB epidemiology in a local setting.

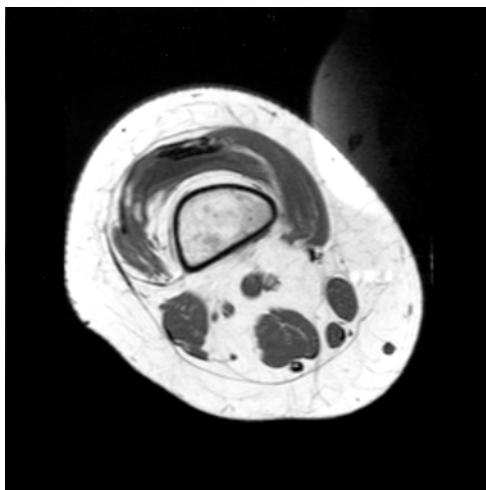
## Case report

A 65-year-old HIV-negative Caucasian man, a non-smoker without history of lung disease, presented to a doctor due to productive cough, mild dyspnea and wheezing, up to 39°C fever and painful swelling of his left knee (Figure 1).



**Fig. 1 – Physical examination revealed painful swelling of the left knee. Accessory findings: trophic skin lesions and onychomycosis, bilaterally**

Erythrocyte sedimentation rate was 85 mm in the first hour. Lung auscultation revealed signs of moderate wheezing. Chest radiography was within normal limits, i.e. without acute or active lung disease. Tuberculin skin test (Mantoux) PPD<sub>5</sub> was negative. Interferon Gamma Releasing Assays test for TB was positive. Sputum smears were Acid Fast Bacilli negative, and Löwenstein-Jensen culture negative for *M. tuberculosis*. The results of the immunological tests for systemic disease were within normal limits. Magnetic Resonance Imaging (MRI) of the knees showed synovial inflammation with intraarticular fluid (Figure 2). Löwenstein-Jensen culture of knee punctation was positive for *M. tuberculosis*. The treatment was initiated following standardized antituberculosis drug regimen during 6 months. At a 12-month follow-up, the patient was well, with a good range of motion in the knee.



**Fig. 2 – Magnetic resonance imaging of the knee shows synovial inflammation with intraarticular fluid**

## Discussion

We presented a rare case of specific synovitis of the knee, which was documented by MRI finding, culture positive result for *M. tuberculosis* in synovial fluid, and favourable course of the disease under antituberculosis treatment. Although extrapulmonary TB is increasing, the knee joint involvement still presents a rare manifestation of TB even in a TB high prevalence country. The patient comes from a rural part of Romania, one of the European TB "hot spots" with the success story in the disease management and control over the last decade. The reducing of TB incidence in Romania was the result of the effectiveness of the DOTS (directly observed treatment, short-course) strategy 13.

Although our patient was admitted to the Pulmonology Department due to prevailed respiratory symptoms related to acute tracheobronchitis, the rest of the symptoms were actually typical clinical initiation of specific synovitis of the knee: high fever and painful swelling of the joint. Sometimes, although an infectious disease, TB may be present without fever, especially in elderly and exhausted patients, and in those with diabetes mellitus 14. Apart from fever, joint swelling and pain, spasm, limping, and muscular atrophy are the most frequently described symptoms and signs 15–17.

Unlike TB osteomyelitis, which typically involves thoracic and lumbar spine, TB arthritis primarily involves large joints such as hips, knees and ankles. Since differential diagnosis of specific synovitis includes chronic traumatic synovitis, subacute synovitis and rheumatoid arthritis, the elimination process and high index of suspicion is needed for proper diagnosis of TB 11. Tuberculin skin test is not sensitive enough, and the test was negative in our patient with active TB disease 16.

Radiological signs are not characteristic and MRI is a highly sensitive technique to visualize synovitis and effusions, but not the specific one 18. It can help in distinguishing TB arthritis from other proliferating synovial arthropathies 19. Apart from presenting MRI images, we provided a bacteriological proof – Löwenstein-Jensen culture positive finding for *M. tuberculosis* in synovial fluid, the latter not always achieved in routine clinical practice but still the most valuable diagnostic criteria in TB. Histological finding itself, when it presents specific granuloma, would not be a better diagnostic criterion, having in mind many diseases which are characterized with a granulomatous process. However, diagnosis of TB synovitis may be based on clinical and radiographic signs only, and then, a successful treatment outcome serves as the best proof of TB etiology. In routine clinical practice, special methods for *M. tuberculosis* detection are available, including rapid bacteriological methods like polymerase chain reaction. All the particular methods of TB diagnosis include clinician's suspicion on TB firstly. Chen et al.<sup>12</sup> described the usefulness of arthroscopic operation for the management of synovial TB of the knee joint both in its diagnosis and treatment.

Nowadays, the greatest single risk factor for developing active TB is concurrent HIV infection. Our patient was HIV-

negative. Apart from his sex and age, history taking revealed the other TB risk factor – malnutrition due to living in poverty. Both elderly age and malnutrition have been proved to decrease immunity, which can lead to active TB disease in an infected person<sup>4</sup>. Incidence rates for TB in the age group of 65 years and over have been proven to be higher both in developing and developed countries with the tendency to further increase. This is due to increased aging of the population, decreased immunity, and/or poor socioeconomic status in some countries<sup>14, 20, 21</sup>. Our patient used to live in poverty of a rural household in a high TB incidence country, thus the risk of being infected was also increased<sup>1, 4</sup>. In Romania, the introduction of a clinical surveillance system of the persons aged 65 years and over with a risk to develop the disease remains to be realized along with the application of the National Programme for TB Control 2007–2011<sup>21</sup>.

Clinicians should keep in mind that the risk of developing TB depends both on the risk of being infected and the risk of infection leading to active disease. The former will depend on TB and HIV prevalence in the community in which an individual lives or works. The latter will depend on many factors affecting an individual both genetically and environmentally<sup>6</sup>. Thus, with an increasing awareness on TB in

all the countries in recent years, the cases on TB synovitis related to arthroplasty have been reported, and a case of successfully conservatively treated knee joint with TB after total knee replacement has been one of them<sup>22–31</sup>. Diagnostic challenges and consequences of a diagnostic delay, especially in HIV-infected individuals have been highlighted<sup>24</sup>. With the increasing use of immunosuppressive agents, including TNF-alpha inhibitors, it is likely that there will be an increase in the number of mycobacterial infectious disease of the knee. The presence of a multi-drug resistance of *M. tuberculosis* as a cause of infectious disease in an immune compromised host, makes the case management more difficult and the disease outcome uncertain<sup>32</sup>.

## Conclusion

Clinicians should suspect TB synovitis in all patients with febrile condition and painful swelling of a joint, especially in the elderly. Keeping TB in mind can lead to proper diagnostic procedures and the therapy in a timely manner. It can lead to a successful disease outcome, decrease of patient's inability, and to prevention of further TB dissemination and possible death from a curable disease.

## R E F E R E N C E S

- WHO. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. Geneva: World Health Organization; 2008.
- Parimon T, Spitters CE, Muangman N, Euathrongchit J, Oren E, Narita M. Unexpected pulmonary involvement in extrapulmonary tuberculosis patients. *Chest* 2008; 134 (3): 589–94.
- Kipp AM, Stout JE, Hamilton CD, Van Rie A. Extrapulmonary tuberculosis, human immunodeficiency virus, and foreign birth in North Carolina, 1993–2006. *BMC Public Health* 2008; 8: 107.
- Rieder HL. Epidemiologic basis of tuberculosis control. Paris: International Union against Tuberculosis and Lung Disease; 1999.
- Pešut D, Bulajić M, Milošković V, Lesić A, Gledović Z. Increasing time trend of extrapulmonary tuberculosis in Serbia – a 15-year analysis. In press.
- Davies PD. Risk factors for tuberculosis. *Monaldi Arch Chest Dis* 2005; 63(1): 37–46.
- Borisov IA, Golovanova OE. Certain variants of atypical tuberculosis. *Ter Arkh* 1981; 53(10): 31–5. (Russian)
- Belzunce J, Santisteban M, Gorordo M, Barastay E, Rodríguez-Escalera C, López-Domínguez L, et al. Osteoarticular mycobacterial infections in patients with the human immunodeficiency virus. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22(3): 343–5.
- Trikha V, Varshney MK, Rastogi S. Tuberculosis of the ilium: Is it really so rare? *Acta Orthop Belgica* 2005; 71(3): 366–8.
- Adžić T, Pešut D, Stojšić J, Nagorni-Obradović Lj, Stević R. Specific synovitis of a knee as the first manifestation of generalized miliary tuberculosis. *Pneumologia* 2008; 57(3): 156–7.
- Hoffman EB, Allin J, Campbell JA, Leisegang FM. Tuberculosis of the knee. *Clin Orthop Relat Res* 2002; 398: 100–6.
- Shen HL, Xia Y, Li P, Wang J, Han H. Arthroscopic operations in knee joint with early-stage tuberculosis. *Arch Orthop Trauma Surg*; 2009.
- Marica C, Didilescu C, Galie N, Chiotan D, Zellweger JP, Sotgiu G, et al. Reversing the tuberculosis upwards trend: a success story in Romania. *Eur Respir J* 2009; 33(1): 168–70.
- Pešut D, Gledović Z, Grgurević A, Nagorni-Obradović Lj, Adžić T. Tuberculosis incidence in elderly in Serbia: key trends in socio-economic transition. *Croat Med J* 2008; 49(6): 807–12.
- Stelianidis S, Belmatoug N, Fantin B. Manifestations and diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *Rev Mal Respir* 1997; 14(5): 72–87.
- American Thoracic Society. Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1376–95.
- Lešić A, Bumbařević M, Sarić B, Čobelić G, Pešut D. Current diagnostic and treatment of osseous-articular tuberculosis. *Srp Arh Celok Lek* 2004; 132 (9–10): 345–51. (Serbian)
- Sawlani V, Chandra T, Mishra RN, Aggarwal A, Jain UK, Gujrati RB. MRI features of peripheral joints. *Clin Radiol* 2003; 58(10): 755–62.
- Sanghvi DA, Iyer VR, Deshmukh T, Hoskote SS. MRI features of tuberculosis of the knee. *Skeletal Radiol* 2009; 38(3): 267–73.
- Davies PD. TB in the elderly in industrialised countries. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007; 11: 1157–9.
- Didilescu C, Tigău M, Dediu I, Stoicescu I. Clinical and epidemiological aspects of TB cases registered in persons aged > or = 65 between 2002–2006, at the TB dispensary of sector 4, Bucharest. *Pneumologia* 2008; 57(3): 148–54. (Romanian)
- Stop TB Partnership and World Health Organization. The global plan to stop TB, 2006–2015. [accessed: 2009 June 14]. Available from: <http://www.stoptb.org/globalplan/assets/documents/GlobalPlanFinal.pdf>.
- Neogi DS, Kumar A, Yadav CS, Singh S. Delayed periprosthetic tuberculosis after total knee replacement: is conservative treatment possible? *Acta Orthop Belg* 2009; 75(1): 136–40.
- Wanjari K, Baradkar VP, Mathur M, Kumar S. Tuberculous synovitis in a HIV positive patient. *Indian J Med Microbiol* 2009; 27(1): 72–5.
- Lee CL, Wei YS, Ho YJ, Lee CH. Postoperative Mycobacterium tuberculosis infection after total knee arthroplasty. *Knee* 2009; 16(1): 87–9.
- Akgün U, Erol B, Cimşit C, Karahan M. Tuberculosis of the knee joint: a case report. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2008; 42(3): 214–8. (Turkish)

27. *Bajracharya S, Nepal P, Singh MP, Singh GK.* Polyarticular tuberculosis in a young boy: a rare presentation. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)* 2007; 5(1): 112–3.
28. *Arthanari S, Yusuf S, Nisar M.* tuberculosis of the knee complicating seronegative arthritis. *J Rheumatol* 2008; 35(6): 1227–8.
29. *de Haan J, Vreeeling AW, van Hellemondi GG.* Reactivation of ancient joint tuberculosis of the knee following total knee arthroplasty after 61 years: a case report. *Knee* 2008; 15(4): 336–8.
30. *Huang TY, Wu TS, Yang CC, Chiang PC, Yu KH, Lee MH.* Tuberculous arthritis-a fourteen-year experience at a tertiary teaching hospital in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 2007; 40(6): 493–9.
31. *Marschall J, Erisson JM, Droz S, Studer UC, Zimmerli S.* Disseminated tuberculosis following total knee arthroplasty in an HIV patient. *Infection* 2008; 36(3): 274–8.
32. *Al-Shehri AM, Al-Ghamdi SM, Khalil A, Al-Amoudi A, Baslaim A, Mamoun I.* Multi-drug-resistant tuberculosis in a patient presenting with bilateral gluteal abscesses and right leg swelling with end-stage renal disease. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2007; 18(4): 603–8.

The paper received on June 18, 2009.



## ERRATUM

### ERRATA

*Novica Bojanic, Nebojsa Djenić, Vladmila Bojanic*

**Malo poznate interakcije – interakcije mineralnih ulja i lekova sa lateksom**

Poorly-known interactions – interactions of mineral oils and drugs with latex

Vojnosanit Pregl 2009; 66 (10): DCCLXXVI

Erratum in: Vojnosanit Pregl 2009; 66(12): 1023

*Zoran Bojanic, Novica Bojanic, Nebojsa Djenić, Vladmila Bojanic*

**Malo poznate interakcije – interakcije mineralnih ulja i lekova sa lateksom**

Poorly-known interactions – interactions of mineral oils and drugs with latex



## ВОЈНОСАНИТЕТСКИ ПРЕГЛЕД

ВОЈНОМЕДИЦИНСКА АКАДЕМИЈА

Црнотравска 17, 11040 **Београд, Србија**

Тел/факс: +381 11 2669689

[vmaini1@eunet.rs](mailto:vmaini1@eunet.rs)

[vmavsp@hotmail.com](mailto:vmavsp@hotmail.com)

### Позив на рекламирање у 2010. 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. Штампа се на српском и енглеском језику. Часопис излази непрекидно од 1944. године до сада. Једини је часопис у земљи који излази месечно (12 бројева), наоко 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 Serbia*.

Цене реклами 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**. Уплатничу (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.rs](mailto:vmaini1@eunet.rs) или [vmavsp@hotmail.com](mailto:vmavsp@hotmail.com)

## UPUTSTVO AUTORIMA

Vojnosanitetski pregled (VSP) objavljuje radove koji ranije nisu nigde publikovani, niti predati za publikovanje redosledom koji određuje urediščki 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; potpis 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, Crnotravska 17, 11040 Beograd.

U VSP-u se objavljuju **uvodnici, originalni članci, prethodna ili kratka saopštenja**, revijski radovi tipa **opštег 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 prihvati samo ukoliko autori navođenjem najmanje 5 autocitata potvrde da su eksperti u oblasti o kojoj pišu.

Radovi se objavljaju 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 objavljaju 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 leđnom 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 smiju prelaziti 16 stranica (sa prilozima); 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 (CD) i štampaju u tri primerka (original i dve kopije). Autori konačnu verziju rukopisa i priloga prihvaćenih za publikovanje predaju u jednom štampanom primerku i na disketu od 3,5" (očišćenoj od „virusa“) ili na kompakt 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 programske pakete **Microsoft Office (Excel, Word Graph)**. Kod kompjuterske izrade grafika izbegavati upotrebu boja i senčenja pozadine.

Prispeli radovi kao anonimni podležu urediščkoj obradi i recenziji najmanje dva urednika/recenzenta. Primedbe i sugestije urednika/recenzenta 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 ispitanih 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 članake) 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 poglavља: **uvod, metode, rezultate i diskusiju**. **Zaključak** može da bude posebno poglavљje 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 iznosi 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 eksperimentne životinje, uključujući kontrolne). Identifikovati metode, aparaturu (ime i adresu proizvođača u zagradi) i proceduru, dovoljno detaljno da se drugim autorima omogući reprodukcija rezultata. Navesti podatke iz literature za uhdane 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, n a v o d i s e p r v i h š e s t i i dodaje et al. Svi podaci o citiranoj literaturi moraju biti t a c n i . 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 dokumenta. 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 oblike 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: Karadagić 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 stampaju 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 zagлавlju. Za fus-notu koristiti sledeće simbole ovim redosledom: \*, †, ‡, §, ||, ¶, \*\*, ††, ... . Svaka tabela mora da se pomene u tekstu. Ako se koriste tudi 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 oštре, na glatkom i sjajnom papiru, do formata dopisnice. Slova, brojevi i simboli treba da su jasni i ujednačeni, a dovoljno veličine da prilikom umanjivanja budu čitljivi. Na svakoj slici treba na poljedini, tankom grafitem 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 objašnjavanje 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 pregled (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

- a) The title should be concise but informative. Subheadings should be avoided;
- b) full name of each author;
- c) 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, metanalyses 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, Efinska-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, Paranjoti S, editors. *The Washington Manual of Medical Therapeutics*, 30th edition. Boston: Lippincott, 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.

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>

### 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 AKADEMIIA

Crnotravska 17, 11040 Beograd, Srbija

Tel/Fax: +381 11 2669689

[vmain1@eunet.yu](mailto:vmain1@eunet.yu)

[vmain2@eunet.yu](mailto:vmain2@eunet.yu)



Časopis „Vojnosanitetski pregled“ izlazi godišnje u 12 brojeva.

Godišnja preplata za 2009. godinu iznosi: 4 000 dinara za građane Srbije, 8 000 dinara za ustanove iz Srbije i 150 € za strane državljane 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**. Upлатnicu (dokaz o uplati) dostaviti лично ili poštom (pismom, faksom, e-mail-om). Za zaposlene u MO i Vojsci Srbije moguće je i preplata u 12 mesečnih rata putem trajnog naloga, tj. „odbijanjem od plate“. Popunjjen 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

Preplata na časopis „Vojnosanitetski pregled“ (zaokružiti):

- Lično. Dokaz o preplati dostavljam uz ovu prijavu.
- Za pripadnike MO i Vojske Srbije: Dajem saglasnost da se prilikom isplate plata u Računovodstvenom centru MO iz mojih prinadležnosti obustavlja iznos mesečne rate (preplate).
- Vrmanom po prijemu profakture.

Datum	Popis
-------	-------

Ime i prezime ili naziv ustanove
Jedinstveni matični broj građana
Poreski identifikacioni broj (PIB)
za ustanove
Mesto
Ulica i broj
Telefon / telefaks

Preplata na časopis „Vojnosanitetski pregled“ (zaokružiti):

- Lično. Dokaz o preplati dostavljam uz ovu prijavu.
- Za pripadnike MO i Vojske Srbije: Dajem saglasnost da se prilikom isplate plata u Računovodstvenom centru MO iz mojih prinadležnosti obustavlja iznos mesečne rate (preplate).
- Vrmanom po prijemu profakture.

Datum	Popis
-------	-------

