

**Главен и одговорен уредник
Editor in Chief**

Гоце Спасовски

**Заменик уредници
Deputy editors**

Мирјана Кочова, Нели Башеска

Редакциски одбор / Editorial board и / and Едитори по области / Subject editors

Милена Петровска-Микробиологија, Гордана Адамова-Гинекологија, Кочо Чакаларовски-
Интерна медицина, Марија Ралева-Психијатрија, Ненад Јоксимовиќ-Гастроентерохепатологија,
Марина Давчева Чакар-Оториноларингологија, Спасе Јовковски-Неврохирургија,
Снежана Стојковска-Инфективно, Горан Кондов-Хирургија

Интернационален редакциски одбор / International Editorial board

Bernardus Ganter - UK, Daniel Rukavina - Croatia, Pavel Poredos - Slovenia, Vladimir Ovcharov - Bulgaria,
Stefan Tofovic - USA, Jovan Hadzi-Djokic - Serbia, Ljubisa Markovic - UK, Dusko Vasic - Republika Srpska,
Isuf Kalo - Albanija, Marina Kos - Hrvatska, Idris T. Ocal - Arizona,
Frank A. Chervenak - USA, Franz Porzsolt - Germanija, Lako Christiaan - Danska

Издавачки совет / Editorial Council**Претседател / President**

Стојмир Петров

Љубе Ивковски, Славејко Сапунов, Весна Антовска, Љубе Глигоровски, Бети Дејанова, Весна
Јорданова Димовска, Свонко Миленковиќ, Магдалена Жантева Наумовска, Снежана Мишевска
Перчинкова, Катица Пиперкова, Гордана Пемовска, Драгослав Младеновиќ, Елизабета
Србиновска, Горѓе Џокиќ, Габриела Костова, Славица Арсова Хаџи Ангелковска, Виктор
Камиловски

Секретар на Редакцијата / Secretary of the Editorial Office

В. Митревска

Јазичен редактор на македонски јазик / Proof-reader for Macedonian

Ј. Мартиновска

Лектор за англиски јазик / Proof-reader for English

Л. Даневска

Наслов на Редакцијата и издавачот / Address of the Editorial Office and Administration:

1000 Скопје, Даме Груев 3, Градски сид блок 2
тел.02/3162 577; 02/3239-804

www.mld.org.mk/ / mld@unet.com.mk

Жиро сметка / Current Account

300000000211884 - Комерцијална банка Скопје

Печати: Југореклам - Скопје

Македонски медицински преглед се печати три пати годишно. Претплатата за списанието
изнесува 10 евра за лекари, 50 евра за установа, странство 80 евра.

Содржина/Contents

I. Едиторијални трудови/ Editorial

КЛИНИЧКА ПРОТЕОМИКА - ЦЕЛИ И ПЕРСПЕКТИВИ

CLINICAL PROTEOMICS - AIMS AND PERSPECTIVES

Katerina Markoska, Jelka Masin-Spasovska, Olivera Stojceva-Taneva and Goce Spasovski..... 121

II. Ревизијални трудови/ Reviews

ПРОЦЕНКА НА ГЛОМЕРУЛАРНАТА ФИЛТРАЦИСКА СТАПКА КАЈ

ПАЦИЕНТИ СО ХРОНИЧНА БУБРЕЖНА БОЛЕСТ

ASSESSMENT OF GLOMERULAR FILTRATION RATE IN CHRONIC KIDNEY

DISEASE PATIENTS

Olivera Stojceva-Taneva, Jelka Masin Spasovska and Borjanka Taneva..... 123

СИНДРОМ НА НЕСООДВЕТНО ЛАЧЕЊЕ НА АНТИДИУРЕТСКИ ХОРМОН -

ЧЕСТА НЕПРЕПОЗНАЕНА ПРИЧИНА ЗА ХИПОНАТРЕМИЈА

THE SYNDROME OF INAPPROPRIATE SECRETION OF ANTIDIURETIC HORMONE-

UNRECOGNIZED CAUSE OF HYPNATREMIA

Цветанка Волкановска-Илијевска и Гордана Пемовска..... 130

СОВРЕМЕН ПРИСТАП ВО ЛЕКУВАЊЕТО НА МУЛТИПНИОТ МИЕЛОМ

UP-TO-DATE APPROACH TO THE TREATMENT OF MULTIPLE MYELOMA

Светлана Станковиќ, Татјана Смилевска, Сања Трајкова, Марија Попова, Оливер

Каранфилски, Злате Стојаноски, Ката Мартинова и Лидија Чевреска..... 137

III. Оригинални трудови/ Original Articles

ВАЛИДНОСТА НА СЕНТИНЕЛНИОТ ЛИМФЕН ЈАЗОЛ КАЈ ПАЦИЕНТИ СО

КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ ИЗОЛИРАН СО УПОТРЕБА НА

РАДИОАКТИВЕН КОЛОИД НА Tc99m-ПРОДОЛЖУВАЊЕ НА ПИЛОТ СТУДИЈА

VALIDITY OF THE SENTINEL LYMPH NODE IN PATIENTS WITH COLORECTAL

CANCER ISOLATED WITH RADIOACTIVE COLLOID Tc99m – FOLLOW UP OF A PILOT STUDY

Светозар Антовиќ, Никола Јанкуловски, Синиша Стојановски и Владимир Андреевски..... 143

ЛАПАРОСКОПСКА ИНГВИНАЛНА ХЕРНИОПЛАСТИКА

LAPAROSCOPIC INGUINAL HERNIA REPAIR

Александар Митевски, Светозар Антовиќ, Билјана Кузмановска и Никола Јанкуловски..... 150

ИНЈЕКЦИСКА ТЕРАПИЈА СО BOTULINUM TOXIN A ВО ТРЕТМАН НА

ХРОНИЧНИ АНАЛНИ ФИСУРИ: ПИЛОТ СТУДИЈА

INJECTION THERAPY WITH BOTULINUM TOXIN A IN TREATMENT OF CHRONIC

ANAL FISSURES: A PILOT STUDY

Владимир Андреевски, Светозар Антовиќ и Никола Јанкуловски..... 155

ЕНУМЕРАЦИЈА НА CD34+ ХЕМАТОПОЕТСКИ МАТИЧНИ КЛЕТКИ СО

ПРОТОЧНА ЦИТОМЕТРИЈА: НАШИ ИСКУСТВА

FLOW CYTOMETRIC ENUMERATION OF CD34+ HEMATOPOIETIC STEM CELLS:

SINGLE CENTER EXPERIENCE

Ирина Пановска-Ставридис, Борче Георгиевски, Александра Пивкова-Вељановска, Сања

Трајкова, Злате Стојановски, Соња Генадиева-Ставриќ, Душко Дуковски, Лазар

Чадиевски, Марија Попова, Мартин Ивановски и Лидија Чевреска..... 160

ЕПИДЕМИЈА НА МОРБИЛИ ВО РЕГИОНОТ НА СТРУМИЦА 2010/2011

EPIDEMICS OF MEASLES IN THE REGION OF STRUMICA 2010/2011

Лиља Манинска, Снежана Стојковска, Гордана Кузмановска и Голубинка Бошевска..... 166

IV. Приказ на случај/Case reports

ПРИКАЗ НА СЛУЧАЈ: ПАЦИЕНТ СО АКРОМЕГАЛИЈА И ПОЛИОСТОТИЧНА

ФИБРОЗНА ДИСПЛАЗИЈА - McCUNE ALBRIGHT СИНДРОМ

CASE REPORT: PATIENT WITH ACROMEGALY AND POLYOSTOTIC FIBROUS

DYSPLASIA: McCUNE ALBRIGHT SYNDROME

Gordana Pemovska and Cvetanka Volkanovska-Ilijevska..... 171

**ПУЛМОНАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЈА ПО АКУТЕН ПУЛМНАЛЕН ЕМБОЛИЗАМ-
УСПЕШЕН ТРЕТМАН СО ПУЛМНАЛНА ЕНДАРТЕРЕКТОМИЈА
PULMONARY HYPERTENSION AFTER ACUTE PULMONARY EMBOLISM -
SUCCESSFUL TREATMENT WITH PULMONARY ENDARTERECTOMY**

Angelina Borizanova, Naidenka Gronkova-Zlatareva, Elena Kinova, Vasil Velchev, Walter Klepetko,
Elizabeta Srbinovska and Assen Goudev.....

177

Editorial

КЛИНИЧКА ПРОТЕОМИКА - ЦЕЛИ И ПЕРСПЕКТИВИ

CLINICAL PROTEOMICS - AIMS AND PERSPECTIVES

Katerina Markoska¹, Jelka Masin-Spasovska², Olivera Stojceva-Taneva² and Goce Spasovski²

¹PhD student, Medical Faculty, University "Ss. Cyril and Methodius" of Skopje, Macedonia, ²Department of Nephrology, University "Ss. Cyril and Methodius", Medical Faculty, Skopje, Republic of Macedonia

Biomarkers are measurable characteristics that provide information about normal physiological or pathogenic processes, as well as about a disease progression or response to treatment. Usually their levels differ from average levels typical for health or a given condition. When these characteristics are represented by a specific protein or peptide, they are defined as proteomic biomarkers [1,2].

Proteomics has the ability to characterize an extensive set of proteins that are present in a given specimen. One of the aims of proteomics is to discover biomarkers of a disease and therefore has potential to contribute to personalized medicine [3,4].

Clinical proteomics is an interdisciplinary research field with rapidly growing potential that applies proteomic analysis in clinical medicine and bring benefits to patients improving current diagnostic methods. It has capacity to bring together researchers from different fields and combine findings, not only from clinical science and protein biochemistry, but also from physical analysis of the proteins and bioinformatics. Using new approaches, clinical proteomics aims to establish noninvasive screening and monitoring methods that would improve disease management and patient's health [5-7].

Nowadays, the focus in this field is to discover biomarkers that would enable early disease detection, prediction of its progression and outcome as well as identifying individuals at risk of developing diseases. In addition, it is also imperative to identify biomarkers that would be able to predict and/or monitor patients' response to a specific therapy as well as to identify novel therapeutic targets [8,9].

Proteomics studies can be performed using different sources of samples such as tissue and body fluids. Currently many studies are addressing the biomarker specificity through a parallel analysis of tissue and biological fluids. Clinical proteomics mostly focus on blood and urine analysis, as they are easily accessible biological fluids. Nevertheless, urine has been so far the most successful target for clinical proteomics, where with recent technologies assessing of thousands peptides and proteins is possible within 60-90 min.

Thus, urine proteome analysis becomes a routine tool in research and towards clinical implementation [10-13]. Implementation of the findings and their clinical impact are the main criteria for defining the success and scientific validity of this field. Despite that many proteomic biomarkers have been identified, their clinical impact is not always properly determined. The main reason for this can be the lack of proper study design or subsequent validation of the findings [14]. Hence, these issues can be avoided setting up an appropriate study design with clearly defined clinical questions, outcomes and purpose of the biomarker research. Primarily, the purpose may be prevention that aims at screening healthy individuals and determining their need for treatment and subsequent monitoring. One should also take into account what test options for prevention and treatment are available and whether the new findings show a superior diagnostic and monitoring performance to replace them [4].

During the study, a sufficient demographic and/or clinical data should be collected and presented, as well as information on the sampling and experimental methodology. An appropriate sample size is also important for the statistical power of the findings, which should be in the end tested in independent sets [2].

It is essential for the biomarker evaluation to have a well-characterized disease and control samples. Afterwards, a screening for representative proteins and their actual abundance should be performed, followed by detection of those showing a difference in expression level between the disease and control group. Furthermore, additional experiments testing the specificity and sensitivity of the selected markers are required. Finally, those with best performance ability can be selected for development of clinical assays [15,16].

Nowadays, majority of the available diagnostic tests at the clinics are based on a single proteomic-based biomarker with a moderate performance not fairly sufficient to define the specific disease. Therefore it is expected that an improved diagnostic method should be observed through identification and validation of a clearly defined biomarker panel, sequenced and validated in a blinded set [10,13,17]. Recent advances in urinary proteomics have enabled to identify biomarkers not only for urogenital diseases (chronic kidney disease, diabetic nephropathy, antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis, IgA nephro-

Correspondence to: Goce Spasovski, University clinic of nephrology, "Vodnjanska" 17, 1000 Skopje, R. Macedonia; Phone: +389 70 268 232; Faks: +389 2 3220 935; E-mail: spasovski.goce@gmail.com

pathy, autosomal dominant polycystic kidney disease, acute kidney injury, acute renal allograft rejection, prostate cancer, bladder cancer), but also for other systemic diseases and processes such as coronary artery disease, diabetes, preeclampsia and aging. Although these biomarkers have potential to improve the care of patients and have been validated in blinded studies, still none of them have been approved by regulatory authorities so far [6,10,18]. In order to develop and use the proteomic test, discovery and validation processes should have been already performed. Finally, as they are to be routinely used and easily performed in laboratories, their cost-effectiveness, performance, outcomes and impact on decision-making should be considered [4].

Applying basic proteomic discoveries and experimental approaches to clinical settings and covering all steps from biomarker identification to clinical implementation take time and it is highly complex and expensive process. It is evident, that there is a need of interdisciplinary collaboration and involvement of a wide variety of stakeholders (clinicians, statisticians, health economists, representatives of patient groups, health insurance, pharmaceutical companies, biobanks, and regulatory agencies) [4,5,7,19].

Taking all together, it is reasonable to hope that the actual goal of clinical proteomics which is to implement proteomic biomarkers for improvement in medicine and patient's care can be reached in the near future.

Acknowledgments: The research presented in this manuscript was supported by "Clinical and system-omics for the identification of the Molecular Determinants of established Chronic Kidney Disease" (iMODE-CKD, PEOPLE-ITN-GA-2013-608332).

Conflict of interest statement. None declared.

References

1. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69(3): 89-95.
2. Mischak H, *et al.* Recommendations for biomarker identification and qualification in clinical proteomics. *Sci Transl Med* 2010; 2(46): 1-6.
3. Boja E, *et al.* Evolution of clinical proteomics and its role in medicine. *J Proteome Res* 2011; 10(1): 66-84.
4. Ioannidis JP. A roadmap for successful applications of clinical proteomics. *Proteomics Clin Appl* 2011; 5(5-6): 241-247.
5. Celis JE and Moreira JM. Clinical proteomics. *Mol Cell Proteomics* 2008; 7(10): 1779.
6. Albalat A, Mischak H, and Mullen W. Clinical application of urinary proteomics/peptidomics. *Expert Rev Proteomics* 2011; 8(5): 615-629.
7. Mischak H, *et al.* Implementation of proteomic biomarkers: making it work. *Eur J Clin Invest* 2012; 42(9): 1027-1036.
8. Fehniger TE, and Marko-Varga GA. Clinical proteomics today. *J Proteome Res* 2011; 10(1): 3. doi: 10.1021/pr1012569.
9. Guest PC, Gottschalk MG, and Bahn S. Proteomics: improving biomarker translation to modern medicine? *Genome Med* 2013; 5(2): 1-2.
10. Albalat A, Mischak H, and Mullen W. Urine proteomics in clinical applications: technologies, principal considerations and clinical implementation. *Prilozi* 2011; 32(1): 13-44.
11. Plymoth A, and Hainaut P. Proteomics beyond proteomics: toward clinical applications. *Curr Opin Oncol* 2011; 23(1): 77-82.
12. Mischak H. Pro: Urine proteomics as a liquid kidney biopsy: no more kidney punctures! *Nephrol Dial Transplant* 2015; 30(4): 532-537.
13. Fliser D, *et al.* Advances in urinary proteome analysis and biomarker discovery. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18(4): 1057-1071.
14. Mischak H. How to get proteomics to the clinic? Issues in clinical proteomics, exemplified by CE-MS. *Proteomics Clin Appl* 2012; 6(9-10): 437-442.
15. Domon B, and Gallien S. Recent advances in targeted proteomics for clinical applications. *Proteomics Clin Appl* 2015; 9(3-4): 423-431.
16. Gallien S, Duriez E, and Domon B. Selected reaction monitoring applied to proteomics. *J Mass Spectrom* 2011; 46(3): 298-312.
17. Mischak H, *et al.* Clinical proteomics: A need to define the field and to begin to set adequate standards. *Proteomics Clin Appl* 2007; 1(2): 148-156.
18. Julian BA, *et al.* Application of Proteomic Analysis to Renal Disease in the Clinic. *Proteomics Clin Appl* 2009; 3(9): 1023-1028.
19. Khoury MJ, Gwinn M, and Ioannidis JP. The emergence of translational epidemiology: from scientific discovery to population health impact. *Am J Epidemiol* 2010; 172(5): 517-524.

Review

ПРОЦЕНКА НА ГЛОМЕРУЛАРНАТА ФИЛТРАЦИСКА СТАПКА КАЈ ПАЦИЕНТИ СО ХРОНИЧНА БУБРЕЖНА БОЛЕСТ

ASSESSMENT OF GLOMERULAR FILTRATION RATE IN CHRONIC KIDNEY DISEASE PATIENTS

Olivera Stojceva-Taneva¹, Jelka Masin Spasovska¹ and Borjanka Taneva²

¹University Clinic of Nephrology, Skopje, ²University Clinic of Cardiology, Skopje, University "Ss. Cyril and Methodius", Medical Faculty, Skopje, Republic of Macedonia

Abstract

Chronic kidney disease (CKD) is a worldwide problem and a new epidemic of the 20th and the 21st century. The prevalence of CKD differs among countries and ethnicities. According to the level of glomerular filtration rate (GFR) and urinary abnormalities, there are five stages of CKD. Clinical assessment of kidney function is central to the practice of medicine and GFR is the best index of it. Accurate values of GFR are needed for optimal decision making in clinical settings. An ideal tool to easily and correctly assess GFR in everyday practice is not yet found. GFR can be either measured, based on the clearance of an exogenous marker which is neither secreted nor absorbed by the renal tubules, or estimated, using various equations, mostly based on the blood creatinine level. The gold standard for measurement of GFR is inulin clearance, the only known ideal filtration marker, but it is difficult for handling and is invasive; therefore, it is not convenient for everyday practice. Measurement of GFR can be performed using urinary or plasma clearance of different exogenous or endogenous markers. The most widely used endogenous marker is serum creatinine and its urinary clearance, but it is a subject to errors due to inaccurate time record and urinary collection. Iothalamate is an exogenous marker, which is also used in its radioactive form as I¹²⁵ iothalamate, but its urinary clearance has a small positive bias. Iohexol is another exogenous marker and can be used for plasma and urinary clearance, but major limitations are complexity and expense. The urinary clearance of Cr⁵¹ EDTA and Tc^{99m} DTPA underestimate true GFR, mostly as a result of tubular reabsorption. Estimating GFR by prediction equations is a subject of errors, too, but more convenient and practical for everyday use. The most widely used prediction equations are the Cockcroft&Gault formula, the original and abbreviated MDRD formula, the CKD-EPI equation, several Cystatin-C based equations, the CRIC study equation and many

others. In spite of their limitations, usage of these equations is relevant in most clinical circumstances.

Key words: chronic kidney disease, glomerular filtration rate, predicting equations

Апстракт

Хроничната бубрежна болест (ХББ) е нашироко распространет проблем и претставува нова епидемија на 20-тиот и 21-от век. Преваленцијата на ХББ се разликува меѓу разни земји и етникуми. Според нивото на гломеруларната филтрациска стапка (ГФС) и уринарните абнормалности, постојат пет стадиуми на ХББ. Клиничката процена на бубрежната функција е од клучна важност во медицинската практика, а ГФС е нејзиниот најдобар показател. Потребни се точни вредности на ГФС за донесување оптимални одлуки во клиничкото опкружување. Но, сè уште не е пронајдена идеална алатка за лесна и точна процена на ГФС во секојдневната пракса.

ГФС може да се измери или врз основа на клиренсот на егзоген маркер кој ниту ќе се секретира, ниту ќе се апсорбира во реналните тубули, или да се одреди со помош на употреба на разни формули, најчесто базирани на нивото на креатинин во крвта.

Златен стандард за мерење на ГФС е клиренсот на инулин, единствениот познат идеален маркер на филтрација, но сепак тежок за ракување и инвазивен, поради што не е погоден за употреба во секојдневната практика. Мерењет на ГФС може да се изведе преку користење на уринарен или плазма клиренс на различни егзогени или ендогени маркери.

Најшироко употребуван ендоген маркер е серумскиот креатинин и неговиот уринарен клиренс, но е предмет на грешки поради неточното забележување на времето и собирањето на урината. Јоталаматот е егзоген маркер кој исто така се

Correspondence to: Olivera Stojceva-Taneva, University Clinic of Nephrology, "Vodnjanska" 17, 1000 Skopje, R. Macedonia Phone: +389 70 227 213; E-mail: ostojevataneva@yahoo.com

употребува и во неговата радиоактивна форма на Јод¹²⁵ јоталамат, но неговиот уринарен клиренс дава мала позитивна грешка. Јохексолот е друг егзоген маркер и може да се користи и за плазма и за уринарен клиренс, но поголеми недостатоци се неговото комплексно ракување и висока цена. Уринарниот клиренс на Cr⁵¹ EDTA и Tc^{99m} DTPA ја потценуваат точната ГФР, главно поради тубуларна реапсорпција.

Одредувањето на ГФС преку предиктивни формули е исто така предмет на решки, но затоа пак е попогодно и практично во секојдневната практика. Најчесто употребените предиктивни формули се формулата на Cockcroft&Gault, оригиналната и скратената формула од MDRD студијата, СКД-ЕПІ формулата, неколку формули базирани на нивото на Cystatin-C, формулата од CRIS-студијата и многу други. И покрај нивните ограничувања, употребата на овие формули е релевантна во поголем број клинички состојби.

Клучни зборови: хронична бубрежна болест, гломеруларна филтрациска стапка, предиктивни формули

Introduction

Chronic kidney disease (CKD) is a very important problem worldwide because it is the new epidemic of the twentieth and twenty-first centuries. A variety of risk factors are being involved in its etiology and pathophysiology. Diabetic nephropathy is the leading cause of end-stage renal disease (ESRD), but also, the problem of poverty currently is of increasing prevalence. The prevalence of CKD differs among countries and ethnicities. It is of great importance for the policy makers to know the prevalence of CKD because it is associated with high morbidity and mortality, along with the high cost of renal replacement therapy (RRT).

Table 1. Staging of CKD according to the level of GFR

GFR category	GFR (ml/min/1.73 m ²)	Terms
G1	≥90	Normal or high
G2	60-89	Mildly decreased
G3a	45-59	Mildly to moderately decreased
G3b	30-44	Moderately to severely decreased
G4	15-29	Severely decreased
G5	<15	Kidney failure

The NKF (K-DOQI) guidelines recommend estimating GFR and screening for albuminuria in patients with risk factors for CKD, including diabetes, hypertension, systemic illnesses, age over 60 years, and family history of chronic kidney disease [1]. CKD is defined as presence of kidney damage (structural or functional abnormalities

evidenced by blood, urine, or imaging studies) lasting for ≥3 months with or without decreased glomerular filtration rate (GFR), or a GFR < 60 mL/min/1.73 m² for ≥3 months with or without kidney damage. Classification of CKD severity is shown in Table 1 [2].

Clinical assessment of kidney function is central to the practice of medicine. GFR is the best index of kidney function in both healthy individuals and in patients. Therefore, accurate values of GFR are needed for optimal decision making in many clinical settings.

The level of GFR is only one parameter by which clinicians evaluate kidney disease. But, also, the presence or absence of complications, risk factors for rapid progression and comorbid conditions and the presence of albuminuria are very important.

GFR and its change over time is vital to the detection of CKD, for understanding its severity and making decisions about diagnosis, prognosis and treatment.

So, how should physicians assess GFR routinely, in everyday practice? Unfortunately, an ideal tool to easily and correctly assess GFR in everyday practice has not yet been found.

How should an ideal GFR marker look like? The ideal marker for GFR determinations would appear endogenously in the plasma at a constant rate, be freely filtered at the glomerulus, be neither reabsorbed nor secreted by the renal tubule, and undergo no extrarenal elimination [3].

It is very important to assess GFR correctly. In terms of diagnosis, it is important to know the GFR in order to detect CKD, or to evaluate GFR for kidney donation. If there is a change in the level of GFR, it is important to know GFR in order to detect eventual acute deterioration of CKD, or to detect the progression of CKD. In terms of prognosis, it is important to know GFR in order to predict the risk of complications, risk of cardiovascular diseases and mortality, and also the risk of kidney failure. In terms of treatment, the level of GFR is important to know how to dose and monitor medications cleared by the kidney, to determine the safety of procedures, to know when to refer to a nephrologist or for kidney transplantation or vascular access [4,5].

Assessment of GFR

GFR can be either measured, based on the clearance of an exogenous marker which is neither secreted nor absorbed by the renal tubules, or estimated, using various equations, based mostly on the blood creatinine level.

Measurement of GFR

The gold standard for the measurement of GFR is a urinary clearance of an ideal filtration marker (a substance that is freely filtered at the glomerulus, neither reabsorbed, secreted, synthesized, or metabolized by the tubules, and does not alter the function of the kidney). Inulin, a 5200-D, inert, uncharged polymer of fructose, is the only known ideal filtration marker.

The classic clearance method for measurement of GFR (mGFR) is that of Homer Smith: fasting conditions in the morning, a continuous IV infusion, multiple clearance periods requiring repetitive blood and urine collections over 3 h, oral water loading to stimulate diuresis, bladder catheterization to assure complete urine collection and careful timing of blood sampling at the midpoint of the urine collection. However, inulin is difficult to handle and it is invasive. This imposed a need for alternative clearance methods and filtration markers. All other filtration markers deviate from ideal behavior, and clearance measurements are difficult to perform. The values for mGFR with other filtration markers usually contain an element of error, which differentiates it from true physiologic GFR. Bias generally reflects systematic differences in renal handling, extrarenal metabolism, or assay of the filtration marker.

There are two methods to measure GFR: urinary clearance and plasma clearance.

Urinary clearance for measurement of GFR

This is the most direct method for measurement of GFR.

$$\text{Clearance} = [C(u) \times V(u)] / C(p)$$

C- concentration of the endogenous or exogenous marker

Measurement of creatinine clearance (Ccr), an endogenous marker is performed in virtually every clinical center. Within a long urinary collection period - 6 to 24h, a single blood sample is obtained either at the beginning or end of the collection. This method is a subject to errors mainly because of the inaccurate record of time and complete urine collection.

Measurement of GFR with an exogenous filtration marker requires multiple (2 to 4) 20- to 30-min. urine collections. The clearance is computed for each urine collection period, and the results are averaged. The advantages are relatively short duration of time, the marker is administered by IV bolus or bolus SC injection (slower release of the marker into the circulation and more constant plasma levels) [4].

Plasma clearance for measurement of GFR

In principle, plasma clearance should be unbiased and more precise except for markers undergoing extrarenal elimination. GFR is calculated from plasma clearance after a bolus IV injection of the marker. Clearance equals the amount of the marker administered, divided by the AUC of plasma concentration over time. The decline in serum levels is a result of the immediate disappearance of the marker from the plasma into its volume of distribution (fast component) and to renal excretion (slow component). The major disadvantage is the length of time (5 h) needed to determine the disappearance curve; even longer time is needed in people with very low GFR (8 to 10 h). Shorter time periods may lead to overestima-

tion of GFR. It is difficult to obtain repeated blood samples in people with poor vascular access. In persons who have a large volume of distribution, such as edematous conditions, the initial component is prolonged, leading to an overestimation of GFR.

Nuclear imaging of mGFR

Nuclear imaging of measured GFR is performed by counting a radioactive exogenous filtration marker over the kidneys and bladder. It can be combined with renal imaging, usually using ^{99m}Tc-DTPA, and is useful for determination of split kidney function. Currently, magnetic resonance imaging is being introduced for measurement of GFR.

Exogenous markers

Iothalamate

Iothalamate is commonly administered as a radioactive iodine label, but also in its nonradioactive form. It is measured by using a high-performance-liquid-chromatography (HPLC) without impact on its filtration properties. In the radioactive form-bolus SC injection of ¹²⁵I-iothalamate has been widely adopted media. Urinary clearance of iothalamate compared to inulin has a small positive bias, probably because of tubular secretion of iothalamate [6].

Iohexol

Iohexol is administered by bolus IV injection for plasma clearance, but could be used for urinary clearance as well. Other advantages of this method are low expense, wide availability, stability in biologic fluids, and rare adverse reactions when given as a small dose (5 ml of 300 mg/ml iodine) when assayed with a sensitive HPLC assay. Its major limitations are the complexity and expense of the HPLC assay [4].

Other markers for measured GFR

⁵¹Cr-EDTA (chromium 51 ethylen diamine tetra acetic acid) The urinary clearance of ⁵¹Cr-EDTA consistently underestimates inulin clearance by 5 to 15% in most studies, suggesting tubular reabsorption.

^{99m}Tc DTPA

Diethylenetriaminopenta-acetic acid (DTPA), an analog of EDTA, usually labeled with ^{99m}Tc has a short half-life (6 h) minimal radiation exposure; it is freely filtered at the glomerulus, has minimal tubular reabsorption and may undergo extrarenal elimination. The major limitation is the dissociation of ^{99m}Tc from DTPA and binding to plasma proteins, leading to underestimation in GFR.

Magnetic resonance

The magnetic resonance imaging contrast agents, gadolinium-DTPA or gadolinium-DOTA, are novel exogenous filtration markers. These agents are widely available and

have a low rate of allergic reactions. The systemic nephrogenic fibrosis has diminished transiently the enthusiasm for these agents in people with lower levels of GFR, but because of the very low dose needed, this reaction is highly unlikely.

Endogenous markers for measured GFR

Urea (urea clearance)

Urea is the end-product of protein catabolism. It is synthesized in the liver mainly from dietary protein intake. Its production increases with high protein diets, medications like corticosteroids and tetracyclines, or conditions like trauma, gastrointestinal hemorrhage, infections, heart failure, or acute kidney injury [7]. Urea is freely filtered at the glomerulus, 40%-50% reabsorbed at proximal and distal tubules, thus leading to underestimation of GFR. Volume depletion and antidiuresis increase urea reabsorption which leads to greater decrease in urea clearance than in GFR. Extracellular volume expansion and diuresis increase urea clearance more than the GFR. Urea is an unreliable marker of kidney function.

Serum creatinine

Serum creatinine is unreliable marker of kidney function. The same serum creatinine may present different level of GFR in different persons with different age and body weight. For example, a serum creatinine of 106 micromol/l will present a GFR of 98 ml/min/1.73 m² in a young 22-year-old black man, estimated by MDRD equation, 66 ml/min/1.73 m² in a 58-year-old white man and 46 ml/min/1.73 m² in a 80-year-old white woman.

Creatinine clearance

The clearance of creatinine is calculated by the following equation:

$$CrCl \text{ (ml/min)} = \frac{\text{urine creatinine (micromol/l)} \times 24\text{-hour volume (ml)}}{[\text{creatinine in blood (micromole/l)}] \times 24 \times 60 \text{ min}}$$

Serum creatinine is produced by skeletal muscle, contained in cooked meat. Therefore, older age, white race and female gender are associated with lower Scr. Also, amputation and vegetarian diet lead to alterations in Scr. Creatinine is freely filtered, not reabsorbed, but 10%-15% is secreted at the tubules and extrarenal elimination occurs through the gastrointestinal tract.

In CKD patients, the compensatory hypertrophy of functioning nephrons initially prevents the increase in Scr. At greater fall in GFR, in later stages of CKD, there is a hypersecretion of creatinine in the functional tubules which leads to overestimation of GFR. It is well-known that cimetidine inhibits tubular secretion of creatinine which leads to better GFR estimation [8]. But, there are also some limitations. The 24-h urine collection is cumbersome, error-prone because of specimen losses and overcollections from failing to flush the first voided sample. The conditions that impact creatinine concentration where its daily production is difficult to estimate include vegeta-

rian diet, malnutrition, obesity, skeletal muscle diseases, paraplegia, quadriplegia or amputation, and pregnancy [9]. Because creatinine clearance tends to overestimate true GFR, and urea clearance underestimates GFR, some nephrologists recommend averaging values of both parameters measured at the same time, thus having a closer estimate of kidney function in patients in stage 4 or 5 CKD [10].

Inaccuracies in creatinine measurement and variations in assay calibration

Most of the equations for estimation of GFR based on Scr measurement including the MDRD equation have been undertaken using a kinetic Jaffe assay (the MDRD has used the Beckman Astra CX3 Analyser). In addition to known problems of calibration, creatinine assays that use the Jaffe reaction are also known to be susceptible to interference from non-creatinine ("pseudo") chromogens, which may account for up to 20% of the apparent creatinine component of normal serum. Enzymatic creatinine assays do not typically suffer from this interference [11]. In an attempt to improve this situation, Roche Diagnostics Ltd have introduced the so-called "compensated" Jaffe assay for measurement of serum creatinine, in which a fixed component is automatically subtracted from each result to account for a reaction due to non-creatinine chromogens. The revised isotope dilution mass spectrometry (ID-MS), a traceable version of the MDRD equation was published, validated for use with methods demonstrating zero or minimal bias compared to ID-MS [11].

Standardization and Calibration of Serum Creatinine Assay

Serum creatinine measurements should be standardized. In the classic and modified Jaffé reaction, up to 20% of the color reaction in serum or plasma in normal subjects is due to substances other than creatinine ("non-creatinine chromogens"). Calibration of serum creatinine assays to adjust for this interference is not standardized across laboratories, so that systematic differences among laboratories account for most of the differences between observed and expected results compared to a reference standard. The lack of standardization can also cause differences in serum creatinine measurements within laboratories over time. Calibration should be traceable to an international reference creatinine method. Isotope dilution mass spectrometry (IDMS) is an appropriate method [12].

Reporting Estimated GFR

Estimated GFR should be reported automatically using an equation based on serum creatinine following assay calibration and patient variables. Clinical laboratories are critical in the implementation. This recommendation does not preclude reporting GFR estimates prior to calibration, recognizing that GFR estimates >45 to 60 mL/min/1.73 m² are sensitive to calibration differences.

For all of the above, GFR levels of <60 have been demonstrated to be abnormal. Values from 45 to 59 are estimated with less precision. Some individuals with an initial abnormal GFR in this range will have a higher estimate on the subsequent testing. Averaging of multiple measurements will improve the precision of estimated GFRs as it does that of measured inulin clearance [12].

Conditions where creatinine clearance underestimates GFR

Drugs which block tubule secretion of creatinine (Trimeptorim Amiloride, Cimetidine, Spironolactone, Probenecid Triamterene), ingestion of cooked meat and incomplete urine volume, all of these may underestimate GFR.

Conditions where creatinine clearance overestimates GFR

Low creatinine production, as in people with constitutional small muscle mass (small women, elderly, amputees), in muscle wasting disorders and malnutrition and administering drugs or endogenous substances that influence creatinine measurement (glucose, ketones, bilirubin, cephalosporins, metamizol), all may lead to overestimation of GFR.

Other endogenous markers-Cystatin C

Cystatin C (CysC) is a protein belonging to the cysteine protease inhibitor superfamily (gene product, generated continuously). It is produced by nucleated cells, filtered at the glomerulus, reabsorbed and metabolized at tubules. Its reabsorption, metabolism and extrarenal excretion hinder proper measurement.

Factors associated with CysC are height, weight, smoking, diabetes, WBC, thyroid function status, corticosteroids, inflammation (CRP level). Unlike Scr, it is not affected by muscle mass and dietary factors. Older age and male gender may be associated with higher CysC. It is more sensitive than Scr in detecting early reduction in GFR, but at level ≤ 70 , Scr may be better.

$$\text{Ccr} = (170 \times \text{Scr} \times 0.0113)^{-0.999} \times \text{Age}^{0.176} \times \text{Surea} \times 2.8^{-0.17} \times \text{Salb}^{0.318} \times 0.762$$

The abbreviated MDRD equation is 4-variable:

$$\text{Ccr} = 186 * (\text{Scr}/88.4)^{-1.154} \times \text{Age}^{-0.203}$$

x 0,742 if female

$$\text{Ccr} = 175 * (\text{Scr}/88.4)^{-1.154} \times \text{Age}^{-0.203} \text{ (if standardized Scr is used)}$$

The calibration to a standardized Scr based on the gold standard methodology is recommended [14] as it gives more accurate eGFRs.

While Cockcroft&Gault relies on weight, MDRD is adjusted for BSA, accounting for variations in muscle mass with certain diseases or amputations.

MDRD outperforms Cockcroft&Gault in older age, obese patients and diabetics [15]. But, like Cockcroft&Gault,

Estimation of GFR using endogenous filtration markers (prediction equations)

Prediction equations for estimation of GFR include demographic and physiologic variables affecting endogenous substances like creatinine or CysC. Careful interpretation of the results is needed. The equations are evaluated through measures of bias, precision and accuracy:

- Bias - mean difference between measured GFR (mGFR) and estimated GFR (eGFR);
- Precision - variation or spread around that mean difference;
- Accuracy - refers to both, bias and precision (estimates with high accuracy have low bias and high precision [13]).

The Cockcroft & Gault equation-the formula is based on a study conducted in 1976 (Cockcroft&Gault)

$$\text{CrCl} = [(140 - \text{age}) \times \text{Wt}(\text{kg})] / (72 \times \text{Scr in mg/dl})$$

$$\text{CrCl} = (140 - \text{age}) \times 1,23 \times \text{Wt} / \text{Scr (in micromol/l)}$$

X 0,85 for females

The Cockcroft&Gault equation is based on serum creatinine. The creatinine clearance varies from mGFR due to Scr measurement errors. Recalibration of the original assay for creatinine is not possible, and the laboratory method used for this formula is now abandoned [7].

The Cockcroft&Gault equation overestimates GFR in obesity and fluid overload, the actual weight may not clearly predict muscle mass. But, despite all limitations, this equation is useful for tracking changes in kidney function. Improvement is possible when using adjustment for body surface area-BSA ($\text{CrCl}/1.73\text{m}^2$)-modified Cockcroft&Gault.

The MDRD Equation (Modification of diet in renal disease study equation)

This equation was recommended by National Kidney Foundation and since 2002 it has been in wide clinical use. The MDRD study included 1268 subjects, non-diabetic CKD patients. The original MDRD equation has 6 variables:

it is less accurate in early CKD, and it is biased toward underestimating kidney function.

Cystatin C based equations

There is a lack of homogeneity in eGFR for similar CysC levels by using different equations.

But some studies report improvement in GFR estimation [16].

GFR is more accurate by CysC equations in populations producing low levels of creatinine (elderly, children, transplant recipients, cirrhosis). It also gives better estimate when using both, Scr- and CysC-based equations, than separately. Calibration of CysC assays is recommended.

Larson: $GFR = 99,43 \times CysC^{-1,5837}$

Grubb: $GFR = 84,69 \times CysC^{-1,680}$ (x0,948 f)

Hoek: $GFR = -4,32 + 80,35 \times 1/CysC$

CKD-EPI cystatin and creatinine equation adjusted for age, sex and race:

$$eGFR = 177,6 \times Scr^{-0,65} \times CysC^{-0,57} \times age^{-0,20} \times 0,80$$

(if female) x1,11 (if black)

CKD epidemiology collaboration (CKD-EPI) equation

The main objective for this study equation was to achieve greater accuracy at higher GFRs compared to MDRD [17]. The CKD-EPI equation outperforms the recommend-

Table 2. The CKD-EPI equation for estimating GFR

Race and sex	Serum creatinine μmol/l (mg/dl)	Equation
<i>Black</i>		
Female	≤ 62(≤0.7)	$GFR = 166 \times (Scr/0.7)^{-0,329} \times (0.993)^{age}$
	>62(>0.7)	$GFR = 166 \times (Scr/0.7)^{-1,209} \times (0.993)^{age}$
Male	≤ 80(≤0.9)	$GFR = 163 \times (Scr/0.9)^{-0,411} \times (0.993)^{age}$
	>80(>0.9)	$GFR = 163 \times (Scr/0.9)^{-1,209} \times (0.993)^{age}$
<i>White</i>		
Female	≤ 62(≤0.7)	$GFR = 144 \times (Scr/0.7)^{-0,329} \times (0.993)^{age}$
	>62(>0.7)	$GFR = 144 \times (Scr/0.7)^{-1,209} \times (0.993)^{age}$
Male	≤ 80(≤0.9)	$GFR = 141 \times (Scr/0.9)^{-0,411} \times (0.993)^{age}$
	>80(>0.9)	$GFR = 141 \times (Scr/0.9)^{-1,209} \times (0.993)^{age}$

ded MDRD equation. It has lower bias, higher accuracy and prediction ($p < 0.001$), mostly in patients with $eGFR \geq 60$ ml/min/1.73 m². The CKD-EPI prevalence of CKD was 11.5%, and the MDRD prevalence was 13.1% [18].

Chronic renal insufficiency Cohort (CRIC) study equation

Aiming to improve estimation of GFR, new eGFR equation was developed in the CRIC study [19]-including Scr, CysC, age, gender and race [20].

While the CRIC estimating equation performs very well overall, accuracy declines among certain subgroups including older participants, women, blacks, diabetics, obese, those with higher levels of inflammation, and those with lower levels of kidney function. External validation is required to determine its clinical utility.

Predicting equations

Considering all equations for kidney function estimation, future studies should pursue new markers to improve accuracy of GFR estimates and explore methods to evaluate change in GFR over time [13].

Conclusions

Estimating GFR by the most used equations (Cockcroft& Gault, MDRD, CKD-EPI or Cystatin C) is relevant and sufficient for clinicians in most circumstances, in spite of their limitations.

For patients where eGFR (based on serum creatinine) is likely to be inaccurate (extremes of age and body size, severe malnutrition or obesity, skeletal muscle disease,

paraplegia or quadriplegia, vegetarian diet), or inaccurate estimates may have adverse consequences (evaluation for kidney donation, before administration of prolonged courses of toxic medications), measurement of GFR should be considered.

Conflict of interest statement. None declared.

References

1. KDOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification, 2012, http://www2.kidney.org/professionals/KDOQI/guidelines_ckd/oc.htm, accessed 13.09.2015.
2. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int* 2013; 3(1).
3. Swan SK. Methods for GFR quantification. *Clinical Chemistry* 1997; 43(6): 913-914.
4. Stevens LA, Levey AS. Measured GFR as a confirmatory test for estimated GFR. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 2305-2313.
5. Stojceva-Taneva O, Selim G. Vascular access in hemodialysis patients: registry data. *Hippokratia*. 2014; 18(3): 209-211.
6. Kwong YT, Stevens LA, Selvin E, *et al.* Imprecision of urinary Iothalamate clearance as a gold-standard measure of GFR decreases the diagnostic accuracy of kidney function estimating equations. *Am J Kidney Dis* 2010; 56(1): 39-49.
7. Stevens LA, Levey AS. Measurement of kidney function. *Med Clin North Am* 2005; 89(3):457-73
8. Walser M. Assessing renal function from creatinine measurement in adults with chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 1998; 32(1): 23-31.
9. Fawaz A, Badr KF. Measuring filtration function in clinical practice. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006; 15(6): 643-647.
10. Almond A, Siddiqui S, Robertson S, *et al.* Comparison of combined urea and creatinine clearance and prediction equations as measures of residual renal function when GFR is low. *QJM* 2008; 101(8): 619-624.

11. Vickery S, Stevens PE, Dalton RN, *et al.* Does the ID-MS traceable MDRD equation work and is it suitable for use with compensated Jaffe and enzymatic creatinine assays? *Nephrol Dial Trnansplant* 2006; 21(9): 2439-2445.
12. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, *et al.* Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2005; 67(6): 2089-2100.
13. Puzantian H, Townsend R. Understanding kidney function assessment: the basics and advances. *Journal of the American Association of Nurse Practitioners* 2013; 25: 334-341.
14. Coresh J, Astor BC, McQuillan G, *et al.* Calibration and random variation of the serum creatinine assay as critical elements of using equations to estimate glomerular filtration rate. *Am J Kidney Dis* 2002; 39(5): 920-929.
15. Poggio ED, Wang X, Greene T, *et al.* Performance of the Modification of Diet in Renal Disease and Cockcroft-Gault Equations in the Estimation of GFR in Health and in Chronic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 459-466.
16. Tanaka A, Suemaru K, Araki H. A New approach for evaluating renal function and its practical application. *Journal of Pharmacological Sciences* 2007; 105(2): 1-5.
17. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, *et al.* A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009; 150(9): 604-612.
18. Levey AS, Stevens LA. Estimating GFR using the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) Creatinine Equation: more accurate GFR estimates, lower CKD prevalence estimates and better risk predictions. *Am J Kidney Dis* 2010; 55(4): 662-627.
19. Feldman HI, Appel LJ, Chertow GM, *et al.* The Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study: Design and Methods. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: S148-S153.
20. Anderson AH, Yang W, Hsu C, *et al.* Estimating GFR among participants in the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study. *Am J Kidney Dis* 2012; 60: 250-261.

Ревизијален илустрацијски труд

СИНДРОМ НА НЕСООДВЕТНО ЛАЧЕЊЕ НА АНТИДИУРЕТСКИ ХОРМОН-ЧЕСТА НЕПРЕПОЗНАЕНА ПРИЧИНА ЗА ХИПОНАТРЕМИЈА

THE SYNDROME OF INAPPROPRIATE SECRETION OF ANTIDIURETIC HORMONE-UNRECOGNIZED CAUSE OF HYPONATREMIA

Цветанка Волкановска-Илијевска и Гордана Пемовска

ЈЗУ Универзитетска клиника за ендокринологија, дијабетес и метаболични заболувања, Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Медицински факултет Скопје, Република Македонија

Апстракт

Хипонатремијата е често електролитно нарушување поврзано со висок морбидитет и морталитет. Хроничната хипонатремија има негативен ефект врз мозочното и коскениот ткиво, а последиците од акутната хипонатремија може да бидат фатални. Честа причина за хипонатремијата е синдромот на несоодветно лачење на антидиуретски хормон (the syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion-SIADH), состојба која се карактеризира со дилуциона хипонатремија како резултат од прекумерна секреција на антидиуретскиот хормон. SIADH се сретнува во склоп на различни заболувања. Меѓутоа, иако во клиничката пракса хипонатремијата е многу честа, нејзината дијагноза е инсуфициентна, SIADH е често препознатен и хипонатремијата не е соодветно лекувана. Во овој труд е прикажана етиологијата на SIADH, дијагностичкиот пристап кај хипонатремија и третманот на хипонатремија.

Клучни зборови: хипонатремија, синдром на несоодветно лачење на антидиуретски хормон

Abstract

Hyponatremia is the most common electrolyte disturbance encountered in clinical practice, associated with significant morbidity and mortality. Chronic hyponatremia has negative effect on brain and bone tissue, and acute severe hyponatremia can have fatal outcome. Common cause of hyponatremia is the "syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion" (SIADH), a condition characterized by dilutional hyponatremia due to unregulated secretion of antidiuretic hormone. SIADH

can be idiopathic, but most often it is encountered in various clinical diseases. Although hyponatremia is a common electrolyte disturbance, its diagnosis is insufficient, SIADH is often unrecognized and hyponatremia is not appropriately treated. In this article we discuss the etiology of SIADH, diagnosis of hyponatremia and management of hyponatremia.

Key words: hyponatremia, syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion

Вовед

Хипонатремија (концентрација на $[Na^+] < 135 \text{ mmol/L}$) е најчесто електролитно нарушување поврзано со висок морбидитет и морталитет [1-3]. Најчесто настанува како резултат од дисбаланс на водената хомеостаза. Се сретнува во склоп на различни состојби и заболувања и во поголемиот дел од нив хипонатремијата се должи на прекумерна секреција на антидиуретскиот хормон (АДХ). Меѓу нив е и синдромот на несоодветно лачење на антидиуретскиот хормон (syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone SIADH) [2,4]. Иако во клиничката пракса хипонатремијата е многу честа, нејзината дијагноза е инсуфициентна, SIADH е често препознатен и хипонатремијата не е соодветно лекувана.

Физиолошка регулација на водената хомеостаза и SIADH

Антидиуретскиот хормон е главен регулатор на водената хомеостаза во организмот, дејствува на ниво на бубрежните собирни каналчиња преку вазопресин 2 рецепторите. Неговиот ефект се манифестира преку создавање на концентрирана урина и задршка на вода во организмот. Постојат два независни механизма кои ја регулираат секрецијата на АДХ, барорегулација и осмотска регулација. Барорегулацијата се вклучува при

Кореспонденција и рејринг до: Гордана Пемовска, ЈЗУ Универзитетска клиника за ендокринологија, дијабетес и метаболични болести, "Водњанска" 17, 1000 Скопје, Р. Македонија; Тел.: 02 31 47 252; Email: gremovska@hotmail.com

пад на циркулаторниот волумен [5], а осмотската регулација при промени на осмолалноста на плазмата. Кога осмолалноста на плазмата е над 295 mOsm/kg се стимулира лачење на АДХ, а кога осмолалноста е пониска од 275 mOsm/kg се супримира лачењето на АДХ [6].

Во SIADH постои несоодветна секреција на АДХ во услови на ниска осмолалност на плазмата и при нормален циркулаторен волумен [7]. Поради прекумерна секреција на АДХ настанува ексцесивна задршка на вода и дилуциона хипонатремија. SIADH ретко е идиопатско, почесто настанува во склоп на различни состојби и заболувања [8]. Заболувањата и состојбите во кои најчесто се сретнува SIADH се поделени во 5 групи: пулмонални болести (најчесто пневмонија); тумори (најчесто ситноклеточен белодробен карцином); ЦНС заболувања (најчесто субарахноидно крвавење); и при употреба на лекови. Од лековите SIADH најчесто го предизвикуваат тиазидите, селективните инхибитори на преземање на серотонин, антидепресивите и антипсихотиците [9-12].

Постарата популација е изложена на поголем ризик од појава на хипонатремија [13]. Тоа се должи на поголемата инциденција на претходно наведените заболувања и поголемата употреба на ле-

кови кај оваа популација. Исто така, се смета дека при процесот на стареење настанува нарушување во регулацијата на АДХ.

Клиничка слика на хипонатремија

Клиничката слика на хипонатремија зависи од степенот на хипонатремија и временскиот период во кој таа настанува (Табела 1). Кај акутна хипонатремија клиничките манифестации се должат на мозочниот едем. Кога вредностите на натриумот рапидно се намалуваат под 125 mmol/L, може да настане тенторијална хернијација на мозокот, компресија на мозочното стебло и смртен исход [14]. Но, ако хипонатремијата настанува постепено во период подолг од 48 часа, мозочното ткиво има доволно време да се адаптира на хипотоната средина и не настанува мозочен едем. Затоа секоја хипонатремија која настанува во период пократок од 24-48 часа се смета за акутна хипонатремија. Адаптацијата на мозочното ткиво настанува преку губење на органски честички и калиум, кои се неопходни за нормално функционирање на невроните [15]. Поради тоа, хроничната хипонатремија се манифестира со невролошки манифестации, како што се намалена меморија, намалена концентрација

Табела 1. Клиничка слика на хипонатремија

Хронична хипонатремија > 48 часа	Акутна хипонатремија < 24- 48 часа		
	Лесна 130-135 mmol/L	Умерена 125-129 mmol/L	Тешка <125 mmol/L
Нарушена рамнотежа	Главоболка	Наузеа	Конфузија
Намалена меморија	Иритабилност	Повраќање	Халуцинации
Намалена концентрација	Намалена концентрација	Главоболка	Сомноленција
Остеопороза	Намалена меморија	Мусклни крампи	Конвулзии
Остеопоротични фрактури	Промени во расположение	Анорексија	Фокален невролошки дефицит
		Летаргија	Кардиореспираторен дистрес
		Апатија	Кома

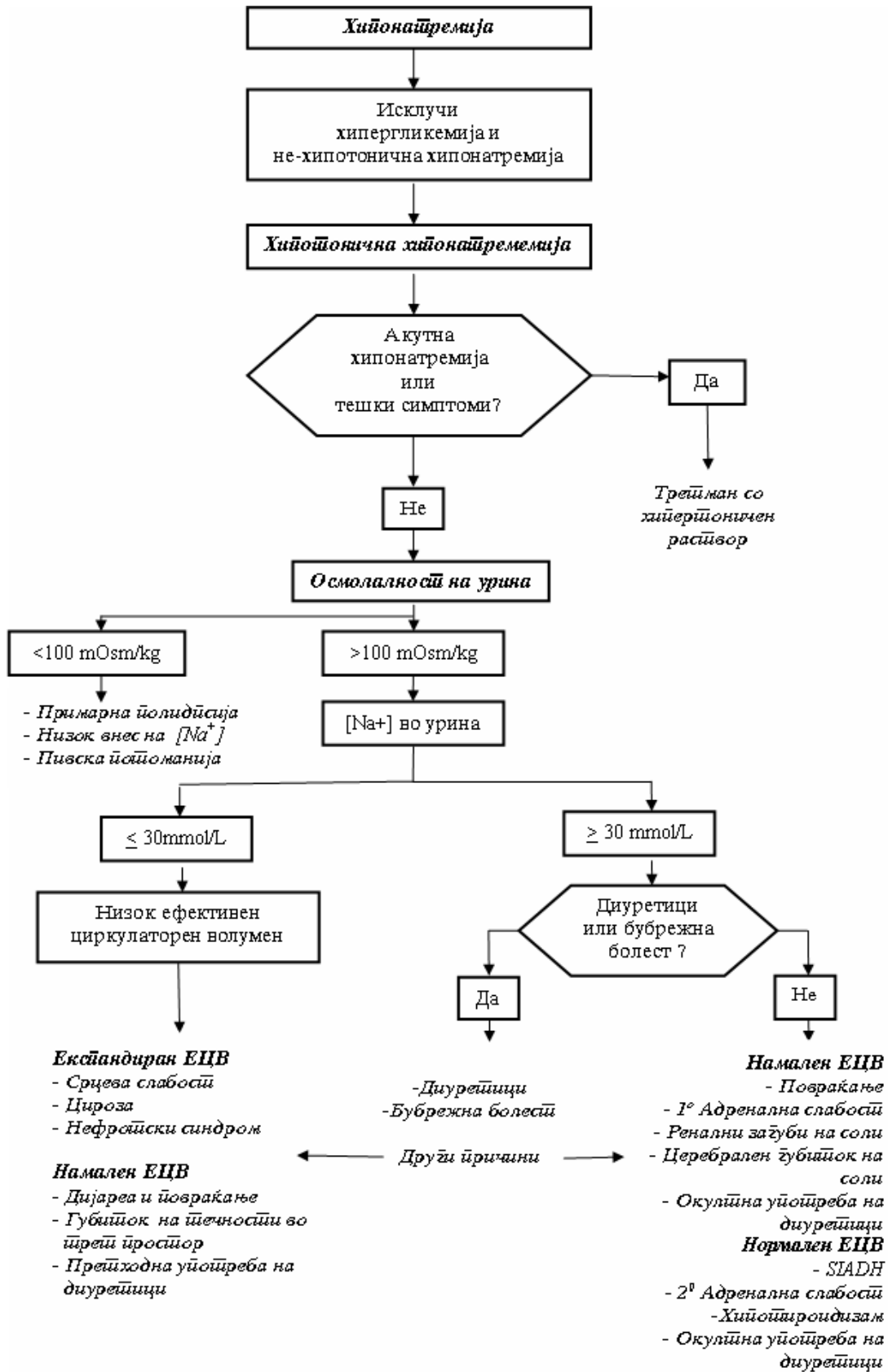
и нарушена рамнотежа [16]. Невролошките манифестации на хипонатремија се суптилни и често остануваат препознаени. Освен тоа, хроничната хипонатремија има негативен ефект и врз коскното ткиво, предизвикува остеопороза, која заедно со нарушената рамнотежа го зголемува ризикот од остеопоротични фрактури [17,18].

Дијагностички пристап кај хипонатремија и SIADH

Дијагнозата на хипонатремија е комплексна. Многу често биохемиските анализи и клиничкиот ста-

тус не се конклузивни, а не ретко истовремено се присутни повеќе болести кои преку различни механизми предизвикуваат хипонатремија.

Евалуацијата на хипонатремија започнува со докажување на постоење на вистинска хипонатремија (Слика 1). Вистинска хипонатремија е хипотоничната хипонатремија, бидејќи само хипотоничната хипонатремија предизвикува мозочен едем. Поради тоа, најпрво треба да се исклучи присуство на хипертонична хипонатремија и изотонична хипонатремија (Табела 2).



Сл. 1. Алгоритам-дијагностички пристап кај хипонатремија Spasovski G et al. Eur J Endocrinol 2014; 170(3): G1-47.

Табела 2. Класификација на хипонатремија според осмолалност на плазма

Осмолалност на плазма	[Na ⁺] во серум (mmol/L)	Осмолалност на плазма (mOsm/kg)	Етиологија
Хипотонична	<135	Ниска < 275	SIADH Конгестивна срцева слабост Цироза Хипергликемија
Изотонична	<135	Нормална 275-295	Псевдохипонатремија (хиперпротеинемија, хиперлипидемија) Тешка хипергликемија
Хипертонична	<135	Висока >285	со дехидратација Манитол

Хипотонична хипонатремија е хипонатремија со ниска осмолалност на плазмата (<275 mOsm/kg). Осмолалноста на плазмата може лабораторис-

ки да се измери или да се пресмета според следнава формула:

$$\text{Осмолалност на плазма (mOsm/kg H}_2\text{O)} = 2 \times [\text{серум Na (mmol/L)} + \text{серум K (mmol/L)}] + \text{глицемија (mmol/L)}$$

Изотонична хипонатремија или псевдохипонатремија е лабораториски артефакт којшто настанува како резултат од присуство на многу висока концентрација на одредени молекули (тешка хиперлипидемија и парапротеинемија) кои интерферираат со мерењето на концентрацијата на натриум во серум [19,20]. Хипертонична хипонатремија настанува кога во плазмата се присутни молекули коишто ја повлекуваат водата од интра-

целуларниот во екстрацелуларниот простор, заради што настанува разредување на серумот. Тоа е случај при хипергликемија. Имено, при пораст на гликемијата над 5,5 mmol/L, за секои 5,5 mmol/L покачена гликемија концентрацијата на [Na⁺] се намалува за 2,4 mmol/L. Затоа ако постои хипонатремија и хипергликемија треба да се направи корекција на концентрацијата на [Na⁺] според следнава формула [21]:

$$\text{Корижиран Na (mmol/L)} = \text{измерен Na (mmol/L)} + 2.4 \times [\text{глицемија (mmol/L)} - 5.5 \text{ mmol/L}] / 5.5 \text{ mmol/L}$$

Ако постои хипотонична хипонатремија, следен дијагностички чекор е клиничка проценка на екстрацелуларниот волумен (ЕЦВ) и проценка на

осмолалноста на урината. Хипотоничната хипонатремија според ЕЦВ може да биде хиперволемична, хиповодемична и нормо-

Табела 3. Класификација на хипонатремија според екстрацелуларен волумен (ЕЦВ)

ЕЦВ	[Na ⁺] во серум (mmol/L)	Клинички карактеристики	Етиологија
Хиповолемија (ЕЦВ намален)	<135	Ортостатска хипотензија; Суви слузници; Намален кожен тургор; Покачен U/Cr; Висока урична к-на во серум	Загуба на течности преку кожа, ГИТ и бубрези; Диуретска терапија; Синдром на церебрална загуба на соли; Примарна адrenalна слабост SIADH;
Нормоволемија (ЕЦВ нормален)	<135	Не постојат знаци за намален или зголемен ЕЦВ; U/Cr нормален; Концентрација на урична к-на во серум нормална; [Na ⁺] во урина >30 mmol/L	НСАИЛ; Секундарна адrenalна слабост; Хипотироидизам; Хипонатремија предизвикана од физички напор; Низок внес на соли; Полидипсија
Хиперволемија (ЕЦВ зголемен)	<135	Едем; Асцитес; Пулмонална конгестија; Анасарка	Срцева слабост; Цироза; Бубрежна слабост; Нефротски синдром

Кратенки: ЕЦВ- екстрацелуларен волумен; U/Cr -сооднос на уреа и креатинин во серум
НСАИЛ-нестероидни антиинфламаторни лекови

волемична (Табела 3). За разлика од хиповолемичната и хиперволемичната хипонатремија каде постои секрецијата на АДХ стимулирана од нискиот ефективен циркулаторен волумен, SIADH е нормоволемична состојба каде не постои вистински стимулус за секреција на АДХ.

Клинички знаци на експандиран ЕЦВ се едеми, асцитес и дистендирани југуларни вени; знаци за деплеција на ЕЦВ се низок крвен притисок, ортостатска хипотензија, намален тургор на кожа и суви слузници. Меѓутоа, кога постои суптилна дехидратација, клиничката проценка на волуменскиот статус може да биде отежната [22]. Кога клинички не може да се диференцира нормоволемична од лесна хиповолемична, тогаш разликата може да се направи врз основа на неколку биохемиски параметри како што се концентрација на $[Na^+]$ во урина, концентрација на уреа и урична к-на во серум, фракциона екскреција на урична к-на и фракциона екскреција на $[Na^+]$ во урина [23,24]. Во прилог на нормоволемична оди во: концентрација на $[Na^+]$ во урина >30 mmol/L, ниска концентрација на урична киселина во серум и нормална концентрација на уреа во серум. Спротивно на ова, кај хиповолемичната хипонатремија концентрацијата на $[Na^+]$ во урина е <30 mmol/L, концентрацијата на уреа во серум е висока, а концентрацијата на урична к-на е нормална [23,24]. Меѓутоа, интерпретацијата на $[Na^+]$ во урина не е валидна ако постојат состојби кои ги компромитираат овие резултати (употреба на тиазиди и тубулоинтерстициски нефритис).

Исто така, за разлика од SIADH кај хиповолемична постои добар одговор во смисла на корекција на хипонатремијата при инфузија на 1 до 2 литри 0,9% физиолошки раствор [22].

Осмолалноста на урината ја одразува активноста на АДХ. Во нормални физиолошки услови при хипонатремија, се супримира секрецијата на АДХ и се создава дилуирана урина. Осмолалност >100 mOsm/kg значи висока АДХ активност, а ниска осмолалност (<100 mOsm/kg) значи супримирана активност на АДХ.

Дијагноза на SIADH

SIADH е состојба која настанува како резултат од прекумерна активност на АДХ и се карактеризира со прекумерна задршка на вода во организмот со последователна дилуциона хипонатремија и концентрирана урина. За да се постави дијагноза на SIADH треба да се исполнат шест основни критериуми. Освен основни критериуми, за дијагноза на SIADH може да се користат и дополнителни критериуми (Табела 4) [8].

Табела 4. Критериуми за SIADH

Главни критериуми

$[Na^+]$ во серум <135 mmol/L

Хипоосмолална плазма <275 mOsm/kg

Осмолалност на урина >100 mOsm/kg

Нормоволемична

- Нема знаци за дехидратација:

ортостаза, тахикардија, намален тургор на кожа, суви слузници

- Нема знаци за задршка на течности:

едем, асцитес, анасарка

$[Na^+]$ во урина >30 mmol/L при нормален внес на соли

Нема употреба на тиазидни диуретици

Нормална питуитарна, тироидна, адренална и ренална функција

Дојлолнишелни критериуми

Урична киселина во серум $<0,24$ mmol/L

Уреа во серум $<3,6$ mmol/L

Фракциона екскреција на Na $> 1\%$

Фракциона екскреција на уреа $>55\%$

Фракциона екскреција на урична к-на $>12\%$

Корекција на хипонатремијата при рестриктивен внес на течности

Хипонатремијата не се коригира со инфузија на 0,9% физиолошки раствор

Ellison DH, Berl T, N Engl J Med 2007; 17: 356(20): 2064-2072.

Кратенки: SIADH-синдромот на несоодветно лачење на антидиуретскиот хормон

Диференцијална дијагноза на SIADH

Нормоволемична хипонатремија освен кај SIADH се сретнува и кај други состојби со висока активност на АДХ, хипотиреозата и секундарниот хипокортицизам. Во диференцијалната дијагноза на нормоволемична хипонатремија, спаѓаат и состојби со ниска АДХ активност, како што се психогената полидипсија, пивската хипонатремија и таканаречената „чај и тост“ хипонатремија.

Бидејќи лабораториските карактеристики на SIADH, секундарен хипокортицизам и хипотироидизам се исти, дијагнозата на SIADH се поставува по пат на исклучување (табела 4). Имено, кортизолот има тоничко инхибиторно дејство врз секрецијата на АДХ [25] и ја намалува експресијата на аквапорин 2 каналите [26]. Поради тоа, при дефицит на кортизол се зголемува секрецијата на АДХ [27]. Дополнително, за секрецијата на АДХ придонесуваат наузеата и хипогликемијата, кои се дел од клиничките манифестации на кортизолски дефицит [28]. За разлика од кортизолскиот дефицит, само тешките форми на хипотироидизам се проследени со зголемена секреција на АДХ како резултат од низок срцев ударен волумен [28]. Диференцирање на SIADH од психогена полидипсија и пивска потоманија се прави врз основа на осмолалноста на урина. Овие две состојби за разлика од SIADH, имаат ниска активност на

АДХ поради што имаат и осмолалност на урина <100mOsm/kg. Пивската потоманија настанува при консумирање на големи количини пиво [30]. Пивото има мала содржина на натриум, а голема содржина вода. При недоволни концентрации на натриум бубрезите не може да ја екскретираат водата. Затоа внесувањето пиво во големи количини и внесувањето малку храна доведува до задршка на вода и последователна хипонатремија. Механизмот на настанување на хипонатремија е сличен и при исхрана која се состои само од леб и големи количини чај [29,30]. Психогената полидипсија настанува поради консумирање обилни количини вода, над 10 литри дневно. Карактеристична е за пациентите кои имаат психотични растројства [31]. Еден од основните критериуми на SIADH е отсуство на податок за користење на тиазиден диуретик. Тиазидните диуретици предизвикуваат зголемена секреција на АДХ и зголемена осетливост на бубрежните каналчиња на дејството на АДХ [32]. Бидејќи тиазидните диуретици се лекови кои најмногу се користат во секојдневната пракса, треба секогаш да се исклучи хипонатремија предизвикана од тиазиден диуретик. Вообичаено хипонатремијата се повлекува по прекин на терапијата со тиазиден диуретик. Затоа од практичен аспект најдобро е да се прекине терапијата со тиазиди и да се види дали хипонатремијата се коригира. Може да се одреди и фракционата екскре-

ција на урична к-на (која при употреба на тиазиди е ниска, спротивно од SIADH каде е висока), но овој биохемиски параметар е помалку применлив во рутинската пракса, со оглед на тоа дека за негово одредување е потребно собирање на 24-часовна урина.

Третман на хипонатремија

SIADH може да се третира со рестриктивно внесување течности, хипертоничен раствор и медикаментозна терапија (орални препарати на натриум хлорид и ваптани). Доколку SIADH е предизвикан од лекови треба да се прекине земањето на лекот. Изборот на лекување зависи од тежината на клиничката слика, степенот на хипонатремија, комплијансата и ефикасноста на третманот во дадени клинички ситуации.

Бидејќи во SIADH постои вишок вода во организмот, рестриктивното внесување течности е основна терапија кај лесниот степен на хипонатремија. Меѓутоа, овој пристап е соодветен доколку постои клиренс на слободна вода. Клиренсот на слободна вода постои кога соодносот на збирот на натриум и калиум во урина со натриум во серум е <1. Доколку клиренсот е >1, рестриктивното внесување течности не е доволно за корекција на хипонатремијата, дури и може да ја влоши [33].

$$\text{Клиренс на слободна вода} = (\text{Na во урина} + \text{K во урина}) / \text{Na во серум}$$

Кога овој сооднос е меѓу 0,5 и 1, внесот на течности треба да е 500 ml дневно, а кога е <0,5 внесот на течности треба да изнесува 1L дневно. Меѓутоа, рестриктивното внесување течности не може секогаш да се примени, особено кога во одредени клинички состојби е неопходно примање поголеми количини течности, а не ретко во клиничката пракса не постои доволна комплијанса со овој вид третман, (перманентен SIADH-неоперабилен тумор). Во овој контекст, денес сè поголем акцент им се дава на ваптаните. Тие се нова група лекови, антагонисти на вазопресин 2 рецепторите кои овозможуваат елиминација на слободна вода [34].

Кај умерено тешка хипонатремија се применува рестриктивно внесување течности или препарати на натриум хлорид заедно со мали дози диуретици на Хенлеова петелка [35].

Кај акутна тешка хипонатремија се применува 3% хипертоничен физиолошки раствор (150 ml или 2 ml/kg во континуирана интравенска инфузија во период од 20 мин). Може да се инфундира во неколку наврати додека [Na+] не се зголеми за 5 mmol/L или додека не се повлечат симптомите. Генерални пре-

пораки се корекцијата на [Na+] да биде 5 mmol/L во првиот час, до 10 mmol/L во првите 24 часа, а потоа до 8 mmol/L во секои наредни 24 часа, се до постигнување на концентрација на [Na+] од 131 mmol/L [35]. Корекцијата на хипонатремија не треба да биде повисока од 10 mmol/L во првите 24 часа бидејќи агресивната корекција на хипонатремија може да предизвика осмотски демиелинизирачки синдром (ОДС), особено кај хроничната хипонатремија [36]. ОДС е перманентно невролошко нарушување коешто настанува во првите 24 часа, и се манифестира со мутизам, спастична квадрипареза и псевдобулбарна парализа. Промените вообичаено се перманентни.

Ако хипонатремијата е предизвикана од хипокортицизам и хипотироидизам, хипонатремијата се коригира при вклучување на хормонска супституциона терапија, кортикостероид и левотироксин.

Заклучок

Иако, хипонатремијата е најчесто електролитно нарушување во клиничката пракса е често непознаена и несоодветно третирана. Хипонат-

ремијата е поврзана со висок морбидитет и морталитет. Честа причина за хипонатремијата е SIADH. Третманот на SIADH зависи од етиолошкиот фактор и степенот на хипонатремија. Секоја навреме препознаена и соодветно лекувана хипонатремија го намалува ризикот од нејзините акутни и хронични компликации.

Конфликт на интереси. Не е деклариран.

Литература

- Liamis G, Rodenburg EM, Hofman A, Zietse R *et al.* Electrolyte disorders in community subjects: prevalence and risk factors. *Am J Med* 2013; 126: 256-263.
- Padhi R, Panda BN, Jagati S, Patra SC. Hyponatremia in critically ill patients. *Indian J Crit Care Med* 2014; 18(2): 83-87.
- Sajadieh A, Binici Z, Mouridsen MR, *et al.* Mild hyponatremia carries a poor prognosis in community subjects. *Am J Med* 2009; 122: 679-686.
- Anderson RJ, Chung HM, Kluge R, Schrier RW. Hyponatremia: a prospective analysis of its epidemiology and the pathogenetic role of vasopressin. *Ann Intern Med* 1985; 102(2): 164-168.
- Norsk P. Influence of low and high pressure baroreflexes on vasopressin release in humans. *Acta Endocrinol* 1989; 121: 3-27.
- Baylis PH. Posterior pituitary function in health and disease. *Clin Endocrinol Metab* 1983; 12: 747-770.
- Shwartz WB, Bennett W, Curelop S, Bartter FC. A syndrome of renal sodium loss and hyponatremia probably resulting from inappropriate secretion of antidiuretic hormone. *Am J Med* 1957; 23: 529-542.
- Ellison DH, Berl T. Clinical practice. The syndrome of inappropriate antidiuresis. *N Engl J Med* 2007; 356 (20): 2064-2072.
- Sonnenblick M, Freidlander Y, Rosin AJ. Diuretic induced severe hyponatremia. Review and analysis of 129 reported patients. *Chest* 1993; 103(20): 601-606.
- Mannesse CK, van Puijenbroek EP, Jansen PA, *et al.* Hyponatraemia as an adverse drug reaction of antipsychotic drugs: a case-control study in VigiBase. *Drug Saf* 2010; 33(7): 569-578.
- Jacob S, Spinler SA. Hyponatremia associated with selective serotonin-reuptake inhibitors in older adults. *Ann Pharmacother* 2006; 40: 1618-1622.
- Movig KL, Leufkens HG, Lenderink AW, *et al.* Association between antidepressant drugs and hyponatremia: A case-control study. *Br J Clin Pharmacol* 2002; 5(3): 363-369.
- Miller M, Morley JE, Rubenstein LLZ. Hyponatremia in a nursing home population. *J Am Geriatr Soc* 1995; 43: 1410-1413.
- Arieff AI. Hyponatraemia, convulsions, respiratory arrest, and permanent brain damage after elective surgery in healthy women. *N Engl J Med* 1986; 31(24): 1529-1535.
- Sterns RH, Silver SM. Brain volume regulation in response to hypoosmolality and its correction. *Am J Med* 2006; 119: 12-16.
- Renneboog B, Musch W, Vandermeghel X, *et al.* Mild chronic hyponatremia is associated with falls, unsteadiness, and attention deficit. *Am J Med* 2006; 119: e1-e8.
- Hoom EJ, Rivadeneira F, van Meurs JB, *et al.* Mild hyponatremia as a risk factor for fractures: The Rotterdam Study. *J Bone Miner Res* 2011; 26: 1822-1828.
- Verbalis JG, Barsony J, Sugimura Y, *et al.* Hyponatremia-induced osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2010; 25: 554-563.
- Albrink MJ, Hald PM, Man EB, Peters JP. The displacement of serum water by the lipids of hyperlipemic serum: a new method for the rapid determination of serum water. *J Clin Invest* 1955; 34: 1483-1488.
- Overlack A, Niederle N, Klautke G, *et al.* Pseudohyponatremia in multiple myeloma. *Klinische Wochenschrift* 1980; 58: 875-880.
- Matz R. Hyponatremia: evaluating the corection factor for hyperglycemia. *Am J Med*. 2000; 108: 180-181
- Chung HM, Kluge R, Schrier RW, Anderson RJ. Clinical assessment of extracellular fluid volume in hyponatremia. *Am J Med* 1987; 83: 905-908.
- Musch W, Decaux G. Utility and limitations of biochemical parameters in the evaluation of hyponatremia in the elderly. *Int Urol Nephrol* 2001; 32: 475-493.
- Hoom EJ, Zietse R. Hyponatremia revisited: translating physiology to practice. *Nephron Physiology* 2008; 108(3): 46-59.
- Raff H. Glucocorticoid inhibition of neurohypophysial vasopressin secretion. *Am J Physiol* 1987; 252(Pt 2): R635-R644.
- Ishikawa Se, Saito T, Fukagawa A, Higashiyama M, *et al.* Close association of urinary excretion of aquaporin-2 with appropriate and inappropriate arginine vasopressin-dependent antidiuresis in hyponatremia in elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(4): 1665-1671.
- Chanson P. Severe hyponatremia as a frequent revealing sign of hypopituitarism after 60 years of age. *Eur J Endocrinol* 2003; 149: 177-178.
- Warner MH, Holding S, Kilpatrick ES. The effect of newly diagnosed hypothyroidism on serum sodium concentrations: a retrospective study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006; 64 (5): 598-599.
- Musch W, Khaet O, Decaux G. Solute loss plays a major role in polydipsia-related hyponatraemia of both water drinkers and beer drinkers. *QJM* 2003; 96 (6): 421-426.
- Thaler SM, Teitelbaum I, Berl T. "Beer potomania" in non-beer drinkers: effect of low dietary solute intake. *Am J Kidney Dis* 1998; 31(6): 1028-1031.
- Cicognani C, Vezzadini C, Zoni R, Michelucci R. An overlooked cause of acute symptomatic seizures: psychogenic polydipsia. *Am J Med* 2013; 126 (5): e1-e2.
- Friedman E, Shadel M, Halkin H, Farfel Z. Thiazide induced hyponatremia. Reproducibility by single dose rechallenge and an analysis of pathogenesis. *Ann Intern Med* 1989; 110(1): 24-30.
- Furst H, Hallows KR, Post J, *et al.* The urine plasma electrolyte ratio: a predictive guide to water restriction. *Am J Med Sci* 2000; 319: 240-244.
- Verbalis JG, Adler S, Schrier RW, Berl T, *et al.* Efficacy and safety of oral tolvaptan therapy in patient with syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion. *Eur J Endocrinol* 2011; 164: 725-732.
- Spasovski G, Vanholder R, Allolio B, Annane D, *et al.* Hyponatremia Guideline Development Group. Clinical practice guideline on diagnosis and treatment of hyponatremia. *Eur J Endocrinol* 2014; 170 (3): G1-47.
- Sterns RH, Cappuccio JD, Silver SM, Cohen EP. Neurologic sequelae after treatment of severe hyponatremia: a multicenter perspective. *J Am Soc Nephrol* 1994; 4: 1522-1530.

Ревизијален илустрацијски

СОВРЕМЕН ПРИСТАП ВО ЛЕКУВАЊЕТО НА МУЛТИПНИОТ МИЕЛОМ

UP-TO-DATE APPROACH TO THE TREATMENT OF MULTIPLE MYELOMA

Светлана Станковиќ¹, Татјана Смилевска¹, Сања Трајкова¹, Марија Попова¹, Оливер Каранфилски¹, Злате Стојаноски¹, Ката Мартинова² и Лидија Чевреска¹

¹ЈЗУ Универзитетска клиника за хематологија, ²ЈЗУ Универзитетска клиника за педијатрија, Универзитет "Св.Кирил и Методиј" Медицински факултет, Скопје, Република Македонија

Апстракт

Напредокот во разбирањето на биологијата на мултипниот миелом и пронаоѓањето на новите лекови за лекување на миеломи придонесоа до подобрување во лекувањето на овие пациенти. Мултипниот миелом може да предизвика многу акутни компликации како што се: хипервискозен синдром, хиперкалцемија, компресија на рбетен мозок, рана инфекција, коскена болест и бубрежна инсуфициенција; некои од нив се животозагрозувачки. Лекување на овие медицински ургентни состојби значително го намали морбидитетот и раната смртност на пациентите. Новите лекови, Thalidomide, Bortezomib и Lenalidomide, беа интегрирани во индукционата терапија пред автологна стем-клеточна трансплантација (АСКТ), како и во прволиниска терапија кај постарите пациенти. Покажана е супериорност на овие пристапи во однос на подобар одговор на терапијата, преживување без болест и, во некои студии, и подобро севкупно преживување. Поголемото искуство во дозирањето на лековите ја намали токсичноста на овие протоколи. Третата фаза на студии покажа дека протоколите кои го содржат Bortezomib пред АСКТ, имаат подобар исход во однос на постарите протоколи. Посттрансплантационите консолидациони терапии и терапиите на одржување со новите лекови дадоа дополнителен бенефит, особено во однос на подолго преживување без болест. Имунотерапијата е потенцијално многу ветувачки тераписки модалитет. Daratumumab е ново, високо-специфично, хумано моноклонално антителио усмерено против единствен CD38 епитоп. Тоа предизвикува смрт на туморските клетки преку неколку имунолошки механизми. Има добар сигурносен профил и значајна активност како монотерапија кај рефрактерни и релапсни миеломи.

Клучни зборови: мултипен миелом, АСКТ, Bortezomib, Thalidomide, Daratumumab

Abstract

Improved understanding of the multiple myeloma biology along with the discovery of novel anti-myeloma agents has led to a better-quality treatment of these patients. Multiple myeloma can cause a variety of complications such as hyperviscosity syndrome, hypercalcemia, spinal cord compression, early infection, bone disease and renal impairment, some of which are life-threatening. Treatment of these urgent conditions has been demonstrated to significantly reduce morbidity and early fatal outcome. Utilization of novel agents including Thalidomide, Bortezomib and Lenalidomide as part of the induction protocols before autologous stem cell transplantation (ASCT) and also as a front-line treatment in older patients has been shown to be superior in comparison to previous treatment strategies. The latter has been confirmed regarding the overall treatment response, progression-free survival and even better overall survival in some studies. Greater experience in dosing of these medications has led to a decrease in the toxicity of the protocols. The third phase clinical study has demonstrated a better clinical outcome when Bortezomib was used prior to ASCT. Furthermore, involvement of these agents in the post-transplant consolidation and maintenance treatments has been shown to be beneficial in other aspects such as prolonged progression-free survival. The immune therapy represents a potentially promising treatment modality. Daratumumab is a new, specific, human monoclonal antibody with high affinity to a unique epitope on CD38. It induces plasma cells death through several immunological mechanisms. It has a good safety profile and a substantial activity as monotherapy in refractory and relapsed myeloma.

Key words: multiple myeloma, ASCT, Bortezomib, Thalidomide, Daratumumab

Кореспонденција и рејрини до: Светлана Станковиќ, ЈЗУ Универзитетска клиника за хематологија, "Водњанска" 17, 1000 Скопје, Р. Македонија; E-mail: svetlanastankovic2002@yahoo.com

Вовед

Мултипниот миелом (ММ) е малигно заболување на плазма клетките кое се карактеризира со неконтролирана и прогресивна пролиферација на еден клон плазма клетки. Заболувањето доведува до прогресивен морбидитет и евентуално морталитет поради намалена отпорност кон инфекции како и значителна скелетна деструкција со болки во коските, патолошки фрактури и хиперкалцемија. Други знаци на болеста се: анемија, бубрежна инсуфициенција, невролошки компликации и хипервискозен синдром.

Кај повеќето пациенти со мултипен миелом се создава моноклонален протеин т.н. парапротеин, М-протеин или М-компонента, којшто е имуноглобулин или негов фрагмент, којшто пак ја изгубил својата функција [1]. Нормалните имуноглобулини се намалени што доведува до склоност кон инфекции. Пролиферираните миеломски клетки го заменуваат нормалниот коскен мозок предизвикувајќи дисфункција на нормалното хематопоеетско ткиво и деструкција на нормалната архитектура на коските што клинички може да се манифестира со анемија, невролошки симптоми и коскена ресорпција која доведува до дифузна остеопороза или литички коскени лезии [2]. Честопати се јавува и хиперкалцемија, бубрежна инсуфициенција и детектибилен моноклонален протеин во серумот или урината [3]. Мал процент од пациентите со ММ се несекретирачки.

Во моментот на поставување на дијагнозата, ММ е хетерогено заболување со тек којшто зависи од фактори кои произлегуваат од самото заболување но, и од домаќинот (возраст, бубрежна функција, стадиум на заболувањето, хромозомски абнормалности и др.). Мултипниот миелом предизвикува значителен морбидитет и морталитет. На ММ отпаѓа околу 1% од сите малигнитети и околу 13% од хематолошките малигнитети. Годишно во САД и ЕУ има околу 50000 новодијагностицирани пациенти а околу 30000 пациенти годишно умираат како последица од ММ [4,5].

Тераписки пристап

Мултипниот миелом може да предизвика многу акутни компликации како што се: хипервискозен синдром, хиперкалцемија, компресија на рбетен мозок, рана инфекција, коскена болест и бубрежна инсуфициенција; некои од нив се животозагрозувачки. Лекувањето на овие медицински ургентни состојби значително го намали морбидитетот и раната смртност на пациентите.

Лекување на честите медицински ургентни состојби кај пациентите со ММ

Хипервискозност на крвта се јавува при постоење на високи вредности на серумски парапротеин, особено ако е тој од IgA или IgG3 тип. Симптоми на хипервискозност се: заматен вид, главоболка, мукозни крвавења и диспнеа како резултат од срцева слабост. Терапијата се состои во "plasma exchange" и замена со течности. Ако плазмафереза не е веднаш достапна, може да се направи и венепункција и замена со течности. Потребно е што е можно побрзо да се започне со ефективен третман на основната болест [6].

Хиперкалцемија се јавува кај околу 30% новодијагностицирани пациенти. Симптоми на акутна хиперкалцемија се: дисфункција на ЦНС што води кон конфузија и кома, мускулна слабост, панкреатитис, констипација, жед, полиурија, скратување на Q-T интервал на ЕКГ, дури и акутна бубрежна инсуфициенција. При блага форма на хиперкалцемија со вредности на калциум од 2.6 до 2.9 mmol/l, се препорачува рехидратација со орални или и.в. течности. При средна и тешка форма на хиперкалцемија со вредности на калциумот над 2.9 mmol/l, се препорачува рехидратација со и.в. течности, диуретици (furosemide) за превенција на срцево опуштање, и бисфосфонат (терапија на избор е золендронична киселина).

Компресија на рбетен мозок се јавува кај 5% пациенти со ММ. Клиничките карактеристики ќе зависат од тоа дали компресијата е последица од коскени лезии или мекоткивен тумор, од висината на лезијата како и од изразеноста и брзината на развој на тегобите (најчесто губење на сензитивитет, парестезии, слабост на екстремитети, потешкотии со одењето, сфинктерна дисфункција). Терапијата на оваа компликација претставува медицинска ургентност. При клиничко сомневање за постоење на ваква компликација, треба да се даде по 40 мг дексаметазон во тек на 4 дена и брзо да се направи MRI или барем СТ скен [7]. При постоење на структурна компресија на рбетниот мозок, потребна е ургентна хируршка декомпресија, обично проследена со постоперативна радиотерапија. При постоење на мекоткивен тумор, терапија на избор е локална радиотерапија (најдоцна за 24 часа), со препорачана доза од најмалку 30 Gy [8].

Раната инфекција кај пациентите со ММ е резултат од дефицит и на хуморален и на целуларен имунитет. Околу 10% од пациентите умираат како резултат од инфективни причини во рок од 60 дена од поставување на дијагнозата. Се препорачува секој фебрилен пациент брзо да се третира со антибиотици од широк спектар. При потешки системски инфекции или неутропенична сепса,

да се дадат и.в. антибиотици и по можност, да се избегнуваат аминокликозиди [9].

Коскена болест се јавува кај 80-90% пациенти со ММ. Предизвикува болка, патолошки фрактури со можна компресија на рбетниот мозок и хиперкалцемија. Скелетните промени ја компромитираат подвижноста и независноста на пациентите и го влошуваат квалитетот на животот. Фрактури на долгите коски се третираат со имобилизација и последователна радиотерапија која ја подобрува болката и го забрзува заздравувањето на фрактурата. Препорачана доза е 8 Gy за секоја фрактура. При поголеми литички лезии на скелетот, треба да се консултира ортопед, а кај одредени пациенти да се спроведе оперативен третман со вертебропластика и кифопластика. Бисфосфонатите имаат поволен ефект за контрола на коскената болест кај пациентите со ММ, дури е покажан бенефит и кај пациенти кои немаат коскена болест при поставување на дијагнозата. Траењето на терапијата зависи од индивидуални фактори како што се: постигнување ремисија, изразеност на коскените лезии, бубрежната функција [10]. Разумно би било да се прекине терапијата кај пациенти кои постигнале комплетна ремисија (КР) или многу добра парцијална ремисија (МДПР) и коишто немаат активна коскена болест. Потребна е денална контрола секогаш пред да се почне со и.в. бисфосфонатна терапија за да се спречи најтешката компликација-остеонекроза на вилицата.

Бубрежна инсуфициенција е честа и потенцијално сериозна компликација која се јавува кај 20-25% од пациентите при поставување на дијагнозата и речиси кај 50% во тек на болеста. Таа е резултат од оштетување на реналните тубули од лесните синцири на имуноглобулините (изливна нефропатија или "миеломски бубрег"), но други фактори имаат свој придонес, а тие се: дехидратација, хиперкалцемија, примена на нефротоксични лекови, инфекција. Пациентите кои при поставување на дијагнозата имаат бубрежна инсуфициенција, имаат висок процент на рана смртност. За одржување на бубрежната функција потребно е примање течности, најмалку 3 L/ден, за цело времетраење на болеста и избегнување на потенцијално нефротоксични лекови [11].

Хемотераписки протоколи

Сè уште останува препораката дека асимптоматски миелом ("smouldering" или индолентен миелом) не се лекува, но треба да се опсервира. Потребно е редовно клиничко иследување (најчесто на секои 3 месеци) и мерење на серумскиот и уринарен М-протеин. Повторно испитување на коскен мозок и рендгенско снимање на коски треба

да се направи пред почеток на терапијата. Хемотерапија е индицирана само кај пациенти со симптоматски миелом кај кои има присуство на ROTI (Myeloma Related Organ or Tissue Impairment) или CRAB (Calcium levels increased, Renal failure, Anemia, Bone lesions).

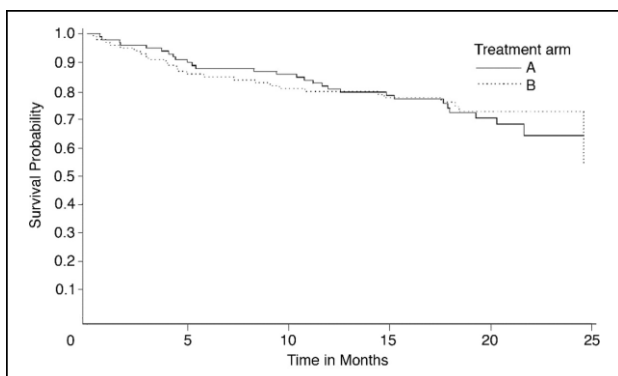
Изборот на терапија зависи од возраста, перформанс статусот, постоење на коморбидитети, агресивност на болеста како и други прогностички фактори [3]. Новодијагностицираните пациенти со ММ се категоризираат во 2 суппопулации, најчесто според нивната возраст и погодноста за натамошно лекување. Помлади пациенти се третираат со индукциони протоколи проследени со консолидација со високодозна терапија (ВДТ) и автологна стем клеточна трансплантација (АСКТ). За пациенти кои се неподобни за ВДТ и АСКТ, се применува долготрајна терапија која вклучува комбинација од повеќе лекови (алкилирачки агенси, високи дози кортикостероиди и нови лекови).

А. Индукциона хемотерапија кај пациенти неподобни за ВДТ и АСКТ

Целта на терапијата е да се постигне максимален и долготраен одговор со минимална токсичност. Како прволиниска терапија уште од 1960-те години се применува МР протоколот (Melphalan+Prednisolon) кој долго време беше златен стандард за лекување на пациенти неподобни за АСКТ. Cyclophosphamide наспроти Melphalan дал скоро идентични резултати во 2 UK MRC студии. Сепак предност му се даде на Melphalan поради подобра толеранција кај постарата популација. Подоцна почна да се применува покомплесна комбинација од повеќе хемioterапевтици. Меѓутоа, една голема мета-анализа на Myeloma Trialists' Collaborative Group од 1998 не покажала поголема ефикасност на овие комбинирани протоколи во однос на оралниот МР протокол [12,13].

Thalidomid е еден од првите новововедени лекови за лекување на ММ. Спаѓа во групата на "имуномодулаторни лекови" со повеќе механизми на дејство: анти-ангиогено дејство, инхибиција на тумор некротизирачкиот фактор (TNF) и секреција на интерлеукин-2 како и индукција на апоптоза на туморските клетки. Thalidomid-от е ефикасен во сите фази на лекување на ММ. Може да се користи како монотерапија или во комбинација со стероиди (дексаметазон) или други хемотерапевтици. Студијата на Rajkumar *et al.* 2006, фаза III [14], го споредувала на TD протоколот (Thalidomide +Dexamethason) со Dexamethason монотерапија кај пациенти на средна возраст од 65 год. Таа покажала значителен бенефит во однос на одговор на терапијата (overall response CR+PR) кај 63% нас-

проти 46% од пациентите. Показан бил и бенедит во однос на времето до прогресија на болеста во TD групата но, и градус 3 нехематолошка токсичност кај 67% од пациентите на TD протокол.



Сл. 1. Свкупно преживување на пациентите вклучени во студијата прикажани со Kaplan-Meier метода (Vincent Rajkumar *et al.* *JCO* 2006; 24: 431-436)

Студијата на Ludwig *et al.* од 2009, директно ги споредувала TD и MP протокол. Кај 298 постари пациенти покажала супериорен одговор на терапијата во TD групата (68% vs. 50%) но сличен progression free survival (PFS) и time to progression (TTP) во двете групи. Сепак, свкупното преживување било значајно пониско во TD групата што веројатно се должи на фактот што оваа многу постара популација пациенти (60% на возраст меѓу 70 и 79 год.) не биле во состојба да ги толерираат високите дози на Thalidomide и Dexamethason [15].

Пет рандомизирани студии кај постари пациенти ги споредувале MP и MPT протокол како прволиниска терапија. Сите покажале супериорен одговор на терапијата во MPT групата: повисок процент на PR, VGPR или near-CR како и PFS, а само кај две [13] било прикажано значително подолго свкупно преживување (OS). Англиските истражувачи развија алтернативен протокол на MPT со CTD (cyclophosphamide, thalidomide, dexamethason) (неинвазивна гранка на Myeloma IX trial). Раните резултати покажаа супериорен одговор од CTD во однос на MP и слична ефикасност со MPT. Velcade (Bortezomibe) спаѓа во групата лекови т.н. протеозомски инхибитори. Како таргетирана терапија, таа дејствува преку блокирање или ослабување на функцијата на протеозомите внатре во клетките. Velcade се користи како монотерапија или во комбинација со Melphalan и Prednisolon (VMP протокол). VMP протоколот обично се дава до една година. VISTA студијата го евалуирала ефектот од терапијата со VMP протоколнаспроти MP протокол кај новодијагностицирани пациенти со MM неподобни за АСКТ. Резултатите ја потврдија супериорноста на VMP наспроти MP во однос на одговор на терапијата (CR 30% vs.4% и PR 71%

vs.35%). Студијата на Palumbo од 2010 ги споредувала ефектите од VMPT наспроти VMP. Индукционата терапија со VMPT проследена со континуирана VT терапија покажала супериорност во однос на терапија само со VMP; 3-годишен PFS бил 56% кај VMPT-VT vs. 41% кај пациентите на VMP протокол [16].

Lenalidomide (Revlimid) спаѓа во групата имуномодулаторни лекови и е аналог на thalidomide, но со различни несакани ефекти. Неговата активност се состои во инхибиција на ангиогенезата и во цитокинска модулација на Т-клеточната стимулација. Во повеќе рандомизирани студии е анализиран ефектот на Lenalidomide во индукциона терапија на MM [17]. Голема рандомизирана студија, фаза 3, (MM-020/IFM07-01), ги споредувала резултатите од терапија во 3 гранки: гранка А (lenalidomide+low-dose dexamethason) континуирано до прогресија на болеста, гранка В (lenalidomide +low-dose dexamethason) во тек на 72 недели, 18 циклуси, и гранка С (MPT во тек на 72 недели, 12 циклуси). Се покажало 22% намалување на ризикот од летален исход во гранка А наспроти гранка С; свкупен одговор на терапија (ORR и PFS) подобар во гранка А наспроти гранка С; подобар сигурносен профил во А гранка наспроти С. Во студијата на Palumbo *et al.* од 2009, MPR протокол (Melphalan, Prednisolon Lenalidomide), фаза I/II, се добил компарабилен одговор на терапија со ниска застапеност на нехематолошки несакани појави.

Во Европа стандардна терапија за пациенти неподобни за ВДТ и АСКТ останаа протоколите MPT (Melphalan-Prednisolon-Thalidomide) (Fayers 2011) и VMP (Velcade-Melphalan-Prednisolon)(San Miguel 2008).

В. Индукциона терапија пред високодозна терапија и АСКТ

Пред воведувањето на новите лекови стандардна терапија беше VAD протоколот (Vincristine, Adriamycin, Dexamethason). Во студиите на Alexanian *et al.* (1990), Gore *et al.* (1989) и Samson *et al.* (1989), одговор на терапијата имало кај 55-84% од пациентите, со комплетна ремисија кај 8-28% [18]. Студијата на Savo *et al.* (2005) го споредувала TD (thalidomide/dexamethason) со VAD протокол [19]. Сигнификантно подобар одговор покажал TD протоколот, но не и супериорен одговор во фазата пост-АСКТ. Студијата на Novon, фаза 3, го споредувала TAD протоколот (Thalidomide, Doxorubicin, Dexamethason) со VAD. Бил прикажан подобар одговор на терапијата, вклучувајќи мајорен одговор и подолг PFS по АСКТ. Студијата Myeloma IX пак ги споредувала CVAD (cyclophosphamide, vincristine, doxorubicin, dexamethason) со CTD (cyclophosphamide, thalidomide, dexamethason) протокол. Прелиминар-

ните резултати покажале подобар одговор на терапијата во СТД кракот, но сè уште нема податоци за подобрување во однос на PFS и OS [20]. СТД протоколот денес е најчесто применуван протокол во Велика Британија затоа што не ја афектира мобилизацијата на стем клетките. Две големи фаза 3 студии, покажале дека протоколите со Bortezomib се добри како индукциона терапија пред АСКТ. IFM групата споредувала 4 циклуси на VAD со Bortezomib/Dexamethason кај 482 пациенти на возраст до 65 год. (Harousseau *et al.*). CR или CR/nCR била сигнификантно подобра пост-АСКТ во кракот со Bortezomib, подобро PFS но не и подолго OS. Неколку студии со Lenalidolode и Dexamethason +/- хемотерапија покажале добар одговор на терапија. Во испитувањето на Rajkumar *et al.* од 2005 год., кај сите пациенти била спроведена успешна мобилизација на доволен број матични клетки.

За индукциона терапија пред ВДТ и АСКТ повеќе не се препорачува VAD протоколот или монотерапија со dexamethason туку протоколи кои содржат барем еден од новите лекови. Се препорачуваат СТД, TAD (Thalidomide, Doxorubicin, Dexamethason), Bortezomib/dexamethason и PAD (PS 341/ Bortezomib, Doxorubicin, dexamethason). Одлуката кој протокол да се даде, а којшто најмногу би одговарал зависи од повеќе фактори како: бубрежна функција, ризик од тромбоза и постоечката невропатија.

Daratumumab е хумано IgG1 капа моноклонално антителио коешто со голем афинитет се врзува за единствен епитоп на CD38 трансмембрански гликопротеин [21]. Терапијата со Daratumumab е таргетирана имунотерапија насочена кон туморските клетки со висока експресија на CD38, како што се плазма клетките од пациентите со ММ. Во тек се клинички студии во кои се испитува ефектот од оваа терапија: Daratumumab како монотерапија и Daratumumab во комбинација со Lenalidomide/dexamethason и со VMP протоколот.

Заклучок

Мултиплиот миелом останува и понатаму неизлечива болест. Меѓутоа, примената на новите тераписки протоколи и автологната стем клеточна трансплантација како и подобрувањето на симптоматската и супортивна терапија, допринесоа да се подобри одговорот на терапија, да се продолжи преживувањето без болест и севкупното преживување и, што е најважно, битно да се подобри квалитетот на живот кај овие пациенти.

Конфликт на интереси. Не е деклариран.

Литература

1. Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia* 2009; 23: 3-9.
2. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, *et al.* Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Majo Clin Proc* 2003; 78: 21-33.
3. Palumbo A, Anderson K, Multiple myeloma. *N Engl J Med* 2011; 364: 1046-1060.
4. American Cancer Society (ACS). Cancer Facts and Figures 2012. Atlanta: American Cancer Society 2012.
5. Ferlay J, Shin HR, Bray F, *et al.* Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917.
6. Mehta J, Singha S. Hyperviscosity syndrome in plasma cell dyscrasias. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 2003; 29: 467-471.
7. Rades D, Hoskin PJ, Stalpers LJ. Short course radiotherapy is not optimal for spinal cord compression due to myeloma. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 2006; 64: 1452-1457.
8. Mohty B, El-Cheikn J, Jakoub-Agha J, *et al.* Peripheral neuropathy and new treatments in multiple myeloma: background and practical recommendations. *Haematologica* 2010; 95: 311-319.
9. Smith A, Wisloff F, and Samson B. Guidelines on diagnosis and management of multiple myeloma 2005. *British Journal of Hematology* 2006; 132: 410-451.
10. Terpos E, Dimopolous MA. Myeloma bone disease: pathophysiology and management. *Annals of Oncology* 2005; 16: 1223-1231.
11. Elektherianis-Papiakovou V, Bamias A, Gikas D, *et al.* Renal failure in mueloma multiplex:incidence, correlations and prognostic significance. *Leukemia and Lymphoma* 2007; 48: 337-341.
12. Facon T, Mary JY, Hulin C, *et al.* Melphalan and prednisone plus thalidomide versus melphalan and prednisone alone or reduced-intensity autologous stem cell transplantation in elderly patients with multiple myeloma (IFM 99-06): a randomised trial. *Lancet* 2007; 370: 1209-1218.
13. Myeloma Trialists' Collaborative Group. Combination chemotherapy versus melphalan plus prednisone as treatment for multiple myeloma: an overview of 6,633 patients from 27 randomized trials. *Journal of Clinical Oncology* 1998; 16: 3832-3842.
14. Rajkumar SV, Blood E, Vesole D, *et al.* Phase III clinical trial of thalidomide plus dexamethasone compared with dexamethasone alone in newly diagnosed multiple myeloma: a clinical trial coordinated by the Eastern Cooperative Oncology Group. *Journal of Clinical Oncology* 2006; 24: 431-436.
15. Ludwig H, Drach J, Tothova E, *et al.* Thalidomide-Dexamethasone versus Melphalan-Prednisolon as first line treatment in elderly patients with multiple myeloma: An interim analysis. *Journal of Clinical Oncology. ASCO annual Meeting Proseedings* 2005; Vol.23, N16S (1 Suppl.): 2005: 6537.
16. Palumbo A, Bringhen S, Liberati AM, *et al.* Oral melphalan, prednisone, and thalidomide in elderly patients with multiple myeloma: updated results of a randomized controlled trial. *Blood* 2008a; 112: 3107-3114.
17. Kumar S, Dispenzieri A, Lacy MQ, *et al.* Impact of lenalidomide therapy on stem cell mobilization and engraftment post-peripheral blood stem cell transplantation in patients with newly diagnosed myeloma. *Leukemia* 2007; 21: 2035-2042.
18. Alexanian R, Barlogie B, & Tucker S. VAD-based regimens as primary treatment for multiple myeloma. *American Journal of Hematology* 1990; 33: 86-89.
19. Cavo M, Zamagni E, Tosi P, *et al.* Superiority of thalidomide and dexamethasone over vincristine-doxorubicindexamethasone

-
- (VAD) as primary therapy in preparation for autologous transplantation for multiple myeloma. *Blood* 2005; 106: 35-39.
20. Barlogie B, Tricot G, Anaissie E, *et al.* Thalidomide and hematopoietic-cell transplantation for multiple myeloma. *New England Journal of Medicine* 2006b; 354: 1021-1030.
 21. De Weers M, Tai YT, vanderVeer MS, *et al.* Daratumumab, a novel therapeutic human CD38 monoclonal antibody, induces killing of multiple myeloma and other hematological tumors. *J Immunol* 2011; 186: 1840-1848.

Оригинален труд

ВАЛИДНОСТА НА СЕНТИНЕЛНИОТ ЛИМФЕН ЈАЗОЛ КАЈ ПАЦИЕНТИ СО КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ ИЗОЛИРАН СО УПОТРЕБА НА РАДИОАКТИВЕН КОЛОИД НА Tc99m- ПРОДОЛЖУВАЊЕ НА ПИЛОТ СТУДИЈА

VALIDITY OF THE SENTINEL LYMPH NODE IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER ISOLATED WITH RADIOACTIVE COLLOID Tc99m-FOLLOW UP OF A PILOT STUDY

Светозар Антовиќ¹, Никола Јанкуловски¹, Сениша Стојановски² и Владимир Андреевски³

¹ЈЗУ Универзитетска клиника за дигестивна хирургија, ²Институт за патофизиологија и нуклеарна медицина, ³ЈЗУ универзитетска клиника за гастроентерохепатологија, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“, Медицински факултет, Скопје, Република Македонија

Апстракт

Вовед. Колоректалниот карцином е најчестиот карцином кој се јавува во дигестивниот тракт кај луѓето. Во целокупната онкологија, колоректалниот карцином е на четврто место како по инциденцијата на појавување, така и по смртноста, веднаш зад карциномот на белите дробови, простатата и дојката. Еден од најзначајните фактори за прогноза кај пациентите со колоректален карцином (КРЦ), особено 5-годишното преживување е статусот на регионалните лимфни жлезди (РЛЖ). Оттука се денешните препораки за систематска лимфаденектомија при операциите за КРЦ. За правилен "staging", а прифатено од сите меѓународни препораки, најмалку 12 ЛЖ мора да бидат микроскопски анализирани. Сентинелниот лимфен јазол (СЛЈ) е првиот лимфен јазол во кој се дренира лимфата од туморот и со тоа претставува ЛЖ која има најголема можност да е носител на метастатска болест. Испитувањата за негово пронаоѓање кај КРЦ се започнати од неодамна и за сега не постои консензус за методот на негово пронаоѓање ниту за неговото значење. Главна цел на овој труд е да се прикаже можност како може да се подобри пронаоѓањето на СЛЈ со употреба на радиоактивен колоид. Секундарни цели се да се испита точноста, сензитивноста и стапката на идентификација на методот. Особено важно за анализа е и значењето на СЛЈ и неговата корелација со останатите РЛЖ.

Методи. Студијата се изведува на Универзитетската клиника за дигестивна хирургија од јануари

2013 година и сè уште трае. Еден ден пред операцијата ендоскопски околу туморот се инјектира радиоактивен колоид со технициум 99 (**Sentiscint Tc 99m Medi-radiofarma Ltd**) во количина од 4 ml која одговара на 4 mCi (миликири). Веднаш потоа на Институтот за патофизиологија со помош на гама-камера (**Mediso DHV nucline spirit**) се следи дистрибуцијата на колоидот којшто очекувано највеќе се акумулира во првиот ЛЖ, којшто е вистински сентинел лимфен јазол, правејќи на тој начин лимфен мапинг важен за воочување на евентуална аберантна дренажа. На денот на операцијата, наутро во 8.00 ч, се прави повторно снимање со гама-камера која ја покажува доцната дистрибуција на контрастот. Сите пациенти се оперираат со стандардна хируршка техника правејќи ресекција со систематска лимфаденектомија. Веднаш по вадење на препаратот со гама детекторска сонда (**Euoprobe**) се одредува радиоактивноста на лимфниот базен и со тоа се пронаоѓа вистинскиот СЛЈ којшто е со највисока радиоактивност и тој посебно се испраќа за целосна патохистолошка анализа. На Институтот за патологија сите лимфни жлезди прво се третираат стандардно со ХЕ, а потоа сите со имунохистохемиски метод.

Резултати. До сега студијата опфаќа 20 пациенти, од кои 14 мажи и 6 жени, со средна возраст од 63,8 години (42-77). До сега стапката на идентификација е 100%, односно кај сите процедури е пронајден СЛЈ. Само кај 4 пациенти се откриени 2 сентинелни лимфни јазли, додека кај сите други по 1, или средна вредност 1,2. При ПХ анализа изолирани се 16,75 (средна вредност) лимфни јазли (6-29). Само кај 2 пациента се откриени лажно негативни СЛЈ. Бројот на пациенти со вистински негативни СЛЈ е 7 што значи дека негативен е СЛЈ, а негативни се и останатите лимфни јазли. Вкупниот број пациенти со вистински позитивен СЛЈ е 11, што значи СЛЈ е позитивен, а позитивни се и

Кореспонденција и рејрини до: Светозар Антовиќ, ЈЗУ Универзитетска клиника за дигестивна хирургија, „Водњанска“ 17, 1000 Скопје, Р. Македонија; Тел.: 02 3147 235; E-mail: svetozarantovic@yahoo.com

некои од останатите лимфни јазли. Оттука точноста на процедурата во нашата студија која сè уште трае е 90%, а сензитивноста 84,6%. До сега кај 2 пациента со имунохистохемиски метод се откриени микрометастази поради што up staging-от за сега е 22%. Кај 2 пациента СЛЈ е единствениот позитивен лимфен јазол од сите испитани ЛЖ. Кај ниту еден пациент не беше забележана аберантна лимфна дренажа.

Заклучок. Од досегашните резултати во оваа студија може да се заклучи дека е можна идентификација на СЛЈ со овој метод, точноста и сензитивноста се високи и очекуваме да пораснат. Ова е мотив да се продолжи со студијата и да бидат анализирани минимум 30 пациенти што би било највисока бројка откриени СЛЈ од страна на еден хирург и една институција и веруваме доволна за валидизирање на методот.

Клучни зборови: сентинел, карцином на колон, лимфен јазол, радиоактивен, колоид

Abstract

Introduction. Colorectal cancer is the most common cancer of the digestive system in humans. In whole-body oncology, colorectal cancer is on the forth place by incidence and mortality next to the lung, prostate and breast cancer. One of the most important factors for prognosis in patients with colorectal cancer (CRC), especially the 5-year survival is the status of regional lymph nodes (RLN). Therefore, today's recommendations for systematic lymphadenectomy in CRC operations are very important. For correct staging and accepted by all international recommendations, at least 12 LN must be analyzed microscopically. The sentinel lymph node (SLN) is the first lymph node that drains lymph from the tumor and thus represents a LN that has the greatest chance to be the bearer of metastatic disease. Tests to locate the SLN in CRC have started recently and so far there is no consensus on the method for its localization or its significance. The main aim of this study was to improve the tracing of SLN by using radioactive colloid. The secondary aims were to investigate the accuracy, sensitivity and rate of method's identification. Especially important for the analysis is the significance of SLN and its correlation with other RLN.

Methods. The study is performed at the University Clinic for Digestive Surgery from January 2013 and is still ongoing. A day before the surgery endoscopically around the tumor is injected radioactive colloid with Technetium 99 (Sentiscint Tc 99m Medi-radiofarma Ltd) in the amount of 4 ml, which corresponds to 4 mCi (mill curie). Immediately after that, at the Institute of Pathophysiology using a Gamma camera (Mediso DHV nucline spirit), the distribution of the colloid is monitored, which as expected is mostly accumulated in the first LN, that is the

genuine sentinel lymph node, thus making lymphatic mapping that is important for identifying possible aberrant drainage. On the day of surgery at 8:00 am, a rerecording with the Gamma camera is made that shows the late distribution of contrast. All patients are operated with standard surgical technique by making resection with systematic lymphadenectomy. Promptly after removing the preparation a Gamma detector probe (Europrobe) is used to determine the radioactivity of the lymph pool and it finds the right SLN which has the highest radioactivity and it is separately sent for complete pathohistological analysis. At the Institute of Pathology all lymph nodes are first treated standardly with HE and then with immunohistochemical method.

Results. So far the study includes 20 patients, 14 men and 6 women, mean age 63.8 years (42-77). Until now the identification rate is 100%, which means that SLN has been found in all procedures. Only in 4 patients two sentinel lymph nodes have been revealed while in the remaining only 1, average 1.2. At PH analysis, an average of 16.75 lymph nodes have been isolated (6-29). Only in two patients false negative SLN have been revealed. The number of patients with real negative SLN is 7 which means the SLN is negative and also all the other lymph nodes. The total number of patients with real positive SLN is 11, which means SLN is positive and also some of the other lymph nodes. Therefore, the accuracy of the procedure is 90%. The sensitivity of the procedure in our study that is still ongoing, is 84.6%. Up to now in micrometastases have been detected 2 patients with immunohistochemical methods, and hence the up staging for now is 22%. In 2 patients the SLN is the only positive lymph node of all examined LN. In none of the patient aberrant lymphatic drainage has been discovered.

Conclusions. From the results obtained so far in this study, it can be concluded that the identification of the SLN with this method is possible; the accuracy and sensitivity are high and we expect them to be even higher, which is our motive to continue with the study and to analyze minimum 30 patients. We think this would be the highest number of discovered SLN by a surgeon and an institution and believe it to be sufficient validation of the method.

Key words: sentinel, colorectal cancer, lymph node, radioactive, colloid

Вовед

Колоректалниот карцином е најчестиот карцином кој се јавува во дигестивниот тракт кај луѓето. Во целокупната онкологија, колоректалниот карцином е на четврто место како по инциденцијата на јавување, така и по смртноста, веднаш зад карциномот на белите дробови, простата и дојка. За разлика од неразвиените земји каде ова заболување има ниска инциденција (6,5/7,7 случаи на 100.000

популација), во развиените западноевропски земји и Америка колоректалниот карцином не само што има висока инциденција, туку таа континуирано расте (50,9/60,8 на 100.000 популација) [1].

Најзначајно за прогнозата и петгодишното преживување кај пациентите со колоректален карцином е стадиумот на болеста кога таа е откриена и лекувана. Модерниот staging на колоректалниот карцином дефинира 4 стадиуми на болеста (I-IV) базирани на TNM (Tumor-Node-Metastasis) системот којшто од неодамна како седма едиција е издаден од AJCC (American Joint Committee on Cancer).

Кај пациенти во I и II стадиум на болеста денешните препораки укажуваат дека е доволна само хируршка ресекција на туморот со систематска лимфаденектомија. Кај овие пациенти нема метастази ниту во лимфните јазли ниту далечни метастази, и поради тоа најчесто на овие пациенти не им се нуди дополнителна адјувантна терапија (хемотерапија и радиотерапија). Пациентите со III стадиум на болест кај кои таа е проширена во лимфните јазли, но немаат далечни метастази во други органи лекувањето го продолжуваат со адјувантна хемотерапија, главно заснована на 5-флуороурацил. Пациентите во IV стадиум на болеста, покрај адјувантна терапија своето лекување го продолжуваат најчесто со повторно отстранување на далечните метастази (метастазектомија), и тоа најчесто на црниот дроб.

Од горе изнесеното се гледа дека точната патохистолошка анализа и дијагноза е од особено значење за правилен третман на колоректалниот карцином. Имено, ако од страна на патологот не се пронајдат метастази во лимфните јазли, тогаш тој пациент има болест во стадиум I или II и тој понатаму нема да биде испратен на адјувантна терапија, освен во посебни случаи. Но, доколку во лимфните јазли се откријат метастатски депозити, тогаш тој пациент има болест во III стадиум и сигурно ќе биде упатен на понатамошна адјувантна терапија [2,3]. Препораката дадена од страна на Fielding *et al.* [4], која вели дека минимум 12 регионални лимфни жлезди мора да бидат патохистолошки евалуирани за правилен staging на колоректалниот карцином, денес претставува златен стандард.

Мануелната дисекција на лимфните јазли од страна на патологот, придружена со рутинско бојење на слајдовите со hematoxylin и eosin (ХЕ) и нивна микроскопска анализа, денес претставува стандардна патолошка постапка на евалуација на секој карциномски примерок. Сепак, во многубројни студии е се поставува прашањето за тоа дали овој метод е доволно прецизен во стагинг на лимфните јазли бидејќи не е во можност да открие микрометастази [5]. Сите метастатски депозити со голе-

мина од 0,2-2 милиметри се дефинираат како микрометастази (ММ), додека оние помали од 0,2 милиметри се дефинираат како изолирани туморски клетки-ИТК [6-8]. Бидејќи со ХЕ бојењето не е можно да се детектираат микрометастази ниту изолирани туморски клетки во лимфните јазли, постои голема веројатност тие да се означат како негативни No, а всушност во себе да носат микрометастатска болест (Down staging). Со ова може да се објасни фактот што кај 25-30% од пациентите со стадиум I и II на болеста во тек на наредните 5 години се јавува локален рецидив на болеста [9].

Сентинелниот лимфен јазол (СЛЈ) се дефинира како првиот лимфен јазол (прва станица) на дренирање на лимфата од примарниот тумор и за онкологијата е од голема важност. Имајќи го ова предвид, јасно е дека СЛЈ е прв во којшто се очекува да се јават метастаски депозити од примарниот тумор и со самото тоа претставува најважен јазол/жлезда во патохистолошката анализа. Испитувањата за негово пронаоѓање кај КРЦ се започнати од неодамна и засега не постои консензус за методот на негово пронаоѓање ниту за неговото значење. Но јасна е логиката, како и кај ракот на дојка и малигниот меланом, така и кај КРЦ тој би претставувал рефлексивна и јасна слика за сите останати РЛЖ. Според тоа, неговото правилно детектирање и само негова анализа со имунохистохемиски методи значајно би ја намалиле потребата од финансиски средства за ПХ анализа, а таа би била многу попрецизна.

Досегашните студии за откривање на СЛЈ како метод користеле супсерозно инјектирање на метиленско плаво *in vivo* по што како СЛЈ се означени првите 4 ЛЈ кои се пребојуваат. Сметаме дека ова не е доволно прецизен метод поради што и главна цел на овој труд е да го подобри пронаоѓањето на СЛЈ со употреба на радиоактивен колоид и да се одреди неговата валидност преку испитување на точноста, сензитивноста и стапката на идентификација на методот. Особено важно за анализа е и значењето на СЛЈ и неговата корелација со останатите РЛЖ. Доколку се докаже дека СЛЈ дава јасна слика на останатите РЛЖ, тогаш само неговата анализа, а не и на останатите жлезди значајно би влијаела врз целокупниот третман на овие пациенти што, пак, секако би било важно за натамошни испитувања на оваа проблем.

Материјал и методи

Студијата е дизајнирана како контролирана проспективна студија. Таа се изведува на Универзитетската клиника за дигестивна хирургија, Медицински факултет, Скопје во соработка со Клиниката за гастроентерохепатологија, Институтот за

патофизиологија и нуклеарна медицина и Институтот за патологија при Медицинскиот факултет во Скопје. Во студијата се вклучени сите пациенти помеѓу 18 и 80-годишна возраст кои имаат колоректален карцином докажан ендоскопски и патохистолошки со биопсија (**инклузиони критериуми**). Критериуми на **ексклузија** се: пациенти кои на предоперативниот staging имаат далечни метастази, пациенти со ASA score од IV, пациенти кои се претходно зрачени, пациенти со докажана алергија кон радиоизотопни дијагностички агенси како и сите пациенти кои на самата операција имаат пакети на лимфни жлезди кои со голема веројатност се метастатски променети.

Сите пациенти кои се вклучени во студијата потпишаа информирана согласност.

Пациентите вклучени во студијата се хоспитализираат на клиниката 3 дена пред оперативниот третман. Првите два дена кај пациентите со употреба на Fortrans се прави чистење на дебелото црево како предоперативна подготовка. Еден ден пред операцијата на Клиниката за гастроентерохепатологија по ендоскопски пат се инјектира субмукозно, во 4 точки околу туморот, радиофармацевтски препарат радиоактивен колоид на технициум 99m комерцијален кит, со големина на честички од 100-600 nm (**Sentiscint Tc 99m Medi-radiofarma Ltd**) во количина од 4 mL која одговара на 4 mCi (мили кири) или 148 MBq (мега бекерели). Ова е дијагностички трасер, гама-емитер, со ниска енергија а голем дострел, па соред тоа без радијационо оптоварување. Веднаш по ендоскопската апликација на Tc 99m , на Институтот за патофизиологија со помош на гама-камера (**Mediso DHV nucline spirit**) се следи дистрибуцијата на колоидот во првите 30 минути, рана фаза на дист-

рибуција, по што се прави рана статика на лимфната дренажа. Утредента, непосредно пред операцијата се прави повторно снимање на Институтот за патофизиологија и нуклеарна медицина со гама-камера која ја покажува доцната дистрибуција на контрастот (доцна статика) со што се добива комплетен лимфен мапинг на лимфната дренажа на туморот со регијата на сентинелниот лимфен јазол. Сите пациентите се оперираат со стандардна онколошка хируршка техника, од ист специјалист-хирург, правејќи ресекција на дел од дебелото црево којшто го содржи туморот со систематска лимфаденектомија. Веднаш по отстранување на препаратот, тој се анализира со гамадетекторска сцинтилациона сонда (**Europrobe System, France**) со што се одредува радиоактивноста на лимфниот базен. Лимфниот јазол со највисока радиоактивност се означува како СЕНТИНЕЛ и тој посебно се испраќа за целосна патохистолошка анализа.

На Институтот за патологија сите лимфни жлезди прво се третираат стандардно со haematoxylin и eosin (ХЕ). ХЕ се бојења кои се стандардни и рутински во текот на секоја дијагностичка постапка. Доколу во ниту еден од анализираниите лимфни јазли не се пронајдат метастатски депозити (No), тие се анализираат со имунохистохемиски метод за откривање на микрометастази со употреба на **три антители, СК20, СЕА, ЕМА**, во соодветни разредувања. За имунохистохемиската анализа е користена модифицирана техника на Avidin-Biotin Immunoperoxidase Complex, адаптирана во лабораторијата на Институтот за патологија (101), со примена на EnVision (Dako, Denmark) системот за визуелизација на антителиа.

а- број на извршени процедури

б- број на процедури каде е откриен СЛЈ

в- број на пациенти со позитивни СЛЈ

г- број на пациенти со лажно негативен СЛЈ

д- број на пациенти со вистински негативен СЛЈ

ѓ- број на пациенти кои имаат позитивни ЛЖ само со имунохистохемиска анализа

Точност на методот = $v+d/b \times 100\%$

Сензитивност на методот = $v/(v+g) \times 100\%$

Upsatging = $f/(d+f) \times 100\%$

Дефиниции

Сите микрометастази во лимфните жлезди се со големина од 0,2-2 mm. Сите поединечни туморски клетки се со големина под 0,2 mm. Кога ќе се откријат микрометастази или поединечни туморски клетки кај ЛЈ третирани имунохистохемиски, а кои биле негативни на ХЕ, зборуваме за upstaging. Лажно негативни СЛЈ се сите каде СЛЈ е негативен, а некои од останатите РЛЖ е позитивен (г). Стапка на идентификација на СЛЈ е број на процедури со откриен СЛЈ (б)/број на извршени процедури (а) $\times 100\%$. Точност на процедурата се де-

финира како вкупен број пациенти со позитивни СЛЈ (в)+број на пациенти со вистински негативни СЛЈ (д)/ број на пациенти со откриени СЛЈ (б) $\times 100\%$. Сензитивност на методот е број на пациенти со позитивни СЛЈ (в)/ вкупен број позитивни пациенти (в+г) $\times 100\%$. Upstaging е број на позитивни пациенти со ИХХ (ѓ)/број на пациенти кои се негативни со ХЕ (д+ф) $\times 100\%$.

Резултати

До сега студијата опфаќа 20 пациенти, од кои 14 мажи и 6 жени, на средна возраст од 63,8 години

(42-77). Карактеристиките на туморите се дадени на табела 1. Од пациентите кои иницијално беа вклучени во студијата и кај кои беше ендоскопски инјектирано радиоактивен колоид, 8 беа исклучени поради постоење на напредната локална болест и пакети од лимфни јазли кои клинички со голема веројатност се позитивни. До сега во студијата стапката на идентификација е 100%, односно кај сите процедури е пронајден СЛЈ. Само кај 4 пациенти се откриени 2 СЛЈ, додека кај сите други по 1. При ПХ анализа изолирани се 16,75 лимфни јазли (средна вредност) (6-29). Времето на детектирање на СЛЈ по завршување на операцијата кај првите 10 случаи беше подолго во однос на вторите 10 случаи, што се совпаѓа со периодот за учење на методот. За сега кај 2 пациенти се откри лажно негативен СЛЈ, односно анализираниот сентинел нема метастатски депозити, додека некои од другите регионални лимфни јазли е позитивен. Бројот на пациенти со вистински негативен СЛЈ е 7, што значи дека анализираниот СЛЈ нема метастази, а негативни се и останатите регионални лимфни јазли. Бројот на пациенти со вистински позитивен СЛЈ е 11, односно кај овие пациенти позитивен е СЛЈ, а позитивни се и некои од останатите регионални лимфни јазли. Оттука точноста на процедурата е 90%, и е идентична со онаа кај пилот студијата. Сензитивноста на процедурата засега е 84,6% и е нешто помала од пилот студијата каде таа изнесуваше 87,5%. Од почетокот на студијата до сега само кај 2 пациенти е откриен позитивитет на жлездите при употреба на имунохистохемскиот

метод поради што упстагинг-от за сега во студијата е 22%, и тоа: кај 1 пациент беа откриени во една жлезда микрометастази, а во друга поединечни туморски клетки. Жлездата со микрометастази беше токму СЛЈ. Кај другиот пациент беа откриени микрометастази, и тоа повторно во СЛЈ. Кај 2 пациенти СЛЈ на обичните боења со ХЕ беше единствениот позитивен лимфен јазол од сите испитани регионални жлезди. Доклолку ова се вклучи како евентуален упстагинг, тогаш процентот би се зголемил на 44%. Кај ниту еден пациент не беше забележана абераантна лимфна дренажа.

Дискусија

Хируршкиот третман на КРЦ останува најважен сегмент во лекувањето на пациентите. Ова подразбира отстранување на туморот заедно со сите лимфни јазли кои го дренираат и се нарекуваат регионални лимфни жлезди. Проширеноста на болеста во овие жлезди односно нивна позитивност значи дека болеста се наоѓа во III стадиум и според тоа пациентите се упатуваат на адјувантна радио и хемотерапија. Затоа, правилната анализа на овие жлезди од страна на патолог е од особено значење како за прогнозата така и за третманот на пациентите. За правилен staging потребно е да бидат анализирани најмалку 12 жлезди според денешните препораки [11]. СЛЈ е првиот јазол преку кој се дренира туморот и според тоа е со најголема можност за позитивитет. Неговото правилно одредување и правилна ПХ анализа во многу би го подобрило правилниот staging на пациентите, а со тоа и нивната прогноза но и лекување. До сега само кај 2 карциноми, карцином на дојка и малиген меланом, протоколарно се одредува овој лимфен јазол и доколку тој е негативен не се продолжува со лимфаденектомијата што е од огромно значење за пациентите. Кај КРЦ, студиите за испитување на овој сентинел се започнати од пред неколку години и засега не постои консензус за тоа како треба да се пронајде, со кој метод и какво е неговото значење во однос на останатите жлезди. Најголем дел од студиите како метод за одредување користат супсерозно инјектирање на метиленско плаво *ин vivo* со различен процент на точноста и сензитивност на методот [10-14] (табела 2).

Табела 1. Карактеристики на туморите

Локација на туморот		
Десен колон		5
Лев колон		9
Ректум		5
Трансверзум		1
T-stage		
1	2	
2	4	
3	13	
4	1	
Вкупно изолирани жлезди-средна вредност		16,15
Изолирани СЛЈ-средна вредност		1,2

Табела 2. Резултати од мултицентрични студии на одредување на СЛЈ со метиленско плаво

Студија	Бр. на пациенти	Бр. на центри	Идентификацка стапка		Точност (%)	Сензитивност upstaging (%)
			(%)	(%)		
Bilchik <i>et al.</i> [12]	40	3	100	100	100	10
Saha <i>et al.</i> [13]	131	3	99	97	92	16
Bertagnoli <i>et al.</i> [14]	72	13	92	81	42	0
Read <i>et al.</i> [15]	38	2	79	76	25	3
Kelder and Braat [16]	69	6	97	96	89	18

Иако висока, точноста на овој метод се базира сепак на одредување на сентинел којшто е дефиниран како првите 4 лимфни жлезди кои се обојуваат. Значи, не зборуваме за еден сентинел туку за група од 4, во кои најверојатно се наоѓа и тој. Во нашата студија методот се состои во инјектирање на радиоактивен колоид перитуморски по ендоскопски пат еден ден пред операцијата, правење мапа на лимфната дренажа со гама-камера и евентуално откривање на аберантни лимфни водови како и стандардна хируршка ресекција со лимфаденектомија по што со гама-детектирачка сонда се одредува радиоактивноста на лимфните жлезди која очекувано е најголема во вистинскиот СЛЈ. Еден СЛЈ откривме кај 16 од 20-те пациенти, додека кај 4 пациенти иста радиоактивност откривме кај 2 лимфни жлезди што значи дека таму туморот се дренира во двете истовремено поеднакво. Од досега анализираниите 20 пациенти точноста на методот е 90%, сензитивноста 84,6% и стапката на идентификација 100%. Имајќи предвид дека првите 5 случаи се дефинираат како крива на учење на методот очекуваме до крајот на студијата точноста и сензитивноста да пораснат. Исто така, треба да се земе предвид дека методот е најкорисен кај пациенти во ран стадиум (I-II) додека кај III-от стадиум само доколку лимфните жлезди не се пакетирани или со големи димензии, односно доколку со голема веројатност се позитивни. Кај овие пациенти шансата за лимфна редистрибуција заради блокирање на патиштата од метастазираниите жлезди е поголема и според тоа процедурата за одредување на СЛЈ помалку прецизна што се рефлектира на точноста и сензитивноста. Од досега обработените 20 пациенти, 13 се во стадиум III од кои 4 пациенти во стадиум III што зборува за многу напредната болест, со што, пак, може да се објасни зошто точноста и сензитивноста е помала отколку во другите студии. Но, оваа студија јасно покажува дека стапката на идентификација е 100%, и една од највисоките.

Бројот на лимфни жлезди кои се ПХ анализирани е 16,1 (средна вредност), што зборува за суфициентност на онколошката ресекција. Само 2 пациенти имаа лажно негативен лимфен јазол односно сентинелот негативен, а останатите лимфни жлезди беа позитивни поради што и точноста за сега во студијата е 90%. Ова може да се објасни со фактот дека двата пациенти имаа висок стадиум на болеста (стадиум III) каде се очекуваа поголема лимфна редистрибуција, која е претходно опишана во дискусијата. Од досега обработените пациенти со имунохистохемиски метод, кај двајца се пронајдени микрометастази како и поединечни туморски клетки и овие па-

циенти се **вистински upstage-ирани**. Со тоа upstage-ингот во досегашната студија од 20 пациенти е 22%. Дополнително треба да се напомене дека кај 2 пациенти единствен позитивен лимфен јазол со употреба на стандардните ХЕ бојења беше токму СЛЈ. Некои автори во вакви ситуации и ова го сметаат за upstaging бидејќи доколку тој јазол не е посебно изолиран при хируршката ресекција, не може да се знае дали при ПХ анализата би бил изолиран. Доколку би ги вброиле и овие пациенти во нашата студија тогаш upstagingот би се зголемил за уште двајца пациенти (вкупно 4), односно би изнесувал 44%.

Резултати

Од досегашните резултати во оваа студија, може да се заклучи дека идентификацијата на СЛЈ со овој метод е можна; точноста и сензитивноста се високи и очекуваме да пораснат. Ова претставува мотив да се продолжи со студијата и да бидат анализирани минимум 30 пациенти што би било највисока бројка откриени СЛЈ од страна на еден хирург и една институција и веруваме доволна за валидизирање на методот.

Конфликт на интереси. Не е деклариран.

Литература

1. Maingot's Abdominal Operations. 12th ed. (Zinner, Maingot's Abdominal Operations).
2. Benson AB, Bekaii-Saab T, Chan E, Chen YJ, et al. Rectal cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2012; 10: 1528-1564 [PMID: 23221790].
3. Benson AB, Arnoletti JP, Bekaii-Saab T, et al. Colon cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2011; 9: 1238-1290 [PMID: 22056656].
4. Fielding LP, Arsenault PA, Chapuis PH, et al. Clinicopathological staging for colorectal cancer: an International Documentation System (IDS) and an International ComResch A, et al. Lymph node staging in colorectal cancer *J GastroenteroHepatol* 1991; 6: 325-344 [PMID: 1912440].
5. Rahbari NN, Bork U, Mutschall E, et al. Molecular detection of tumor cells in regional lymph nodes is associated with disease recurrence and poor survival in node-negative colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Oncol* 2012; 30: 60-70 [PMID: 22124103 DOI: 10.1200/JCO.2011.36.9504]
6. Nicastrì DG, Doucette JT, Godfrey TE, Hughes SJ. Is occult lymph node disease in colorectal cancer patients clinically significant? A review of the relevant literature. *J Mol Diagn* 2007; 9: 563-571.
7. Iddings D, Ahmad A, Elashoff D, Bilchik A. The prognostic effect of micrometastases in previously staged lymph node negative (N0) colorectal carcinoma: a meta-analysis. *Ann Surg Oncol* 2006; 13: 1386.
8. Bilchik A, Nissan A, Wainberg Z, et al. Surgical quality and nodal ultrastaging is associated with long-term disease-free survival in early colorectal cancer: an analysis of 2 international multicenter prospective trials. *Ann Surg* 2010; 252: 467-474.

9. Wolmark N, Fisher B, Wieand HS. The prognostic value of the modifications of the Dukes' C class of colorectal cancer. An analysis of the NSABP clinical trials. *Ann Surg* 1986; 203: 115-122.
10. Iddings D, Ahmad A, Elashoff D, Bilchik A. The prognostic effect of micrometastases in previously staged lymph node negative (N0) colorectal carcinoma: a meta-analysis. *Ann Surg Oncol* 2006; 13: 1386-1392
11. Shia J, Wang H, Nash GM, Klimstra DS. Lymph node staging in colorectal cancer: revisiting the benchmark of at least 12 lymph nodes in r0 resection. *J Am Coll Surg* 2012; 214: 348-355.
12. Bilchik AJ, Saha S, Wiese D, *et al.* Molecular staging of early colon cancer on the basis of sentinel node analysis: a multicenter phase II trial. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1128-1136.
13. Saha S, Nora D, Wong JH, Weise D. Sentinel lymph node mapping in colorectal cancer-a review. *Surg Clin North Am* 2000; 80: 1811-1819.
14. Bertagnolli M, Miedema B, Redston M, *et al.* Sentinel node staging of resectable colon cancer: results of a multicenter study. *Ann Surg* 2004; 240: 624-628.
15. Read TE, Fleshman JW, Caushaj PF. Sentinel lymph node mapping for adenocarcinoma of the colon does not improve staging accuracy. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 80-85.
16. Baat AE *et al.* The sentinel node procedure in colon carcinoma: a multi-centre study in the Netherlands. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22: 1509-1514.

Оригинален труд

ЛАПАРОСКОПСКА ИНГВИНАЛНА ХЕРНИОПЛАСТИКА

LAPAROSCOPIC INGUINAL HERNIA REPAIR

Александар Митевски¹, Светозар Антовиќ², Билјана Кузмановска³ и Никола Јанкуловски²

¹ЈЗУ Клиничка болница Штип, ²ЈЗУ УК за дигестивна хирургија Скопје, ³КАРИЛ (Клиника за анестезија, реанимација и интензивно лекување) Скопје, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ Медицински факултет, Скопје, Република Македонија

Апстракт

Вовед. Помалата постоперативна болка, побрзата мобилизација и враќањето на работоспособноста на пациентите ги направи минимално инвазивните техники методи на избор во хирургијата на херниите. Исто така, важен е и помалиот процент на постоперативни компликации, особено на местото на самата херниопластика.

Методи. Презентираме серија од 8 пациенти третираны со лапароскопска ТАПП (транс абдоминална прер-еритонеална) техника.

Се евалуира времетраење на оперативен зафат, периоперативната болка, време на испишување од болница, број на таблети (аналгетик) потребни за да нема болка постоперативно, функционален статус, појава на компликации-хематом, сером, инфекција на рана, потреба од катетеризација на мочен меур и период на враќање на нормални физички активности (реконвалесценција).

Резултати. Од 8 херниопластики, кај еден пациент интраоперативно се дијагностицира и контралатерална окултна хернија и беше исклучен од студијата. Кај еден пациент е поставен уринарен катетар заради ретенција на урина, не беа забележани други компликации на денот на исписот и ПОД 7. Средно време на траење на оперативниот зафат беше 32,8 минути, средно време на испис 1,14 дена. Средна вредност на болката ПОД 1 беше 1,7-1,8 или умерена болка при мирување и кашлање, а ПОД 7 беше 1 или без болка.

Во однос на функционалниот статус ПОД 1 беше 1,7 или лесно уморен, а ПОД 7 веќе 1 или способен. Сите пациенти дадоа податок дека ПОД 3 биле способни да ги извршуваат секојдневните активности.

Заклучок. Може да се каже дека предност на лапароскопската ТАПП техника е раната мобилизација и вонболнички третман на пациентот, ма-

лата потреба од аналезија постоперативно и брзото враќање на секојдневните активности. Пациентот третиран лапароскопски има добар ран клинички исход.

Клучни зборови: ингвинална хернија, лапароскопска херниопластика, херниопластика, ТАПП

Abstract

Introduction. Lower postoperative pain, faster mobilization and earlier return to work have made minimal invasive techniques a method of choice in hernia surgery. Also, of great importance is the lower rate of postoperative complications, especially at the site of hernia repair.

Methods. We present a series of 8 patients treated with laparoscopic TAPP (Transabdominal Pre-Peritoneal) technique.

Evaluation was done on the duration of surgery, postoperative pain, hospital discharge, number of pills (analgesic agents) required postoperatively, functional status, occurrence of complications (hematoma, seroma, wound infection, need for urinary bladder catheterization) and return to normal physical activities (convalescence).

Results. From 8 hernia repair, in one patient an occult contralateral hernia was diagnosed and he was excluded from the study. In one patient urinary catheter was placed because of urinary retention postoperatively, but there were no other complications at the day of discharge and on POD 7. Average duration of surgery was 32.8 minutes; average hospital discharge was on day 1.14. Mean pain value POD1 was 1.7-1.8-moderate pain at rest and coughing, and POD 7 was 1 or no pain.

In terms of functional status POD1 was 1.7 or easily tired, and POD 7 had 1 or capable.

All patients gave evidence that POD3 were able to carry out everyday activities

Conclusions. The advantage of laparoscopic TAPP technique is early mobilization and treatment of patients on an outpatient basis, little or no need for postoperative analgesia and rapid return to daily activities. Patients

treated laparoscopically for inguinal hernia have good early clinical outcome.

Key words: inguinal hernia, laparoscopic inguinal hernia repair, hernia repair, TAPP

Вовед

Најчест проблем во општата и дигестивната хирургија претставуваат херниите. Современата отворена пластика на ингвинална хернија со полипропиленска протеза (мрежа) ја претставил Lichtenstein во 1986 [1]. Техниката која ја претставил денес е "**златен стандард**" за поправка на ингвинална хернија со преден отворен пристап и е најчесто изведувана пластика во светот, препорачана и од хируршките асоцијации [2].

Лапароскопската поправка на ингвинална хернија првпат е претставена во 1982 од Ger [3], додека првата без тензиона лапароскопска поправка ја претставуваат Arregui и Dion во 1992 независно еден од друг [4,5]. Техниката која ја претставиле е ТАПП (транс абдоминална пре-перитонеална). Лапароскопските техники се поврзани со помала постоперативна болка (1,8% во лапароскопската група наспроти 3,5% во групата со отворена метода-Lichtenstein), побрза мобилизација на пациентите и враќање на работоспособноста [6-8], помал е и бројот на компликации на местото на инцизијата, како и другите постоперативни компликации 3% наспроти 4,5% кај отворената. Препораките на здруженијата на хирурзите се во прилог на лапароскопската херниопластика [2,9]. Иницијално повисоката цена за болничко лекување е компарабилна со социо-економскиот ефект од подобриот квалитет на живот и раното враќање на работоспособноста кај лапароскопскиот пристап [10]. Рецидивите кај ТАПП техника се сведени на помалку од 1% [11,12].

Се смета дека годишно се изведуваат околу 2 милиони ингвинални херниопластики во светот од кои околу 800 000 во САД (13), 15-20% од сите изведени се лапароскопски [14,15]. Во Европa-Данска околу 16% од сите херниопластики се изведени лапароскопски [16].

Во Р. Македонија годишно се изведуваат околу 2000 херниопластики. Лапароскопската херниопластика до пред една година се изведуваше само на Клиниката за дигестивна хирургија Скопје и тоа во многу мал број, во 2012 од 147 изведени херниопластики само 4 биле лапароскопски.

Материјал и методи

Презентираме серија од 8 пациенти со BMI (Body Mass Index) под 30 и ASA градуација 1 или 2 со еднострана ингвинална хернија која на надворешен преглед не поминува под долната линија на симфизата при напор.

Пациентите се третиран со ТАПП (транс абдоминална пре-перитонеална) техника. Предоперативно е дадена една доза на антибиотик парентерално од групата на цефалоспорино 3 генерација. Во општа анестезија со пациентот поставен во 10-15° Trendelenburg-ова положба со рацете покрај телото и без уринарен катетар, се изведе стандардна лапароскопска ТАПП процедура [12,17]. Килното кесе се редуцира и се прави преперитонеален простор зад миопектинеалниот отвор. Се користи голема еднинечна полипропиленска мрежа-протеза (со маса >40 г/м²) широка 13 см и висока на медијалниот (среден) дел 10 см и на латералниот 8 см фиксирана со титаниумски спирални "такери", два на Соорег-овиот лигамент, еден на задната страна на правиот абдоминален мускул и еден латерално на ниво на предната горна илијачна спина. Перитонеумот се затвора над мрежата со титаниумски такери.

Пациентите добија "не рестриктивни" препораки постоперативно (нема забрана за движење и физичка активност).

Направена евалуација на времетраење на оперативен зафат, периоперативната болка, време на испишување од болница, број на таблети (аналгетик) потребни за да нема болка постоперативно и функционален статус.

Болката како субјективен параметар се евидентира со ВРС (VRS-Verbal Rating Scale) четири степена скала: 1-без болка, 2-умерена болка, 3-силна болка, 4-многу силна болка. Се евидентира предоперативно, ПОД 1, ПОД 3 и ПОД 7 (ПОД-Пост оперативен ден) и тоа болка при мирување и при кашлање [18-20] (Формулар 1).

Индириктен податок за болката е и бројот на таблети (аналгетик) потребни во текот на денот за да нема болка по исписот од болница во првите три дена, пациентите користеа метамизол натриум од 500мг.

Функционалниот статус како субјективен параметар се мери со ВРС (VRS-Verbal Rating Scale) со четири степена скала: 1-способен, 2-лесно уморен, 3-уморен, 4-малаксан и тоа предоперативно, ПОД 1, ПОД 3 и ПОД 7 [21,22] (Формулар 2).

Се евидентира појава на рани постоперативни компликации на местото на херниопластиката, сером, хематом, или инфекција на оперативна

рана на денот на исписот и 7-от постоперативен ден [7,8,23].
Рековалесценцијата се одредува како субјективен

параметар, извршување на секојдневни активности. Се одредува во однос на постоперативни денови (ПОД) [24,25].

Формулар 1

БОЛКА ПРИ МИРУВАЊЕ

Предоперативно

без болка умерена болка силна болка многу силна болка

ПОД 1

без болка умерена болка силна болка многу силна болка

ПОД 3

без болка умерена болка силна болка многу силна болка

ПОД 7

без болка умерена болка силна болка многу силна болка

БОЛКА ПРИ КАШЛАЊЕ

Предоперативно

без болка умерена болка силна болка многу силна болка

ПОД 1

без болка умерена болка силна болка многу силна болка

ПОД 3

без болка умерена болка силна болка многу силна болка

ПОД 7

без болка умерена болка силна болка многу силна болка

Формулар 2

ФУНКЦИОНАЛЕН СТАТУС

Предоперативно

способен лесно уморен уморен малаксан

ПОД 1

способен лесно уморен уморен малаксан

ПОД 3

способен лесно уморен уморен малаксан

ПОД 7

способен лесно уморен уморен малаксан

Резултати

Од 8 пациенти кои ги исполнија условите за влез во студијата кај еден пациент интраоперативно се дијагностицира контралатерална окултна хернија и беше исклучен од студијата. Кај еден пациент е поставен уринарен катетар постоперативно заради ретенција на урина, не беа забележани други компликации кај ниеден од пациентите на денот на исписот и ПОД 7.

Средно време на траење на оперативниот зафат беше 32,8 минути, а средното време на испис 1,14 дена. Средна вредност на болката ПОД 1 беше

1,7 при мирување и 1,8 при кашлање или умерена болка според скалата за болка. ПОД 3 болката беше 1,1 при мирување и 1,3 при кашлање, односно помеѓу без болка и умерена болка. ПОД 7 вредноста беше 1 или без болка.

Во однос на функционалниот статус ПОД 1 беше 1,7 или лесно уморен, ПОД 3 1,14 поблиску до способен, а ПОД 7 веќе 1 или способен.

Сите пациенти дадоа податок дека користеле помалку од две таблети дневно првите три дена по исписот, а веќе ПОД 3 биле способни да ги извршуваат секојдневните активности (Табела 1).

Табела 1. Резултати од 8 оперирани пациенти со средни вредности

Бр	време/ мин	испис	Болка	бПОД1	бПОД3	бПОД7	фс	Фс ПОД1	Фс ПОД3	Фс ПОД7	Кат.	Рек.	ТД
1	40	1	1/1	2/2	1/1	1/1	1	2	1	1		3	<2
2	30	2	1/1	2/2	2/2	1/1	1	2	2	1	1	3	<2
3	40	1	1/1	2/2	1/1	1/1	1	1	1	1		3	<2
4	25	1	1/1	2/2	1/2	1/1	1	1	1	1		2	<2
5	30	1	1/1	2/2	1/1	1/1	1	2	1	1		3	<2
6	30	1	1/1	1/1	1/1	1/1	1	2	1	1		2	<2
7	Бил/50												
8	35	1	1/1	1/2	1/1	1/1	1	2	1	1		3	<2
Ср	32,85	1,14		1,71/1,86	1,14/1,28	1/1		1,71	1,14	1		2,71	

ПОД (постоперативен ден), 1 – се смета 24ч од оперативен зафат, 2 -48 ч, **ТД** (таблети дневно), направени се две групи: I. употреба на 2 или помалку таблети дневно и II. употреба на повеќе од 2 таблети дневно за да се постигне аналгезија. Таблетарната аналгезија е во домашни услови, по испишување на пациентот, **фс**-функционален статус

Дискусија

Кај дел од пациентите кои клинички се со една страна ингвинална хернија интраоперативно при лапароскопија се верифицира окултна контралатерална хернија [26]. Еден од пациентите беше дијагностициран со окултна контралатерална хернија и беше изведена билатерална херниопластика, тој беше исклучен од студијата. Откривањето и третирањето на окултните хернии е овозможено единствено со ТАПП техниката, а го намалува натамошниот морбидитет и симптоматологијата од неоткриените и нетретирани хернии.

Во однос на времетраењето на оперативниот зафат тоа е компарабилно со отворената херниопластика, иако студиите укажуваат на нешто подолго траење на лапароскопската херниопластика [7,8,10]. Болката во постперативниот тек се движи од умерена во првиот постоперативен ден до скоро без болка третиот, има мали разлики во квантитетот на описот на болката при мирување и напор (кашлање). Седмиот пост оперативен ден сите пациенти беа без болка во однос на скалата за болка. Функционалниот статус постоперативно веќе третиот ден се доближува до способен, што одговара и на намалената болка третиот ден-описана поме-

ѓу без болка и умерена, а седмиот ден е со опис способен. Намалувањето на болката третиот постоперативен ден, и подобрувањето на функционалниот статус одговара и на описот на реконвалесценцијата третиот постоперативен ден кога пациентите опишаа дека биле способни да ги извршуваат секојдневните активности. Исто така, индиректен показател е и употребата на помалку од две таблети дневно кај сите пациенти за да се постигне аналгезија во првите три дена по исписот.

Дискусија

Може да се каже дека предност на лапароскопската ТАПП техника е раната мобилизација и вонболнички третман на пациентот, малата потреба од аналгезија постоперативно и брзото враќање на секојдневните активности. Пациентот третиран лапароскопски има добар ран клинички исход. За да се потенцира значајноста на овие резултати е потребна студија со поголем број случаи.

Конфликт на интереси. Не е декларирани.

Литература

1. Lichtenstein IL, Shulman AG. Ambulatory outpatient hernia surgery. Including a new concept, introducing tension-free repair. *Int Surg* 1986; 71(1): 1-4.
2. Simons MP, Aufenacker T, Bay-Nielsen M, *et al.* European Hernia Society guidelines on the treatment of inguinal hernia in adult patients. *Hernia* 2009; 13(4): 343-403.
3. Ger R. The management of certain abdominal herniae by intra-abdominal closure of the neck of the sac. Preliminary communication. *Ann R Coll Surg Engl* 1982; 64(5): 342-344.
4. Arregui ME, Davis CJ, Yucel O, Nagan RF. Laparoscopic mesh repair of inguinal hernia using a preperitoneal approach: a preliminary report. *Surg Laparosc Endosc* 1992; 2(1): 53-58.
5. Dion YM, Morin J. Laparoscopic inguinal herniorrhaphy. *Can J Surg* 1992; 35(2): 209-212.
6. Eklund A, Montgomery A, Bergkvist L, Rudberg C. Chronic pain 5 years after randomized comparison of laparoscopic and Lichtenstein inguinal hernia repair. *Br J Surg* 2010; 97(4): 600-608.
7. Neumayer L, Giobbie-Hurder A, Jonasson O, *et al.* Open mesh versus laparoscopic mesh repair of inguinal hernia. *N Engl J Med* 2004; 350(18): 1819-1827.
8. Memon MA, Cooper NJ, Memon B, *et al.* Meta-analysis of randomized clinical trials comparing open and laparoscopic inguinal hernia repair. *Br J Surg* 2003; 90(12): 1479-1492.
9. 1-danish hernia database recommendations.pdf [Internet]. [cited 2014 May 26]. Available from: <http://www.kirurgisk-selskab.dk/cms/images/stories/guidelines/danish%20hernia%20database%20recommendations.pdf>
10. McCormack K, Wake B, Perez J, *et al.* Laparoscopic surgery for inguinal hernia repair: systematic review of effectiveness and economic evaluation. *Health Technol Assess* 2005; 9(14): 1-203, iii-iv.
11. Singhal T, Balakrishnan S, Grandy-Smith S, El-Hasani S. Consolidated five-year experience with laparoscopic inguinal hernia repair. *Surgeon* 2007; 5(3): 137-40, 142.
12. Laparoscopic Inguinal Hernia Repair Technique [Internet]. [cited 2014 May 25]. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/1534321-technique>.
13. Rutkow IM. Demographic and socioeconomic aspects of hernia repair in the United States in 2003. *Surg Clin North Am* 2003; 83(5): 1045-1051, v-vi.
14. Wellwood J, Sculpher MJ, Stoker D, *et al.* Randomised controlled trial of laparoscopic versus open mesh repair for inguinal hernia: outcome and cost. *BMJ* 1998; 317(7151): 103-110.
15. Laparoscopic versus open repair: A superior approach to inguinal herniorrhaphy? OA Minimally Invasive Surgery [Internet]. [cited 2014 May 26]. Available from: <https://www.oapublishinglondon.com/article/618#3>.
16. Rosenberg J, Bay-Nielsen M. Current status of laparoscopic inguinal hernia repair in Denmark. *Hernia* 2008; 12(6): 583-587.
17. Transabdominal Preperitoneal (TAPP) Hernia Repair. 2013; [cited 2014 May 24]; Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/1893529-overview>.
18. Briggs M, Closs JS. A descriptive study of the use of visual analogue scales and verbal rating scales for the assessment of postoperative pain in orthopedic patients. *J Pain Symptom Manage* 1999; 18(6): 438-446.
19. Srikandarajah S, Gilron I. Systematic review of movement-evoked pain versus pain at rest in postsurgical clinical trials and meta-analyses: a fundamental distinction requiring standardized measurement. *Pain* 2011; 152(8): 1734-1739.
20. Pain after primary inguinal herniorrhaphy: influence of surgical technique. [Internet]. [cited 2014 Jun 1]. Available from: <http://jsurg.com/blog/pain-after-primary-inguinal-herniorrhaphy-influence-of-surgical-technique>
21. Rubin GJ, Cleare A, Hotopf M. Psychological factors in postoperative fatigue. *Psychosom Med* 2004; 66(6): 959-64.
22. Salmon P, Hall GM. A theory of postoperative fatigue. *J R Soc Med* 1997; 90(12): 661-664.
23. O'Reilly EA, Burke JP, O'Connell PR. A meta-analysis of surgical morbidity and recurrence after laparoscopic and open repair of primary unilateral inguinal hernia. *Ann Surg* 2012; 255(5): 846-853.
24. Callesen T, Klarskov B, Bech K, Kehlet H. Short convalescence after inguinal herniorrhaphy with standardised recommendations: duration and reasons for delayed return to work. *Eur J Surg* 1999; 165(3): 236-241.
25. Timing of return to work after hernia repair: Recommendations based on a literature review | BC Medical Journal [Internet]. [cited 2014 Jun 1]. Available from: <http://www.bcmj.org/articles/timing-return-work-after-hernia-repair-recommendations-based-literature-review>
26. Griffin KJ, Harris S, Tang TY, *et al.* Incidence of contralateral occult inguinal hernia found at the time of laparoscopic trans-abdominal pre-peritoneal (TAPP) repair. *Hernia* 2010; 14(4): 345-349.

Оригинален труд

ИНЈЕКЦИСКА ТЕРАПИЈА СО BOTULINUM TOXIN A ВО ТРЕТМАН НА ХРОНИЧНИ АНАЛНИ ФИСУРИ: ПИЛОТ СТУДИЈА

INJECTION THERAPY WITH BOTULINUM TOXIN A IN TREATMENT OF CHRONIC ANAL FISSURES: A PILOT STUDY

Владимир Андреевски¹, Светозар Антовиќ² и Никола Јанкуловски²

¹ЈЗУ Универзитетска клиника за гастроентерохепатологија, ²ЈЗУ Универзитетска клиника за дигестивна хирургија, Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Медицински факултет Скопје, Република Македонија

Апстракт

Вовед. Цели на студијата се да се одреди клиничкиот одговор на инјекциската терапија со botulinum toxin A (ИТБТ) кај пациенти со дијагностицирана хронична анална фисура (ХАФ), евентуално пројавените несакани ефекти од неа и да се проценат карактеристиките на пациентите во моментот на поставување на дијагноза. Аналните фисури се често заболување. Во основата на нивната појава е развојот на зголемен тонус на внатрешниот анален сфинктер (ВАС). Хируршките методи на лекување се ефикасни, но може да се причина за трајни несакани ефекти, како што е минорната анална инконтиненција. Привремено намалување на тонусот на ВАС може да се постигне фармаколошки со примена на botulinum toxin (БТ).

Методи. Во студијата беа вклучени 20 пациенти со ХАФ третирани со botulinum toxin тип А. Инјекциската терапија беше аплицирана во ВАС со примена на растворен БТ аплициран на двете страни од ХАФ во доза од 10 U, односно вкупна доза од 20 U во 0,05 мл волумен.

Резултати. По период на следење од 3 месеци, подобрување (санирање на фисурите и намалување на болката) од терапијата беше регистрирано кај 90% пациенти. Потполно заздравување на ХАФ беше постигнато кај 65% пациенти. Кај три пациенти (15%) беше регистрирана појава на транзитрна минорна анална инконтиненција манифестирана со појава на флатус. Интензитетот на болка при и по дефекација по 4 недели од ИТБТ споредено со периодот пред интервенцијата, статистички значајно беше намален ($p < 0,05$).

Заклучок. ИТБТ е ефикасна и безбедна форма

на третман на ХАФ. Таа покажува добар ефект и ретки минорни и транзиторни компликации. Затоа секогаш треба да се има предвид како опција пред примената на некоја од хируршките форми на терапија.

Клучни зборови: хронична анална фисура, botulinum toxin

Abstract

Introduction. The aim of this study was to determine clinical response to injection therapy with botulinum toxin A (ITBT) in patients diagnosed with chronic anal fissure (CAF), possibly manifested side effects from it and to assess the characteristics of patients at the time of setting the diagnosis. Anal fissure is a common disease. The basis of its appearance is the development of an increased tone of the internal anal sphincter (IAS). Surgical treatment methods are effective but can cause permanent side effects such as minor anal incontinence. Temporary reduction of IAS tone can be achieved pharmacologically using the botulinum toxin (BT).

Methods. The study included 20 patients with CAF treated with botulinum toxin type A. Injection therapy was administered to IAS by applying the dissolved BT situated on both sides of the CAF at a dose of 10 U, or in other words a total dose of 20 U in 0.05 ml volume.

Results. At follow-up period of 3 months, the improvement (complete repair of the fissures and pain relief) of treatment was seen in 90% of patients. Fully recovery of CAF was achieved in 65% of patients. In three patients (15%), the occurrence of minor transient anal incontinence was registered, manifested by phenomenon of flatus. The intensity of pain during and after defecation after 4 weeks of ITBT compared to pre-intervention was statistically significantly reduced ($p < 0.05$).

Conclusions. ITBT is an effective and safe form of treatment of CAF. It shows good effect and rare complications that are minor and transient. Therefore, ITBT should always be considered as an option before the application of any of the surgical forms of therapy.

Key words: chronic anal fissure, botulinum toxin

Вовед

Аналната фисура претставува надолжен расцеп на лигавицата од аналниот канал што се протега од надворешниот анален отвор во насока на назабената линија на внатрешниот анален венец. Фисурите се делат на примарни и секундарни и акутни и хронични. Примарните анални фисури се оние кои не се јавуваат во склоп на други заболувања. Постојат две дефиниции кои поблиску ги одредуваат примарните ХАФ, анатомска и временска. Временски ХАФ се одликува со болка што трае подолго од 4 недели или пократко, но со слични епизоди во минатото. Анатомски, пак, се дефинира со издигнати рабови, јазол чувар на дисталниот крај и/или видливи мускулни влакна на ВАС во дното [1]. Преваленцијата е тешко да се процени точно. Речиси секое чувство на непријатност во аноректалната регија, се припишува од страна на пациентите на симптоматска хемороидална болест. Кај општата популација е веројатно многу повисока отколку што се констатира во клиничката практика [2]. Во втората половина на минатиот век, тераписки главно се применуваа конзервативни форми на третман со апликација на локални агенси и топли купки или некои од хируршките техники, како латералната сфинктеректомија [3] и Лордовата техника на анална дилатација [4,5]. Хируршките форми на терапија вклучително и латералната интерна сфинктеректомија (ЛИС) која претставува златен тераписки стандард со успешност околу 95%, се асоцирани со ризик за појава на перманентна минорна и поретко мајорна фекална инконтиненција кај 4-10% од случаите [6]. Мајорната перзистентна инконтиненција, според некои авторите, се смета за неприфатлива компликација на терапијата на бенигните состојби и заболувања [7]. Иако ХАФ претставува бенигна состојба, интересот за неа не опаѓа долго време, во прилог на што говори фактот дека од 1966-2010 година се публикувани повеќе од 75 рандомизирани проспективни студии на оваа тема со 49 споредби на различните форми на медикаментозна и хируршките форми на терапија [8]. Осознавањето на патофизиологијата на аналните фисури ги промени тераписките можности и создаде нови. Круцијален елемент во ова има намалувањето на хи-

пертонусот на ВАС. Ова може да се постигне со примена на нитро препарати, калциум канални блокатори или инјекциска терапија со botulinum toxin (БТ), кои се применуваат за таканаречена хемиска сфинктеректомија. Главен мотив за спроведувањето на оваа студија беше доскорешната застапеност и можност за лекување на ХАФ во Македонија само со локални медикаменти и хируршките форми на терапија. Целите на студијата се: да се проценат карактеристиките на пациентите во моментот на поставување на дијагноза, да се одреди клиничкиот одговор на ИТБТ кај пациенти со дијагностицирана ХАФ и евентуално пројавените несакани ефекти од неа.

Материјал и методи

Од 01.01.2013 до 01.01.2014 на ЈЗУ Универзитетската клиника за гастроентерохепатологија вкупно 23 пациенти со ХАФ, кои претходно биле неуспешно лекувани со локални медикаментозни форми на терапија во период подолг од 3 недели, беа третирани со инјекциска терапија со БТ. Ниту еден од пациентите, пред хемиската сфинктеректомија со БТ, не пријави присуство на анална инконтиненција пред третманот. Првично сите пациенти беа подложени на клиничка евалуација со физикален преглед на абдомен, надворешен анален и локален дигитален преглед, ендоскопска евалуација со сигмоидоскопија или тотална колоноскопија и беше обезбедена информирана согласност. Кај секој од пациентите дијагнозата беше поставена врз основа на резултатите од овие иследувања. Во студијата беа вклучени пациенти на возраст над 18 години и со постоење на објективна клиничка и ендоскопски потврдена ХАФ. Како критериуми за исклучување беа применети следниве: постоење на акутна анална фисура, присутна инфламаторна цревна болест, активна локална или системска малигна болест, туберкулоза, перианални фистули и апсцеси, планирана или присутна бременост, претходна и паралелна терапија со калциум блокатори, присутна локална инфекција, прием на хемотерапија, податок за претходна локална радиотерапија, претходен оперативен третман во предел на аналниот канал и присуство на хемороидална болест од четврти степен. Инјекциската терапија беше спроведена со примена на botulinum toxin тип А (Botox, Allergan, Westport, Ireland), претходно складиран и чуван на -10°C , а потоа растворен со sol. NaCl а 0,9%, и аплициран на двете страни од ХАФ во ВАС, во доза од 10 U, односно вкупна доза од 20 U во 0,05 мл волумен, со примена на инсулински шприц од 2 мл и игла од 10 мм, 26G. Сите процедури беа спроведени од страна на ист гастроентеролог. Еден ден пред интервенцијата сите пациенти беа прочис-

тени со примена на раствор на полиетилен гликол. Постинтервентно сите беа советувани да внесуваат зголемена количина целулозни влакна во исхраната. Примарна цел и мерка на исход беше потполното санирање на ХАФ, потврдено со надворешен анален преглед и аноскопија. Секундарни цели беа намалување на симптомите на болка и крвавење и појавата на непосредни или одложени компликации во смисла на анална инконтиненција, алергија или локална инфекција. Потполното санирање беше дефинирано како потполна епителизација на местото на претходно констатираната ХАФ. Интензитетот на болката и присуството на крвавење беа мерени преку визуелна аналогна скала [9]. Аналната инконтиненција беше следена со примена на системот на степенување и скорирање според Pescatori: А-инконтиненција за флатус и слуз, Б-течна столица, В-тврда столица и 1 за повремени појава, 2 за појава еднаш неделно и 3 за појава секојдневно [10]. По првичниот третман пациентите беа клинички следени во интервали од 4 и 12 недели. Независно од вака закажаните контроли, испитаниците имаа можност да консултираат и на нивно барање при евентуално влошување на симптомите.

Континуираните варијабли беа изразени како средна вредност со стандардна девијација, а квалитативните во апсолутни фреквенции. За анализа на разликите во скоровите за болка при секоја посета беше применет Student-ов t-test. Утврдените вредности за $p < 0,05$ беа сметани за статистички значајни.

Резултати

Од 23 пациенти со дијагностицирана ХАФ и третирани со ИТБТ, само 20 беа вклучени во оваа студија. Преостанатите 3 пациенти беа исклучени, бидејќи не се јавија на контрола во периодот на следење. Средната возраст на испитуваната група изнесуваше 37 години (во ранг од 18-66 години). Од вклучените пациенти, 14 беа жени, а 6 мажи. Само кај 6 пациенти пред испитувањето беше констатирано уредно цревно празнење, а кај преостанатите 14 констипација. Сите жени беа родилки

Табела 1. Клинички карактеристики на пациенти со ХАФ

	Број	%
<i>Пол</i>		
М	6	30
Ж	14	70
<i>Симптоми</i>		
Болка	20	100
Крвавење	17	85
Пруритус	15	75
Времетраење на симптоми		
Месеци (средна вредност ± SD)	9,5 ± 6,8	

со едно или повеќе природни вагинални породувања. Просечното времетраење на симптомите пред интервенцијата изнесуваше $9,5 \pm 6,8$ месеци. Петнаесет пациенти пред интервенцијата биле неуспешно третирани со локална медикаментозна терапија на база на атстригенси, а 5 со локална примена на калциум канален блокатор. Карактеристиките на испитаниците се прикажани на табела 1.

По завршување на периодот на следење од 12 недели, кај 13 пациенти (65%) беше констатирано потполно санирање на ХАФ. Одреден степен на подобрување на симптомите беше регистриран кај 60% од пациентите (12/20) по 4 недели и 90% (18/20) по 3 месеци од ИТБТ. Зараснување на ХАФ беше регистрирано кај 20% (4/20) пациенти по 4 недели. Вкупниот успех од терапијата изразен преку санирање на ХАФ и подобрување на присутната болка изнесуваше 90% (18/20 пациенти). Интензитетот на болката статистички значајно беше намален уште при првата контрола по 4 недели, како и по 3 месеци во однос на периодот пред третманот (Табела 2). Три пациенти пријавија појава на минорна транзиторна анална инконтиненција манифестирана со појава на флатус (15%). Не беа регистрирани други несакани ефекти од применетата терапија.

Табела 2. Интензитет на болка евалуиран преку визуелна аналогна скала

	Болка Интензитет
Пред интервенција	8,9 (1,5)
Прва контрола по 4 недели	0,8 (0,3)*
Втора контрола по 12 недели	0,2 (0,2)

Вредностите се изразени како средна вредност и SD. За споредба на разликите во секоја точка е применет Student-ов t-test. Статистички значајно: интензитет на болка при и по дефекација на прва контрола споредено со пред интервенција * $p < 0,05$. Вредностите се изразени како средна вредност и SD. За споредба на разликите во секоја точка е применет Student-ов t-test. Статистички значајно: интензитет на болка при и по дефекација на прва контрола споредено со пред интервенција * $p < 0,05$.

Дискусија

Хроничната анална фисура е често заболување во аноректалната регија. Ризик-фактори за појава на аналните фисури претставуваат констипацијата, хипертонусот на ВАС, сексуалните анални односи и др. Болката во текот на дефекација резултира со пораст на тонусот на ВАС, со што се создава маѓепсан круг кој завршно резултира со развој на ХАФ.

Конзервативните форми на медикаментозна терапија имаат за цел да го намалат тонусот на ВАС а со тоа и круцијалниот симптом на болка. Ова може да се постигне со примена на диететски мерки во смисла на внес на целулозни влакна, омекнувачи на столицата, топли купки и примена на локални агенси [11]. Конзервативните форми на терапија се поефикасни во лекувањето на акутните анални фисури, додека хируршките форми на терапија се главно резервирани за ХАФ. Најчестата хируршка процедура која се применува во третманот на ХАФ е ЛИС. Таа резултира со намалување на тонусот на ВАС и се цени дека е високо ефикасна со стапка на успешност од 95-100% [6,12]. Во изминатиот период повеќе студии значајно го променија разбирањето за оваа состојба. Така, задната комисура или квадрант од аналната регија е детерминиран како место со намалена локална циркулација [13]. Оттаму, зголемениот тонус на ВАС ја намалува циркулацијата, што резултира со исхемија и најчеста поставеност на ХАФ токму на позиција на 12 часот. Тонусот на ВАС е посредуван од низа патишта кои ги инволвираат ексцитаторните алфа-адренергички, инхибиторните бета-адренергички и бифазните холниергички и не-адренергички не-холинергички рецептори. Токму на ова се заснова и примената на нитропрепарати во терапијата на ХАФ и тоа нитроглицеринот главно, кој ја подобрува локалната перфузија. Стапката на успешност е варијабилна и се движи од 62-88% според некои автори [14], до скромни 53% според податоците од последната Кохранова мета-анализа на оваа тема [8]. Главен несакан ефект на ваквата терапија е појавата на главоболки кај 19-58% од случаите [15]. Блокаторите на калциумовите канали, главно, се применуваат локално како 2% масти [16]. Повеќето студии од последнава деценија се работени со примена на локален нифедипин. Притоа, констатирано е значително намалување на тонусот на ВАС, но стапки на санација на ХАФ, слични на оние кај нитропрепаратите [8]. Стапката на системски компликации е пониска, но повторно и кај оваа форма на терапија е неопходен висок процент на соработка од страна на пациентите. Инјекциската терапија со БТ е елегантна метода за привремена редукција на тонусот на ВАС. БТ го блокира ослободувањето на ацетилхолин од нервните завршетоци и на тој начин причинува парализа на мускулите. Во моментот се достапни два типа на БТ (тип А и Б). Повеќето студии поврзани со терапијата на ХАФ се работени со примена на типот А [17]. БТ се инјектира во ВАС и го намалува тонусот на ВАС во период од 4-6 месеци. Болката по неговата примена се намалува по 2-7 дена, а пријавените стапки на зараснување варираат од 44-96% [18]. Кај 0-12% од тре-

тираните е можна појава на инконтиненција и директно зависи од применетата доза на БТ, при што секогаш е транзиторна [18]. Во рандомизираниите и проспективни студии БТ е супериорен во споредба со нитро препаратите [19]. Системски несакани ефекти, освен кај лица со потврдена реактивност на БТ, не се регистрирани [20]. Ретки се и локалните компликации со поединечни опишани случаи со развој на локални хематоми и потреба од хируршко лекување [21].

Заклучок

Резултатите од оваа пилот-студија се во согласност со другите студии работени на оваа тема, иако не се репродуцирани во целост, исти или слични стапки на успешност како во некои други студии [22]. Независно од ова, ИТБТ е терапевска опција со респектибилна стапка на ефикасност, особено на краток до среден рок и со минимални несакани ефекти. Оттаму, инјекциската терапија со ботулин токсин треба да се има предвид кај речиси сите пациенти, пред да се примени последната терапевска опција, односно хируршкото лекување.

Конфликт на интереси. Не е деклариран.

Литература

1. Goligher JC. Stretching of anal sphincters in treatment of fissure-in-ano. *Surgery of the Anus, Rectum & Colon* 3rd Edition. London: Balliere & Tindall, 1975.
2. Nelson RL, et al. Prevalence of benign anorectal disease in a randomly selected population. *Dis Colon Rectum* 1995; 38: 341.
3. Notaras MJ. Lateral subcutaneous sphincterotomy for anal fissure—a new technique. *Proc R Soc Med* 1969; 62: 713.
4. Lord PH. Approach to the treatment of anorectal disease, with special reference to hemorrhoids. *Surg Annu* 1977; 9: 195-211.
5. Lord PH. A new regime for the treatment of haemorrhoids. *Proc R Soc Med* 1968; 61: 935-936.
6. Garcia-Aguilar J, et al. Open vs closed sphincterotomy for chronic anal fissure: long term results of randomised prospective trial. *Dis Colon Rectum* 1996; 39: 440-443.
7. Andrea Cariati, et al. Anal stretch for chronic anal fissure: an old operation that stood the test of time. *Langenbecks Arch Surg* 2012.
8. Nelson RL, et al. Nonsurgical therapy for anal fissure. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2012, Issue 2. Art. No.: CD003431. DOI: 10.1002/14651858. CD003431.pub3.
9. Huskisson EC. Measurement of pain. *J Rheumatol* 1982; 19: 768-769.
10. Pescatori M, Anastasio G, Bottini C, Mentasti A. New grading and scoring for anal incontinence. Evaluation of 335 patients. *Dis Colon Rectum* 1992; 35: 482-487.
11. Lund JN, Armitage NC, Scholefield JH. Use of glyceryl trinitrate ointment in the treatment of anal fissure. *Br J Surg* 1996; 83: 776-777.
12. Nelson RL. A review of operative procedures for anal fissure. *J Gastrointest Surg* 2002; 6: 284-289.

13. Klosterhalfen B, Vogel P, Rixen H, Mittermayer C. Topography of the inferior rectal artery: a possible cause of chronic, primary anal fissure. *Dis Colon Rectum* 1989; 32: 43-52.
14. Mc Callion K, Gardiner KR. Progress in the understanding and treatment of chronic anal fissure. *Postgrad Med J* 2001; 77: 753-758.
15. Carapeti EA, Kamm MA, Mc Donald PJ, et al. Randomised controlled trial shows that glyceryl trinitrate heals anal fissures, higher doses are not more effective, and there is a high recurrence rate. *Gut* 1999; 44: 727-730.
16. Carapeti EA, Kamm MA, Phillips RK. Topical diltiazem and bethanechol decrease anal sphincter pressure and heal anal fissures without side effects. *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 1359-1362.
17. Jost WH. Ten years' experience with botulin toxin in anal fissure. *Int J Colorectal Dis* 2002; 17: 298-302.
18. Maria G, Sganga G, Civello IM, Brisinda G. Botulinum neurotoxin and other treatments for fissure-in-ano and pelvic floor disorders. *Br J Surg* 2002; 89: 950-961.
19. Brisinda G, Maria G, Bentivoglio AR, et al. A comparison of injections of botulinum toxin and topical nitroglycerin ointment for the treatment of chronic anal fissure. *N Engl J Med* 1999; 341: 65-69.
20. Brisinda D, Maria G, Fenici R, et al. Safety of botulinum neurotoxin treatment in patients with chronic anal fissure. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 419-420.
21. Tilney HS, Heriot AG, Cripps NP. Complication of botulinum toxin injections for anal fissure. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 1721-1724.
22. Jost WH, Schimrigk K. Therapy of anal fissure using botulin toxin. *Dis Colon Rectum* 1994; 37: 1321-1324.

Оригинален труд

ЕНУМЕРАЦИЈА НА CD34+ ХЕМАТОПОЕТСКИ МАТИЧНИ КЛЕТКИ СО ПРОТОЧНА ЦИТОМЕТРИЈА: НАШИ ИСКУСТВА

FLOW CYTOMETRIC ENUMERATION OF CD34+ HEMATOPOIETIC STEM CELLS: SINGLE CENTER EXPERIENCE

Ирина Пановска-Ставридис, Борче Георгиевски, Александра Пивкова-Вељановска, Сања Трајкова, Злате Стојановски, Соња Генадиева-Ставриќ, Душко Дуковски, Лазар Чадијевски, Марија Попова, Мартин Ивановски и Лидија Чевреска

Универзитетска клиника за хематологија, Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Медицински факултет, Скопје, Република Македонија

Апстракт

Вовед. Хематопоетски матични клетки (ХМК) се клучниот фактор при реализацијата на хематопоетската трансплантација. Енумерацијата на CD 34+ клетки со помош на проточна цитометрија се користи рутински во центрите за трансплантација за одредување на оптималното време за почеток на харвестрација и за евалуација на погодноста на харвестот од периферни ХМК. Во овој труд се прикажани искуствата од Универзитетската клиника за хематологија-Скопје во енумерацијата на CD 34+ клетки со помош на проточната цитометрија.

Методи. Во периодот од јануари 2008 година до октомври 2014 година на Клиниката изведени се вкупно 156 трансплантации на ХМК. Во 368 примероци од периферна крв од пациенти и здрави донори и во 212 примероци добиени од продуктите на афереза одреден е бројот на CD 34 позитивните клетки. Енумерацијата беше изведена со помош на проточен цитометар BD-Biosciences (BD)-FACS-Canto II, со примена на протоколот на International Society of Hematotherapy and Graft Engineering (ISHAGE) кој се базира на две платформи, модифициран според препораките на LeukemiaNet, WP9 од 2004 година.

Резултати. Просечните вредности на CD34+ клетки на денот на харвестрација изнесуваа 12,5 микроЛ (ранг7-17), а кај секој пациент инфундирани беа добиени просечно 2.48 CD34+x 10⁶/кг/телесна тежина (ранг 0.1-6.3).

Заклучок. Нашите резултати потврдија дека применетиот протокол за енумерација на CD34+

клетки овозможува точна, прецизна и брза енумерација на CD34+ клетките и сигурно спроведување на процедурата на трансплантација.

Клучни зборови: хематопоетски матични клетки (ХМК), CD 34 клетки, проточната цитометрија, трансплантација на хематопоетски клетки

Abstract

Introduction. Hematopoietic stem cells (HSC) are the basic factor for consistent realization of the hematopoietic transplantation. Enumeration of CD34+ cells by flow cytometry is routinely used by the Transplant center to determine the optimal timing for harvest and to evaluate the adequacy of the HSC harvest. In this paper we present the experience and practice from the University Clinic of Hematology-Skopje with the flow-cytometric CD34 enumeration.

Methods. In the period from January 2008 to October 2014 a total of 156 HSC transplantations were performed at our Institution. In 386 peripheral blood samples from patients and healthy donors and in 212 samples obtained from harvest products CD34 positive cells were assessed. Enumeration was performed with BD-Biosciences (BD)-FACS-Canto II flow-cytometer by using International Society of Hematotherapy and Graft Engineering (ISHAGE), a two-platform based protocol modified according to the LeukemiaNet, WP9 recommendations from 2004.

Results. An average of 12.8 CD34 positive cells/microL (range 7-17) was obtained at the time of harvesting, and an average dose of 2.48 CD34+x 10⁶/kg (range 0.1-6.3) was infused in each patient.

Conclusions. Our results confirmed that our routinely used protocol for CD34+ cells enumeration enables accurate, precise and fast CD34 quantification and makes the practice of hematopoietic transplantation more reliable and securer procedure.

Key words: hematopoietic stem cells (HSC), CD34+ cells, flow cytometry, hematopoietic transplantation

Вовед

Хематопоетските матични клетки (ХМК) се претходници на сите видови крвни клетки. Тие потекнуваат од мезодермот, а се среќаваат во периферната крв и коскената срцевина. Носат огромен потенцијал за делба, самообновување и натамошна мултилиниска диференцијација. На својата површина го експримираат површниот клеточен маркер CD34 кој има улога во меѓуклеточната адхезија и во поврзувањето на матичните клетки со екстраклеточниот матрикс од коскената срцевина. Овој маркер се детектира кај 3% од клетките во коскената срцевина и ги дефинира тие клетки како хематопоетски матични клетки. Во периферната крв се среќава многу помал процент на CD34+ клетки (<5 микро/л CD34+) [1-3]. ХМК се клучниот фактор при реализацијата на трансплантацијата од кои зависи мултилинискиот енграфтмент и позитивниот исход од интервенцијата. Од нив зависи долгорочната реконструкција, односно опоравувањето на мултилиниската хематопоеза кај пациенти по миелоаблативна терапија. Со современите терапевски протоколи и протоколи за мобилизација може значително да се зголемат бројот на циркулирачки CD34+ матични клетки кај пациентите и здравите донори [4-7]. Квантификацијата на CD34+ клетки со помош на проточна цитометрија се користи рутински во центрите за трансплантација за одредување на оптималниот тајминг за почеток на харвестрација и со цел да се потврди адекватноста на харвестот [8,9].

Во овој труд се прикажани искуствата од енумерацијата на CD34+ клетки со помош на проточна цитометрија на Универзитетската клиника за хематологија-Скопје.

Материјал и методи

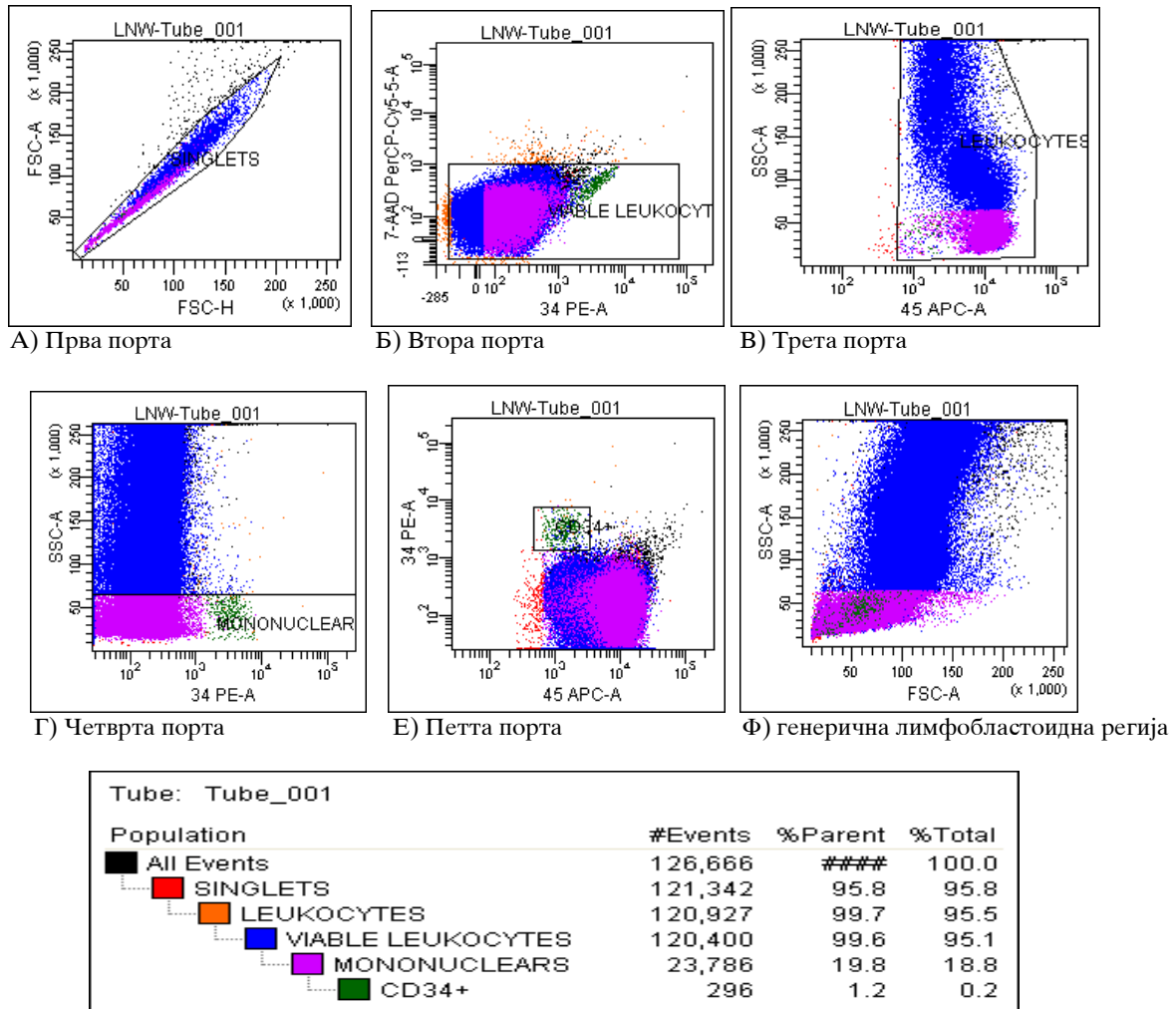
Проточната цитометрија на Универзитетската клиника за хематологија како рутинска дијагностичка постапка е воведена 2008 година. Во периодот од јануари 2008 година до октомври 2014 на Клиниката се изведени 117 автологни и 39 алогени трансплантации на ХМК.

Енумерацијата на CD34+ клетки е изведена во 368 примероци од периферна крв добиени со венепункција и во 212 примероци од продуктите на афереза. Анализираниите примероци беа складирани на константна температура од 4°C и комплетната обработка на примерокот се изведуваше во рок од 12 часа, со цел да се сведе на минимум

влијанието на температурата врз стабилноста на CD34 антигенот [10].

Анализите се изведени со помош на проточен цитометар BD-Biosciences (BD)-FACS-Canto II, според протоколот на International Society of Hematology and Graft Engineering (ISHAGE) кој го модифициравме според препораките на LeukemiaNet, WP9 од 2004 год. Секој примерок е анализиран со ISHAGE аналитичкиот систем кој се базира на две платформи, односно апсолутниот број на CD34+ клетки се добива преку корелација на резултати добиени со проточен цитометар со вредностите на леукоцитите во примерокот добиени од автоматизиран хематолошки бројач [10-12]. Секој примерок беше обработен според стандарден протокол за работа препорачан од European Group of Immunological Markers for Leukemias (EGIL) и International Society of Hematology and Graft Engineering (ISHAGE) [11,13,14]. Примероците се третираат со раствор за лизирање (Lyzing solution BD-Biosciences) на еритроцити. Потоа, примерокот се инкубира со соодветни антители во тек на 20 мин. на собна температура. Користиме комерцијални директно конјугирани CD34PE и CD45 FITC одбележани моноклонални антители на производителот BD-Biosciences и оригинални раствори од истиот производител. По инкубацијата примерокот се мие со PBS/BSA два пати, па се раствора (ресуспендира) со 0,5 мл изотон раствор и се аквирираат податоците со проточен цитометар. Аквирираните податоци проточниот цитометар ги презентира во соодветни хистограми. Бидејќи CD34+ клетки се ретки настани во периферната крв треба најмалку 75000 CD45 + и минимум 100 CD34+ настани да бидат аквирирани. Енумерацијата на CD34+ клетки се изведува во две епрувети и се користи средната вредност на CD34+ и CD34+ клетки од двете епрувети [11,14].

Аквирираните податоци ги анализираме според ISHAGE гејтинг стратегија, која го користи фактот дека бластните клетки може да се идентификуваат преку нивната слаба експресија на CD 45 антигенот и нивниот низок степен на грануларност-речиси немаат гранули (низок SSC) [12,15]. Во нашата стандардна рутинска процедура на анализирање на примероците ние, според препораките од 2004 год на LeukemiaNet, WP9, додаваме уште 2 порти [12]. Со првата порта ги издвојуваме само интакните поединечни клетки, односно ги исклучиваме од натамошните калкулации спонените по две или повеќе клетки, а со втората порта ги опфаќаме само вијабилните клетки врз основа на нивната експресија на вијабилната боја AAD-7. Нашата процедура е прикажана на слика 1.



Сл. 1. Приказ на анализа на аквирираните податоци при процесот на CD34 енумерација (модификација на ISHAGE според LeukemiaNet, WP9). Со првата порта (A) ги издвојуваме само интактните поединечни клетки (singlets), односно ги исклучуваме од понатамошните калкулации споените по две или повеќе клетки, а со втората (B) порта ги опфаќаме само вијабилни леукоцити (viable leukocytes) врз основа на нивната експресија на вијабилната боја ААД-7. Третата (B) порта ги опфаќа сите вијабилни поединечни леукоцити врз основа на експресија на CD45 антигенот на нивната површина. Последователно на ова, четвртата (Г) порта се поставува врз сите монојадрени (mononuclear) CD34 +клетки, а последната (E) порта врз монојадрените CD45 + клетки кои силно го експримираат и CD34 антигенот. Во последниот хистограм се потврдува дека издвоените клетки (настани) со претходната порта се совпаѓаат со генеричката лимфобластоидна регија.

Со следната, трета порта се опфаќаат сите CD 45 позитивни настани, вклучувајќи ги и оние кои покажуваат многу слаб позитивитет, како и оние кои се силно позитивни. На овој начин од натамошната анализа се исклучуваат еритроцитите, тромбоцитите и оштетените клетки. Потоа клетките опфатени со оваа порта се прикажуваат во нов хистограм кадешто на едната оска се поставени CD34+ настани наспроти SSC, односно грануларноста на клетките. Се става нова порта околу сите монојадрени клетки (CD34 позитивни и негативни настани). Во петтиот хистограм се прикажуваат настаните селектирани со сите претходни порти и се споредува CD34 со CD 45 ек-

спресијата и се издвојуваат со нова порта само CD34 позитивните клетки [11,12].

Апсолутниот број на CD34 клетки ($\times 10^6$) се пресметува кога апсолутниот леукоцитен број ($\times 10^9$) се помножи со просечниот број на CD34 клетки. Добиената вредност се мултиплицира со 1000, а потоа сумата се дели со просечниот број на CD45+ настани. Кај прикажаниот случај во хистограмите, ако се знае дека апсолутниот леукоцитен број изнесува $240,2 \times 10^9/\text{л}$, кога ќе се пресмета се добива дека се добиени:

$$240.2 \times 296 \times 1000 / 120400 = 590.5 \times 10^6 / \text{CD34+клетки}$$

Може да се одреди и апсолутниот број на CD34+ клетки во целиот аферезен продукт, ако претходно добиената бројка се помножи со спакуваниот волумен изразен во литри. Во прикажаниот случај изнесува 0.120 л. Потоа истата вредност може да се подели со вкупниот број на килограми на реципиентот (68кг) и да се пресмета колку CD34+ клетки на кг/телесна тежина се добиени [12].

$$590.5 \times 0.120 / 68 = 1.04 \times 10^6 \text{ CD } 34 / \text{кг телесна тежина}$$

Со првата харвестрација добиени се 1.04×10^6 CD 34 /кг.

Резултати

Во периодот од јануари 2008 година, од воведувањето на проточната цитометрија на Универзитетската клиника за хематологија како рутинска дијагностичка постапка до октомври 2014, изведени се 117 автологни и 39 алогени ТХМК. Мобилизацијата на ХМК во периферната крв пред изведувањето на процедурата на трансплантација кај алогените ТХМК се спроведуваше само со апликација на цитокини, а кај алогените ТХМК со неколку различни протоколи кои се наведени на табела 1. На табела 2 се прикажани средните вредности на CD34+ на денот на харвестрација во корелација со протоколот за мобилизација. На следната (Табела 3) табела се прикажани средните вредности на клетките харвестрирани по апликација на различни мобилизациони протоколи.

Табела 1. Протоколи за мобилизација на автологни МХК

Дијагноза	G-CSF	Cyclophosphamide + G-CSF	Vp-16 + G-CSF	DHAP + G-CSF	Останати
Милтипен миелом	20	14	/	/	1
Акутни леукемии	17	/	21	/	3
Лимфопролиферативни заболувања	21	6	/	11	3
Вкупно	58	20	21	11	7

Табела 2. Средни вредности на CD34+ клетки на денот на афереза во корелација со различни мобилизациони протоколи

Мобилизационен протокол	Средна вредност на CD34+/микроЛ	Интервал на добиени вредности на CD34+/микроЛ
G-CSF	10,8	9-14
Cyclophosphamide + G-CSF	12,5	10-16
Vp-16 + G-CSF	13,4	10-17
DHAP + G-CSF	12,9	10-15

Табела 3. Средни вредности на собраните МХК со различни мобилизациони протоколи

Мобилизационен протокол	Средна вредност на собрани CD34+x 10 ⁶ /кг	Интервал на собрани CD34+x10 ⁶ /кг
G-CSF	2,48	0,2-5,4
Cyclophosphamide + G-CSF	2,36	0,1-6,3
VP-16 + G-CSF	2,58	1,5-4,8
DHAP + G-CSF	2,72	1,8-4,0

Дискусија

Денес еnumerацијата на CD34+ клетки со помош на проточна цитометрија се користи рутински во центрите за трансплантација за одредување на оптималниот тајминг за почеток на харвестрација и со цел да се потврди адекватноста на харвестот. Спротивно на тоа, процената на прогениторските клетки преку студии за спонтано формирање колонии, иако корелира со нивото на CD34+ клетки, сепак сè помалку се применува

поради ниската репродукцибилност, како и поради долгото траење на постапката [4-7].

Во различните центри се применуваат неколку основни методи за еnumerација на CD34+ клетки: Milan/Mullhouse протоколот, ISHAGE метод кој се базира на 2 платформи и ISHAGE метод кој се базира на една платформа. Искуствата од литературата покажуваат сите три пристапи се високо компатибилни, а добиените резултати од еnumerацијата компарабилни. Поради тоа најчесто секој центар избира платформа за работа, која во условите што постојат во него е најевтина и нај-

едноставна за работа, а добиените резултати се потврдуваат низ клиничката практика [8,16-18]. Ние го користиме ISHAGE протоколот кој се базира на две платформи: проточен цитометар и автоматизиран хематолошки бројач. Пристапот претставува четири параметарски проточно-цитометриски метод (CD34/CD45 боенето расејувањето нанапред (forward scatter FSC) и странично (side scatter SSC) на светлосниот зрак). Истиот е асоциран со мултипараметарска гејтинг (порта) стратегија. Апсолутниот број на CD34+ клетки се добива преку корелација на резултати добиени со проточен цитометар со вредностите на леукоцитите во примерокот добиени од автоматизиран хематолошки бројач [11].

Во рутинската анализа овој протокол го модифицираме според препораките на LeukemiaNet, WP9 од 2004 година [12]. Оваа модификација ни овозможува примарно да ги селектираме поединичните вијабилни клетки, со што се добива попрецизна пресметка на апсолутниот број на CD34+ клетки. Имено, при стандардната ISGAGE процедура се креира последна порта која се добива кога клетките кои ги исполнуваат критериумите од сите претходни порти се ставаат во нов хистограм каде што се евалуира преку соодност на големината (FSC) и грануларноста на клетките (SSC) дали селектираните CD34+ клетки се совпаѓаат со генеричката лимфоидно-бластна регија. Сите настани кои се надвор од оваа област се исклучуваат од понатамошните пресметки. Со примена на нашата стратегија нема потреба од оваа порта, бидејќи рутинската проверка покажува дека сите претходно селектирани CD34+ настани се совпаѓаат со генеричката лимфоидно-бластна регија (Слика 1Ф) [11,12].

Нашите резултати покажуваат дека кај 25 пациенти кај кои е изведена автологна трансплантација не бил мобилизиран оптимален број на CD34+ клетки/кг (Табела 4).

Табела 4. Неуспех во мобилизацијата на оптимален број на CD34 клетки/кг во корелација со мобилизационата стратегија

Мобилизациони протокол	Број (%)
G-CSF	15(18,3)
Cy-G-CSF	6(30)
VP-16+ G-CSF	2(9,5)
DHAP+ G-CSF	2(18,1)

Натамошната анализа на оваа група пациенти покажува дека тие имаат пролонгиран енграфтмент, проследен со повеќе инфективни и хеморагични компликации во споредба со пациентите кај кои е добиен адекватен број на CD34+ со мобили-

зационите стратегии, но нема разлика во вкупното преживување помеѓу овие две групи на пациенти. При спроведувањето на алогените трансплантации од сите здрави донори е добиен оптимален број на CD34+ клетки нопходен за сигурно спроведување на процедурата.

Нашите резултати покажуваат дека одредувањето на вредностите на CD 34+ клетки во периферната крв е есенцијално пред спроведувањето на харвестрацијата. Таа треба да се изведе кога бројот на CD 34+ клетки во периферната крв е >10 клетки/микроЛ со цел да се обезбеди адекватна жетва (харвест), односно да се добие продукт на афереза кој ќе содржи над 2×10^6 CD 34+ клетки/кг [2,9]. Квалитетот на графтоот (клеточниот харвест) се евалуира преку одредување на апсолутниот број CD 34+ клетки. Овој параметар е есенцијален за одредување на содржината на матични и прогениторни клетки при изведувањето на трансплантациите на ХМК. Количината на CD 34+ клетки помеѓу 2 и 5×10^6 CD 34 позитивни клетки на килограм телесна тежина на пациентот се покажа дека овозможува адекватен енграфтмент во клиничката пракса, иако поради недостатокот на стандардизација на есеи за нивна енумерација сè уште попрецизно не е дефинирано неопходното минимално ниво на CD 34+ клетки за сигурно спроведување на процедурите на трансплантација [9,19]. Адекватниот број на CD 34+ во графтоот го скратува периодот на енграфтмент и ја намалува инциденцата на инфективни и хеморагични компликации кај трансплантираните пациенти [4-6,19].

Заклучок

Нашот метод за енумерација на CD34+ клетки кој се базира на ISHAGE препораките надграден според препораките од LeukemiaNet овозможува точна, прецизна и брза енумерација на CD34+ клетки и сигурно спроведување на процедурата на трансплантација. Протоколот кој го применуваме ние овозможува примарно селектирање на поединичните вијабилни клетки, со што се добиваат попрецизни пресметки на апсолутниот број на CD34+ клетки. Нашите резултати покажуваат дека бројот на CD34+ клетки, а не промената во вкупниот број леукоцити овозможува прецизно да се одреди најпогодниот момент за почеток на харвестрацијата и адекватноста на клеточниот харвест. Адекватниот број на CD34+ во графтоот го скратува периодот на енграфтмент и ја намалува инциденцата на инфективни и хеморагични компликации кај трансплантираните пациенти.

Конфликт на интереси. Не е деклариран.

Литература

1. Sutherland DR, Keating A. The CD34 antigen: structure, biology and potential clinical applications. *Journal of Hematotherapy* 1992; 1: 115-129.
2. Bender J, To LB, Williams S, Schwartzberg L. Defining a therapeutic dose of peripheral blood stem cells. *J Hematotherapy* 1992; 1: 329-342.
3. Letestu R, Marzac C, Audat F, et al. Use of hematopoietic progenitor cell count on the Sysmex XE-2100 for peripheral blood stem cell harvest monitoring. *Leukemia and Lymphoma* 2007; 48: 89-96.
4. Watts MJ, Sullivan AM, Jamieson E, et al. Progenitor-cell mobilization after low-dose cyclophosphamide and granulocyte colony-stimulating factor: an analysis of progenitor-cell quantity and quality and factors predicting for these parameters in 101 pretreated patients with malignant lymphoma. *J Clin Oncol* 1997; 15: 535-546.
5. Zhang C, Chen X, Zhang X, et al. Mobilization of peripheral blood stem cells for autologous transplantation patients with hematological malignancies: influence of disease, mobilization method, age and sex. *Transfusion and Apheresis Scienc* 2008; 39: 21-28.
6. Cooling L, Hoffmann S, Herrst M, et al. A prospective randomized trial of two popular mononuclear cell collection sets for autologous peripheral blood stem cell collection in multiple myeloma. *Transfusion* 2010; 50: 100-119.
7. Andrews RG, Bryant EM, Bartelmez SH, et al. CD34+ marrow cells, devoid of T and B lymphocytes, reconstitute stable lymphopoiesis and myelopoiesis in lethally irradiated baboons. *Blood* 1992; 80: 1693-1701.
8. Gajkowska A, Oldak T, Jastrzevska M, et al. Flow cytometric enumeration of CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells in leukapheresis product and bone marrow for clinical transplantation: a comparison of three methods. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 2006; 44: 53-60.
9. Fatorova I, Blaha M, Lanska M, et al. Timing of peripheral blood stem cell yield: comparison of alternative methods with the classic method for CD34+ cell determination. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 575368 doi: 10.1155/2014/575368.
10. Barnett D, Janossy G, Lubenko A, et al. Guideline for the flow-cytometric enumeration of CD34+ haematopoietic stem cells. *Clin Lab Haem* 1999; 21: 301-308.
11. Sutherland DR, Anderson L, Keeney M, et al. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. *Journal of Hematotherapy* 1996; 5: 213-226.
12. van de Loosdrecht AA, Alhan C, Bene MC, et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: report from the first European LeukemiaNet working conference on flow cytometry in myelodysplastic syndromes *Haematologica* 2009; 94(8): 1124-1134.
13. Bene MC, Castoldi G, Knapp W, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995; 10: 1783-1786.
14. Panovska-Stavridis I, Trajkova S, Ivanovski M, et al. Minimal screening analysis based algorithm for diagnosis and clinical stratification of patients with acute myeloid leukaemia (AML): single centre experience. Contributions. *Sec Biol Med Sci* 2012; XXXIII/1: 93-106.
15. Borowitz MJ, Guenther KL, Schultz KE, Stelzer GT. Immunophenotyping of acute leukaemia by flow cytometry: use of CD45 and right angle light scatter to gate on leukaemic blasts in three colour analysis. *Am J Clin Pathol* 1993; 100: 534-540.
16. Gratama JW, Kraan J, Levering W, et al. Analysis of variation in results of CD34+ haematopoietic progenitor cell enumeration in a multi-center study. *Cytometry* 1997; 30: 109-117.
17. Siena S, Bregni M, Belli N. Flow cytometry for clinical estimation of circulating hematopoietic progenitors for autologous transplantation in cancer patients. *Blood* 1991; 77: 400-409.
18. Gratama JW, Sutherland DR, Keeney M, Papa S. Flow cytometric enumeration and immunophenotyping of hematopoietic stem and progenitor cells. *J Biol Regulators Homeostatic Agents* 2001; 15: 14-22.
19. Linn YC, Heng KK, Rohimah S, Goh YT. Peripheral blood progenitor cell mobilization in three groups of subjects: a comparison of leukapheresis yield and timing. *J Clinical Apheresis* 2000; 15: 217-223.

Оригинален труд

ЕПИДЕМИЈА НА МОРБИЛИ ВО РЕГИОНОТ НА СТРУМИЦА 2010/2011

EPIDEMICS OF MEASLES IN THE REGION OF STRUMICA 2010/2011

Лиља Манинска¹, Снежана Стојковска², Гордана Кузмановска³ и Голубинка Бошевска³

¹ЈЗУ Општа болница-Струмица; ²ЈЗУ Универзитетска клиника за инфективни болести и фебрилни состојби, Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Медицински факултет Скопје,

³Институт за јавно здравје-Скопје, Република Македонија

Апстракт

Вовед. Покрај препораките и напорите на Светската здравствена организација (СЗО) за сузбивање на морбилите, сè уште на глобално ниво се присутни епидемии, како во земјите во развој така и во развиените земји. Целта на овој труд беше да се прикаже епидемија на морбили во регионот на Струмица преку анализа на епидемиолошките, клиничките и лабораториските карактеристики на пациентите со морбили лекувани на Инфективното одделение при ЈЗУ Општа болница - Струмица.

Методи. Беа анализирани вкупно 117 пациенти, од кои 103 пациенти со потврдени мали сипаници, а 14 клинички случаи. Лабораториската дијагноза беше спроведена во Националната референтна лабораторија преку испитување на специфични ИгМ и ИгГ антитела за морбили со Елиса тест.

Резултати. Од септември 2010 година до мај 2011 година беа лекувани вкупно 117 пациенти заболени од мали сипаници. Заболениите беа на возраст од 2 месеци до 49 години. Најзастапена возрастна група беа деца до 4-годишна возраст - вкупно 49 (42%), од кои 22 деца помали од 1 година. Според националноста, 86(73,5%) беа Турци и Роми, а 31(26,5%) Македонци. Беа хоспитализирани 76 (65%) од вкупниот број потврдени и клинички случаи на мали сипаници. Останатите 41(35%) беа третирани амбулантски со домашно лекување. Компликации беа регистрирани кај 32(27,35%) од сите регистрирани случаи, и тоа 17 случаи на бронхопневмонија, 15 случаи на ентеритис и 5 случаи на отитис. Од сите случаи на бронхопневмонија, 64,7% беа деца на возраст под 4 години. Средното времетраење на хоспитализацијата беше 9,5 денови. Заболувањето беше лабораториски потврдено кај 24 од 29 тестирани серуми.

Податоци за вакциналниот статус беа добиени за 105 (90%) случаи. Од лицата со проверен вакцинален статус најголем дел (88,6%) беа невакцинирани. Терапијата беше симптоматска. Случаите со компликации беа третирани со антибиотици од групата на цефалоспорино и макролиди. Не беше регистриран смртен случај.

Заклучок. Возрасната група до 4 години е под најголем ризик за развивање компликации од мали сипаници. Од лицата со проверен вакцинален статус најголем дел беа невакцинирани. Неопходно е да се обезбеди секое дете кое подлежи на задолжителна вакцинација да биде вакцинирано и ревакцинирано. Потребен е активен надзор и спроведување на дополнителна имунизација на невакцинираните и непотполно вакцинираните лица.

Клучни зборови: морбили, епидемија, клинички карактеристики, компликации, вакцина

Abstract

Introduction. Despite the efforts and recommendations of the World Health Organization (WHO) for the eradication of measles, there are still epidemics on a global level, both in developing and in developed countries. The aim of this study was to present the measles epidemics in the Strumica region through analysis of epidemiological, clinical and laboratory characteristics of patients with measles treated at the Infectious department of PHI General Hospital in Strumica.

Methods. A total of 117 treated patients, of whom 103 were patients with confirmed cases of measles and 14 clinical cases. The laboratory diagnosis was performed at the National Reference Laboratory by analysis of specific IgM and IgG antibodies to measles with the Elisa test.

Results. From September 2010 to May 2011, a total of 117 patients suffering from measles were treated. The infected were at the age of 2 months to 49 years. The most common age group was children under 4 years of age, a total of 49 (42%), including 22 children younger than 1 year. By nationality there were 86 (73.5%) Turks and

Roma and 31 (26.5%) were Macedonians. 76 (65%) of the total number of confirmed clinical cases of measles were hospitalized. The remaining 41 (35%) were treated as outpatients, with home treatment. Complications were recorded in 32 (27.35%) of all registered cases and 17 cases of bronchopneumonia, 15 cases of enteritis and 5 cases of otitis. Of all cases of bronchopneumonia 64.7% were children under the age of 4. The hospitalization lasted 9.5 days on average. The disease was laboratory confirmed in 24 of 29 tested sera. Vaccination status data was obtained for 105 (90%) cases. From the persons with checked vaccine status, the majority (88.6%) were unvaccinated. The therapy was symptomatic. The cases with complications were treated with antibiotics from the group of cephalosporins and macrolides. Death case has not been registered.

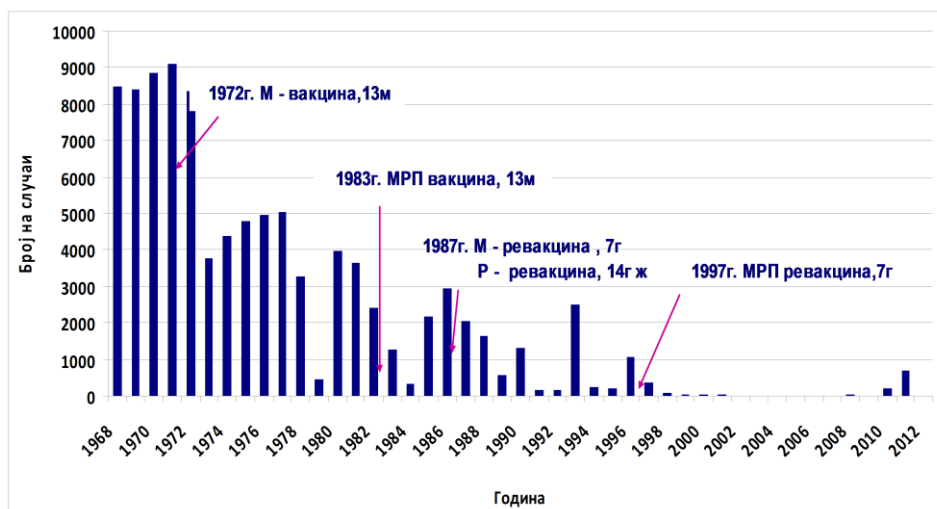
Conclusions. The age group of 4 is at greatest risk for developing complications from the smallpox (64.7% of all cases of bronchopneumonia were observed in this age group). From the persons with checked vaccine status, the majority (88.6%) were unvaccinated. It is necessary to ensure high coverage of vaccine and revaccination of any child who is subject to mandatory vaccination. An active supervision and implementation of supplementary immunization of unvaccinated or incompletely vaccinated persons is necessary.

Keywords: measles, epidemics, clinical features, complications, vaccine

Вовед

Малите сипаници се акутно висококонтациозно вирусно заболување кое може да предизвика епидемии. Пред воведувањето на вакцинацијата против мали сипаници, секоја година милиони деца низ светот заболуваа и умираа [1].

Превенцијата на мали сипаници во Македонија по пат на вакцинација е започната во 1972 година, со воведувањето на задолжителна вакцинација со моновалентна вакцина против мали сипаници на 13-месечна возраст. Во 1983 година моновалентната вакцина против мали сипаници е заменета со тривалентна МРП (морбили, рубеола, паротитис) вакцина, која исто така се администрира на возраст од 13 месеци. Во 1987 година, во редовниот календар за имунизација се воведува ревакцинација против мали сипаници со моновалентна вакцина на 7-годишна возраст. Во 1997 година, ревакцинацијата со моновалентна вакцина против мали сипаници на 7-годишна возраст се заменува со тривалентна МРП вакцина [1] (Слика 1).



Сл 1. Број на случаи од мали сипаници во Македонија за период 1968-2012 година
Превенција на мали сипаници во Македонија по пат на вакцинација

Во земјите од европскиот регион се користи жива вакцина против мали сипаници, а повеќето земји имаат Календар за имунизација којшто предвидува давање на две дози вакцина, при што се користи тривалентна МРП вакцина [2].

Но, и покрај воведувањето на вакцинацијата, морбидитетот во различни земји во европскиот регион и глобално значително варира зависно од опфатот со вакцина [3]. Пред воведувањето на задолжителната вакцинација, морбидитетот од мали сипаници во Македонија бил значаен, така

што во 1967 година изнесувал речиси 600 заболени на 100.000 жители и се одржувал на високо ниво сè до воведувањето на вакцината како задолжителна во 1972 година, по што морбидитетот опаѓа [1]. Почнувајќи од 1991 година, морбидитетот во Македонија значително се намалува и со исклучок на епидемиските години 1993 (128,6/100.000) и 1996 (54,5/100.000), е константно под 20 случаи на 100.000 жители. Во следните години морбидитетот од мали сипаници изнесува помалку од 1 случај на 100.000 жители.

Во епидемската 2010 година морбидитетот е 10,63/100.000, а во 2011 година 34,01/100.000 [1]. Вакциналниот опфат во Македонија од 2000 година се одржува на високо ниво (90-95%), со две дози вакцини против мали сипаници [4]. Исклучок се 2001 и 2006 година кога е регистриран опфат од 92,2%, односно 93,9%. Епидемии се јавуваат во подолг меѓуеписидемски интервал (повеќе од 5 години) [1].

Но и покрај лесно достапната и ефикасна вакцина, глобално морбилите сè уште се јавуваат во епидемиска форма и остануваат водечка причина за смртност кај децата поради компликациите од болеста.

Цел на студијата е да се прикаже епидемија на морбили во регионот на Струмица преку анализа на епидемиолошките, клиничките и лабораториските карактеристики на пациентите со морбили лекувани на Инфективното одделение при ЈЗУ Општа болница - Струмица.

Материјал и методи

Беа анализирани вкупно 117 пациенти, од кои 103 со потврдени мали сипаници, а 14 беа веројатни (клинички) случаи.

Потврден случај на морбили беше дефиниран или како случај кој беше лабораториски потврден (со детекција на ИгМ АТТ против вирусот на морбили) или како случај којшто ја исполнува клиничката дефиниција и беше епидемиолошки поврзан со лабораториските случаи.

Клиничка дефиниција на случај претставуваше клиничка слика компатибилна со мали сипаници, т.е генерализиран макулопапулозен исип кој трае повеќе од три дена и температура повисока од 38⁰ Ц, како и еден или повеќе од следните симптоми: кашлица, секрет од нос, дамки и конјунктивитис. Веројатен случај беше дефиниран како клинички компатибилен случај.

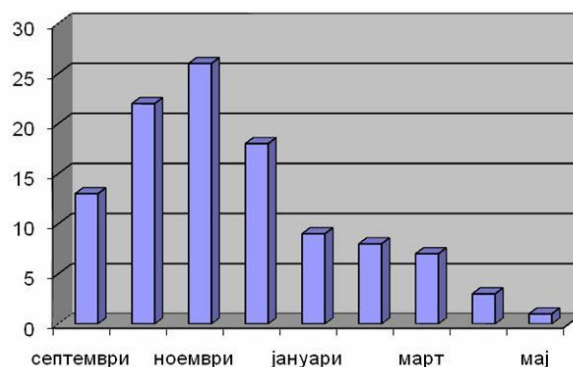
Лабораториската дијагноза беше спроведена во Националната референтна лабораторија преку испитување на специфични ИгМ и ИгГ антитела за морбили со Елиса тест.

Резултати

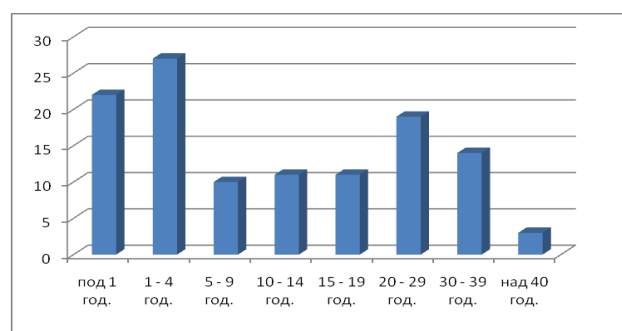
Од септември 2010 година до мај 2011 година, беа лекувани вкупно 117 пациенти заболени од мали сипаници.

Во 2010 година регистрирани беа 89 случаи при што по месеци најголем број заболени беа регистрирани во ноември и декември со пик на епидемијата во 47-48 недела. Во 2011 година беа регистрирани 28 случаи на морбили (Слика 2). Заболените беа на возраст од 2 месеци до 49 години.

Најзастапена возрастна група беа деца до 4-годишна возраст, вкупно 49 (42%), од кои 22 деца беа помали од 1 година (слика 3).



Сл. 2. Дистрибуција на болеста по месеци во 2010/2011 година



Сл. 3. Дистрибуција на болеста по возраст

Според пол 66 (56%) беа машки, а 51 (44%) женски. Според националност, повеќе од половина беа Турци и Роми, 86 (73,5%), а 31 (26,5%) беа Македонци. Беа хоспитализирани 76 (65%) од вкупниот број потврдени и клинички случаи на мали сипаници. Останатите 41(35%) беа третирани амбулантски, со домашно лекување. Од вкупниот број хоспитализирани, еден дел беа задржани на болничко лекување поради појава на компликации, додека останатите беа задржани поради потешка клиничка слика на заболувањето. Во лабораториските наоди, покачени вредности на леукоцитите имаше кај 70 пациенти, покачени вредности на седиментацијата (СЕ) кај 37, АЛТ кај 60, АСТ кај 43, ЛДХ кај 12 и протеинурија кај 6 пациенти (Табела 1). Компликации беа регистрирани кај 32(27,35%) од сите случаи, и тоа 17 случаи на бронхопневмонија, 15 случаи на ентеритис и 5 случаи на отитис. На најголем ризик за појава на компликации беа изложени децата помали од 4 години. Од сите случаи на бронхопневмонија, 64,7% беа кај деца на возраст под 4 години. На рендгенографија алвеоларен тип на инфилтрат имаше кај 9 пациенти, кај 6 пациенти интерстицијална инфилтрација, а кај 2 пациенти мешана инфилтрација. Средно времетраење

на хоспитализацијата беше 9,5 денови. Заболувањето беше лабораториски потврдено кај 24 од 29 серуми. Податоци за вакциналниот статус беа добиени за 105 (90%) случаи, додека за 12 лица 10% не беа добиени информации за вакциналниот статус. Од лицата со проверен вакцинален статус, најголем дел (88,6%) беа невакцинирани. Со две дози вакцина беа вакцинирани 2,9%, а со една доза на МРП вакцина 8,6%. Со оглед на тоа што нема специфична антивирусна терапија за морбили, терапијата беше симптоматска вклучувајќи хидратација и антипиретици. Случаите со компликации беа третирани со антибиотици од групата цефалоспорици и макролиди. Смртен случај не беше регистриран.

Табела 1. Лабораториски параметри

Лабораториски параметри		проценти
Покачени вредности на Ле $>9 \times 10^9/l$	70/117	59,83%
Покачување на СЕ >20 mm/h	37/117	31,62%
Покачување на ЦРП 10-80 mg/l	71/117	60,68%
Покачување на АЛТ >40 U/L	60/117	51,26%
Покачување на АСТ >35 U/L	43/117	36,75%
Покачување на ЛДХ >600 U/L	12/117	10,26%
Протеинурија	6/117	5,13%
Антиморбили ИГМ-позитивни	24/29	82,8%

ЦРП-Ц реактивен протеин, АЛТ-аланин аминотрансфераза, АСТ аспарат аминотрансфераза, ЛДХ-лактат дехидрогеназа

Дискусија

Малите сипаници (морбили) се едно од најсериозните заболувања кај децата, кое е присутно во целиот свет. Сериозноста се должи на фактот дека кај ова заболување чести се компликациите кои понекогаш може да завршат и фатално [5,6].

Пред воведувањето на вакцинацијата против мали сипаници, секоја година заболуваа и умираа милиони деца низ светот. Според процените на СЗО во 1960 година на светско ниво биле регистрирани 135 милиони случаи на мали сипаници, со 8 милиони смртни случаи поврзани со ова заболување [1]. Во 1980 година регистрирана е смртност од 2,6 милиони широм светот [7,8].

Со воведувањето на вакцинацијата бројот на регистрирани случаи на морбили значајно е намален. Така, во периодот 2000-2008 година, глобално, смртноста од морбили се намалува за 78%, од 733.000 во 2000 на 164.000 во 2008 година [6].

Но, и покрај лесно достапната и ефикасна вакцина, малите сипаници остануваат една од главните причини за висок морбидитет и морталитет кај децата во светот, како во развиените земји, така и во земјите во развој. Поради тоа од страна на СЗО се направени многу напори меѓу кои: донесен е Глобален стратешки план за мали сипаници 2001-2005 [9]. Во 2005 година издаден е

Стратешкиот план за европскиот регион за периодот 2005-2010 година [10]. Во ноември 2010 година на 60-та сесија на Регионалниот комитет на СЗО за европскиот регион зацртаната цел за елиминација на морбилите е поместена од 2010 на 2015 година [11]. Во 2012 година беше донесен нов стратешки план за периодот 2012-2020 година [12]. Во овој план се вклучени нови глобални цели меѓу кои постигнување елиминација на морбили и рубеола во најмалку пет регионални единици на СЗО [13].

Но, и покрај напорите на СЗО за елиминација, морбилите сè уште се јавуваат во епидемиска форма и остануваат водечка причина за смртност кај децата. На тоа укажуваат и објавените податоци за присутноста на морбилите во земјите од европскиот регион [14], но и на глобално ниво. Во 2010 година епидемии на морбили со различен број заболени се регистрирани во поголем број земји од Европа. Притоа, во Бугарија се регистрирани 22.006 случаи [15], а во Франција 5.019. Понатаму, во 2011 година најмногу регистрирани случаи се забележани во Франција 15.214, во Италија 5.179, во Романија 4.417, во Шпанија 3.507 [13]. Во 2012 година во регионот на Европа биле регистрирани 27.134 случаи на морбили, од кои најмногу во Украина (11.086), Романија (2.447), Велика Британија (1.093 случаи) [13]. Истата година на глобално ниво се регистрирани 122.000 смртни случаи. Во 2013 година во Европа биле регистрирани 31.520 случаи на морбили, со тоа што најмногу имало во Грузија (7.830), во Украина (3.308), во Германија (1.773), во Италија (2.216) [16].

Од ова може да се констатира дека морбилите сè уште се актуелна болест и се јавуваат во епидемиска форма. Една од главните пречки за постигнување на елиминационите цели на СЗО глобално и во Европа е ниската вакцинална покриеност [17]. Во Македонија во изминатите 20 години мали сипаници се регистрираат главно како поединечни случаи, а епидемии со многу помал број заболени се регистрирани во 1993 и 1996. Притоа, во овој период имаше и години кога воопшто не е регистриран случај на заболени од морбили.

Во епидемијата на мали сипаници во 2010/2011 година во Македонија [18] беа пријавени вкупно 911 случаи на заболени од мали сипаници, од кои во Струмица беа пријавени 117. Според географската дистрибуција, заболени од мали сипаници кои беа лекувани на Одделението за инфективни болести при ЈЗУ Општа болница-Струмица беа регистрирани заболени од 19 населени места, вклучувајќи го и градот Струмица.

Заклучок

Возрасната група до 4 години е под најголем ри-

зик за развивање компликации од малите сипаници, како и припадниците на ромско-турската националност.

Од лицата со проверен вакцинален статус најголем процент беа невакцинирани. Затоа, неопходно е да се обезбеди вакцинирање и ревакцинирање на секое дете кое подлежи на задолжителна вакцинација според планот на активности за елиминација на морбили: достигнување и одржување на висок опфат на вакцинација (преку 95%) на секое дете кое подлежи на задолжителна вакцинација.

Притоа, за постигнување на елиминационите цели на малите сипаници значајно е секое дете кое законски подлежи на задолжителна вакцинација, да биде комплетно вакцинирано. Не треба да се дозволи во кое било место, општина или средина, да постои група на деца која не е вакцинирана, односно да постои ранлива популација, бидејќи и покрај поволната состојба со малите сипаници во земјата, сепак заболувањето може да биде донесено од надвор. Посебно внимание треба им да се посвети на тешко достапните популациони групи (Роми, бегалци, привремено раселени лица, население во тешко достапни места и слично).

Високиот морбидитет кај групата деца под едногодишна возраст, укажува на важноста од приоритетно, брзо и ефикасно спроведување на мерката за дополнителна вакцинација кај децата на возраст од шест до 12 месеци.

Конфликт на интереси. Не е декларираан.

Литература

1. Институт за јавно здравје Скопје-Програма за елиминација на мали сипаници, рубеола и превенција на конгенитална рубеола инфекција во РМ 2010-2015, Скопје, декември 2008.
2. EUVAC.NET. MMR vaccination overview in European countries. Available at: <http://www.euvac.net/graphics/euvac/vaccination/mmr.html> (Accessed 1 July 2013).
3. WHO (2003) Strategic plan for measles and congenital rubella infection in the European Region of WHO. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe. Available: http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0020/79022/E81567.pdf. Accessed 2013 February 20.
4. WHO (October 4 2012) the former Yugoslav Republic of Macedonia reported immunization coverage. Available: <http://apps.who.int/vaccines/globalsummary/immunization/timeseries/tscoveragebycountrycfm?C=MKD> Accessed 2013 February 20.
5. CDC (May 2012) Chapter 12: Measles. In: The Pink Book: Course Textbook, 12th Edition, Second Printing. Available: <http://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/downloads/meas.pdf>. Accessed 2013 Feb 20.
6. WHO (February 2013) Measles fact sheet N°286. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs286/en/index.html> Accessed 2013 February 20.
7. Wolfson LJ, Grais RF, Luquero FJ, *et al.* Estimates of measles case fatality ratios: a comprehensive review of community-based studies. *Intl J Epidemiol* 2009; 38: 192-205.
8. Wolfson LJ, Strebel PM, Gacic-Dobo M, *et al.* Has the 2005 measles mortality reduction goal been achieved? A natural history modelling study. *Lancet* 2007; 369: 191-200.
9. World Health Organization (WHO), United Nations Children's Fund (UNICEF). WHO-UNICEF joint statement on strategies to reduce measles mortality worldwide. Geneva, Switzerland: 2001. Available at: http://whqlibdoc.who.int/hq/2001/who_v&b_01.40.pdf. Accessed January 27, 2012.
10. Eliminating measles and rubella and preventing congenital rubella infection. WHO European Region strategic plan, 2005-2010.
11. World Health Organization. European Regional Office, Copenhagen, Denmark. Renewed commitment to elimination of measles and rubella and prevention of congenital rubella syndrome by 2015 and Sustained support for polio-free status in the WHO European Region. 60th Session of the Regional Committee for Europe, Moscow, Russian Federation, 13-16 September, 2010. WHO; 2010. http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0016/122236/R_C60_eRes12.pdf. Accessed 21 April 2011.
12. World Health Organization. Global measles and rubella strategic plan: 2012-2020.
13. Jankovic D. Measles and rubella elimination in the WHO European Region, [4.2 MB, 54 pages], In: Vaksinedagene-Norwegian Vaccine Days 2012. (Oslo).
14. Muscat M, Bang H, Wohlfahrt J, *et al.* (2009) Measles in Europe: an epidemiological assessment. *Lancet* 373: 383-389. [10.1016/S0140-6736\(08\)61849-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61849-8); PubMed: 19131097.
15. Marinova L, Muscat M, Mihneva Z, Kojouharova M. An update on an ongoing measles outbreak in Bulgaria, April-November 2009. *Euro Surveill* 2009; 14: pii=19442.
16. Muscat M, Shefer A, Ben Mamou M, *et al.* The state of measles and rubella in the WHO European Region, 2013.
17. Centers for Disease Control and Prevention. Progress toward measles elimination—European Region, 2005–2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009; 58: 142-145.
18. Kondova Topuzovska I. Measles outbreak in Macedonia: epidemiological, clinical and laboratory findings and identification of susceptible cohorts. 2013.

Case report

ПРИКАЗ НА СЛУЧАЈ: ПАЦИЕНТ СО АКРОМЕГАЛИЈА И ПОЛИОСТОТИЧНА ФИБРОЗНА ДИСПЛАЗИЈА - McCUNE ALBRIGHT СИНДРОМ

CASE REPORT: PATIENT WITH ACROMEGALY AND POLYOSTOTIC FIBROUS DYSPLASIA: McCUNE ALBRIGHT SYNDROME

Gordana Pemovska and Cvetanka Volkanovska-Ilijevska

University Clinic of Endocrinology, Diabetes and Metabolic Disorders, Medical Faculty, University "Ss Cyril and Methodius", Skopje, Republic of Macedonia

Abstract

McCune-Albright syndrome (MAS) is classically defined by the clinical triad of *café-au-lait* skin spots, poly/monostotic fibrous dysplasia (FD) of bone and precocious puberty. However, MAS is an extremely heterogeneous disease and numbers of atypical and partial forms exist beyond the classic MAS. Growth hormone (GH) excess has been reported as a common manifestation in MAS. Polyostotic fibrous dysplasia is reported to be more common in MAS, with involvement of the craniofacial (CF) region in over 90% of the cases. Involvement of the CF bones with FD often results in overgrowth and asymmetry of bone and hence recognition of GH excess might be unrecognized. Moreover, morbidity related to FD is more common in patients with GH excess. Medical treatment using a somatostatin analog or dopamine agonist is often the only option in patients with MAS and acromegaly, because surgery is not possible due to the massive thickening of the CF with FD.

We report an atypical case of MAS in a 35-year-old male patient showing PFD with severe involvement of the base of the skull, along with acromegaly.

Keywords: acromegaly, McCune-Albright syndrome, fibrous dysplasia

Апстракт

McCune-Albright синдромот (МАС) е класично дефиниран како клиничка тријада составена од *café-au-lait* кожни промени, поли-/моноостотична фиброзна дисплазија (ФД) и предвремен пубертет. Меѓутоа, МАС е екстремно хетерогена болест, и покрај класичната форма постојат атипични и парцијални форми на МАС. Прекумерно ла-

чење на хормонот на раст (ХР) е една до честите манифестации на МАС.

Полиостотичната фиброзна дисплазија (ПФД) е честа во склоп на МАС, со инволвираност на краниофацијалните коски (КФ) во повеќе од 90% од случаите. Фиброзната дисплазија на КФ коски најчесто доведува до прекумерен раст и асиметрија на коските, заради што ексцесот на ХР може да остане препознаен. Освен тоа, морбидитетот поврзан со ФД е почест кај пациентите со ексцес на ХР. Заради масивно задебелување на КФ коски со ФД, оперативниот третман често е невозможен и медикаментозниот третман со соматостатински аналози и допамински агонисти останува единствената опција за лекување на пациентите со МАС и акромегалија.

Прикажуваме случај на МАС кај 35-годишен маж со ПФД со значајна инволвираност на базата на краниумот и акромегалија.

Клучни зборови: акромегалија, McCune Albright синдром, фиброзна дисплазија

Introduction

McCune-Albright syndrome (MAS) was first defined by the triad of polyostotic fibrous dysplasia (PFD), *café-au-lait* skin macules and precocious puberty [1]. However, multiple autonomous hyperfunctioning endocrinopathies could be encountered in MAS [2-10,16]. Most studies report that polyostotic fibrous dysplasia (PFD) and *café-au-lait* macules are invariably present. Nowadays MAS is recognized as an extremely heterogeneous disease, with a number of atypical and partial forms existing beyond the classic MAS [3,6].

Most investigations have revealed that association of MAS with acromegaly is common [2,8]. Acromegaly in MAS has distinct clinical phenotype characterized by earlier occurrence of the disease, prolactin cosecretion, small or absent pituitary tumors and a variable response to the treatment with dopamine and somatostatin analogs [8]. Also, it has been reported that morbidity related to FD in the skull base bones is more common in patients

Correspondence to: Gordana Pemovska, University Clinic of endocrinology, diabetes and metabolic disorders, "Vodnjanska". 17, 1000 Skopje, R. Macedonia; Phone: 00 389 2 31 47 252; E-mail: gpemovska@hotmail.com

with GH excess [8]. Therefore, early detection and treatment of acromegaly in MAS is important.

Because of the rarity of this syndrome and the paucity of knowledge of this association we report an atypical case of MAS in a 35-year-old male patient presenting with PFD with severe involvement of the craniofacial region, along with acromegaly. Short review summarizes the clinical manifestations, diagnosis and treatment of the disease.

Case report

In January 2005, a 35-year-old man presented to our Endocrinology Department with symptoms of loss of libido, progressive growth of his hands and feet and coarsening of his facial features. He started to experience the above-mentioned complaints four years ago. For the last two years he was having a diffuse headache, excessive sweating and visual problems (blurred and double vision). Additionally, he had sense of numbness in his hands which disrupted his sleep.

He had a history of walking difficulties and pain in the extremities at the age of 12 years. The diagnosis of PFD was established by skeletal radiography and bone scan. On physical examination the patient had facial asymmetry with coarse features, acral enlargement and abbreviation of the left extremity (1cm).

Excessive GH secretion was diagnosed, as the high serum GH levels failed to decrease after an oral glucose tolerance test (Table 1). The biochemical laboratory was also notable for elevated prolactin, IGF-I and IGFBP-3 findings were consistent with secondary hypogonadism (Table 2). MRI and CT of the brain were conducted. Pituitary macroadenoma (Figure 1) and FD of the base

of the skull were revealed. Skeletal radiographs showed multiple lesions in the femur and tibia (Figure 2). During the follow-up period of several years serial bone scans were done. The scans showed progressive multiple hot spots with uptake at the skull, facial bone, ribs, femur and tibia (Figure 3). Bone markers were elevated. Altogether these findings were consistent with active FD. We made a diagnosis of MAS based on the clinical, biochemical and imaging data.

Table 1. Oral Glucose Tolerance Test

Minutes (min)	Blood glucose (mmol/L)	Growth Hormone (ng/ml)
0'	4.7	16.6
30'	8.6	15.8
60'	5.7	15.8
90'	4.4	14.1
120'	7.1	14.7

Table 2. Hormon profile of the Patient

Variable	Result	Normal range
GH	16.6	<10 ng/ml
IGF-1	>1100	100-494 ng/ml
IGF-BP	9800	1730- 5590 ng/ml
Prolactin	470	2.7-16.9 ng/ml
LH	1.81	0.8-6.0 mU/ml
FSH	1.56	1.6-12 mU/ml
TSH	0.914	0.27-4.2 mU/L
ft4	10.46	8.4-17.5 pmol/ L
Testosteron	3.37	5,2-22.9 nmol/L

GH-growth hormone; IGF-1-insulin like growth factor-1; IGF-BP-insulin like growth factor binding protein; LH-luteinizing hormone; FSH-follicle-stimulating hormone; TSH-thyroid stimulating hormone; ft4-free thyroxin

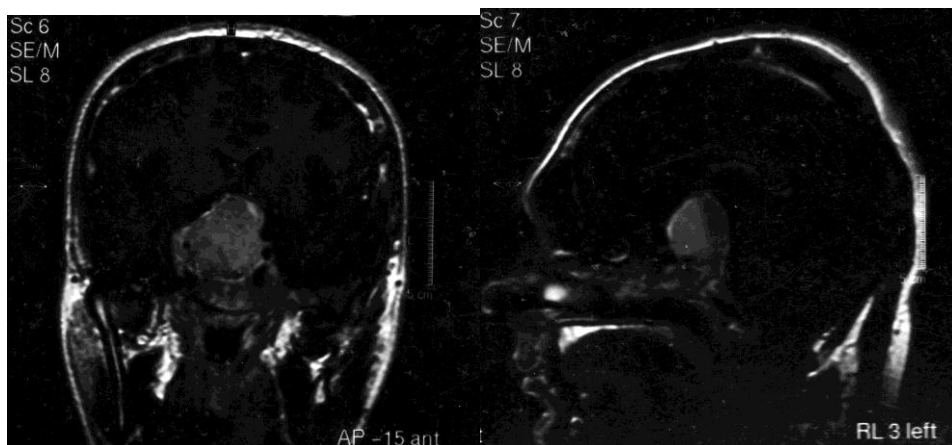


Fig. 1. Coronal and sagittal image of a sellar MRI of the brain demonstrates pituitary macroadenoma (40x30x35mm). A mixed cystic-solid mass is depicted within the pituitary fossa. There is evidence of the optic chiasm compression with right cavernous sinus involvement



Fig. 2. Radiograph of right femur showed lytic lesions in the trochanteric area and neck of the femur



Fig. 3. Bone scan revealed abnormal areas of radiotracer uptake involving the skull facial bones, multiple ribs, femurs and tibiae

Octreotrid treatment was initiated in the patient and substitution therapy with testosterone was included. Because he had complaints of bone pain, therapy with oral bisphosphonate-alendronic acid was started. Within 4 months of the diagnosis subtotal removal of the tumor was done, via transsphenoidal approach. The tumor cells stained as eosinophilic. The follow-up laboratory analyses demonstrated persistent activity of acromegaly (elevated GH=8.7 ng/ml and IGF-1>470 ng/ml). Patient underwent radiation therapy. After an external irradiation, a treatment with dopamine agonist-bromocriptin was conducted. One year later the patient had paralysis of the oculomotoric nerve and visual impairment. CT of the head revealed a large osteoma in the frontal region (Figure 4). The patient underwent transfrontal surgical decompression. Biopsy



Fig. 4. Brain CT scan revealed craniofacial fibrous dysplasia with obliteration of paranasal sinuses. Mixed sclerotic-lytic bony mass involving right frontal and parietal bone is notable

specimen had histopathological confirmation of osteoma with compression of the optic nerve. After 4 years biochemical remission of acromegaly ensued.

Discussion

MAS is classically diagnosed by the presence of at least two of the three following clinical presentations: poly/monostotic fibrous dysplasia, *café-au-lait* skin spots, and gonadotropin-independent precocious puberty [1]. It is a rare disease with an estimated prevalence of between 1/100,000 and 1/1,000,000.

MAS is characterized by excessive and autonomous function of various endocrine glands and non-endocrine tissue. Thus, in addition to precocious puberty, other hyper-functioning endocrinopathies may also occur including hyperthyroidism, growth hormone excess, Cushing syndrome and renal phosphate wasting [2-10,16]. Most studies report that polyostotic fibrous dysplasia (PFD) and *café-au-lait* macules are invariably present. However, nowadays MAS is recognized as an extremely heterogeneous disease, with a number of atypical and partial forms beyond the classic MAS [3,6]. Atypical manifestation of MAS was present in our patient, too. The presence of hyper functioning endocrinopathy i.e. acromegaly along with PFD enabled establishing the diagnosis of MAS even in the absence of two out of three classical manifestations.

The phenotype of MAS is extremely varied, ranging from multisystem disease, to single organ being affected. The variable clinical presentation of MAS results from a mosaic distribution of mutation in somatic cell, determined by the stage of embryogenesis during which the post-zygotic mutation occurs [8,11]. The molecular etiology of the disease is an activating mutation in the alpha subunit of guanine-nucleotide binding protein (Gs protein, GNAS1 gene) [11,12]. Gs is central in the cell signaling pathway that leads to the generation of the intracellular second messenger (cAMP), an important messenger in hormone signal transduction. However, in MAS these metabolic disturbances are not accompanied by elevated plasma concentrations of the relevant trophic hormones. The mutations responsible for MAS have been identified in the pathogenesis of various sporadic endocrine tumors as well [8,12-16]. Therefore, the term *gsp* oncogene has been assigned to these activating Gs α mutations. GSP mutations, in particular have been reported in GH-secreting pituitary adenomas and autonomous thyroid adenomas [12-14].

The *café-au-lait* spots and FD are one of the most obvious signs of MAS, with prevalence estimated up to 92% [17]. Typically, precocious puberty or FD accounts for the initial presentation. FD is a benign condition in which normal bone tissue is replaced by fibrous tissue and haphazardly distributed irregular bone trabeculae. It may affect either a single bone (monostotic FD; MFD) or multiple bones (polyostotic FD; PFD). The PFD is re-

ported to be more common in MAS [18]. The most commonly affected bones are proximal femur, ribs and the skull base. In 90% of the cases FD is diagnosed before the age of 15, with lesions in the craniofacial region being established at the earliest. In MAS FD usually occurs at the age of 4.5 years [18]. FD typically presents with a pain, fracture, deformity of the long bones and facial asymmetry. In MAS, the craniofacial (CF) region is involved in 90% of the cases with the anterior cranial base being involved in over 95% of cases [18]. The prevalence of hypersomatotropism associated with MAS has been reported to be 21% [8]. Growth hormone hypersecretion in MAS differs from that observed in classic acromegaly in several aspects. Firstly, the age of onset is usually in adolescence, before the age of 20 years, thus leading to either acromegaly or gigantism depending on bone age and the occurrence of precocious puberty [8].

Furthermore, acromegaly remains unrecognized as facial deformities caused by FD are present from the youngest age before the emergence of active acromegaly. Early detection and treatment of acromegaly is important because morbidity related to FD in the CF bones is more common in patients with GH excess [8]. In severe CF dysplasia adjacent vital structures, such as the optic nerve and auditory structures may be invaded or compressed, resulting in vision and hearing loss. Unfortunately, FD was shown to be still active in our patient, too. Due to visual impairment he underwent transcranial surgical decompression.

The second distinction is that only half of the patients with acromegaly associated with MAS exhibit radiological evidence of pituitary adenoma, compared with 80% to 90% in classical acromegaly. This finding is characteristic of *gsp*-mediated GH excess [8]. On contrary, our patient had pituitary macroadenoma. According to some authors this finding could be lead-time bias, due to increased suspicion and early detection of acromegaly in patients previously diagnosed to have MAS and transition from hyperplasia to adenoma could explain the variety of sellar radiographic findings in MAS with acromegaly [8]. Another feature of *gsp* positive tumors is 100% TRH test responsive and prolactin cosecretion [8]. Although continued active disease and symptoms of FD into adulthood are uncommon, they have been reported to continue in MAS associated with acromegaly. Taking into consideration aforementioned, it is recommended GH excess in patients with PFD and MAS be aggressively managed.

Diagnosis of MAS is usually established on clinical grounds. Plain radiographs are often sufficient to make the diagnosis of FD. In general, lesions in the long bones have lytic appearance and in the craniofacial region they are "sclerotic". Computed tomography (CT) scanning is recommended for imaging FD lesions in the skull. A bone scan is necessary to establish the extent and activity of disease.

Biopsy of FD lesions can be used for confirmation. Characteristic pathohistologic finding of FD bone is the absence of the lamellation pattern. However, careful analysis is necessary, since fibrous dysplasia, ossifying fibroma and osteoma are three distinct entities with different bone content basis [17]. The diagnosis of FD and osteoma is made by correlation between clinical, radiologic, and pathologic findings. Although the histological diagnosis in our case was present as osteoma it could be considered as late stage of FD as well.

Detailed evaluation of patients with MAS should be guided by knowledge of the spectrum of tissues that may be involved, with specific testing for each. Genetic testing is possible, but is not routinely available.

Medical treatment is often the only option in MAS patients with acromegaly, since transphenoidal surgery in this syndrome is difficult due to massive thickening of the skull base with FD. In our patient a subtotal removal of the tumor was done. After debulking surgery external irradiation was conducted and treatment with cabergolin and octreotid was continued. Although sarcomatous transformation of fibrous dysplastic bones have been reported with radiation [19], still radiotherapy may be an option for treatment of acromegaly in patients who have MAS when surgery is impossible and somatostatin analog therapy is ineffective.

The use of bromocriptine, cabergoline, long-acting somatostatin analogs, or the combination of these, has shown various results [2,3,5,8]. In our patient biochemical remission of acromegaly ensued after a 4-year period. FD presents a treatment dilemma, because there is no proven medical therapy. The only cure for FD is a surgical resection, which is difficult to be performed in the skull and facial regions. In general, surgical intervention in FD is delayed until skeletal maturity is achieved and disease activity is stabilized. However, in some cases due to accentuated deformity or a functional cranial nerve deficit surgical decompression and correction should be performed.

Bisphosphates have been shown to reduce the incidence of fractures and reduce the intensity of bone pain [20,21]. There has been no consensus established when bisphosphonate therapy should be initiated. In the majority of studies intravenous therapy with pamidronate 3mg/kg at 6-month interval is used [20,21]. In the meantime two randomized controlled studies, the multicenter European PROFIDYS and one U.S. study, are being conducted. It is expected that the results from these two larger studies will give an answer to the outcome of bisphosphonate therapy.

The benefit of supplements is undoubtedly important especially if taken into account that there is insufficient mineralized osteoid in FD. Deficit of Vit D and secondary hyperparathyroidism have also been reported. Therefore, supplements of Ca, P in conjunction with Vit D improve the effect of BF [21].

Patients with McCune-Albright syndrome must have a medical follow-up for the endocrine disturbances. Because of the great variety of MAS the treatment is specific for each patient.

Conclusions

There is no specific treatment for MAS and medical follow-up for the endocrine disturbances is mandatory. Because the presentation of GH excess in MAS is obscured by the craniofacial FD and because acromegaly progressively worsens FD, all patients with MAS should be screened with an OGTT suppressive test.

Medical treatment with somatostatin or dopamine agonist is often the only option in patients with MAS and acromegaly, because transphenoidal surgery is not possible due to the massive thickening of the skull base with FD. Radiotherapy may be an option for treatment of acromegaly in patients who have MAS when surgery is impossible and somatostatin analog therapy is ineffective.

Conflict of interest statement. None declared.

References

1. McCune DJ. Osteitis fibrosa cystica: the case of nine year old girl who also exhibits precocious puberty, multiple pigmentation of the skin and hyperthyroidism. *Am J Dis Child* 1935; 52: 743-747.
2. Chanson P, Dib A, Visot A, Derome PJ. McCune-Albright syndrome and acromegaly: clinical studies and response to treatment in five cases. *Eur J Endocrinol* 1994; 131: 229-234.
3. Collins MT, Shenker A. McCune-Albright syndrome: new insights. *Curr Opin Endocrinol Diabetes* 1999; 6: 119-125.
4. Xavier SP, Ribeiro MC, Sicchieri LG, et al. Clinical, microscopic and imaging findings associated to McCune-Albright syndrome: report of two cases. *Braz Dent J* 2008; 19 (2): 165-170.
5. Sang Hun Sung, Hyun Dae Yoon. A Case of McCune-Albright Syndrome with Associated Multiple Endocrinopathies. *Korean J Intern Med* 2007; 22: 45-50.
6. Medina YN, Rapaport R. Evolving diagnosis of McCune-Albright syndrome. Atypical presentation and follow up. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2009; 22(4): 373-377.
7. Collins MT, Chebli C, Jones J, et al. Renal phosphate wasting in fibrous dysplasia of bone is part of a generalized renal tubular dysfunction similar to that seen in tumor-induced osteomalacia. *J Bone Miner Res* 2001; 16(5): 806-813.
8. Akintoye SO, Chebli C, Boohar S, et al. Characterization of gsp-mediated growth hormone excess in the context of McCune-Albright syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(11): 5104-5112.
9. Kirk JM, Brain CE, Carson DJ, et al. Cushing's syndrome caused by nodular adrenal hyperplasia in children with McCune-Albright syndrome. *J Pediatr* 1999; 134(6): 789-792.
10. Mastorakos G, Mitsiades NS, Doufas AG, Koutras DA. Hyperthyroidism in McCune-Albright syndrome with a review of thyroid abnormalities sixty years after the first report. *Thyroid* 1997; 7(3): 433-439.
11. Adams EF, Brockmeier S, Friedmann E, et al. Clinical and biochemical characteristics of acromegalic patients harboring gsp-positive and gsp-negative pituitary tumors. *Neurosurgery* 1993; 33: 198-203.
12. Schwindinger WF, Francomano CA, Levine MA. Identification of a mutation in the gene encoding the alpha subunit of the

- stimulatory G protein of adenylyl cyclase in McCune-Albright syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 5152-5156.
13. Williamson EA, Ince PG, Harrison D, *et al.* G-protein mutations in human pituitary adrenocorticotrophic hormone-secreting adenomas. *Eur J Clin Invest* 1995; 25(2): 128-131.
 14. O'Sullivan C, Barton CM, Staddon SL, *et al.* Activating point mutations of the gsp oncogene in human thyroid adenomas. *Mol Carcinog* 1991; 4(5): 345-349.
 15. Sidhu A, Debelenko L, Misra VK. Infantile adrenocortical tumor with an activating GNAS1 mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(1): 115-118.
 16. Boussaid K, Meduri G, Maiza JC, *et al.* Virilizing sclerosing-stromal tumor of the ovary in a young woman with McCune Albright syndrome: clinical, pathological, and immunohistochemical studies. *Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(2): 314-320.
 17. Volkl TM, Dorr HG. McCune-Albright syndrome: clinical picture and natural history in children and adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2006;19 Suppl 2: 551-559.
 18. Ippolito E, Bray EW, Corsi A, *et al.* Natural history and treatment of fibrous dysplasia of bone: a multicenter clinicopathologic study promoted by the European Pediatric Orthopaedic Society. *J Pediatr Orthop B* 2003; 12(3): 155-177.
 19. Ruggieri P, Sim FH, Bond JR, Unni KK. Malignancies in fibrous dysplasia. *Cancer* 1994; 73(5): 1411-1424.
 20. Liens D, Delmas PD, Meunier PJ. Long-term effects of intravenous pamidronate in fibrous dysplasia of bone. *Lancet* 1994; 343: 953-954.
 21. Chapurlat RD, Delmas PD, Liens D, Meunier PJ. Longterm effects of intravenous pamidronate in fibrous dysplasia of bone. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 1746-1752.

Case report

ПУЛМОНАЛНА ХИПЕРТЕНЗИЈА ПО АКУТЕН ПУЛМОНАЛЕН ЕМБОЛИЗАМ - УСПЕШЕН ТРЕТМАН СО ПУЛМОНАЛНА ЕНДАРТЕРЕКТОМИЈА

PULMONARY HYPERTENSION AFTER ACUTE PULMONARY EMBOLISM - SUCCESSFUL TREATMENT WITH PULMONARY ENDARTERECTOMY

Angelina Borizanova¹, Naidenka Gronkova-Zlatareva¹, Elena Kinova¹, Vasil Velchev², Walter Klepetko³, Elizabeta Srbinovska⁴ and Assen Goudev¹

¹University Hospital Tsaritsa Yoanna, Cardiology, Sofia, Bulgaria, ²University Hospital St. Anne, Cardiology, Sofia, Bulgaria, ³Medical University of Vienna, Thoracic Surgery, Vienna, Austria, University Clinic of Cardiology, University "Ss Cyril and Methodius", Medical Faculty, Skopje, Republic of Macedonia

Abstract

Pulmonary embolism is with high mortality rate and majority of deaths are due to right ventricular pressure overload and subsequent right ventricular failure. Survivors of acute pulmonary embolism may develop debilitating chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH). Pulmonary endarterectomy (PEA) is a gold standart in treatment of CTEPH. It is very important to perform precise assessment of these patients and to refer them to a center with expertise in surgical PEA. We present a clinical case of PE, complicated with severe pulmonary hypertension (PH), successful treated with PEA.

Key words: pulmonary embolism, chronic thromboembolic pulmonary hypertension, pulmonary endarterectomy

Апстракт

Пулмоналниот емболизам има висок процент на смртност. Во најголем процент смртноста се должи на десно вентрикуларно притисочно оптоварување и последователна десна вентрикуларна срцева слабост. Преживеаните од акутниот пулмонален тромбоемболизам можат да развијат прогресирана хронична тромбоемболична пулмонална хипертензија (ХТЕПХ). Пулмоналната ендартеректомија е златен стандард во третманот на ХТЕПХ. Важно е да се направи прецизна процена на овие пациенти и да се реферираат во искусен центар за спроведување на хируршка пулмонална ендартеректомија. Ние презентираваме случај на пулмонален емболизам, комплициран со изразена пулмонална хипертензија, успешно третиран со пулмонална ендартеректомија.

Клучни зборови: пулмонален емболизам, хронична тромбоемболична пулмонална хипертензија, пулмонална ендартеректомија

Introduction

Pulmonary embolism (PE) is potentially life-threatening occurrence associated with significant morbidity and mortality [1]. The goal of therapy in massive PE is an improvement in forward flow and a reduction in right ventricular (RV) afterload to avoid RV failure [2,3]. Patients treated with thrombolytic therapy show rapid improvement of RV function and pulmonary perfusion which may lead to a lower rate of early recurrent PE and a decrease in the late opportunities of CTEPH [4]. Sometimes, however, after PE patients develop severe CTEPH. In these cases surgical PEA is a gold standard in the treatment. We present a clinical case of PE, complicated with severe pulmonary hypertension PH, successfully treated with PEA.

Clinical case

A 38-year-old previously healthy woman was presented in the Emergency room with a history of several days of progressive dyspnea and chest pain, and acutely deteriorated in the past few hours. She found palpable painful "nodules" on the front surface of her thighs. The patient has been postmenopausal for one year. Past medical history: at the age of 18 years she was diagnosed with thrombophlebitis; after 3 years in her second pregnancy she was diagnosed with deep venous thrombosis (DVT) and at 33 gestational week she had an acute pulmonary embolism (PE) and in an emergency state a premature delivery was performed. Family history: her both grandfathers were with DVT. No concomitant medical therapy. The patient was with tachydyspnea and perioral cyanosis. She was desaturated (SpO₂-89%), in shock state with S3 gallop rhythm, precordial systolic murmur and positive Riverro sign. The lung auscultation was without any

Correspondence to: Angelina Borizanova, MD, Department of Cardiology, UMHAT "TsaritsaYoanna- ISUL", 8, Byalo more str., 1527 Sofia, Bulgaria; Phone: +359 2 94 32 297; E-mail: borizanowa@abv.bg

pathological findings. She had peripheral varicose veins. Lab results: elevated D-dimer 4694 ng/ml (cut-off value 500) and troponin I 0.52 ng/ml (cut-off value 0.04 ng/ml). Arterial blood gas showed pH 7.42, pCO₂ of 31 mmHg, pO₂ of 55mmHg, SatO₂ of 89.5%. The ECG was with sinus tachycardia with S1Q3T3 sign, precordial inverted T-waves and prolonged QT interval (QTc-501ms). The chest x-ray was with positive Westermark sign and prominent pulmonary artery. There was no pathological infiltrative focus. In emergency state bedside transthoracic echocardiography (TTE) was performed with signs of acute right ventricular overload: dilated RV with D-shape of left ventricle (Figure 1A); 3 pediculated structures

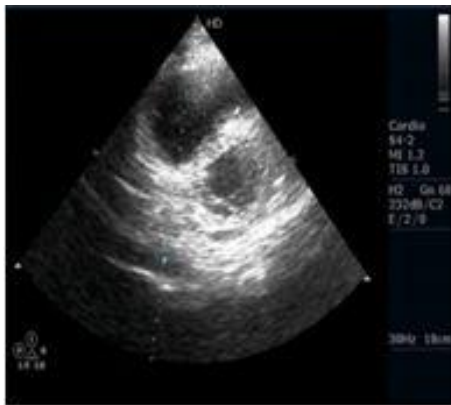


Fig. 1A.

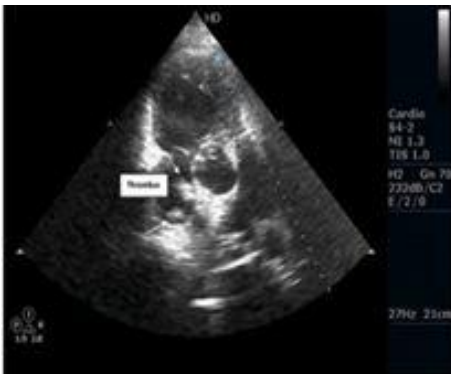


Fig. 1B.

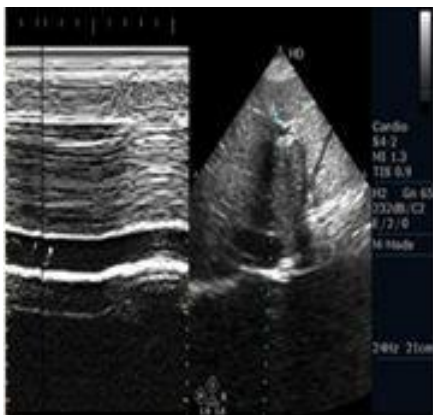


Fig. 1C.

Fig. 1. TTE in emergency state

in the right atrium which looked like "popcorns" (Figure 1B) and also a structure in dilated vena cava inferior (Figure 1C). We concluded that these structures were thrombi, but differential diagnosis included multiple myxomas in the right atrium.

Because of acute deterioration, cardiogenic shock and RV overload we performed fibrinolysis with Alteplase 100 mg, inotropic and fluid support and oxygen supplement. After few hours there was improvement in the hemodynamics.

Genetic and immunological testings for inherited thrombophilia were conducted.

After 48 hours the patient complained of shortness of breath, and chest pain. The arterial blood gas showed pH 7.40, pCO₂ of 30mmHg, pO₂ of 53mmHg, SatO₂ of 88%. Elevated D-dimer (4820 ng/ml) and troponin (0.42 ng/ml) were found. We performed computed tomography (CT) and pulmonary angiography. The large filling defect of the right interlobar artery (Figure 2A) and organized multiple thrombi in the right atrial cavity and vena cava inferior were detected. An infarction pneumonia with pleural reaction in the right lower lobe were established (Figure 2B).



Fig. 2A.

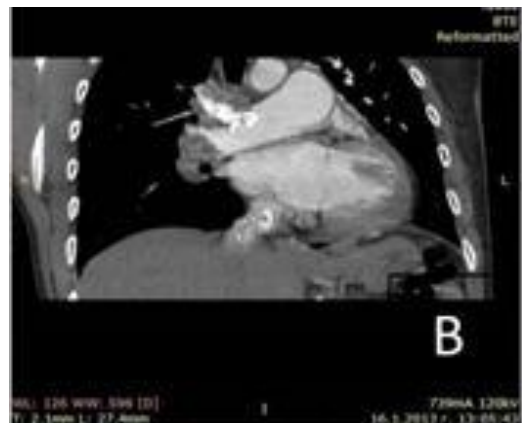


Fig. 2B.

Fig. 2. CT pulmonary angiography

The decision of the cardiac surgeon was that this patient was not a proper candidate for urgent surgery, because she was hemodynamically stable and the thrombi were in the phase of organization. The conservative strategy was selected.

The results from the genetic (Table 1) and immunological (Table 2) testings were:

Table 1. Genetic results

Mutation PAI 1 4G/ 4G	Homozygous in mutant gene (4G/4G)
Protrombin mutation G 202- 10A Antithrombin III	Homozygous in normal gene 94.6% (ref. 80- 125%)

Table 2. Immunological results

Antiphospholipid antibodies	
Anti-beta 2 glycoprotein I antibodies	90.0 U/ML (ref. 0-10)
Anti-cardiolipin antibodies	90.0 U/ML (ref. 0-10)

The patient was diagnosed with systemic lupus erythematosus, antiphospholipid syndrome, Raynaud syndrome. After two therapeutic courses with Imunovenin, Methylprednisolone and Resochin a clinical remission was achieved. Five months after the therapeutic anticoagulation with Acenocumarol the patient had symptomatic pulmonary hypertension WHO class III. The echocardiography showed RV dilatation with heavy tricuspid regurgitation and high gradient across the tricuspid valve, paradoxical movement of interventricular septum, D- shape of LV,

low TAPSE and short acceleration time of pulmonary artery. The calculation the pulmonary vascular resistance (PVR) was 320 dyn. S. cm⁻⁵. We decided to perform CT pulmonary angiography, which confirmed our diagnosis of chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH).

The right heart catheterization and pulmonary angiography were performed and pulmonary hypertension was found. Table 3 illustrates the hemodynamic parameters:

Table 3. Right heart catheterization-hemodynamic parameters

	Systolic/ diastolic/ mean pressure mmHg
Right atrium	8/ 6/ 6
Right ventricle	70/ 2/ 8
Pulmonary artery (PA)	70/ 20/ 38
Left ventricle	120/ 0 (end-diastolic) 18
Aorta	105/ 60/ 78
Cardiac index (CI) 2.58 l/ min/ m2	PVR 340 dyn. s. cm ⁻⁵

Pulmonary angiography demonstrated organized thrombotic material in both lungs.

The patient was admitted to the Thoracic surgery ward for evaluation regarding eligibility for surgical treatment of pulmonary endarterectomy (PEA). The PEA during

the cardiopulmonary bypass support in deep hypothermia including resection of calcified organized thrombotic material from right atrium. Table 4 shows the pre-and postoperative hemodynamic parameters:

Table 4. Hemodynamic parameters

Hemodynamic measurements	PA (s/d/m) mmHg	PVR (dyn.s.cm ⁻⁵)	CI (l/min/m2)
Preoperative	57/ 19/ 31	361	2.6
Postoperative	23/ 7/ 14	67	3.3

One month and one year after PEA echocardiography were performed and the results are shown in Table 5:

Table 5. Echocardiography on the first month and first year after PEA

	First month	First year
RV dimension parasternal mm	25	24.6
TAPSE mm	14	14.5
RV wall thickness mm	8.5	8.5
FAC %	59	60
Global longitudinal strain %	-16	-20
RV TDI S cm/s	8.97	12.7
E cm/s	4.48	12.3
A cm/s	9.26	12.3
PA accel. time ms	97	103

Figure 3 shows the improvement in RV strain one year after PEA:



Fig. 3. One year after PEA

The echocardiographic study demonstrated reverse remodeling of RV and improvement of RV systolic and diastolic function, but not complete recovery after PEA.

Discussion

Massive PE is a life-threatening condition. Patients with risk factor for PE with cardiogenic shock, elevated cardiac biomarkers and bedside TTE demonstrating RV overload should be thrombolysed, except when there is an absolute contraindication for that [1,4]. Patients with mobile masses in right chambers and PE should be referred for surgery, except if there is a life-threatening cardiogenic shock [1]. Multiple right atrial myxomas are extremely rare, found in only 12.7% of all cases. Approximately 50% of gestational venous thromboembolisms are associated with thrombophilia [5]. Some of women could present with recurrent PE or with CTEPH few years after the first episode. These patients should be promptly diagnosed and long-term monitored. Some of the survivors of massive PE are with impaired quality of life because of CTEPH [3]. Patients should be diagnosed and treated according to the ESC guidelines for CTEPH. PEA is a gold standard in treatment of CTEPH for appropriate candidates. There is reverse remodeling of RV and gradual but not complete improvement of RV function after PEA. We assume this might be due to diffuse myocardial fibrosis.

Conclusions

Pulmonary embolism requires urgent therapy to restore pulmonary arterial flow. Anticoagulation is standard care in PE, with the addition of thrombolysis or surgical embolectomy when the clot burden and clinical presentation warrant more aggressive treatment. In this case we decided to avoid early surgical removal of the saddle PE, because the patient was with stable hemodynamics after thrombolysis. Eleven months after PE due to persistence of severe PH the patient underwent PEA. One year after the procedure the patient is without PH.

Conflict of interest statement. None declared.

References

1. ESC Clinical Practice Guidelines. Acute pulmonary embolism (Diagnosis and management of), Eur Heart J doi:10.1093/eurheartj/ehu283 Gregory Piazza, *et al.* Acute pulmonary embolism: Part I. *Circulation* 2006; 114: e28-e32.
2. Christian Gerges, *et al.* Right ventricle in acute and chronic pulmonary embolism. *Pulmonary circulation* Vol. 4 No3, DOI: 10.1086/676748
3. Gregory Piazza, *et al.* Fibrinolysis for acute pulmonary embolism. *Vascular medicine* 15(5): 419-428.
4. Shanon M. Bates. Management of pregnant women with thrombophilia or a history of venous thromboembolism. *ASH Educational Book* 2007; 1: 143-150.

УПАТСТВО ЗА ПРИЈАВА НА ТРУД ОД СОРАБОТНИЦИТЕ НА ММП

"Македонски медицински преглед" (ММП) е стручно списание на Македонското лекарско друштво, првенствено наменето на лекарите од општа практика, специјалистите од одделните медицински дисциплини и истражувачите во областа на базичните медицински и други сродни науки.

Списанието ги има следниве рубрики и категории на трудови:

- 1. Изворни трудови**
- 2. Соопштувања за клинички и лабораториски искуства**
- 3. Прикази на случаи**
- 4. Од практика за практика**
- 5. Едукативни статии**
- 6. Вариае** (писма од редакцијата, општествена хроника, прикази на книги, извештаи од конгреси, симпозиуми и други стручни собири, рубриката „ Во сеќавање„ и др).

Изворните трудови имаат белези на научни трудови, додека трудовите категоризирани во рубриците 2-5 имаат белези на стручни трудови.

Во ММП се објавуваат трудови на членовите на МЛД или на членови на други стручни здруженија. Авторите се одговорни за почитувањето на етичките начела при медицинските истражувања, а изнесените ставови, изведени од анализата на сопствените резултати, не се нужно и ставови на Редакцијата на ММП.

Редакцијата ги испраќа ракописите на стручна рецензија; рецензентот (ите) и Редакцијата ја определуваат дефинитивната категоризација на ракописот кој е прифатен за печатење. Редакцијата го задржува правото ракописите да ги печати според рецензираниот приоритет. Упатството за соработниците на ММП е во согласност со Ванкуверските правила за изедначени барања за ракописите кои се праќаат до биомедицинските списанија.

1. ТЕКСТ НА РАКОПИСОТ

ММП објавува ракописи пишувани во духот на македонскиот стандарден јазик, со соодветна македонска номенклатура за одделна медицинска терминологија, но можна е и пријава на труд на англиски јазик. Доколку употребата на кратенки е неопходна, секоја кратенка прецизно се дефинира при првото појавување на текстот.

Сите ракописи се испраќаат во електронска форма на електронската адреса (е-маил) на МЛД-ММП, со двоен проред и најмногу 28 редови на страница, кириличен фонт Мас С Тајмс големина 12, а латиничен фонт Times New Roman големина 12. Лево, горе и долу треба да се остави слободна маргина од најмалку 3 см, а десно од 2,5 см.. Редниот број на страниците се пишува во десниот горен агол.

Ракописот на трудот треба да е придружен со писмо на првиот автор, со изјава дека истиот текст не е веќе објавен или поднесен/прифатен за печатење во друго списание или стручна публикација и со потврда дека ракописот е прегледан и одобрен од сите коавтори, односно со придружна декларација за евентуален конфликт на интереси со некој од авторите.

Изворните трудови и соопштувањата го имаат следниов формален редослед: насловна страна, извадок на македонски јазик (вовед, методи, резултати, заклучок) со клучни зборови, извадок на англиски јазик со клучни зборови, вовед, материјал и методи, резултати, дискусија и

заклучоци, литература и прилози (табели, граfiци и слики) и легенди за прилозите во еден фајл.

Приказите на случаи треба да содржат вовед, детален приказ на случајот, дискусија со заклучок и литература со прилози.

Насловнаџа сџрана треба да има: наслов на македонски и англиски, имиња и презимиња на авторите, како и институциите на кои им припаѓаат, имињата на авторите и насловот на установата се поврзуваат со арапски бројки; автор за кореспонденција со сите детали (тел. е-маил); категорија на трудот; краток наслов (до 65 карактери заедно со празниот простор); како и информација за придонесот за трудот на секој автор (идеја, дизајн, собирање на податоци, статистичка обработка, пишување на трудот).

Насловот треба концизно да ја изрази содржината на трудот. Се препорачува да се избегнува употреба на кратенки во насловот.

Извадокот на македонски јазик треба да содржи најмногу 250 зборови и да биде структуриран со сите битни чинители изнесени во трудот: вовед со целта на трудот, методот, резултати (со нумерички податоци) и заклучоци. Заедно со извадокот, треба да се достават и до 5 клучни, индексни зборови.

Извадокот на англиски јазик мора да е со содржина идентична со содржината на извадокот на македонски јазик. Клучните зборови треба да се во согласност со MeSH (Medical Subject Headings) листата на Index Medicus.

Воведот треба да претставува краток и јасен приказ на испитуваниот проблем и целите на истражувањето, со наведување на етичкиот комитет односно институцијата која го одобрила испитувањето (клиничка студија која се работи според принципите на Хелсиншката декларација за пациентите и нивните права).

Методите треба да бидат точно назначени, за да се овозможи повторување на прикажаното истражување. Особено е важно да се прецизираат критериумите за селекција на опсервираните случаи, воведените модификации на веќе познатите методи, како и идентификација на употребените лекови според генеричното име, дозите и начинот на администрација.

Резултатите треба да се прикажат јасно, по логичен редослед. Резултатите се изнесуваат во стандардните СИ единици. Во текстот треба да се назначи оптималното место каде ќе се вметнат табелите и илустрациите, за да се избегне непотребното повторување на изнесените податоци. Значајноста на резултатите треба да се обработи статистички, со детален опис на употребените статистички методи на крајот на делот *методи*.

Дискусијата треба да ги истакне импликациите од добиените резултати, споредени со постојните сознанија за испитуваниот проблем.

Заклучоците треба да не бидат подолги од 150 зборови.

2. ПРИЛОЗИ

Како прилог-документација на трудовите предложени за печатење, може да се доставаат до 5 прилога (табели, фигури,/слики - илустрации).

Табелиите се доставуваат на крајот на трудот во истиот фајл. Секоја табела треба да има свој наслов и реден број кој ја поврзува со текстот. Хоризонтални и вертикални линии на табелата не се дозволени; ознаките на колоните во табелата се пишуваат скратено или со симбол, а нивното објаснување се пишува на дното на табелата, во вид на легенда.

Илустрациите се доставуваат со реден број како слика во црно-бела техника, а секоја слика треба да е придружена со легенда (опис).

Микрофотографиите може да содржат посебни ознаки во вид на стрелки или симболи. Покрај описот на сликата, мора да се наведе и зголемувањето и видот на бојењето на препаратот (ако тоа веќе не е направено во секцијата *материјал и методи*). Сите ознаки на фотографиите мора да бидат доволно големи, за да може јасно да се распознаат и по смалувањето во печатницата, при нивното вклучување во печатената страница на списанието.

3. ЛИТЕРАТУРА

Цитираната литература се пишува на крајот на трудот по заклучоците, со редни броеви според редоследот на појавувањето на цитатот на текстот на трудот ставени во средни загради и без простор меѓу нив (ако се последователни треба да се поврзани со цртичка, на пр. [3-6]).

Литературата се цитира на следниов начин (кратенките за насловите на списанијата треба да се според листата прифатени во Index Medicus):

а) сѐаија во сѐисание (се наведуваат сите автори, ако ги има до 4 или помалку; ако ги има повеќе од 4 се наведуваат првите 3 автори и се додава: *и сор.*) Neglia JP Meadows AT, Robison LL *et al.* Second neoplasms after acute lymphoblastic leukemia in childhood. N Engl J Med 1991; 325:1330-6.

б) заеднички авѝор

GIVIO (Interdisciplinary group for cancer care evaluation). Reducing diagnostic delay in breast cancer. Possible therapeutic implications. *Cancer* 1986; 58: 1756-61.

в) без авѝор - анонимно. Breast screening: new evidence. (*Editorial Lancet* 1984; i :1217-8).

г) ѝоглавје во книѓа или монографија

Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. Vo: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, Ed. Pathogenic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia; W B Saunders, 1974: 457-72.

Првите отпечатоци на трудовите им се праќаат на авторите за корекција: авторите се должни коригираниот отпечаток да и го вратат на Редакцијата на ММП во рок од 2 дена.

Адресата на Редакцијата

Даме Груев бр. 3
Градски сид блок II,
1000 Скопје,
Тел.: ++ 389 02 3162 577

Електронска адреса (Е-маил): MLD Unet <mld@unet.com.mk>

Известување за членовите на МЛД

Сите што сакаат и натаму да го добиваат списанието треба да ја имаат уплатено членарината за 2014 година во висина од 600 денари и за тоа да ја информираат стручната служба на Македонско лекарско друштво, писмено или преку телефон.

Детални информации можете да добиете на телефонот на Друштвото 02 3 162 557.

Известување за рецензентите за ММП

Во склад со правилникот на УКИМ рецензентите што навремено и одговорно ќе ја одработат рецензијата ќе добијат 0.4 бода кои се собираат за унапредување во академските звања. Бодовите можат да се добијат и ретроградно преку побарување во МЛД – 3162 557.