

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, Ѓорѓе 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

С. Тофоска Јанеска

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. Претплата за списанието изнесува
10 евра за лекари, 50 евра за установа, странство 80 евра.

Содржина/Contents

I. Ревијални трудови/ Reviews

АДРЕНАЛЕН "BURN OUT" СИНДРОМ И ОПШТА АНЕСТЕЗИЈА

ADRENAL BURNOUT SYNDROME AND GENERAL ANESTHESIA

Билјана Ширгоска, Јане Нетковски и Аница Алексовска..... 61

II. Оригинални трудови/ Original Articles

THE IMPLEMENTATION OF PROGNOSTIC INDEX AND RISK GROUPING IN
SURGICALLY TREATED CERVICAL CARCINOMA PATIENTS: A PROSPECTIVE
VALIDATION STUDY

ПРИМЕНА НА ПРОГНОСТИЧКИОТ ИНДЕКС И ПОДЕЛБАТА ВО РИЗИЧНИ
ГРУПИ КАЈ ХИРУРШКИ ТРЕТИРАНИ ПАЦИЕНТИ СО КАРЦИНОМ НА ГРЛОТО
НА МАТКАТА: ПРОСПЕКТИВНА ВАЛИДАЦИОНА СТУДИЈА

Neli Bashenska and Slavica Veljanoska-Petreska..... 65

CYP2D6 ГЕНОТИПОТ И ПЛАЗМАТСКИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА ОЛАНЗАПИН -
ЗНАЧЕЊЕ ЗА БЕЗБЕДНОСТА ВО БИОЕКВИВАЛЕНТНИ СТУДИИ

CYP2D6 GENOTYPE AND PLASMA CONCENTRATIONS OF OLANZAPINE -
IMPORTANCE FOR SAFETY IN BIOEQUIVALENCE STUDIES

Круме Јаковски, Александра Капедановска-Несторовска, Јасмина Тројачанец, Емилија
Атанасовска, Елена Костова и Никола Лабачевски..... 74

РЕНОПРОТЕКТИВНИ ЕФЕКТИ НА ДВОЈНАТА БЛОКАДА НА РЕНИН-
АНГИОТЕНЗИН СИСТЕМОТ СО КАНДЕСАРТАН И ПЕРИНДОПРИЛ КАЈ
ДИЈАБЕТИЧНА НЕФРОПАТИЈА ИНДУЦИРАНА СО СТРЕПТОЗОТОЦИН
RENOPROTECTIVE EFFECTS OF DUAL BLOCKADE OF RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM
WITH CANDESARTAN AND PERINDOPRIL IN STREPTOZOTOCIN INDUCED DIABETIC
NEPHROPATHY

Јасмина Тројачанец, Димче Зафиров, Круме Јаковски, Елена Костова, Марија
Петрушевска, Трајан Балканов, Игор Кикерков и Никола Лабачевски..... 81

VARIATIONS IN LEVELS OF IL-6 AND HS-CRP IN CORONARY AND SYSTEMIC
CIRCULATION IN PATIENTS WITH ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION
ВАРИЈАЦИИ ВО НИВОАТА НА IL-6 И HS-CRP ВО КОРОНАРНАТА И
СИСТЕМСКА ЦИРКУЛАЦИЈА КАЈ ПАЦИЕНТИ СО АКУТЕН ИНФАРКТ НА
МИОКАРДОТ

Hristo Pejkov, Sasko Kedev, Saso Panov, Elizabeta Srbinovska and Irene Lang..... 93

ПРЕВЕНЦИЈА НА ПОСТ-ЕНДОСКОПСКА РЕТРОГРАДНА ХОЛАНГИОПАНКРЕАТО-
ГРАФИЈА ПАНКРЕАТИТ

PREVENTION OF POST-ENDOSCOPIC RETROGRADE CHOLANGIOPANCREATOGRAPHY
PANCREATITIS

Ѓорги Дерибан, Урим Исахи, Владимир Андреевски, Јане Мишевски, Емилија Николовска,
Мирко Крстевски и Ненад Јоксимовиќ..... 99

ОПТИМАЛНА ЛОКАЛНА АНЕСТЕЗИЈА КАЈ ТРАНСРЕКТАЛНА БИОПСИЈА НА
ПРОСТАТА

OPTIMAL LOCAL ANESTHESIA WHEN PERFORMING PROSTATE BIOPSY

Сотир Ставридис, Оливер Станков, Сашо Дохчев, Скендер Саиди и Михаил Пенев..... 105

III. Приказ на случај/ Case reports

ПРЕДЕН УВЕИТ ПРИДРУЖЕН СО IRIS PIGMENT EPITHELITIS

ANTERIOR UVEITIS ASSOCIATED WITH IRIS PIGMENT EPITHELITIS

Милена Голубовиќ и Наташа Трпевска..... 111

LAPAROSCOPIC INCISIONAL HERNIA REPAIR IN OBESE PATIENT: A CASE REPORT
ЛАПАРОСКОПСКА ПОПРАВКА НА ИНЦИЗИОНА ХЕРНИЈА КАЈ ПАЦИЕНТ СО
ПРЕКУМЕРНА ТЕЖИНА: ПРИКАЗ НА СЛУЧАЈ

Aleksandar Mitevski, Svetozar Antovic, Biljana Kuzmanovska and Nikola Jankulovski..... 115

ЕВАЛУАЦИЈА НА ИДИОПАТСКА ЦЕНТРАЛНА СЕРОЗНА
ХОРИОРЕТИНОПАТИЈА СО ОПТИЧКА КОХЕРЕНТНА ТОМОГРАФИЈА
EVALUATION OF THE IDIOPATHIC CENTRAL SEROUS CHORIORETINOPATHY WITH
OPTICAL COHERENT TOMOGRAPHY

Наташа Трпевска и Весна Димовска-Јорданова..... 118

ILIACO-RENAL BYPASS SURGERY WITH SAPHENOUS VEIN GRAFT IN KIDNEY
TRANSPLANT RECIPIENT

ИЛИЈАКО-РЕНАЛНО ХИРУРШКО ПРЕМОСТУВАЊЕ СО ГРАФТ ОД ВЕНА
САФЕНА КАЈ ПАЦИЕНТ СО ТРАНСПЛАНТИРАН БУБРЕГ

Aleksandar Josifov, Aleksandra Simeonova, Jelka Masin-Spasovska, Saso Dohcev, Oliver Stankov,
 Sotir Stavridis, Skender Saidi, Irena Rambabova-Busletic, Menka Lazarevska, Maja Mojsova-Miovska
 and Goce Spasovski..... 123

Ревизијален илустрациј

АДРЕНАЛЕН „BURN OUT“ СИНДРОМ И ОПШТА АНЕСТЕЗИЈА

ADRENAL BURNOUT SYNDROME AND GENERAL ANESTHESIA

Билјана Ширгоска, Јане Нетковски и Аница Алексовска

ЈЗУ Универзитетска клиника за уво, нос и грло, Медицински факултет, Универзитет "Св.Кирил и Методиј", Скопје, Република Македонија

Апстракт

Овој труд го расветлува хроничниот стрес, кој е причина за настанување на адренален "burn out" синдром кај пациентите кои поради хируршкото заболување треба да бидат подложени на оперативна интервенција, од аспект на анестезиолошки пристап и третман.

Хроничниот стрес може да настане поради: хемиска токсичност и нутритивна потхранетост, ментален, емоционален или духовен стрес, финансиски и фамилијарен.

Други причини за хронично исцрпување се: напорна работа, емоционален стрес, стимулација на нервниот систем кај деца, брза храна, начин на живот кој се базира на страв, бучава, електромагнетно зрачење, мобилни телефони, микробранови печки и компјутери.

Физиологијата вклучува исцрпување на кортизолот од адреналните жлезди; пад на имунитетот; тироиден дисбаланс; намалена продукција на клеточна енергија и таложење на метали во организмот.

Симптомите на исцрпување на кортизолот од адреналните жлезди се: хипогликемија, хипотензија, хипотермија, депресија, болки во зглобови и алергиски реакции, настанати поради ниското ниво на кортизолот.

Нивото на бакар во организмот расте, на цинк опаѓа, а сето тоа влијае врз имуниот систем во организмот. Настануваат хронични инфекции или прогредираат дегенеративните заболувања. Адреналното исцрпување доведува до дисбаланс на другите ендокрини жлезди во организмот, што доведува до хипотиреоидизам.

Депресијата и апатијата се резултат на намалена енергетска продукција во клетката. Кортизолот е хормон кој придонесува за енергетското ниво на организмот. Доколку недостасува, настанува депресија, анксиозност или раздразливост која

претставува полесна манифестација на стрес.

Кога адреналните жлезди многу ќе се исцрпат, расте нивото на бакар во организмот, растат и негативните емоции: панични напади, биполарно однесување, промена на расположението и шизофренија. Живата, кадмиумот, железото, арсенот и берилиумот придонесуваат за промени во физичкиот и емоционалниот статус.

Пациентите кои треба да примат општа анестезија, неопходно е предоперативно добро да се подготват. Ваквиот пациент се води во длабока седација, континуирана аналгезија и длабока анестезија, за да не се дозволат хемодинамски циркулаторни промени во текот на самата анестезија.

Клучни зборови: burn out, адренални жлезди, општа анестезија

Abstract

This study highlights the problem of chronic stress, an important cause of burnout, in patients who are to undergo surgical treatment, presented from the aspect of anesthesiological approach and treatment.

Chronic stress can occur due to: chemical toxicity, malnutrition, mental, emotional or spiritual stress, financial and family stress.

Other stressors that could affect the body are: hard working, emotional stress, nervous stimulation in children, fast food, fears from life, noise, exposure to electromagnetic fields, cell phones, microwave ovens and computers.

The physiology of adrenal "burn out" involves low level of cortisol; copper toxicity; thyroid imbalances; reduced cellular energy production and metal toxicity.

Low blood sugar, low blood pressure, low temperature, depression, joint pains and allergies may result from low levels of cortisol.

Elevated copper and low zinc related to adrenal burnout impair the immune system. Chronic infections may develop. The stage is also set for the development of degenerative conditions.

Adrenal exhaustion leads to other glandular imbalances such as hypothyroidism.

Depression and apathy are a result of low energy production in the cells. Also, cortisol provides a natural "high" energy in the body. Low cortisol can lead to depression and even despair. Unsure if there is energy to get through the day, anxiety may occur. Irritability is common as one is less able to handle even minor stress.

When the adrenals are weak, copper builds up in the body. Elevated copper enhances emotions. Panic attacks, bipolar disorder, mood swings and schizophrenia are related to copper imbalance. Mercury, cadmium, lead, arsenic, beryllium and others contribute to hundreds of physical and emotional symptoms.

Patients with adrenal "burn out" syndrome have to be prepared for general anesthesia with good sedation, continuous intravenous analgesia, enough deep anesthesia in order to avoid hemodynamic disturbances.

Key words: burn out, adrenal glands, general anesthesia

Вовед

"Burn out" синдромот е термин за физиолошко исцрпување, т.е. согорување на организмот. Дефиниран е од Интернационалната класификација на заболувања (International Classification of Diseases, ICD -10) како "проблем поврзан со тешкотии во управување со животот" [1].

За да го објасниме адреналниот "burn out" синдром, потребно е да го дефинираме стресот кој не е "burn out"- синдром, туку може да доведе до него, т.е. да го предизвика. Во секојдневниот живот, луѓето доаѓаат во допир со стресни ситуации, како што се: губење на работното место, финансиски тешкотии, преоптовареност со обврски на работното место или во училиштето и доколку тие стресогени ситуации не се надминуваат секојдневно, лицето станува кандидат за "бурн аут"-синдром. Екстремна стрес, кој е причина за "burn out" синдром, може да биде предизвикан и од: хемиска токсичност и сиромашна нутритиција; ментален, емоционален, спиритуален или фамилијарен стрес. Секоја стресна ситуација може да доведе до исцрпување на адреналните жлезди, посебно ако организмот е ослабен поради сиромашна нутритиција [2]. Кај децата најчесто се работи за екстремна стимулација на супрареналните жлезди, поради стресогени ситуации со кои се среќаваат во текот на растењето.

Метаболниот одговор на стрес (општа анестезија и хируршка инцизија) кај пациентите кои поради хируршкото заболување побаруваат општа анестезија е опишан во литературата на Barash *и* *соп.*, Miller *и* *соп.*, и Morgan *и* *соп.* [3-5].

Поимот стрес се дефинира како низа на механизми кои ги презема организмот како одговор на влијани-

ето на фактори од надворешната средина кои претставуваат закана за интегритетот на организмот [6]. Факторите кои делуваат врз човечкиот организам се викаат стресори, а одговорот на организмот на дејството на стресорите се вика синдром на адаптација [7].

Стресот може да биде акутен и хроничен [8].

Акутниот стрес покренува низа метаболни промени во организмот, кои го водат организмот кон катаболна фаза, која трае сè додека стресорот кој ја предизвикал ваквата состојба има свое влијание.

За хроничен стрес се зборува тогаш кога постои често повторувано дејствување или трајно дејствување на одредени стресори [9].

Влијанието на стресот врз ефекторните органи зависи не само од надворешните стресори, туку и од внатрешните фактори, т.е. реакцијата на самиот организам и неговата способност да се адаптира на стресот.

Воведот во општа анестезија претставува стрес за организмот. Доколку организмот е претходно исцрпен, т.е. бил под влијание на хронични стресни ситуации од секојдневниот живот, метаболната реакција на стрес, т.е. на вовед во анестезија и хируршка инцизија, ќе ја влоши неговата метаболна состојба.

Метаболниот одговор на акутен стрес на организмот подразбира: промена на хомеостазата на протеините, хиперметаболизам, промена на метаболизмот на јаглените хидрати, ретенција на H₂O, Na и зголемена липолиза.

Промената на хомеостазата на протеините се огледа во зголемена ендегената хепатичка продукција на гликоза (глюконеогенеза), намалена елиминацијата на гликоза во крвта (инсулинска резистенција) и хипергликемија.

Главен извор на енергија стануваат масните, па се зголемува липолизата, а се намалува липогенезата. Промената на метаболизмот на протеините се огледа во негативен азотен баланс, поради катаболизам. Невроендокрината оска игра главна улога при стресот.

При акутен стрес се зголемува лачењето на контраинсулинските хормони: кортизол, глюкагон и катехоламините, кои се нарекуваат уште и хормони на стресот. Откако сите тие максимално ќе се испразнат од своите депоа, го придвижуваат организмот кон катаболизам.

Зголемено е нивото на инсулинот, но не доволно за да спречи хипергликемија. Зголемени се и концентрациите на хормонот на раст, алдостеронот и вазопресинот.

При хроничен стрес се исцрпува лачењето на хормоните на стресот, особено на кортизолот од адреналната жлезда, а придвижената катаболна фаза и натаму продолжува.

На метаболните промени кои се случуваат во организмот за време на хронична изложеност на стрес влијаат: општата состојба на пациентот и возраста; природата, интензитетот и честотата на стресорите; ефектите на хроничното гладување; евентуалните компликации.

Физиологија на адреналниот синдром на согорување:

Хроничниот стрес го исцрпува организмот, ги исцрпува адреналните жлезди секојдневно, па нивото на кортизол е ниско. Ниското ниво на кортизол е придружено со хипогликемија, хипотензија, хипотермија и склоност кон алергиска реакција.

Интоксикација на организмот со метали, зголемувањето на нивото на бакар, а намалување на нивото на цинк во организмот можат да предизвикаат адренален "burn out" синдром, поради тоа што го намалуваат имунитетот на организмот. Поради намалениот имунитет, може да настанат хронични инфекции на организмот, да дојде до појава на канцер или коронарно срцево заболување. Паркинсоновото и Алцхајмеровото заболување можат да бидат краен стадиум на токсичната акумулација на метали во организмот и енергетското осиромашување.

Бакарот лесно се таложи во организмот, доколку дојде до исцрпување на адреналните жлезди, а наталожениот бакар пак, доведува до промена на емоциите. Панични испади, биполарно однесување, честа промена на расположението и шизофренија настануваат како резултат на дисбаланс на бакарот во организмот.

Освен бакарот, таложење на жива, кадмиум, арсен и берилиум исто така можат да доведат до промена во емоционалното однесување.

Доколку дојде до исцрпување на адреналните жлезди, настанува дисбаланс во целиот ендокрин систем. Најчесто е засегната тироидната жлезда, при што настанува хипотиреоидизам.

Намалена е и енергетска продукција во клетката. Кортизолот е анаболен хормон кој го подигнува енергетскиот метаболизам. Поради ниското ниво на кортизол, исцрпена е енергетската продукција на клетките и намален е базалниот метаболизам на клетките. Тоа се одразува врз целокупната физичка активност на пациентите, како и врз расположението на пациентите, кои страдаат од депресија и апатија.

Адреналниот "burn out" синдром се мери преку тестот за проценка на стресната состојба **MBI-Maslach burnout inventory** [10]. Тоа е тест со кој секој човек може да биде проценет или може да се самопроцени, дали се наоѓа во состојба на замор, хроничен стрес или веќе ја поминал границата и преминал во синдром на согорување.

За веродостојноста на MBI постојат повеќе студии во медицинската литература заснована на до-

кази. Една од тие студии е студијата на Schutte и сор., [11], која го испитувала тестот за проценка на стресната состојба кај вработени во мултинационални компании во дрвната индустрија во Финска, Шведска и Германија. Вкупниот број на испитаници бил 9055. Авторите поставиле хипотетички модел на споредба, кој опфаќал три симптоми на "burn out" синдромот: исцрпеност, цинизам и професионална ефикасност кај: одделни групи професии како: менаџери, техничари и работници, и кај трите наведени нации.

Авторите заклучиле дека нема варијации во симптомите кај наведените професии, како потенцијални кандидати за пациенти кои ќе бидат подложени на операција и општа анестезија. Скалата за проценка на стресната состојба MBI е веродостојна кај сите испитувани групи. Не се најдени ни значајни разлики помеѓу степенот на "burn out" синдромот помеѓу нациите.

Во литературата постојат бројни студии кои укажуваат на адренална исцрпеност на анестезиолозите како професионалци, како последица на нивната професионална предаденост на работата. Мал е бројот на студии (а и тие се клинички незначителни) кои ги споредуваат другите професии, симптомите на исцрпеност, како и состојбата на таквиот организам интраоперативно, т.е. во тек на општа анестезија, како дополнителен стрес за организмот.

Доколку пациент со "burn out" синдром треба да биде подложен на хируршка интервенција и анестезија, анестезиологот треба да го одреди степенот на адреналното исцрпување на организмот [12]. Анестезиологот го одредува и типот на анестезијата и анестезиолошката техника која ќе ја примени во согласност со оперативната интервенција и вештината на самиот хирург.

Кога зборуваме за општа анестезија кај пациентите со адренално исцрпување, анестезиологот треба да ги почитува сознанијата за начинот на вовед во општа анестезија, за да се одбегне дополнителен стрес на веќе исцрпениот организам. Целта на процедурата е да се намали хемодинамскиот одговор на ендотрахеалната интубација, на хируршката инцизија; да се обезбеди хемодинамска стабилност во текот на целата оперативна интервенција и анестезија и мирно будење.

Процедурата опфаќа многу добра анестезиолошка подготовка на овие пациенти: лабораториска анализа на крвта, во која акцент се става на гликемијата, протеинскиот и липидниот статус; разградните продукти на организмот: уреа и креатинин; хормоналниот статус: одредување на плазматско ниво на кортизол и нивото на катехоламините во крвта и во урината.

Предоперативната евалуација на пациентот опфаќа евалуација на кардиоваскуларниот систем (пулс, артериски крвен притисок, ЕКГ и ехо на срце) и евалуација на респираторниот систем и неговата функција.

Во премедикацијата ќе се стави акцент на длабоката седација на пациентот предоперативно, за да се одбегнат промени во хемодинамиката на артерискиот крвен притисок и пулсот, кои можат да постигнат вредности на малигна хипертензија на самиот вовед во општа анестезија.

Доколку постои недостиг на циркулаторниот волумен на крвта, тој треба да се надомести предоперативно.

Анестезијата треба да е доволно длабока во текот на целата оперативна интервенција, со стабилни кардиоваскуларни параметри.

Во премедикација се користат опиоиди, (како и во тек на целата анестезија, интравенски континуирано), бидејќи опиоидите го намалуваат хормоналниот одговор на стрес со попречување на аферентниот пренос на сигнали. Опиоидите влијаат врз невроендокриниот одговор и преку централниот нервен систем. Ова дејство на опиоидите секако дека е дозно зависно. Но, самите опиоиди се разликуваат помеѓу себе: најмала ефикасност има морфинот, па фентанилот, а најефикасни во намалување на невроендокриниот одговор се суфентанил и алфентанил.

Воведот во анестезија треба да се изведе со Пропофол, како интравенски анестетик. Треба да се одбегнува Тиопентал кој ја намалува концентрацијата на кортизол во плазмата и Етоmidат кој ја супримира адренкортикалната оска и одговорот на стрес, преку инхибиција на синтеза на кортизол од надбубрежната жлезда.

Будењето од општата анестезија треба да е мирно, исто како и при воведот во анестезија.

Во постоперативниот тек неопходна е добра анестезија на пациентите.

Заклучок

Најважна е анестезиолошката процена на степенот на исцрпеност на организмот (акутен стрес, хроничен стрес или адренално исцрпување) според симптомите, МБИ и лабораториските анализи. Анестезиолошката процена е најбитна за да се одбегнат несаканите ситуации на хемодинамска нестабилност, при воведот во анестезија, при хируршката инцизија и другите болни стимулуси во текот на операцијата, како и при самото будење од анестезијата.

Конфликт на интереси. Не е деклариран.

Литература

1. ICD-10: International Classification of Diseases. Geneva: World Health Organization, 1994.
2. Lalevic P. Metabolicki odgovor organizma na stress, *Anestezilogija* 1999; 17: 182-197.
3. Barash PG, Cullen BF, Stoelting RK. Clinical Anesthesia, 5th Edition Copyright ©2006 Lippincott Williams & Wilkins.
4. Morgan GE, Mikhail MS, Murray MJ. Clinical Anesthesiology, 4th edition, 2006.
5. Miller RD. Miller's Anesthesia. Seventh edition, Elsevier, 2009.
6. Maslach C, Leiter MP. *The truth about burnout*. New York. Jossey-Bass, 1997.
7. Shirom A, Melamed S. Does burnout affect physical health? A review of the evidence. In A. S. G. Antoniou & C. L. Cooper (Eds.), Research companion to organizational health psychology. Cheltenham, UK: Edward Elgar, 2005; pp. 599-622.
8. Kraft U. "Burned Out", *Scientific American Mind* 2006; p. 28-33.
9. Maslach C, Schaufeli WB, Leiter MP, et al. "Job burnout". *Annual Review of Psychology* 2001; 52: 397-422.
10. Maslach, C, Jackson SE, Leiter MP. The measurement of experienced burnout *MBI: The Maslach Burnout Inventory: Manual*. Palo Alto: Consulting Psychologists Press, 1996.
11. Schutte N, Toppinen S, Kalimo R, Schaufeli W. The factorial validity of the Maslach Burnout Inventory-General Survey (MBI-GS) across occupational groups and nations. *Journal of Occupational and Organizational Psychology* 2010; 73(1):53-66.
12. Kristensen TS, Borritz M, Villadsen E, Christensen KB. *The Copenhagen Burnout Inventory: A new tool for the assessment of burnout*. Work & Stress, 2005; 19: 192-207.

Оригинален труд

THE IMPLEMENTATION OF PROGNOSTIC INDEX AND RISK GROUPING IN SURGICALLY TREATED CERVICAL CARCINOMA PATIENTS: A PROSPECTIVE VALIDATION STUDY

ПРИМЕНА НА ПРОГНОСТИЧКИОТ ИНДЕКС И ПОДЕЛБАТА ВО РИЗИЧНИ ГРУПИ КАЈ ХИРУРШКИ ТРЕТИРАНИ ПАЦИЕНТИ СО КАРЦИНОМ НА ГРЛОТО НА МАТКАТА: ПРОСПЕКТИВНА ВАЛИДАЦИОНА СТУДИЈА

Neli Basheska¹ and Slavica Veljanoska-Petreska²

¹Department of Histopathology and Clinical Cytology, ²Department of Gynecological Oncology, University Clinic of Radiotherapy and Oncology, Faculty of Medicine, University "Ss. Cyril and Methodius" Skopje, Republic of Macedonia

Abstract

Introduction. The objective of this prospective study was to validate the prognostic criteria defined by the results of our previous study in an independent population of surgically treated cervical carcinoma patients.

Methods. The study group consisted of 340 patients who underwent abdominal hysterectomy with pelvic lymphadenectomy as primary therapy. Based on the scores of the variables (blood vessel invasion, lymph node metastases, tumor diameter, degree of inflammatory reaction at the invasive front, and minimum thickness of uninvolved cervical stroma/parametrial extension) and calculated prognostic index (PI) values, the patients were divided into three prognostic groups.

Results. The 5-year disease-free survival (DFS) rates of the low, intermediate, and high-risk groups were 98,82%, 84,57%, and 74,01%, respectively. The differences in DFS rates were statistically significant ($P < 0,00001$). In order to validate the model from our previous study, we have compared DFS rates between the groups. There was no difference in DFS rate between low-risk groups, although the majority of the patients in this study were not irradiated, while radiotherapy was administered invariably to all the original study patients. Similarly, DFS did not differ significantly between the intermediate-risk groups, which could be expected since radiotherapy was administered to majority of the patients in this study. In contrast, the high-risk group patients in this study had significantly higher DFS rate (74,01% vs. 44,24%, $P = 0,0010$), probably as the result of the adjuvant chemotherapy administered to 69% of them.

Conclusions. PI could be a sound and reliable basis for appropriate planning of the following therapeutical strategy of the surgically treated cervical carcinoma patients.

Key words: cervical cancer, prognostic factors, disease-free survival, prognostic index, prognostic groups

Апстракт

Вовед. Целта на оваа проспективна студија беше да се проверат прогностичките критериуми утврдени со резултатите на нашата претходна студија во независна популација од хируршки третирани пациенти со цервикален карцином.

Методи. Испитуваната група се состоеше од 340 пациенти кај кои како примарна терапија беше направена абдоминална хистеректомија со пелвична лимфаденектомија. Врз основа на одредените вредности од варијаблите (инвазија на крвните садови, лимфонодални метастази, туморски дијаметар, степен на воспалителна реакција во инвазивниот фронт и минимална дебелина на незафатена цервикална строма/параметријално зафаќање) и пресметаните вредности на прогностичкиот индекс (ПИ), пациентите беа поделени во три прогностички групи.

Резултати. Стапките на 5-годишното преживување без болест (ПББ) на ниско-, средно- и високо-ризичната група беа 98,82%, 84,57% и 74,01%. Разликите во стапките на ПББ меѓу прогностичките групи беа статистички значајни ($P < 0,00001$). За да го провериме моделот од претходната студија, направивме споредба ПББ меѓу двете групи. Помеѓу ниско-ризични групи немаше разлика во стапките на ПББ, иако поголемиот дел од пациентите во оваа студија не беа зрачени, додека радиотерапија беше администрирана кај сите пациенти вклучени во оригиналната студија. Слично, ПББ не се разликуваше значајно помеѓу средно-ризичните групи, што би можело да се очекува со оглед дека радиотерапија беше администрирана и кај повеќето пациенти во оваа студија. Спротивно на тоа, пациентите од високо-ризична гру-

Correspondence to: Neli Basheska, Department of Histopathology and Clinical Cytology, University Clinic of Radiotherapy and Oncology, "Majka Tereza" 17, Skopje, R. Macedonia; Phone: 02 3147 892; Phone: 070 77 47 99; Fax: 02 31 11 430; E-mail: nbasheska@gmail.com

па во оваа студија имаа значајно повисока стапка на ППБ (74,01% наспроти 44,24%, $P=0,0010$), веројатно како резултат на адјувантната хемотерапија применета кај 69% од нив.

Заклучок. ПИ би можел да биде цврста и сигурна основа за соодветно планирање на терапевтската стратегија кај хируршки третирани пациенти со цервикален карцином.

Клучни зборови: карцином на грлото на матката, прогностички фактори, преживување без болест, прогностички индекс, прогностичка група

Introduction

The clinical behavior of carcinoma of the uterine cervix varies and covers a wide spectrum, from cases that are relatively indolent to those having a rapidly progressive course. For cervical carcinoma, clinical FIGO staging has been the most important single parameter influencing choice treatment and indicating outcome [1,2]. The overall 5-year survival rates range from 15% to 80% depending on the extent of disease [3]. Unfortunately, the 5-year survival for each stage has not improved significantly over the past 45 years. Many recent studies have suggested that this staging system is not capable of discriminating with regard to patient survival within and between stages [4].

Accurate staging is of utmost importance in determining the prognosis of carcinoma of the uterine cervix. It is well known that there is a significant disagreement between the neoplastic extension according to clinical FIGO classification, and the real extension of the tumor, according to pathological data from operative specimens or the postoperative stage. Thus, primary surgical treatment in patients with early stage cervical carcinoma allows for an accurate determination of the real extent of the disease. Histopathological analysis of the surgical specimens also allows identification of various histological features that significantly influence recurrence rate and survival in patients with early stage cervical carcinoma.

Traditionally, clinical and histopathological parameters such as regional lymph node metastases, tumor size, depth of stromal invasion, vessel invasion, parametrial involvement, and histological type are used to prognosticate and modify management options both in patients with early stage and locally advanced cervical carcinoma [3]. Many factors are still controversial in their prognostic significance including patient's age, surgical margin involvement, inflammatory stromal reaction, histological type and grade of differentiation.

Nevertheless, it has become increasingly clear that there exists a significant subpopulation of patients with apparent early invasive cervical carcinoma who are prone to treatment failure when managed by current standard surgical or radiotherapeutic techniques. This indicates the

need for a more precise quantitative method for determining the prognosis in patients with cervical carcinoma in order to be able to individualize treatment as much as possible. A reliable marker of prognosis would therefore be very useful for identification of patients at low risk who could be offered more conservative therapy and patients at high risk who could be offered more intensive treatment.

Several years ago, in a prospective and retrospective study made by our Department, tumor invasion into blood vessels, pelvic lymph node metastases, tumor diameter, the degree of inflammatory cell infiltrate at the invasive front, and minimum thickness of uninvolved cervical stroma/parametrial extension were identified as the only independent and significant prognostic factors for disease-free survival (DFS) among 23 variables investigated by multivariate analysis, using Cox regression models [5]. In addition, the prognostic index (PI), defined by the model, was able to categorize the patients into three distinct risk groups. Differences in DFS rates between the low, intermediate, and high-risk groups were statistically significant. Thus, based on the data reported by two other recent randomized trials radiochemotherapy was recommended for the patients belonging to the high-risk group, while radiation alone was suggested for the intermediate-risk group patients [6,7].

The basic objective of this prospective study was to evaluate the results of the implementation of the prognostic index (PI) in determining the prognosis and individual planning of the postoperative therapy in an independent population of surgically treated patients with early stage invasive cervical carcinoma and to investigate whether treatment decisions based on this risk group division lead to better survival. The predictive value of the PI was assessed in relation to DFS of the patients divided in three prognostic groups. The prognostic influence of 12 various relevant histopathological and clinical variables on DFS of cervical cancer patients was also evaluated.

Materials and methods

Clinical and Histopathological Features

The study group consisted of a fairly homogenous population of 340 patients with early stage cervical carcinoma who underwent abdominal hysterectomy with pelvic lymphadenectomy as primary therapy at the University Clinic for Obstetrics and Gynecology in Skopje or the Special Gynecology and Obstetrics Hospital "Chair" in Skopje between January 2000 and December 2005. Their operative specimens were subjected to uniform histopathological workup at the Department of Histopathology and Clinical Cytology, at the University Clinic of Radiotherapy and Oncology, in Skopje. In some of the patients adjuvant postoperative irradiation and/or chemotherapy was administrated at the University Clinic of Radiotherapy and Oncology.

Originally, a total of 383 patients treated with radical hysterectomy and bilateral pelvic lymphadenectomy entered the study prospectively and consecutively. For the purpose of this study only the patients with early stage cervical carcinoma (pT1b1, pT1b2, pT2a and pT2b) whose operative specimens were subjected to uniform histopathological workup, with the determined value of the PI and all other relevant histopathological parameters, with known relevant information for adjuvant postoperative irradiation and/or chemotherapy and clinical follow-up data were included. Forty-three patients were excluded: 23 due to different treatment modality implemented (preoperative irradiation and/or chemotherapy), 5 with microinvasive cervical carcinoma (pT1a1/1a2), 4 with more advanced stage carcinoma, one with unspecified maximal tumor diameter, and 10 patients without clinical follow-up. The case series was finally made of 340 patients. The operative specimens were fixed in 10% phosphate-buffered formalin for 24 hours. The surgical specimens were routinely examined and sections were taken according to the standard procedure for cervical cancer specimens from the sagittal and transversal area surface of uterine cervix leading to minimum of nine sections for each patient (mean 29 ± 15). The mean number of resected pelvic lymph nodes was 35 ± 13 (range 1-86). Subsequently, sections were routinely processed and paraffin embedded, and hematoxylin-eosin-stained to determine histology. All patients were staged according to postoperative pTNM classification guidelines (UICC, International Union Against Cancer; 1997) [2]. In addition to tumor status (pT) and pelvic lymph node status (pN), further prognostic parameters included in the study were the morphometric and morphohistological characteristics including maximum diameter, depth of stromal invasion and thickness of uninvolved cervical stroma/parametrial extension, vaginal involvement, surgical margin involvement, histological type, grade of differentiation, blood vessel invasion and inflammatory infiltrate in the invasive front of the tumor. Maximum diameter, depth of stromal invasion and thickness of uninvolved cervical stroma of the primary tumor were determined according to the measurements taken during the pathology examination. Tumors were classified according to the World Health Organization criteria [8], and graded using a modification of Broder's method [3]. When tumor cells were found in a distinctive vascular space, blood vessel invasion was recorded. In addition, the abundance of the lymphocytic-plasmacellular inflammatory infiltrate present was evaluated at the invasive front of the tumor [9,10].

The value of the PI was calculated for each patient by the following formula:

$$PI = 0,669215 \cdot BV_i + 0,8094872 \cdot pNi + 0,2195908 \cdot TDi + 0,7449857 \cdot INR_i + 0,6726326 \cdot TUS_i$$

where BV_i equals 0 if there is no blood vessel invasion and BV_i equals 1 if blood vessel invasion is present; pNi equals 0 if pelvic lymph nodes are negative and 1 if there is lymph node metastasis present; TD_i equals the value of

the maximal tumor diameter in centimeters (continuous variable); INR_i equals 0 if there is an abundant inflammatory infiltrate present in the invasive front of the tumor, INR_i equals 1 if the inflammatory reaction is moderate and 2 if it is scarce; TUS_i equals 0 if the thickness of uninvolved cervical stroma is more than 10 mm, TUS_i equals 1 if the thickness is between 6 and 10 mm, TUS_i equals 2 if the thickness is less than 6 mm and 3 if there is parametrial extension [5]. Based on the scores of the variables and calculated PI values the patients were divided into three prognostic groups. The patients with a PI value between 0 and 2,2 belong to the low-risk group, the intermediate-risk group patients are those with a PI value between 2,21 and 4,2, while patients with a PI value more than 4,2 are categorized in the high-risk group.

Clinical information, including patient age, FIGO stage, date of operation, postoperative treatment, and follow-up data (date and type of treatment failure or relapse, date and clinical status at follow-up through June 2007), were retrieved by reviewing each patient's complete medical records at the University Clinic of Radiotherapy and Oncology and computer data base records at the Department of Histopathology and Clinical Cytology. The age of the patients ranged from 22 to 69 years, with a median of 44 years. The patients were clinically staged as FIGO Stage IA (4), IB (168), IIA (126), IIB (12), or III (2), while 28 patients were unstaged.

Postoperatively, adjuvant therapy was given in patients belonging largely to the intermediate- or high-risk group. Radiotherapy consisted of 50 Gy in 25 fractions, 5 fractions a week, delivered to the pelvis in two or four fields. Chemotherapy consisted of either of cisplatin (75 mg/m² on day 1) and fluorouracil (5-FU; 750 mg/m² on days 1-5) or of carboplatin AUC 5 (on day 1) and 5-FU (750 mg/m² on days 1-5) for six cycles every 3 weeks. Adjuvant treatment was started 4-6 weeks after surgery.

Postoperative adjuvant pelvic radiotherapy was administered to 7,2%(7/97), 90,1%(118/131) and 26,8%(30/112) of the patients belonging to the low-, intermediate-, and high-risk group, respectively. Radio- and chemotherapy was given to 1%(1/97), 5,3%(7/131) and 67%(75/112) of the patients belonging to the low-, intermediate-, and high-risk group, respectively, while 1,8%(2/112) patients belonging to the high-risk group received chemotherapy only. Due to intolerance, various complications or patients' refusal, radiotherapy in 7 cases (6 patients from the intermediate-risk group and one belonging to the high-risk group) and/or chemotherapy in 9 cases were incompletely administered. In addition, intracavitary treatment of the vagina was administered to 11 intermediate-risk group patients (in one patient as an exclusive therapy given) and 6 high-risk group patients. Brachytherapy dose was 5 Gy at 5 mm depth of the vaginal mucosa.

Patients receiving postoperative therapy were followed every 3 months during the first 3 years, every 6 months until the fifth year, and yearly thereafter at the University Clinic of Radiotherapy and Oncology. Untreated patients

were controlled by their gynecologists. Regular follow-up consisted of physical examination and vaginal vault smears; patients suggestive for metastatic disease underwent further investigation. Additional information about

the length of disease-free and overall survival and clinical status of some patients were obtained from the contacts with the patients or their families. A detailed description of clinical and histopathological characteristics is given in Table 1.

Variables	Patients		Relapses		Disease-Free Survival Rate		Log rank	P value
	No.	%	No.	(%)	5 y	CI 95%		
<i>Postoperative stage</i>								
IB1	164	48,2	9	5,5	91,09%	85,1-97,0	11,66	0,0006
IB2	27	7,9	5	18,5	80,04%	64,3-97,0		
IIA	18	5,3	3	16,7	82,96%	65,3-100		
IIB	49	14,4	5	10,2	90,10%	80,8-99,4		
IIIB	82	24,1	21	25,6	72,62%	61,5-83,7		
<i>Age (y)</i>								
≤39	109	32,1	14	12,8	84,73%	77,1-92,4	0,01	0,9064
>39	231	67,9	29	12,6	84,29%	78,7-89,8		
<i>Nodal status (pN)</i>								
pN0	258	75,9	22	8,5	89,34%	84,8-93,8	16,84	<0,00001
pN1	82	24,1	21	25,6	69,71%	58,5-80,9		
<i>Tumor status (pT)</i>								
1b1	184	54,1	12	6,5	90,40%	84,8-96,0	8,99	0,0027*
1b2	40	11,8	8	20,0	78,74%	65,6-91,9		
2a	26	7,6	6	23,1	75,58%	58,6-92,6		
2b	90	26,5	17	18,9	79,02%	69,7-88,3		
<i>Tumor diameter(cm)</i>								
≤2	107	31,5	3	2,8	94,76%	88,9-100	16,03	0,0003
2.1 - 4	127	37,3	16	12,6	85,18%	78,3-92,1		
>4	106	31,2	24	22,6	74,40%	65,2-83,6		
<i>Depth of invasion(mm)</i>								
≤10	133	39,1	9	6,8	92,17%	86,8-97,6	12,18	0,023 [‡]
11-20	149	43,8	16	10,7	85,77%	78,9-92,9		
>20	58	17,1	18	31,0	71,78%	61,0-82,5		
<i>Thickness of US</i>								
>10 mm	63	18,5	0	0	100%	-	10,19	0,0014*
6-10 mm	71	20,9	8	11,3	86,33%	77,3-95,3		
0-5 mm	116	34,1	18	15,5	80,74%	72,4-89,1		
parametrial extension	90	26,5	17	18,9	79,05%	69,8-88,3		
<i>Vaginal involvement</i>								
absent	291	85,6	27	9,3	88,09%	83,7-92,5	17,96	<0,00001
present	49	14,4	16	32,7	66,18%	52,1-80,3		
<i>SM involvement</i>								
absent	314	92,4	38	12,1	85,81%	81,5-90,1	1,03	0,3095
present	26	7,6	5	19,2	78,18%	58,9-97,4		
<i>Histological type</i>								
squamous	247	72,6	28	11,3	85,45%	80,1-90,8	2,98	0,2241
adenocarcinoma	44	12,9	4	9,0	88,59%	79,1-98,1		
mixed	44	12,9	9	20,5	77,88%	64,7-91,0		
adenoid basal [#]	2	0,6	1	50,0	-	-		
neuroendocrine [#]	3	0,9	1	33,3	-	-		
<i>Grade (G)</i>								
G1	55	16,2	1	1,8	98,15%	94,6-100	11,69	0,0006
G2	225	66,2	28	12,4	84,45%	78,9-90,0		
G3	60	17,6	14	23,3	73,92%	61,9-85,9		
<i>Blood vessel invasion</i>								
absent	160	47,1	9	5,6	92,24%	87,1-97,4	11,98	0,0005
present	180	52,9	34	18,9	78,15%	71,4-84,9		
<i>Inflammatory reaction</i>								
abundant	35	10,3	0	0	100%	-	8,91	0,0028
moderate	190	55,9	18	9,5	87,57%	81,8-93,3		
scarce	115	33,8	25	21,7	75,33%	66,8-83,9		

Legend: CI, confidence interval; Grade (G), grade of differentiation; G1, well differentiated; G2, moderately differentiated; G3, poorly differentiated; No., number of patients; P, probability; SM, surgical margin; US, uninvolved stroma; y, years. *pertains only to differences between the first and all other categories; ‡ pertaining only to differences between the last and the other two categories; #survival rates for adenoid basal and neuroendocrine carcinomas were not calculated due to the small number of cases

Statistical Analysis

DFS curves were calculated from the date of operation to relapse or to the date of last follow-up. The 2 patients who died of intercurrent disease were considered as censored observations. Surviving patients were considered at the time of their last clinical control. For univariate analysis the percentage of DFS for each group was calculated using the Kaplan-Meier method and comparisons between groups were performed applying log-rank test. Chi-square and/or Fisher's exact test were used to compare differences in recurrence rate, while log-rank test was used to test differences in DFS between prognostic groups. Statistical analysis was performed using the SPSS statistical package. A P value of 0.05 or less was considered statistically significant and 95% confidence intervals (CI) were presented as well.

Results

In our case series the tumor was limited to the cervix with less than 4 cm in diameter in 164(48,2%) patients, while 27(7,9%) patients had a larger neoplasm. Local extension to the vagina and parametrial tissues was found in 18(5,3%) and 49(14,4%) patients, respectively. Pelvic lymph node involvement was found in 82(24,1%) patients. During the follow-up period (range, 16-89,7, mean, $39,7 \pm 22,2$ months) recurrences were observed in 43 (12,6%) patients, 19(5,6) of whom died of cervical cancer. Two other patients died of intercurrent disease. The mean relapse-free period in recurrent cases was $19,9 \pm 14,5$ (range 3,4-84,7) months. Six patients had locoregional (pelvic) recurrences with a mean disease-free interval of $36,6 \pm 25,1$ months. Thirty-four patients had distant metastasis with a mean disease-free interval of $17,7 \pm 10,3$ months, while in 3 patients both local recurrence and distant metastases developed, with a mean disease-free interval of $11,5 \pm 5,9$ months. Distant metastases were localized in distant lymph nodes in 18, lungs in 11, musculoskeletal system in 10, liver in 4, and brain in 3 patients. Two hundred ninety-seven of the patients were relapse-free at the closing date of the study (June 2007). Median follow-up for patients without relapse was 37,9 months (range $40,9 \pm 22,2$ months). The actuarial DFS rate for 340 cervical cancer patients at 5 years was 84,47% (95%CI=80-88,9).

The results of the univariate analyses are summarized in Table 1. Lymph node metastases, tumor status, large tumor diameter, deeper stromal invasion, smaller thickness of uninvolved cervical stroma/parametrial extension, vaginal involvement, poorer grade of differentiation, blood vessel invasion, and more scarce inflammatory reaction in the tumor's invasive front were highly significant predictors for a shorter duration of DFS in the univariate analysis ($P < 0,05$). Age, surgical margin involvement, and histological type had no impact on DFS rate.

According to the value of the PI, the patients were categorized into three distinct risk groups: 97(28,5%) belonged to the low-risk group, 131(38,5%) to the intermediate-risk group and 112(32,9%) to the high-risk group. Recurrences were observed in 1%(1/97), 12,2%(16/131) and 23,2%(26/112) of the low-, intermediate-, or high-risk group patients, respectively. The 5-year DFS rates of the low, intermediate, and high-risk groups were 98,82%, 84,57% and 74,01%, respectively. Notably, a late local recurrence (85 months after the surgery) was observed in one of the patients belonging to the high-risk group, who refused adjuvant postoperative irradiation and chemotherapy. Differences in DFS rates between the low, intermediate, and high-risk groups were statistically significant (log rank test = 20,48, $P < 0,00001$) (Figure 1).

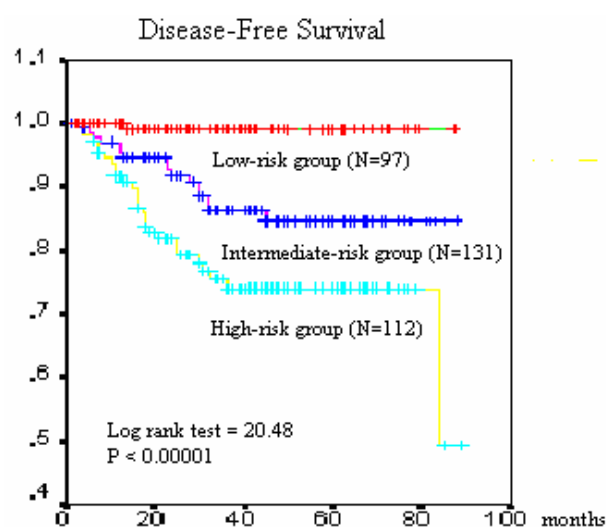


Fig. 1. Disease-free survival of the 340 patients from the prospective study (2000-07) distributed by the value of the prognostic index in three risk groups

Table 2. Recurrence rates and 5-year disease-free survival rates according to the value of the prognostic index

PI	Original study (1989-99)			Prospective study (2000-07)				P value*	P value [#]
	No.	Relapse (%)	5y DFS	No.	Relapse (%)	5y DFS	95%CI		
0-2,2	58	1 (1,7)	97,73%	97	1 (1,0)	98,82%	96,5-100	NS	NS
2,21-4,2	112	14 (12,5)	86,51%	131	16 (12,2)	84,57%	77,4-91,8	NS	NS
>4,2	67	35 (52,2)	44,24%	112	26 (23,2)	74,01%	65,1-82,9	0,0000734	0,0010

Legend: CI, confidence interval; DFS, disease-free survival; No., number of patients; NS, not significant; P, probability; PI, prognostic index value; y, year. *Correlation between recurrence rates (chi-square or Fisher's exact test, as appropriate); [#]Correlation between disease-free survival rates (log rank test)

In order to validate the model from our previous study, we have compared the recurrence rates and DFS rates between the prognostic groups (Table 2). There was no difference in recurrence rate and DFS rate between low-risk groups, in spite of the fact that majority of the patients in this study were not irradiated, while radiotherapy was administrated invariably to all the cervical carcinoma patients included in the original study (Figure 2).

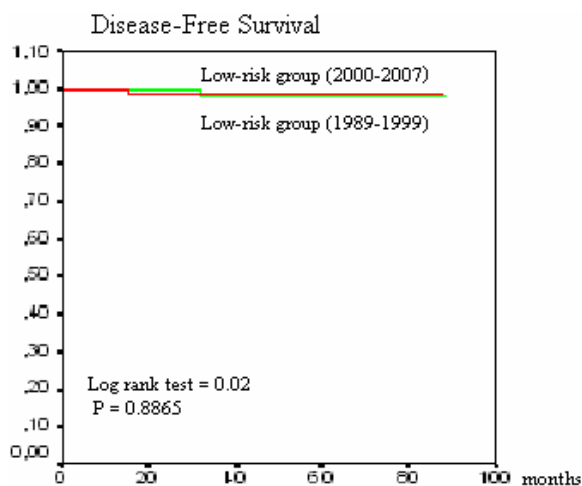


Fig. 2. Disease-free survival of the 58 patients belonging to the low-risk group in the original study (1989-99) and 97 low-risk group patients from the prospective study (2000-07)

Similarly, recurrence rate and DFS rate did not differ significantly between the intermediate-risk groups from both studies, which could be expected since radiotherapy was administrated to majority of the patients (125/131) in this study (Figure 3). In contrast, the high-risk group patients in this study had significantly lower recurrence rate and higher DFS rate probably as the result of the adjuvant chemotherapy administrated to 69% (77/112) of them (log rank test=10,79, $P=0,0010$) (Figure 4).

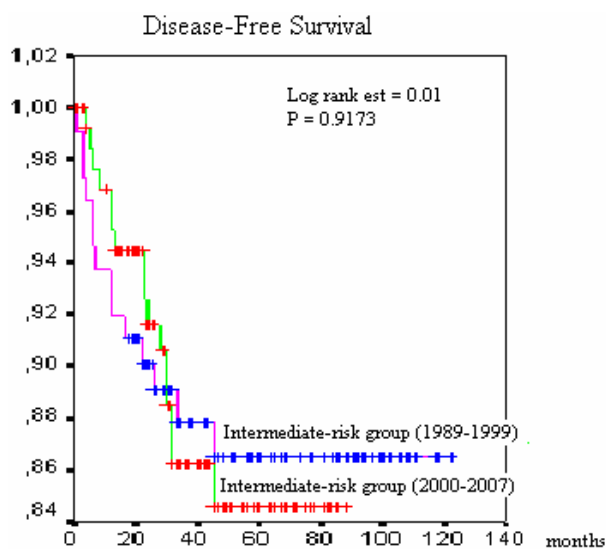


Fig. 3. Disease-free survival of the 112 patients belonging to the intermediate-risk group in the original study (1989-99) and 131 intermediate-risk group patients from the prospective study (2000-07)

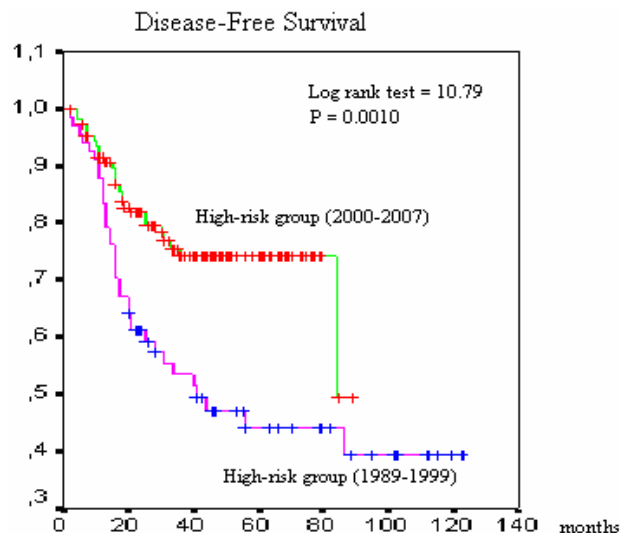


Fig. 4. Disease-free survival of the 67 patients belonging to the high-risk group in the original study (1989-99) and 112 high-risk group patients from the prospective study (2000-07)

Discussion

The current study confirmed previous data on prognostic factors in early stage cervical carcinoma, insofar as univariate analysis demonstrated that regional lymph node status, diameter, depth of stromal invasion and thickness of uninvolved cervical stroma/parametrial extension, vaginal involvement, grade of differentiation, blood vessel invasion and inflammatory infiltrate in the tumor's invasive front were of important prognostic significance in surgically treated early stage cervical cancer patients. At present, sufficient data have been reported in the literature to categorize lymph nodal status, tumor diameter, and depth of stromal invasion as independent risk factors because of their frequent association with increased cancer recurrence and mortality [5,7,9,11-20]. In addition, the prognostic significance of the third less frequently investigated morphometric parameter-thickness of uninvolved cervical stroma combined with parametrial extension - was also confirmed in this study [5,21,22]. The prognostic significance of vaginal involvement, a parameter incorporated in current staging systems, was also confirmed in our study, although conflicting results have also been reported [12,14]. In contrast to some other reports [19,23,24] the prognostic influence of surgical margin involvement on DFS was not confirmed in our study, which may be due to the small number of patients with positive margins [14,16]. Our data of the prognostic influence of tumor status (pT) as a parameter of postoperative pTNM classification on recurrence are in concordance with the results reported by Kainz, *et al.* [25].

With regard to histological type, it has been reported earlier that survival rate for patients with adenocarcinomas or mixed carcinomas was significantly poorer than that of patients with squamous cell carcinomas [12,17,20,24]. Nevertheless, similar to our results, these data were not confirmed in other studies [13,16,23]. In our study tumor

grade was a predictive factor with regard to tumor recurrence. Yet, the reported data on the prognostic value of this parameter in surgically treated cervical cancer patients also are conflicting [10,13,14,16,19,20,22,23]. Similarly, the invasion of lymph-vascular spaces by tumor has been reported as an unfavorable prognostic factor by some investigators [9,11,14,26], whereas other analyses have not found this to be an independent risk factor [5,12]. On the other hand, the especially unfavorable prognosis of a tumor invasion into blood vessels communicated in the literature also became evident in our study group [10,26]. In the current study we have also confirmed the results of several previous studies [5,9,19,26], who reported that scarce inflammatory stromal reaction in the invasive front of the tumor was a significant predictive factor for lower disease-free and overall survival rate. Finally, as already reported in other studies, there was no association between patients' age and DFS [9,16,17].

However, it is well known that overall survival results of a study population are, among other factors, strongly influenced by the proportion of patients with a high and a low risk for treatment failure [11]. Therefore, one of the goals of developing a prognostic staging system is to define patients with similar risk for treatment failure that can be easily applied to an individual patient. Patients with similar risks can then be studied for effectiveness of different treatment modalities. In cervical carcinoma, clinical FIGO staging has been the international standard to compare treatment results. Many many studies have shown inaccuracy of clinical staging, making comparisons of treatment modalities based on FIGO stages difficult, if not impossible [5,11]. Thus, Kupets and Covens [4] based on their thorough assessment of the clinimetric properties of the current FIGO staging system for cervical carcinoma, conclude that it does not fully meet the majority of methodological criteria for a strong predictive tool. They also suggest a necessity of developing an improved prognostic index containing a complete array of independently prognostic variables.

Surgical staging in early stage cervical carcinoma patients preferentially treated with radical hysterectomy and pelvic lymph node dissection provides precise pathologic data that can identify patients with similar risks. Thus, individual parameters that predict poor prognosis have been the subject of many publications. Though most of these studies have used univariate analysis and reported a variety of risk factors, it is clear that many of these factors are interrelated. Multivariate analysis methods have been employed to define the best statistically significant combination of risk factors [5,11-16]. Using Cox's proportional hazards regression model, these studies have produced different sets of combined risk factors for surgically treated patients.

In the previous study we have evaluated the prognostic significance of 23 various clinicopathological parameters in early stage cervical carcinoma [5]. For that purpose we have selected a group of 237 cervical cancer patients

which was homogenous for the type of therapy: all patients were submitted to radical surgery, followed by external pelvic radiation therapy according to hospital policy. In addition, selection criteria were based on the postoperative stage or the real extent of the tumor in the operative specimen. The hysterectomy specimens were subjected to identical histopathological work-up. Tumor invasion into blood vessels, pelvic lymph node metastases, tumor diameter, the degree of inflammatory cell infiltrate at the invasive front, and minimum thickness of uninvolved cervical stroma/parametrial extension were identified as the only independent and significant prognostic factors for DFS in our study. Using the models proposed by Kamura, *et al.* [12] and Lai, *et al.* [13], the PI, was calculated for each patient and three distinct risk groups were tentatively divided by two cut-off points set on the clinical basis. The estimated 5-year DFS rates for the low-, intermediate-, and high-risk group were 97,5%, 86,3% and 43,8%, respectively.

Delgado, *et al.* reported on 645 patients with FIGO Stage I squamous cell carcinoma and found clinical tumor size, lymph-vascular space involvement and depth of stromal invasion expressed in fractions of cervical thickness to be the best combined prognostic factors for 3-year DFS [14]. They proposed a scoring system which calculates a general relative risk (RR) by multiplication of relative risks of the three independent prognostic variables and identifies three separate risk groups for recurrence. Several years later, Van de Putte, *et al.* in their study of 221 patients with FIGO Stage I squamous cell carcinoma tried to validate and simplify the original model proposed by Delgado, *et al.* to a risk model based on two factors: tumor size and depth of stromal invasion [15]. In contrast, Kamura, *et al.* in a study of 345 patients with cervical carcinoma found the number of positive pelvic lymph nodal groups, histological type and tumor diameter to be the best combined risk factors for overall survival [12]. They proposed a prognostic index based on the three variables and created a system of three prognostic groups with significantly different survival curves. Subsequently, by comparing their results with previous two studies and introducing multivariate survival tree analysis, Sevin, *et al.* found depth of stromal invasion expressed in millimeters, lymph-vascular space involvement, lymph nodal metastasis and age to be the most important independent prognostic factors influencing 5-year DFS in a series of 301 patients with FIGO Stage I-II cervical carcinoma [11]. They also divided the patients into three risk groups with 5-year survival rates of 91%, 68% and 43%, respectively.

However, there were significant differences in the eligibility and selection criteria for adjuvant therapy used in these studies. In a large prospective Gynecology Oncology Group study of Delgado, *et al.* patients with aortic lymph node metastasis, other direct extension beyond uterus and nonsquamous histology were excluded. Postoperative irradiation in this study was given at the dis-

cretion of the physician in approximately 25% of patients [14]. Van de Putte, *et al.* implemented the same selection criteria, while in their study 9% of patients was given postoperative irradiation, 5,4% radiation and chemotherapy and 14% received chemotherapy only [15]. In their study Kamura, *et al.* included patients with FIGO stages IB-IIB, as well as 70 patients with depth of stromal invasion less than 3 mm [12]. Four patients with undifferentiated carcinomas were excluded, yet nine patients with small cell carcinoma were included. In this study 43% of the patients who had lymph nodal metastasis, parametrial extension and/or full thickness stromal invasion received irradiation. Sevin, *et al.* excluded patients with microinvasive and small cell carcinomas, while adjuvant irradiation was administered to 22% of patients with histologically proven or positive surgical margins, vaginal involvement, parametrial extension or pelvic lymph node metastasis [11].

The current study has confirmed that PI implemented in our Department starting from January 2000, as an indicator of the patient's place in the prognostic spectrum could be a sound and reliable basis for an appropriate planning of the following therapeutical strategy of the surgically treated patients with cervical carcinoma. Thus, the 5-year survival rate for all the patients in the present study is in agreement with the reported rates in the 80% to 90% range for patients with FIGO stage IB-IIA tumors [7,16,17]. We were also able to reproduce the 5-year DFS rates for the low- and intermediate-risk group patients similar to the original study, while at the same time the low-risk group patients were spared of adjuvant irradiation therapy. Recurrences in our series were more often localized outside the pelvis (86%, 37/43), which may be partly due to the pelvic irradiation given to most of the patients belonging to the intermediate- and high-risk groups. A further argument for the usefulness of PI arises from the fact that the high-risk group patients, due to the administration of an adjuvant irradiation and chemotherapy have better prognosis than patients belonging to the high-risk group in the previous study treated by irradiation only. Despite the substantial number of patients refusing adjuvant irradiation (7) and/or chemotherapy (35), and the relatively small number of patients who did not complete irradiation (1) or chemotherapy (9), there was a profound decrease in recurrence and an improvement of DFS with the addition of chemotherapy to pelvic radiotherapy. These results are in agreement with the current view that radiotherapy for intermediate-risk postsurgical patients and chemoradiation for high-risk postsurgical patients are considered optimum treatments [7].

Conclusions

In conclusion, in the univariate analysis in our study the prognostic significance of majority of the clinicopathological variables investigated, was confirmed. In addition, based on the results of this prospective study, the individual value of the PI should be considered when an even-

tual postoperative therapy is planned and prognosis is determined in early stage cervical carcinoma patients. Its application clearly facilitates the recognition of those surgically treated patients with early stage cervical carcinomas that require a modified treatment approach. Besides external validation study, we also recommend continuous monitoring of the criteria for determining the five significant independent prognostic parameters; along with a more rigorous implementation of the selection criteria and suggestions for an individual and modified therapeutic approach according to the PI value, as well as regular follow-up of all patients for early detection of recurrence.

Conflict of interest statement. None declared.

References

1. Creasman WT. New gynecologic cancer staging. *Gynecol Oncol* 1995; 58(2): 157-158.
2. Fleming ID, Cooper JS, Henson DE, *et al.* Eds. AJCC Manual for staging of cancer. 5th ed. Philadelphia, PA; Lippincott Raven, 1997.
3. Wright T, Ferenczy A, Kurman R. Carcinoma and other tumors of the cervix. In: Kurman RJ, Ed. Blaustein's pathology of the female genital tract. 5th ed. New York; Springer-Verlag 2002; 325-371.
4. Kupets R, Covens A. Is the International Federation of Gynecology and Obstetrics staging system for cervical carcinoma able to predict survival in patients with cervical carcinoma?: an assessment of clinimetric properties. *Cancer* 2001; 92(4): 796-804.
5. Bashkeska N. Evaluation of the prognostic factors in early stage cervical carcinoma (dissertation). Skopje: University "Ss. Cyril and Methodius", Medical Faculty; 1999.
6. Sedlis A, Bundy BN, Rotman MZ, *et al.* A randomized trial of pelvic radiation therapy versus no further therapy in selected patients with stage IB carcinoma of the cervix after radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy: A Gynecologic Oncology Group Study. *Gynecol Oncol* 1999; 73(2): 177-183.
7. Peters WA 3rd, Liu PY, Barrett RJ 2nd, *et al.* Concurrent chemotherapy and pelvic radiation therapy compared with pelvic radiation therapy alone as adjuvant therapy after radical surgery in high-risk early-stage cancer of the cervix. *J Clin Oncol* 2000; 18(8): 1606-1613.
8. Scully RE, Bonfiglio TA, Silverberg SG, Wilkinson EJ. World Health Organization International Histological Classification of Tumours. Histological Typing of Female Genital Tract Tumours. 2nd ed. Berlin; Springer-Verlag, 1994.
9. Kainz C, Gitsch G, Tempfer C, *et al.* Vascular space invasion and inflammatory stromal reaction as prognostic factors in patients with surgically treated cervical cancer stage IB to IIB. *Anticancer Res* 1994; 14(5B): 2245-2248.
10. Baltzer J, Lohe KJ, Kopcke W, Zander J. Histological criteria for the prognosis in patients with operated squamous cell carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1982; 13(2): 184-194.
11. Sevin BU, Lu Y, Bloch DA, *et al.* Surgically defined prognostic parameters in patients with early cervical carcinoma. A multivariate survival tree analysis. *Cancer* 1996; 78(7): 1438-1446.
12. Kamura T, Tsukamoto N, Tsurichi N, *et al.* Multivariate analysis of the histopathologic prognostic factors of cervical cancer in patients undergoing radical hysterectomy. *Cancer* 1992; 69(1): 181-186.

13. Lai CH, Hsueh S, Huang MY, *et al.* The uses and limitations of DNA flow cytometry in stage IB or II cervical carcinoma. *Cancer* 1993; 72(12): 3655-3662.
14. Delgado G, Bundy B, Zaino R, *et al.* Prospective surgical-pathological study of disease-free interval in patients with stage IB squamous cell carcinoma of the cervix: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 1990; 38(3): 352-357.
15. Van de Putte G, Lie AK, Vach W, *et al.* Risk grouping in stage IB squamous cell cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 2005; 99(1): 106-112.
16. Frigerio L, Mariani A, Gandini L, *et al.* Prognostic factors in patients with locally advanced cervical cancer treated with radical hysterectomy and adjuvant radiotherapy. *Int Surg* 1998; 83(3): 265-270.
17. Samlal RAK, van der Velden J, Ketting BW, *et al.* Disease-free interval and recurrence pattern after the Okabayashi variant of Wertheim's radical hysterectomy for stage IB and IIA cervical carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 1996; 6(2): 120-127.
18. Soisson AP, Soper JT, Clarke-Pearson DL, *et al.* Adjuvant radiotherapy following radical hysterectomy for patients with stage IB and IIA cervical cancer. *Gynecol Oncol* 1990; 37(3): 390-395.
19. Graflund M, Sorbe B, Bryne M, Karlsson M. The prognostic value of histologic grading system, DNA profile, and MIB-1 expression in early stages of cervical squamous cell carcinomas. *Int J Gynecol Cancer* 2002; 12(2): 149-157.
20. Nakanishi T, Ishikawa H, Suzuki Y, *et al.* A comparison of prognoses of pathologic stage Ib adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 2000; 79(2): 289-293.
21. Inoue T, Casanova HA, Morita K, Chihara T. The prognostic significance of the minimum thickness of uninvolved cervix in patients with cervical carcinoma stages IB, IIA, and IIB. *Gynecol Oncol* 1986; 24(2): 220-229.
22. Kishi Y, Hashimoto Y, Sakamoto Y, Inui S. Thickness of uninvolved fibromuscular stroma and extrauterine spread of carcinoma of the uterine cervix. *Cancer* 1987; 60(9): 2331-2336.
23. Trattner M, Graf AH, Lax S, *et al.* Prognostic factors in surgically treated stage IB-IIB cervical carcinomas with special emphasis on the importance of tumor volume. *Gynecol Oncol* 2001; 82(1): 11-16.
24. Look KY, Brunetto VL, Clarke-Pearson DL, *et al.* An analysis of cell type in patients with surgically staged stage IB carcinoma of the cervix: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 1996; 63(3): 304-311.
25. Kainz C, Kohlberger P, Gitsch G, *et al.* Mutant p53 in patients with invasive cervical cancer stages IB to IIB. *Gynecol Oncol* 1995; 57(2): 212-214.
26. van Nagell JR Jr, Donaldson ES, Wood EG, Parker JC Jr. The significance of vascular invasion and lymphocytic infiltration in invasive cervical cancer. *Cancer* 1978; 41(1): 228-234.

Оригинален труд

CYP2D6 ГЕНОТИПОТ И ПЛАЗМАТСКИТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ НА ОЛАНЗАПИН - ЗНАЧЕЊЕ ЗА БЕЗБЕДНОСТА ВО БИОЕКВИВАЛЕНТНИ СТУДИИ

CYP2D6 GENOTYPE AND PLASMA CONCENTRATIONS OF OLANZAPINE - IMPORTANCE FOR SAFETY IN BIOEQUIVALENCE STUDIES

Круме Јаковски¹, Александра Капедановска-Несторовска², Јасмина Тројачанец¹, Емилија Атанасовска¹, Елена Костова¹ и Никола Лабачевски¹

¹Институт за претклиничка и клиничка фармакологија со токсикологија, Медицински факултет,

²Центар за биомолекуларни и фармацевтски анализи, Фармацевтски факултет, Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Скопје, Република Македонија

Апстракт

Вовед. Функционалниот статус на изозимите CYP2D6 и CYP1A2 има големо влијание врз фармакокинетиката на голем број психотропни лекови. Не постојат дефинитивни предиктивни податоци за улогата на овие ензими. Целта на ова истражување беше, преку дедуктивно споредување на фармакокинетски резултати од студија на биорасположивост, да покажеме дали во наши услови, диспозицијата на оланзапин е поврзана со влијанието на полиморфизмот на CYP2D6.

Методи. Земени се примероци на крв од здрави субјекти кои учествуваат во студии на биорасположивост за генотипизирање на најчестите полиморфни алелични варијанти. Генотипизирањето, вклучувајќи ја и дупликацијата на гени, е изведено на Фармацевтскиот факултет во Скопје со примена на ПВР-техника. Одредени се и концентрациите на оланзапин во плазма со соодветен HPLC-метод.

Резултати. Одредени се најчестите алелични варијанти на CYP2D6 и нивната фреквенција; следствено, се добија 4 групи фенотипови (EM, IM, PM и UM). За 14 субјекти поделени во 3 групи фенотипови се одредени C_{max} , AUC_{0-t} и AUC_{0-inf} . И покрај постоењето на нумерички видливи разлики во концентрациите на максималните плазматски концентрации, како и на површината под крива, сепак не постои значајна разлика помеѓу испитуваните групи (EM:IM, EM:UM).

Несаканите дејства се лесни по природа и се очекувани за лекот: главоболка и сува уста, кои

се типични за антипсихотичните лекови, конкретно за оланзапин со примена на доза од 10 mg.

Заклучок. Субјектите со одреден фенотип, во идни студии на биорасположивост, мора да бидат разгледани со претпазливост заради потенцијалната можност од зголемени концентрации на лекот. Мора да се направат дополнителни испитувања за да се потврди влијанието на CYP2D6 алелските варијанти врз фармакокинетиката на оланзапин.

Клучни зборови: CYP2D6, оланзапин, алелски варијанти, биоеквивалентност

Abstract

Introduction. Functional status of isozymes CYP2D6 and CYP1A2 has a major impact on pharmacokinetics of a number of psychotropic drugs. There are no definitive data on the predictive role of these enzymes. Our goal was to show, in our conditions, whether the disposition of olanzapine is associated with the impact of polymorphisms of CYP2D6 by deductive comparing the pharmacokinetic results of a bioavailability study.

Methods. Blood samples were taken from healthy subjects participating in studies of bioavailability, for genotyping for the most common polymorphic allelic variants. Gene duplication genotyping was performed at the Faculty of Pharmacy using PCR technique. Concentrations of olanzapine in plasma were assessed with appropriate HPLC method.

Results. The most common allelic variants of CYP2D6 and their frequency were determined; subsequently 4 groups of phenotypes (EM, IM, PM and UM) were promoted. For 14 subjects divided into 3 groups of phenotypes C_{max} , AUC_{0-t} and AUC_{0-inf} were determined. Despite the apparent numerical differences in concentrations of maximum plasma concentrations and the area under the curve, there were no significant difference between the groups (EM: IM, EM: UM).

Кореспонденција и рејринг до: Никола Лабачевски, Институт за претклиничка и клиничка фармакологија со токсикологија, УКИМ-Медицински факултет, "50 Дивизија" 6, 1000 Скопје, Р. Македонија; Тел.: +389 71 225 150; E-mail: labacevski@yahoo.com

Adverse reactions were mild by nature and were expected for the drug: headaches and dry mouth, which are typical for antipsychotic drugs, especially for olanzapine at a dosage of 10 mg.

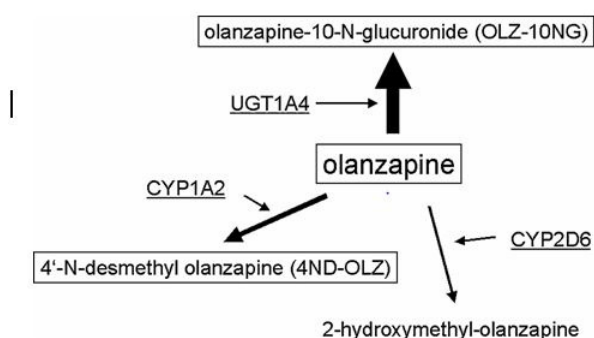
Conclusions. Additional research has to be made to confirm the impact of CYP2D6 allelic gene variants on the pharmacokinetics of olanzapine. In future studies of bioavailability, subjects with a certain phenotype must be assessed with caution due to the potential possibility of increased drug concentrations.

Keywords: CYP2D6, olanzapine, allelic variants, bioequivalence

Вовед

Оланзапин е антипсихотичен, антиманичен лек, како и лек за стабилизирање на расположението, кој манифестира опсежни фармакодинамски ефекти на голем број рецепторски системи. Оланзапин се метаболизира во црниот дроб преку оксидативни и конјугациски патишта. Главни патишта на метаболизирање на оланзапинот се директна N-глукуронидација посредувана преку дифосфат глукуронил трансферазата (UDPGT) и CYP1A2-посредуваната N-деметилација. CYP2D6 е вклучен во метаболизмот во помала мера [1,2]. Постојат ограничени податоци дека CYP2D6 и CYP1A2 се вклучени во метаболизмот на оланзапин [3].

Главниот циркулирачки метаболит е 10-N-глукуронидот, кој не е фармаколошки активен и не ја поминува крвно-мозочната бариера [4]. *In vitro* податоците даваат голема потврда за постоење на директна интеракција со гените од CYP P450, особено во поглед на CYP2D6 [5,6].



Фиг. 1. Биотрансформација на оланзапин

Цитохром P450-CYP1A2 и P450-CYP2D6 придонесуваат за создавањето на N-десметил и 2-хидроксиметил метаболитите [7]; обата манифестираат значително помала фармаколошка активност *in vivo* отколку оланзапинот во анимални студии. Предоминатната фармаколошка активност е од лекот, оланзапин (Фигура 1).

Цитохром P450 2D6 (CYP2D6), еден од клучните ензими преку кои се метаболизираат лековите, е вклучен во биотрансформацијата на голем број лекови, вклучувајќи ги β -блокаторите, антиаритмиците, опиоидите и голем број антидепресивни и антипсихотични лекови [8]. Иако експресиран при ниски нивоа, претставувајќи само 4-6% од целокупната содржина на CYP во црниот дроб, тој метаболизира 25% до 30% од сите лекови. До денес, се идентификувани повеќе од 70 варијанти на алелите за CYP2D6. Активноста на CYP2D6 се движи од комплетен дефицит до ултрабрз метаболизам, во зависност од постоењето на голем број на алелични варијанти на овој ген, одговорни за отсуство, намалена или зголемена активност во однос на функционалниот ензим ("алел од див тип"). Најчестите нефункционални алели, кои се доминантно одговорни за предвидување на бавните метаболизери (PM) и кои се 90-95% кај Европјаните се CYP2D6*3, CYP2D6*4 и CYP2D6*6. CYP2D6*4 со алелна честота од ~21% е најчестиот алел поврзан со бавните метаболизери [9,10].

Најчестите алели со намалена активност во голема мерка се CYP2D6*9, CYP2D6*10, CYP2D6*17 и CYP2D6*41 [11,12]. Честотата на CYP2D6-делециите се движи од 2-7% кај Европјаните, 6% кај црните и помалку од 1% кај Азијатите, додека пак 2-10% од популацијата носи повеќекратни копии на функционалните CYP2D6 алели [13]. Функционалниот статус на изоензимите CYP2D6 и CYP1A2 има големо влијание врз фармакокинетиката на голем број психотропни лекови и не постојат дефинитивни предиктивни податоци за улогата на овие ензими, па според тоа, целта ни беше да покажеме дали, во наши услови, диспозицијата на оланзапин е поврзана со активноста на CYP2D6.

Целта на оваа студија беше да се испита влијанието на полиморфизмот на CYP2D6 (преку алелните варијанти) врз плазматските концентрации на оланзапин преку дедуктивно споредување на резултати од студија на биорасположивост на 24 здрави доброволци од машки пол, изведена на Институтот за претклиничка и клиничка фармакологија со токсикологија. Изведената студија го испитува можниот ефект на функционалните CYP2D6 гени врз плазматските концентрации на оланзапин. Дополнителна цел е согласно со резултатите да се предвиди можната експозиција кон лекот кај здрави доброволци.

Материјал и методи

Како дел од поголемо испитување за докторска теза, беа земени примероци на крв (3ml) од здрави субјекти (n=185) кои учествуваат во студии на био-

расположивост/биоэквиваленција на Институтот за фармакологија и тие се користеа за генотипизирање на најчестите полиморфни алелски варијанти. Субјектите се на возраст од 18-55 години, непущачи, не користат лекови, со ВМТ помеѓу 18,5-30. За сите испитаници е направена комплетна лабораториска биохемиска и хематолошка анализа изведена во референтна сертифицирана лабораторија-ПЗО Адриалаб. Студијата има одобрение за изведување од Етичката комисија при Министерството за здравство на Р. Македонија и од Етичката комисија при Медицинскиот факултет во Скопје.

Субјектите имаат потпишано Информирана согласност за генотипизација пред земањето на примероците за анализа.

Сите лични обележја беа острани; примероците на изолирана ДНК беа анализирани анонимно, според светските упатства за обезличување на примероците.

Помеѓу студиите кои беа таргетирани за евалуација, беше одлучено да се разгледа биоэквивалентна студија со примена на еднаквата доза на лекот оланзапин од 10 mg. Самата студија, која што претставува компаративна студија на биоэквивалентност на 2 препарати кои содржат оланзапин (спонзор РеплекФарм-Скопје, Р. Македонија) е изведена на Институтот во 2009 година со примена на доза од 10 мг еднаквост и е изведена по начелата на *добра клиничка пракса*. Опфатени се сите можни параметри за сигурноста на субјектите (доброволците), во смисла на постојан мониторинг од страна на тимот истражувачи, заедно со анестезиолог и кардиолог: следење на виталните знаци, следење на можните несакани ефекти од примената на антипсихотикот, справување со истите според напатствијата од ургентната медицина, лабораториски анализи по завршување на студијата итн. Примероците на крв кои се земале се во следните временски точки: 0 (пред апликација на лекот), 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 10; 12; 16; 24; 48; 72; 96; 120 и 144 часа по администрација на лекот (свкупно 20 примероци на крв за анализа на оланзапин во плазма).

Студијата е успешно завршена без појава на сериозни несакани дејства, со неколку лесни несакани дејства кои се во опсегот на очекуваните за лекот. Во нашето понатамошно иследување за овој труд, прегледани се списоците со сите учесници. Од тој список ($n=24$), најдено е дека помеѓу субјектите кои ги бевме тествале за најчестите алелични варијанти ($n=185$) за CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 и CYP3A5 се наоѓаат 14 здрави субјекти (машки) кои учествувале во анализираната студија со при-

мена на оланзапин. Овие 14 субјекти се од машки пол, на возраст од $40,21 \pm 6,8$ години, со висина од $178,4 \pm 7,7$ cm, телесна тежина од $85,71 \pm 9,5$ kg и со ВМТ 26,92.

Фармакокинетските параметри од тие субјекти беа предмет на разгледување во нашиот труд.

Обете студии се изведени согласно со Хелсиншката декларација.

Процедура за генотипизирање

Генотипизирањето е изведено во Центарот за биомолекуларни фармацевтски анализи при Фармацевтскиот факултет во Скопје. ДНК-примероците за одредување на генотипот беа екстрахирани од примероци на крв со користење на фенол-хлороформска екстракција, дигестија со протеиназа К и преципитација со етанол. Генотиповите за CYP2D6 полиморфизмите (CYP2D6*2[rs16947], *2XN[rs1135840], *3[rs35742686], *4[rs3892097], *6[rs5030655], *9[hCV32407229], *10[rs1065852], *33[rs283717-17], *35[rs769258], *35[rs769258] и *41[rs28371725]) се одредувани со Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), којашто се базира на методот на алелска дискриминација [MxPro 3005P, Stratagene, La Jolla, CA, USA] со користење на тест за метаболизирање на лековите-(TaqMan Drug Metabolizing Assays), според инструкциите од производителот.

CYP2D6-дупликацијата на гените (gene copy number variation) е одредувана со метод на квантитативен ПБП (Real-Time Quantitative PCR) со користење на тест за дупликација (TaqMan Copy Number Assay (Hs00010001_cn) и Taq Man Copy Number Reference Assay (R Nase P, Human gene), исто така според напатствијата од производителот [Applied Biosystems, Foster City, CA, USA] [14].

Аналистички метод

Одредувањето на оланзапин во плазмата е изведено во интерен стандардизиран начин на работа по течно-течна екстракција со l-Chlorobutane. Хроматографската сепарација е изведена на C18-аналитички колони со изократска елуција со користење на мобилна фаза која се состои од метанол и пуфер амониум ацетат [15].

Детекцијата е изведена на tandem mass-спектрометар со позитивна електроспрејна јонизација и мониторирање на протонирани молекуларни јони на лекот и интерниот стандард, кои се декомпонираат под контролирани услови до најдоминантните фрагменти. Концентрациите се пресметани преку интерниот стандард и изразени како $\mu\text{g Olanzapine/L-плазма}$.

Статистички метод

Генотипизирање

Сите анализи на податоците се изведени со користење на статистичката платформа *SISA*. Забележаните дистрибуции на генотипови беа оценети за Hardy-Weinberg-ов еквилибриум со тестот Хи-квадрат [16]. Статистичката значајност на разликите во алелните фреквенции помеѓу европските етнички групи е евалуирана со Фишеровиот егзактен тест. Факторите со $p \leq 0,05$ ги сметавме за статистички значајни.

Фармакокинетска анализа

Фармакокинетските параметри на оланзапин се одредувани со не-компартиментски методи со програмот *Kinetica ver. 5.0*. Сите параметри: AUC_{0-inf} (површина под крива) за плазматските концентрации, k_{el} , C_{max} , T_{max} , $t_{1/2}$ се добиени од програмот, додека CL/F (орален клиренс) е добиен со математичката формула $CL/F = doza/AUC_{0-inf}$. За одредување на нивото на значајност помеѓу параметрите на субјектите се користени: анализа на варијанса (ANOVA) T-test за независни примероци, при што за ниво на значајност се зема $p \leq 0,05$.

Резултати

Генотипизирање за CYP2D6

CYP2D6 е многу полиморфен ген, кој е опсежно изучуван кај многу популации и етнички групи. Одредените (добиени) фреквенции на CYP2D6 алелите во тестираната популација од Р. Маке-

Табела 1. Честота на алелски варијанти на CYP2D6 во одредена група тестирани субјекти (n=185)

Алели	n = 185	Честота
CYP2D6*		
*1	92	0,249
*2	40	0,108
*3	3	0,008
*4	69	0,187
*6	0	0
*9	6	0,016
*10	10	0,027
*41	32	0,086
*33	7	0,019
*35	37	0,1
*34	20	0,054
*39	54	0,146
CYP2D6 CNV		
N>2 (duplication)		0,091
N<2 (deletion)		0,059

донија е дадена во Табела 1 [17]. Оваа дистрибуција на фреквенција на генотипови не отстапу-

ва од Hardy-Weinberg-овиот еквилибриум [16]. Во нашето испитување се идентификувани 11 различни алели. CYP2D6*1 е најчест алел со фреквенција од 0,249. Преваленцата на алелните варијанти-неактивните (*3, *4 и *6) и со намалена активност (*9, *10 и *41) е 0,324. Алелната варијанта *6 воопшто не е откриена. Најчестата алела со нормална ензимска активност е CYP2D6*1, со честота од 0,249.

Кај сите субјекти (n=187) е одреден CYP2D6 Copy number variation status-статус на дупликација на бројот на варијации. Дупликација на гените е забележана кај 11 субјекти, но земајќи ја предвид природата на овие гени (со дупликација), само 8 субјекти (0,043) се потврдени како ултра-брзи метаболизери (UM).

Поврзаноста на генотипот со фенотипот е направена според CYP2D6 DPWG Genotype Phenotype Classification System (<http://www.pharmgkb.org>).

Идентификувани се вкупно 33 различни генотипови, од кои се предвидени следните фенотипови: 107 субјекти (0,581) се ЕМ (екстензивни метаболизери); 10 субјекти (0,054) кои се генотипизирани се фенотипски РМ (бавни метаболизери), а кај 59 субјекти (0,32) постои 1 нефункционална алела и 1 со намалена активност, па според тоа фенотипски се однесуваат како ИМ (интермедијарни метаболизери).

Во Табела 2 се прикажани субјектите според генотипот, и се поделени според предвидениот фенотип на екстензивни, интермедијарни и бавни метаболизери.

Табела 2. Приказ на распределбата на субјектите по генотипови (фенотипови) според алелски варијанти за CYP2D6

Генотип	Број на субјекти	Забележана фреквенција	Предвиден фенотип
CYP2D6	107	0,658	ЕМ
	59	0,32	ИМ
	10	0,054	РМ
	8	0,043	УМ

Мора да се напомене, и покрај тоа што овој податок не е цел на нашата студија, дека сите забележани фреквенции на алелски варијанти на CYP2D6 кои се одредени кај оваа популација од македонско потекло се слични со оние забележани кај другата европска популација. Честотата на бавни метаболизери се намалува одејќи кон југ (северно-јужен градиент) и се забележува соодветно покачување кај ултрабрзите метаболизери [18]. Преваленцата на CYP2D6 дупликацијата на гените е висока (4%), со што се потврдува повисоката честота на УМ во Средноевропските земји [19,20] и Медитеранската регија [21,22] споредбено со северните области на Европа.

Фармакокинетички параметри

Од пронајдените субјекти (n=14) кои имаат учествувало во наведената студија на биорасположивост; добиен е податокот дека 10 од нив се ЕМ, 2 се ИМ, додека пак 2 се УМ. Помеѓу анализираните субјекти од студијата нема учествувано ниту еден субјект

со алелични варијанти кои фенотипски би биле карактеризирани како бавни метаболизери (РМ). По прегледување на фармакокинетските податоци од извештајот од студијата за биеквивалентност за оланзапин за субјектите кои се предмет на евалуацијата, добиени се следниве резултати (Табела 3, Фигура 2).

Табела 3. Фармакокинетски параметри на оланзапин кај ЕМ, ИМ и УМ субјекти

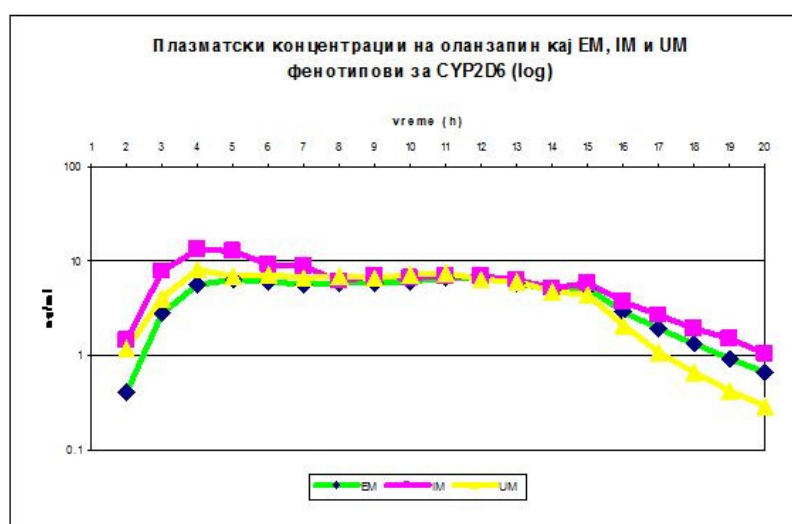
Параметар	ЕМ (n=10)	ИМ (n=2)	УМ (n=2)	Signifikantnost (p)	
				ЕМ:ИМ	ЕМ:УМ
C _{max} (ng/ml)	7,86±3,34	13,406±3,49	7,34±4,27	p<0,05	n.s.
AUC _{0-inf} (ng*h/ml)	410,26±156,19	548,86±144,00	306,484±214,3	n.s.	n.s.
AUC _{0-t} (ng*h/ml)	363,66±123,7	471,51±125,28	289,76±190,11	n.s.	n.s.
CL/F (l/h)	0,027±0,009	0,018±0,0029	0,033±0,06	n.s.	n.s.

n.s. p>0,05

За подобра прегледност, прикажани се само параметрите за оланзапин: AUC_{0-t}, AUC_{0-inf}, C_{max}, како и CL/F.

На следниот графикон се прикажани логарит-

мирани криви од добиените фармакокинетски параметри на оланзапин во поединечните временски точки-збирно, според фенотипот:



Фиг. 2. Приказ на логаритмирани вредности на оланзапин според фенотипски групи

Вредностите од испитувањето на кинетиката само за овие 14 субјекти по фенотипови е следната: Стах кај екстензивните метаболизери (n=10) изнесува 7,86±3,34 ng/ml, кај интермедијарните 13,406±3,49 ng/ml, додека пак кај ултрабрзите метаболизери се добиени помали вредности од 7,34±4,27 ng/ml.

Површината под крива во временски интервал до t-AUC_{0-t} (ng*h/ml) кај истите испитаници изнесувала според фенотипови: ЕМ (363,66±123,7 ng*h/ml), кај ИМ 471,51±125,28 ng*h/ml и кај брзите метаболизери AUC_{0-t} изнесувала 289,76±190,11 ng*h/ml. Истата законитост е запазена и кај вредностите на AUC_{0-inf} (ng*h/ml). Вредностите на овој фармакокинетски параметар изнесувале: ЕМ:ИМ:УМ

(410,26±156,19 ng*h/ml): (548,86±144,00ng*h/ml): (306,484±214,3ng*h/ml).

CL/F (l/h) е со вредности од 0,027 кај ЕМ, 0,018 кај ИМ и 0,033 кај УМ метаболизерите.

Несаканите дејства кои се забележани се лесни по природа и се очекувани за лекот: главоболка и сува уста, кои се типични за антипсихотичните лекови, конкретно за оланзапин со примена на доза од 10 mg. Преку 80% од следените субјекти во оваа дедуктивна студија имаат пријавено несакани ефекти, независно од фенотипот.

Дискусија

Цитохром Р450 (CYP) оксидазите имаат водеч-

ка улога во елиминацијата на антипсихотичните лекови, и поради тоа имаат влијание врз токсичноста и ефикасноста на овие лекови. Факторите кои влијаат врз функцијата на CYP и експресијата, имаат голем ефект врз исходот од третманот со овие лекови. Особено, аспектите од фармакогенетиката на CYP-ензимите и процесите на индукција или инхибиција на CYP имаат *in vivo* влијание врз елиминацијата на лековите. Досегашните *in vivo* студии се изведени со користење на податоци од пациенти со шизоафективни нарушувања, при што кај нив се утврдени влијанија на ниво на интеракција помеѓу оланзапинот и клиничкиот ефект и полиморфизмот на 2D6 генот. Одредени CYP2D6-алелични варијанти кои ги кодираат ензимите со намален капацитет за оксидација на лековите се почести во одредени етнички групи, што може да доведе до несакани ефекти со стандардни дози на психоактивни лекови. Поради тоа, генотипизирањето може да биде корисно за оптимизација на дозите со одредени психоактивни лекови кои се супстрати за CYP2D6 [23].

Оланзапинот е антипсихотичен лек од најновата генерација кој се појави пред десетина години. Во светот, на пациентите им се прават рутински испитувања во поглед на генотипизирање за најчестите алелични варијанти (UDPGT, CYP1A2, CYP2D6) кои се битни кога се ординираат антипсихотични лекови како супстрати. Овие испитувања се прават пред да им биде вклучена антипсихотична терапија, со цел да се предвидат плазматските концентрации на оланзапин и подобрувањето на клиничките симптоми. Секако, јасно е дека и предвидувањето на честотата и сериозноста на несаканите ефекти има улога во сето ова [24].

Во оваа студија се насочивме да го видиме можниот ефект на генот CYP2D6, како еден од факторите кој е битен за биотрансформацијата на оланзапин, кај здрави субјекти вклучени во студија на биоеквивалентност.

Поради тоа, прв пат е направено генотипизирање на здрави субјекти за најчестите полиморфни алелични варијанти на гените CYP2C9, 2C19, 3A5 и 2D6. Користејќи ги податоците кои се добија за честотата на полиморфните алели (CYP2D6) се обидовме да ја согледаме поврзаноста кај здрави субјекти, кај кои се побитни постигнатите концентрации од лекот отколку клиничкиот ефект. И покрај постоењето на нумерички видливи разлики во максималните плазматски концентрации, како и на површината под крива, сепак не постои значајна разлика помеѓу испитуваните групи (EM:IM, EM:UM).

Кривата со логаритмирани вредности на концентрациите од лекот во поединечни временски точ-

ки укажува на податок кој се очекуваше: имено, на ниво на апсорпција, не постои разлика помеѓу EM и UM групите, таму е евидентна разликата на ниво на елиминација во смисла на пониски концентрации поради метаболизирањето на ниво на P450. Од друга страна, задржувајќи се во разгледувањето на кривата кај IM метаболизерите на ниво на елиминација се забележуваат повисоки концентрации поради постоењето на само еден дефектен алел на генот. Фенотипското одредување на IM-метаболизер за нас е од големо значење; укажува дека сепак *in vitro* податоците од достапните студии може да се пренесат и во секојдневната пракса.

Би било интересно за нас да постоеше податок за учество на субјект кој бил бавен метаболизер според CYP2D6 генотипот во оваа студија; плазматските концентрации на оланзапин би биле одличен показател за целта на трудот. За жал, во достапните субјекти кои беа подложени на генотипизирање немаше субјект кој учествувал во оваа студија, а е генетски бавен метаболизер.

Во нашиов труд не се забележа значајност во разликите помеѓу вредностите на AUC (t, inf) помеѓу испитуваните групи на субјекти, таа постои само во максималните плазматски концентрации помеѓу екстензивните и интермедијарните метаболизери. Овие податоци се со согласност со студиите на Hagg S, *et al.* (2001) [25] и Urichuk L, *et al.* (2008) [2], иако и самите автори наведуваат дека нема доволно податоци *in vivo* за ефектот на CYP2D6 врз метаболизмот на оланзапин.

Студијата има ограничување поради малиот број на субјекти во обете групи (IM, UM); најверојатно при поголеми серии ќе се добијат податоци со поголем увид во значајноста. Од друга страна, се поставува прашањето за влијанието на другите алелски варијанти на гените UDPGT, CYP1A2 итн. кои би можеле да влијаат на фармакокинетските параметри на една ваква студија (наш пример оланзапин). Поради тоа, резултатите од оваа студија треба да се сметаат за прелиминарни.

Заклучок

Студијата е од особено значење за изведување студии за биоеквивалентност на здрави доброволци, особено при примена на антипсихотични лекови, затоа што се појавува законитост која не смее да се превиди: имено, и покрај отсуството на значајност, сепак, постојат разлики во максималните плазматски концентрации, следствено и во површините под крива помеѓу екстензивните и интермедијарните метаболизери.

Субјектите со одреден фенотип, во идни студии на биорасположивост/биоеквиваленција, со супс-

трат (лек) кој се метаболизира преку CYP2D6, би требало да бидат разгледани со претпазливост во смисла на нивно вклучување или невклучување заради можноста од зголемени концентрации на лекот. Со тоа ќе се избегне можната зголемена експозиција кон лекот и појава на сериозни несакани дејства. Сепак, мора да се направат дополнителни испитувања на поголеми серии испитаници, за да се потврди дефинитивното влијание на CYP2D6 генските алелски варијанти врз фармакокинетиката на оланзапин.

Конфликт на интереси. Не е деклариран.

Литература

- Kassahun K, *et al.* Disposition and biotransformation of the antipsychotic agent olanzapine in humans. *Drug Metab Dispos* 1997; 25: 81-93.
- Urichuk L, *et al.* Metabolism of atypical antipsychotics: Involvement of cytochrome P450 enzymes and relevance for drug-drug interactions. *Current Drug Metabolism* 2008; 9: 410-418.
- Prior T, Baker G. Interactions between the cytochrome P450 system and the second generation antipsychotics. *J Psychiatry Neurosci* 2003; 28(2): 99-112.
- Caccia S. Biotransformation of post-clozapine antipsychotics: pharmacological implications. *Clin Pharmacokinet* 2000; 38: 393-414.
- Ring BJ, *et al.* In vitro interaction of the antipsychotic agent olanzapine with human cytochromes P450 CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and CYP3A. *Br J Clin Pharmacol* 1996; 41: 181-186.
- Shin JG, *et al.* Effect of antipsychotic drugs on human liver cytochrome P-450 (CYP) isoforms in vitro: preferential inhibition of CYP2D6. *Drug Metab Dispos* 1999; 27: 1078-1084.
- Ring BJ, *et al.* Identification of the human cytochromes P450 responsible for the in vitro formation of the major oxidative metabolites of the antipsychotic agent olanzapine. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 276: 658-666.
- Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. *Pharmacogenomics J* 2005; 5: 6-13.
- Scordo MG, Caputi AP, D'Arrigo C, *et al.* Allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in an Italian population. *Pharmacol Res* 2004; 50(2): 195-200.
- Arvanitidis K, Ragia G, Iordanidou M, *et al.* Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A5 in the Greek population. *Fundam Clin Pharmacol* 2007; 21(4): 419-426.
- Sim SC, Kacevska M, Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenomics of drug-metabolizing enzymes: a recent update on clinical implications and endogenous effects. *Pharmacogenomics J* 2013; 13(1): 1-11.
- Sistonen J, Fuselli S, Palo JU, *et al.* Pharmacogenetic variation at CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6 at global and microgeographic scale. *Pharmacogenet Genomics* 2009; 19(2): 170-179.
- Bernard S, Neville KA, Nguyen AT, Flockhart DA. Interethnic differences in genetic polymorphisms of CYP2D6 in the U.S. population: clinical implications. *Oncologist* 2006; 11(2): 126-135.
- Hosono N, *et al.* CYP2D6 genotyping for Functional-Gene dosage analysis by allele copy number detection. *Clinical Chemistry* 2009; 55: 8 p. 1546-155.
- TDM/ALHOSP.OLZ.SOP013/2009: Determination of Olanzapine by HPLC/MS/MS
- Guo Sw, Thompson Ea. "Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles". *Biometrics* 1992; 48(2): 361-372.
- Kapedanovska-Nestorovska A, *et al.* Distribution of the most common genetic variants associated with a variable drug response in the population of the Republic of Macedonia. *Drug metabolism and Drug interactions* 2013; In press.
- Bozina N, Granic P, Lalic Z, *et al.* Genetic polymorphisms of cytochromes P450: CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6 in Croatian population. *Croat Med J* 2003; 44(4): 425-428.
- Bertilsson L, *et al.* Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs. *Br J Clin Pharmacol* 2002; 53: 111-122.
- Eichelbaum M, *et al.* Impact of P450 genetic polymorphism on the first-pass extraction of cardiovascular and neuroactive drugs. *Adv Drug Deliv Res* 1997; 27: 171-199.
- Sachse C, *et al.* Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 284-295.
- Agundez JA, *et al.* Prevalence of CYP2D6 gene duplication and its repercussion on the oxydative phenotype in white population. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 57: 265-269.
- Murray M. Role of CYP pharmacogenetics and drug-drug interactions in the efficacy and safety of atypical and other antipsychotic agents. *J Pharm Pharmacol* 2006; 58 (7): 871-885.
- Nozawa M, *et al.* The relationship between the response of clinical symptoms and plasma olanzapine concentration, based on pharmacogenetics. *Ther Drug Monit* 2008; 30: 35-40.
- Hagg S, *et al.* Olanzapine disposition in humans is unrelated to CYP1A2 and CYP2D6 phenotypes. *Eur J Clin Pharmacol* 2001; 57: 493-497.

Оригинален труд

РЕНОПРОТЕКТИВНИ ЕФЕКТИ НА ДВОЈНАТА БЛОКАДА НА РЕНИН-АНГИОТЕНЗИН СИСТЕМОТ СО КАНДЕСАРТАН И ПЕРИНДОПРИЛ КАЈ ДИЈАБЕТИЧНА НЕФРОПАТИЈА ИНДУЦИРАНА СО СТРЕПТОЗОТОЦИН

RENOPROTECTIVE EFFECTS OF DUAL BLOCKADE OF RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM WITH CANDESARTAN AND PERINDOPRIL IN STREPTOZOTOCIN INDUCED DIABETIC NEPHROPATHY

Јасмина Тројачанец, Димче Зафиров, Круме Јаковски, Елена Костова, Марија Петрушевска, Трајан Балканов, Игор Кикерков и Никола Лабачевски

Институт за претклиничка и клиничка фармакологија со токсикологија, Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Медицински факултет, Скопје, Република Македонија

Апстракт

Вовед. Инхибицијата на ренин-ангиотензин системот (RAS) манифестира ренопротективни ефекти независно од намалувањето на крвниот притисок. Повеќе студии сугерираат дека комбинираната терапија со инхибитор на конвертирачкиот ензим на ангиотензин (АКЕ-И) и рецепторните блокатори на ангиотензин (ARBs) остварува поголем антипротеинуричен ефект отколку монотерапијата, поради подолгата и покомплетна блокада на РАС. Цел на оваа студија беше да се процени дали комбинираната терапија со периндоприл и кандесартан во пониски дози отколку при монотерапија, ќе обезбеди поголема ренопротекција кај дијабетична нефропатија индуцирана со стрептозотоцин (STZ).

Методи. Во студијата беа користени Wistar-стаорци (n=125). Индукијата на дијабет беше направена со еднакратна i.p. администрација на STZ (60 mg/kg). Дијабетичните стаорци (n=100) со рандомизација беа поделени да примаат плацебо, ARB-Candesartan (5 mg/kg/ден), ACE-I Perindopril (6 mg/kg/ден), или комбинација на ниски дози на кандесартан+периндоприл (2,5 mg/kg/ден и 3 mg/kg/ден), од 4-12 недела. Патолошките промени во бубрежите беа испитувани со оптички и трансмисиjsки електронски микроскоп.

Резултати. Екскрецијата на албумини, односот тежина на бубрег/телесна тежина и реналните структурни промени беа сигнификантно зголемени кај нетретираниите дијабетични стаорци во споредба со нормалната контролна група на стаорци. Третманот со кандесартан, периндоприл или

со двата лека заедно сигнификантно ги намали овие промени. Додавањето на кандесартан на третманот со периндоприл беше поефикасно во однос на намалувањето на реналните структурни промени и подобрување на реналната функција во споредба со монотерапијата со двата лека.

Заклучок. Комбинираната терапија со ниски дози на ACE-I и ARB обезбедува додатна корист во остварувањето на супериорни ренопротективни ефекти на дијабетичен модел на нефропатија, веројатно поради двојниот инхибиторен ефект на RAS.

Клучни зборови: стрептозотоцин, двојна блокада на РАС, ренопротективни ефекти, дијабетична нефропатија, стаорци

Abstract

Introduction. Renin-angiotensin system (RAS) inhibition exerts a renoprotective effect independent of blood pressure reduction. Several studies suggest that combination therapy with angiotensin converting enzyme inhibitor (ACE-I) and angiotensin receptor blockers (ARBs) provides a greater antiproteinuric effect than monotherapy, perhaps because of more prolonged and complete RAS inhibition. The aim of the present study was to determine if a combination therapy with perindopril and candesartan at lower doses than monotherapy would confer greater renoprotection in streptozotocin (STZ) induced diabetic nephropathy. **Methods.** Wistar rats (n=125) were used in this study. Diabetes was induced by a single i.p. injection of STZ (60 mg/kg). The diabetic rats (n=100) were randomly assigned to receive vehicle, ARB-Candesartan (5 mg/kg/per d), ACE-I-Perindopril (6 mg/kg/per d), or a combination of low dose Candesartan+Perindopril (2,5 mg/kg/per d and 3 mg/kg/per d) respectively, from weeks 4-12. Pathological changes of the kidney were examined with optical and transmission electron microscope.

Results. Albumin excretion rate, kidney/body weight ratio and renal structural changes increased significantly in untreated diabetic rats compared to normal control rats. Treatment with candesartan, perindopril, or both decreased these changes. Addition of the candesartan to perindopril was more effective in reducing renal structural changes and improvement of renal function than monotherapy with either drug. **Conclusion.** Combination therapy has the additional benefit of requiring only low doses of ACE-I and ARBs to achieve superior renoprotective effects in this diabetic nephropathy model, possibly due to dual inhibitory effect on the RAS.

Key words: Streptozotocin, dual blockade of RAS, renoprotective effects, diabetic nephropathy, rats

Вовед

Дијабетичната нефропатија е една од најчестите и најсерозни компликации на дијабетот, за која сè уште нема адекватна медикаментозна терапија. Механизмите за настанувањето на оштетување на бубрезите со сигурност не се утврдени, но најчесто се спомнуваат: интеракциите помеѓу високата гликемија, васкуларно-ендотелниот фактор на раст, ангиотензин II (АТ-II), ендотелинот, крајните продукти на гликозилацијата, TGF- β , вклучувајќи ги хемодинамските нарушувања во бубрежната микроциркулација и структурните промени во гломерулите. Задебелувањето на гломеруларната базална мембрана (ГБМ) и експанзијата на мезангијалниот матрикс претставуваат главни патохистолошки промени кај дијабетичната нефропатија [1-4]. Докажано е дека акумулацијата на мезангијалниот матрикс ја редуцира капиларната површина достапна за филтрација, при што придонесува за прогресивно губење на бубрежната функција [4]. Бубрежната инсуфициенција, исто така, може да се јави и како резултат на тубулоинтерстицијалната фиброза, која од своја страна дополнително ја интензивира протеинуријата [5,6]. Познавајќи го патофизиолошкиот механизам на настанување на дијабетична нефропатија се издвојуваат неколку групи лекови кои веќе се употребуваат или би можеле да се употребуваат во превенцијата и третманот на дијабетичните нефропатии. Посебно се интересни лековите коишто делуваат поволно на хемодинамските нарушувања кои се присутни кај дијабетичната нефропатија, како што се инхибиторите на ангиотензин конвертирачкиот ензим (АКЕ) и ангиотензин рецепторните блокатори (ARBs). Во последните неколку години интензивно се испитува примената на двојната блокада на ренин-ангиотензин системот со АКЕ-инхиби-

тор и АТ-II рецепторен блокатор (ARBs) во третманот на разни кардиоваскуларни заболувања, како и кај некои ренални заболувања. Се смета дека рационалноста од употребата на двојната блокада на RAS претставуваат различните места на дејствување на АКЕ-инхибиторите и ARBs, што резултира со синергистичка блокада на ренин ангиотензин системот (RAS) која не може да се постигне со монотерапија само со АКЕ-инхибитор, односно ARBs. АКЕ-инхибицијата го намалува создавањето на ангиотензин II преку блокада на двата рецептора A_1 и A_2 и деградацијата на брадикинин, кој е јак вазодилатор [7]. Меѓутоа, ангиотензин II може да се создаде и преку други независни патишта како што се химаза, тонин, катепсин Г, што резултира со некомплетна блокада и создавање на ангиотензин II [8]. Се смета дека повеќе од 40% од ангиотензин II се создава преку други патишта кои не се посредувани преку АКЕ. Нагорна регулација на химазата неодамна е регистрирана кај хипертензивни пациенти со дијабетес мелитус тип 2 и нефропатија [9]. Ваквата некомплетна блокада, всушност може да ги објасни наодите што покажуваат дека плазматското ниво на ангиотензин II се враќа на нормално ниво по хроничен третман со АКЕ-инхибитори (таканаречен "ACE-escape" феномен) [10,11].

Теоретски, третманот со ARBs може да резултира со покомплетна блокада на несаканите дејства на ангиотензин II кое се остваруваат преку рецепторите од тип 1. Поради тоа, се смета дека комбинираниот третман со АКЕ-инхибитори и ARBs може да овозможи синергистичка и покомплетна блокада на RAS.

Основната цел на оваа студија беше да се проценат ренопротективните ефекти на двојната блокада на ренин-ангиотензин-системот со комбинацијата периндоприл и кандесартан, во третманот на експериментално индуцираната дијабетична нефропатија со стрептозотозин (СТЗ) во споредба со монотерапијата со двата лека.

Материјал и методи

Експериментален модел

За изведување на експериментите беа користени 125 машки и женски нормотензивни стаорци од сојот Wistar, на возраст од 9-11 недели, со телесна тежина од 160-300 g.

Влијанието на надворешните фактори на бубрежната функција беа минимизирани со стандардизирана грижа на животните и инјектирање на еквивалентни количества на течност за администрација.

Индукција на дијабет и дијабетична нефропатија

Со цел да се предизвика дијабет кај стаорците еднократно интраперитонално беше администриран стрептозотонин (Sigma-Aldrich, Chemie GmbH, Germany) во доза од 60 mg/kg/t.t. растворен во 0,1 M цитратен пуфер (pH 4,5). Развојот на дијабет беше потврден по 72 часа со одредување на нивото на гликоза во крвта со користење на монитор за крвна гликоза (Accu-Chek, Roche Diagnostic, Germany). Крвните примероци за одредување на гликозата беа добиени со земање на крв од опашката. Во студијата беа вклучени стаорците кај кои нивото на гликоза во крвта беше ≥ 11 mmol/L, на гладно (наутро). Во наредните 4 недели, за да се развие дијабетична нефропатија, животните беа оставени во дијабетична состојба без никаков третман.

За да се одговори на поставените цели, стаорците (n=100) по случаен избор беа поделени во 4 групи (STZ, STZ+CAN, STZ+PER and STZ+CAN+PER). За да се проценат симптомите и знаците на дијабетичната нефропатија, STZ групата стаорци (n=25) беше оставена без третман, во следните 8 недели. За проценка на ефектот на третманот само со ARBs кандесартан (CAN), кај STZ+CAN групата на дијабетични стаорци (n=25), беше администриран кандесартан во доза од 5 mg/kg/ден орално, од 4-12 недела. За проценка на ефектот на третманот само со АКЕ инхибиторот периндоприл (PER) кај STZ+PER групата на дијабетични стаорци (n=25), периндоприл беше администриран во доза од 6 mg/kg/ден орално, од 4-12 недела. За проценка на терапискиот ефект на комбинацијата на ARBs и АКЕ инхибитор, кај STZ+CAN+PER групата на дијабетични стаорци (n=25), кандесартан и периндоприл беа администрирани во дози од 2,5 mg/kg/ден, односно 3 mg/kg/ден, перорално, од 4-12 недела. Контролната група на стаорци (недијабетични стаорци) (n=25) примаше само физиолошки раствор, во ист волумен и временски интервали како и групите на животни кои ги примаа испитуваните лекови.

Параметри за проценка на општите состојба и бубрежната функција

Нивото на гликоза во крвта се одредуваше пред почетокот на испитувањето, 72 часа по апликацијата на стрептозотонин и по 4, 8 и 12 недели.

Телесната тежина на испитуваните животни беше мерена во тек на целото испитување во неделни интервали.

За одредување на диурезата и количината на албумини во урината беа користени метаболички кафези. Присуството на уринарни албумини во примероците од 24-часовната урина беше вршено со употреба на автоанализатор (Cobas Integra

400 Plus; Roche Diagnostics, Germany). Овие тестови беа изведени пред почетокот на студијата (0 ден), и по 4, 8, и 12 недели од почетокот на студијата.

Хистопатолошка анализа на бубрежното ткиво и проценка на бубрежни оштетувања: По 4, 8 и 12 недели од администрацијата на STZ, по 7 животни од секоја испитувана група, беа жртвувани под општа анестезија индуцирана со интраперитонеална инјекција на пентобарбитал (50 mg/kg t.t.; Boehringer Ingelheim), при што беше отворена стомачната празнина и двата бубрези беа отстранети.

Соодносот тежина на бубреж/телесна тежина беше одредуван на крајот од испитувањето, со користење на вредностите за тежината на бубрегот (mg) и телесната тежина (g) од мерењата направени по 12 недели.

Земените бубрежни примероци во краток временски интервал беа дисецирани и непосредно фиксирани во 10% пуфериран формалин, а потоа вклопени во парафин; најмалку 6 пресеци со дебелина од 4-6 μ m беа направени и истите беа боени со хематоксилин и еозин, PAS, Silver methenamine Jones и TrichromeMason.

Промените во бубрезите беа анализирани со методот на двојна слепа контрола.

Гломерулосклеротичен индекс (GSI): за евалуација на степенот на гломерулосклероза беа анализирани 20 големи видни полиња од секој бубрег ($\times 200$) на светлосен микроскоп (Nikon, Japan) со помош на систем за анализа на слика LUCIA. Степенот на склероза за секој гломерул беше субјективно одреден со користење на семиквантитативен метод: степен степен 0=нормални гломерули (нема оштетување); степен 1=склеротични површини до 25% (минимална склероза); степен 2=склеротична површина од 25-50% (умерена склероза); степен 3=склеротична површина од 50-75% (умерено-тешка склероза); и степен 4=склеротична површина од 75-100% (тешка склероза).

Гломерулосклеротичниот индекс беше пресметан со користење на следната формула:

$$GSI = (1 \times n_1) + (2 \times n_2) + (3 \times n_3) + (4 \times n_4) / n_0 + n_1 + n_2 + n_3 + n_4$$

каде што n_x е број на гломерули од секој степен на гломеруларна склероза [12].

Тубулоинтерстицијален скор: за евалуација на промените во тубулоинтерстицијалниот компартман, исто така беа анализирани 20 големи видни полиња од секој бубрег ($\times 200$) на светлосен микроскоп (Nikon, Japan) со помош на систем за анализа на слика LUCIA.

Тубулоинтерстицијалните промени беа субјективно одредени со користење на семиквантитативен метод: степен степен 0=нормална површина (нема оштетување); степен 1=површини на тубуларни епи-

телни клетки со оток, вакуолизација, некроза, десквамација помала од 50% (лесен степен на гломерулосклероза); степен 2=површни со лезии поголеми од 50% со или без фокални промени на S3 сегментот и умерена интерстицијална фиброза; степен 3=површни со лезии од 100% со присуство на апоптоза во тубуло-интерстицијалниот компартман. *Електронска микроскопија*: за детална процена и карактеризација на бубрежните промени, само од STZ групата стаорци беа земени примероци од бубрежно ткиво со големина од 1-2mm², кои по постапка на депарафинација и рехидрација беа постфиксирани во 1% OsO₄ 1 час, а потоа обработени по постапка за вклопување во Durcupan-ска смола. Полутенките пресеци беа боени со Toluidine blue, додека ултратенките пресеци добиени на ултрамикротом (PT-PC PowerTome Ultramicrotomes-RMC Products), беа контрастирани на автостејнер (QG-3100 Automated TEM Stainer-RMC Products) за ултратенки пресеци со Uranil acetate и Lead citrate. Примероците потоа беа анализирани на трансмисионен електронски микроскоп (JEOL 1400, JAPAN) поврзан со дигитална камера (Veleta TEM Camera, Olympus, Germany) и анализирани со iTEM software v.5.2.

Статистичка анализа

Сите резултати беа изразени како средна вредност $\pm$ SD. За тестирање на повеќе од две групи беше користена Kruskal-Wallis-ова анализа на варијанса, следена со Mann-Whitney U-тест за да се одредат

разликите на групите. Нивото на статистичката значајност се однесува за р-вредности помали од 0.05.

Резултати

Телесна тежина

Кај групата на недијабетични стаорци (контролна група) имаше континуирано, постепено зголемување на телесната тежина во текот на студијата. Кај стаорците со STZ-индуциран дијабет, хипергликемијата беше проследена со сигнификантно намалување на телесната тежина во споредба со недијабетичните стаорци (Табела 1). На крајот од студијата, по 12 недели, телесната тежина кај STZ-групата на стаорци беше намалена за 14,9% ($p < 0,05$) во споредба со базалните вредности. Третманот со кандесартан (5 mg/kg/ден) или периндоприл (6 mg/kg/ден) само делумно го спречи намалувањето на телесната тежина кај дијабетичните стаорци. На крајот од студијата, просечната телесна тежина кај овие групи на животни беше зголемена за 7,5%, односно 4,3%, во споредба со базалните вредности. Двојната блокада на RAS со кандесартан и периндоприл додатно ја превенираше загубата на телесна тежина, при што телесната тежина на крајот од испитувањето кај оваа група на животни беше зголемена за 19,4% во споредба со базалните вредности (Табела 1).

Табела 1. Просечни вредности на телесната тежина кај експерименталните групи во текот на студијата

	Телесна тежина (g)			
	0-Ден	4-Недели	8-Недели	12-Недели
<i>Контролна гр.</i>				
X	178,08	194,75	215,80	238,33
SD	20,69	22,43	18,10	25,88
<i>STZ</i>				
X	180,78	176,61 ^a	168,33 ^a	158,92 ^a
SD	20,19	23,61	24,36	18,40
<i>STZ+CAN</i>				
X	176,07	172,80 ^a	176,15 ^a	189,20 ^{a,b}
SD	17,14	15,74	20,46	28,69
<i>STZ+PER</i>				
X	182,42	175,50 ^a	173,55 ^a	190,27 ^{a,b}
SD	25,14	29,56	27,25	21,02
<i>STZ+CAN+PER</i>				
X	179,60	176,87 ^a	189,55 ^{ab}	214,50 ^{a,b,c}
SD	15,60	20,90	19,98	22,54

^a<0,05 vs Контрола, ^b<0,05 vs STZ, ^c<0,05 vs STZ+PER and STZ+CAN

Диуреза

По 4 недели од администрацијата на STZ, кај дијабетичните стаорци беше евидентирано изразено и сигнификантно ($p < 0,05$) зголемување на во-

луменот на диурезата во споредба со контролната група на стаорци. Овие вредности кај STZ групата на стаорци додатно беа зголемени по 8 недели, а максимално изразени по 12 недели од администрацијата на STZ. Третманот со кандесартан и

периндоприл, применети како монотерапија, само лесно го намали волуменот на диуреза, но тоа не беше статистички сигнификантни во ниту една фаза од студијата ($p > 0,05$). За разлика од тоа, двојната блокада на RAS по 8 и 12 недели, доведе до ста-

тистички сигнификантно ($p < 0,05$) намалување на волуменот на диуреза во споредба со STZ-групата на стаорци, како и во однос на групите на стаорци кои беа третирани само со кандесартан (STZ+CAN), односно периндоприл (STZ+PER) (Табела 2).

Табела 2. Просечни вредности на волуменот на диуреза кај експерименталните групи во текот на студијата

	Волумен на диуреза (ml)			
	0-Ден	4-Недели	8-Недели	12-Недели
Контролна гр.				
X	8,86	9,11	7,71	8,75
SD	1,35	2,15	2,29	1,83
STZ				
X	7,86	16,89 ^a	20,57 ^a	21,29 ^a
SD	1,95	3,59	4,39	6,73
STZ+CAN				
X	8,29	18,25 ^a	17,88 ^a	17,14 ^a
SD	2,21	3,20	4,19	5,81
STZ+PER				
X	7,14	18,10 ^a	18,13 ^a	17,86 ^a
SD	1,57	4,56	4,79	3,53
Min	5,00	11,00	13,00	13,00
Max	10,00	25,00	24,00	23,00
STZ+CAN+PER				
X	9,13	19,20 ^a	15,75 ^{a,b}	13,71 ^{a,b,c}
SD	1,73	3,94	2,96	3,04

^a $<0,05$ vs Контролна група, ^b $<0,05$ vs STZ, ^c $<0,05$ vs STZ+PER and STZ+CAN

Албуминурија

Администрацијата на STZ, еднократно, i.p. во доза од 60 mg/kg/t.t., резултираше со сигнификантна ($p < 0,05$) албуминурија веќе по 4 недели. Просечните вредности на албумини во урината кај STZ-групата стаорци додатно беа зголемени по 8 недели, а својот максимум го достигнаа по 12 недели од администрацијата на STZ. Албуминуријата

беше сигнификантно намалена со сите три третмани во споредба со STZ-групата стаорци. Кандесартан и периндоприл покажаа еднаква ефикасност во однос на намалувањето на протеинуријата. Двојната блокада на RAS додатно ја намали протеинуријата во споредба со монотерапијата само со кандесартан, односно периндоприл (Табела 3). Компарацијата на екскрецијата на албумини во урина по 8 и 12 недели помеѓу трите третмани кои

Табела 3. Ефекти на третманот со кандесартан, периндоприл и кандесартан+периндоприл на екскрецијата на албумини во урина кај стаорци со STZ-индуцирана дијабетична нефропатија

	Албумини во урина (mg/24h)			
	0-Ден	4-Недели	8-Недели	12-Недели
Контролна гр.				
X	0,490	0,504	0,483	0,496
SD	0,118	0,120	0,109	0,116
STZ				
X	0,520	1,799 ^a	2,523 ^a	3,316 ^a
SD	0,158	0,775	0,824	0,822
STZ+CAN				
X	0,478	1,834 ^a	1,523 ^{a,b}	1,236 ^{a,b}
SD	0,127	0,796	0,556	0,505
STZ+PER				
X	0,532	1,676 ^a	1,434 ^{a,b}	1,309 ^{a,b}
SD	0,140	0,596	0,591	0,535
STZ+CAN+PER				
X	0,525	1,935 ^a	1,165 ^{a,b}	0,817 ^{a,b,c}
SD	0,110	0,758	0,423	0,310

^a $<0,05$ vs Control, ^b $<0,05$ vs STZ, ^c $<0,05$ vs STZ+PER and STZ+CAN

дејствуваат преку блокада на RAS, покажа статистички сигнификантно позитивен ефект на двојната блокада на RAS со комбинацијата кандесартан/периндоприл во намалувањето на протеинуријата во однос на монотерапијата со едниот или другиот лек ($p < 0,05$) (Табела 3).

Однос тежина на бубрег (mg)/телесна тежина (g)

На крајот од студијата, кај STZ-групата стаорци,

евидентно беше сигнификантно зголемување на вредностите на односот тежина на бубрег/телесна тежина ($5,41 \pm 0,69$) во однос на контролната група на стаорци ($3,20 \pm 0,29$) ($p < 0,05$). Монотерапијата со кандесартан (STZ+CAN) и периндоприл (STZ+PER) иако сигнификантно ($p < 0,05$), само делумно манифестираше ефект во превенцијата на зголемувањето на вредностите на односот тежина на бубрег/телесна тежина. Третманот со комбинацијата на кандесартан/периндоприл (STZ

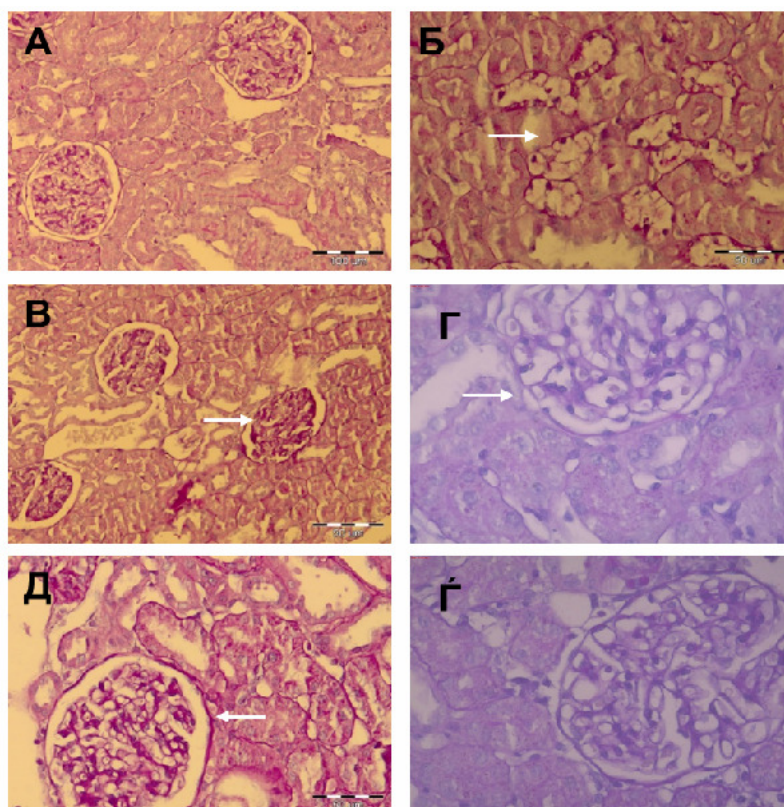
Табела 4. Просечни вредности на односот тежина на бубрег/телесна тежина по 12 недели од администрацијата на стрептозотозин

	Однос Тежина на бубрег/Телесна тежина mg/g (12 недела)				
	Контролна гр.	STZ	STZ+CAN	STZ+PER	STZ+CAN+PER
X	3,20	5,41 ^a	4,31 ^{a,b}	4,45 ^{a,b}	3,74 ^{a,b,c}
SD	0,29	0,69	0,48	0,39	0,25
Min	2,81	4,40	3,73	3,90	3,42
Max	3,68	6,49	5,50	5,11	4,31

^a $<0,05$ vs Контролна гр., ^b $<0,05$ vs STZ, ^c $<0,05$ vs STZ+PER and STZ+CAN

+CAN+PER) покажа дополнителен ефект во превенцијата на зголемување на вредностите на односот тежина на бубрег/телесна тежина, при што просечните вредности изнесуваа $3,74 \pm 0,25$ (Табела 4). Компаративната статистичка анализа на вред-

ностите на односот тежина на бубрег/телесна тежина кај STZ+CAN и STZ+PER групите покажа сличен ефект без сигнификантни разлики помеѓу два-та третмани ($p > 0,05$).



Сл. 1. Хистопатолошки наод на бубрезите од недијабетични стаорци, од стаорци со дијабет индуциран со STZ (без третман), дијабетични стаорци третирани со кандесартан, периндоприл и комбинацијата кандесартан/периндоприл. Примероците се боени со PAS-реагенс. Зголемување $\times 100$ и $\times 200$. (А) Недијабетични стаорци 12 недела. (Б) Нетретирани дијабетични стаорци 8 недела. (В) Нетретирани дијабетични стаорци 12 недела, со гломеруларни оштетувања, задебелена гломеруларна базална мембрана и тубуларен епител светлоклеточно променет заради интраклеточна акумулација на гликоген и тубуларна дилатација. (Г) Дијабетични стаорци третирани со кандесартан 12 недела. (Д) Дијабетични стаорци третирани со периндоприл 12 недела. (Г) Дијабетични стаорци третирани со комбинацијата кандесартан/периндоприл 12 недела

Од друга страна, компарацијата на комбинираната терапија со кандесартан и периндоприл во однос на монотерапијата со двата лека, покажа сигнификантни разлики во корист на комбинираната терапија ($p < 0,05$) (Табела 4).

Хистопатолошки испитувања и анализи

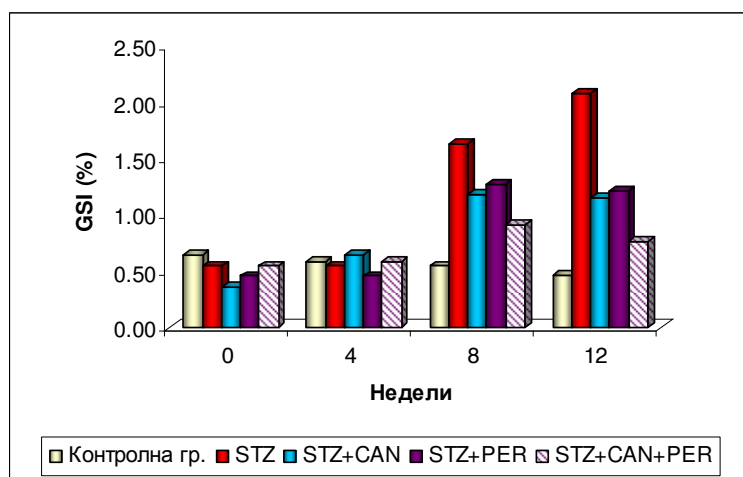
По 8 недели од администрацијата на стрептозоцин, кај STZ-групата дијабетични стаорци, хистопатолошките испитувањата со светлосен микроскоп покажаа присуство на умерен степен на гломерулопатија карактеризирана со задебелување на базалната мембрана, експанзија на мезангијалниот матрикс, артериоларна хијалиноза и инсулативни протеински депозити кои вршат опструкција (конгестија) на некои капилари. Слични, но од потежок степен гломеруларни оштетувања беа најдени кај истата група на животни по 12 недели. Освен тоа, хистопатолошките испитувања на бубрезите во кортикомедуларната регија покажаа знаци за проширен интерстициум со интерстицијална фиброза и дилатација на тубулите со атрофија на епителот. Кај некои бубрежни примероци беше присутна и вакуолизација на тубуларниот епител со дилатација на луменот од тубулите како и присуство на гликогени депозити. Крвните садови во бубрежниот паренхим микроскопски покажуваа медијална хипертрофија со лесен степен на интимално задебелување (Слика 1). Во групите на дијабетични стаорци кои примаа монотерапија со кандесартан (STZ+CAN) или периндоприл (STZ+PER), беа најдени слични проме

ни во гломерулите и тубулоинтерстицијалниот компартман како и кај STZ групата по 8 и 12 недели, со тоа што истите беа помалку изразени (Слика 1).

За разлика од тоа, во групата стаорци кај која беше применета двојна болкада на RAS (STZ+CAN+PER), кај најголем дел од анализираниите бубрежни примероци беше присутен само лесен степен на дијабетична гломерулопатија, со лесно изразени промени во тубулоинтерстициумот. Задебелувањето на базалната мембрана, гломерулосклерозата и промените во тубулоинтерстициумот беа значајно помалку изразени како во однос на STZ-групата, така и во однос на STZ+CAN и STZ+PER-групата. Исто така беше евидентирана и редукцијата на дебелината на артерискиот ѕид во зафатените крвни садови во однос на останатите 3 групи на дијабетични стаорци (Слика 1).

Гломерулосклеротичен индекс (GSI)

Вредностите на гломерулосклеротичниот индекс (GSI) беа сигнификантно зголемени кај STZ-групата по 8 недели ($1,636 \pm 0,674$), а уште повеќе на крајот од студијата ($2,077 \pm 0,862$). Помало зголемување на GSI беше регистрирано кај STZ+CAN и STZ+PER-групите по 8 и по 12 недели. Додатна превенција на зголемувањето на вредностите на GSI беше регистрирана кај STZ+CAN+PER групата, кај која просечните вредности по 8 и 12 недели изнесуваа $0,917 \pm 0,515$, односно $0,769 \pm 0,599$. Ваквите разлики се сигнификантни во однос на STZ групата како по 8 така и по 12 недели ($p < 0,05$) (Слика 2).



Сл. 2. Просечни вредности на гломерулосклеротичен индекс

Компаративната статистичка анализа на просечните вредности на GSI на крајот од испитувањето помеѓу испитуваните групи покажа сигнификантно ($p < 0,05$) пониски просечни вредности кај STZ+CAN, STZ+PER и STZ+CAN+PER групите во однос на соодветните просечни вредности кај STZ-

групата. Од друга страна, вредностите на GSI кај STZ+CAN+PER-групата беа сигнификантно пониски ($p < 0,05$) во однос на соодветните вредности кај STZ+CAN и STZ+PER-групите, додека вредностите кај STZ+CAN и STZ+PER не се разликуваа сигнификантно помеѓу себе ($p > 0,05$) (Табела 5).

Табела 5. Просечни вредности на гломерулосклеротичен индекс

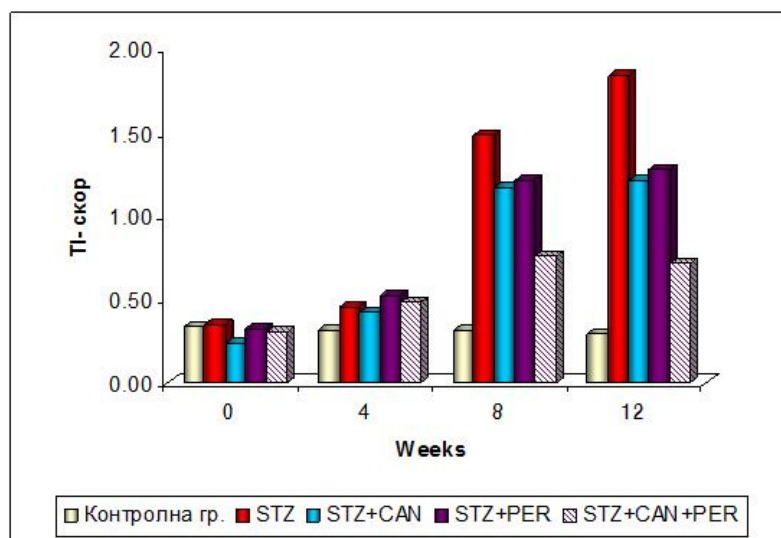
	<i>Гломерулосклеротичен индекс %</i>			
	0-Ден	4-Недели	8-Недели	12-Недели
Контролна гр.				
X	0,636	0,583	0,545	0,462
SD	0,505	0,515	0,522	0,519
STZ				
X	0,545	0,545	1,636 ^a	2,077 ^a
SD	0,522	0,522	0,674	0,862
STZ+CAN				
X	0,364	0,636	1,182	1,154
SD	0,505	0,505	0,405	0,555
STZ+PER				
X	0,455	0,455	1,273 ^{a,b}	1,214 ^{a,b}
SD	0,522	0,522	0,647	0,579
STZ+PER				
X	0,545	0,583	0,917 ^{a,b}	0,769 ^{a,b,c}
SD	0,522	0,515	0,515	0,599

^a<0,05 vs Контролна гр., ^b<0,05 vs STZ, ^c<0,05 vs STZ+PER and STZ+CAN

Тубулоинтерстицијален скор

Сигнификантно зголемување на просечните вредности на тубулоинтерстицијалниот скор кај STZ-групата беа најдени по 8 недели, а истите беа уште повеќе изразени на крајот од студијата во однос на контролната група ($p < 0,05$). Помало зголемување на просечните вредности на тубулоинтерстицијалниот скор беше регистрирано кај

STZ+CAN и STZ+PER групите во двата контролни прегледи по 8 и по 12 недели. Додатна превенција на зголемувањето на вредностите на тубулоинтерстицијалниот скор беше регистрирана кај STZ+CAN+PER групата, кај која просечните вредности по 8 недели изнесуваа $0,759 \pm 0,689$, а по 12 недели $0,708 \pm 0,624$. Ваквите разлики се сигнификантни во однос на STZ-групата како по 8 така и по 12 недели ($p < 0,05$) (Слика 3).

**Сл. 3.** Просечни вредности на тубулоинтерстицијален скор

Компарацијата на просечните вредности на тубулоинтерстицијалниот скор на крајот од испитувањето помеѓу испитуваните групи покажа сигнификантно ($p < 0,05$) пониски вредности кај STZ+CAN, STZ+PER и STZ+CAN+PER групите во однос на STZ групата. Од друга страна, вредностите на ту

булоинтерстицијалниот скор кај STZ+CAN+PER групата беа сигнификантно пониски ($p < 0,05$) во однос на соодветните вредности кај STZ+CAN и STZ+PER групите, додека вредностите кај STZ+CAN и STZ+PER не се разликуваа сигнификантно помеѓу себе ($p > 0,05$) (Табела 6).

Табела 6. Просечни вредности на тубулоинтерстицијален скор

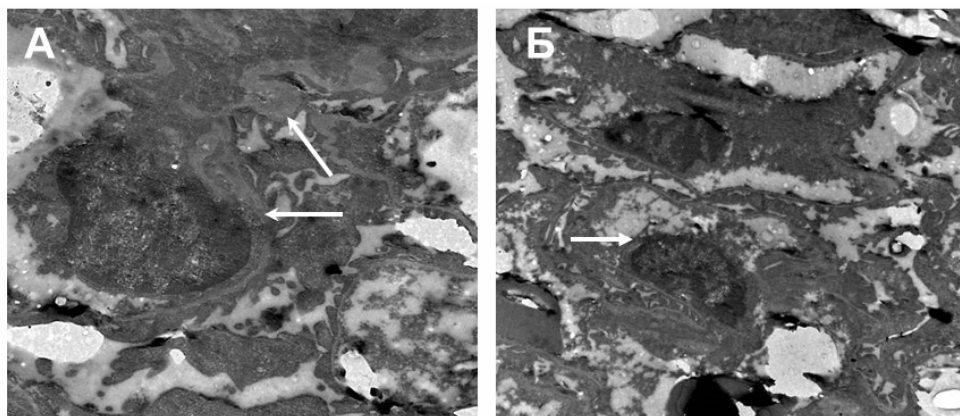
	<i>Тубулоинтерстицијален скор</i>			
	0-Ден	4-Недели	8-Недели	12-Недели
Контролна гр.				
X	0,333	0,308	0,310	0,292
SD	0,482	0,471	0,471	0,464
STZ				
X	0,348	0,448	1,483 ^a	1,840 ^a
SD	0,487	0,506	0,688	0,374
STZ+CAN				
X	0,231	0,423	1,172 ^{a,b}	1,208 ^{a,b}
SD	0,430	0,504	0,602	0,588
STZ+PER				
X	0,318	0,519	1,207 ^{a,b}	1,273 ^{a,b}
SD	0,477	0,509	0,559	0,631
STZ+PER				
X	0,304	0,480	0,759 ^{a,b,c}	0,708 ^{a,b,c}
SD	0,470	0,510	0,689	0,624

^a<0,05 vs Контролна гр., ^b<0,05 vs STZ, ^c<0,05 vs STZ+PER and STZ+CAN

Електронска микроскопија

Наодите од овие испитувања укажуваат на ренални оштетувања карактеристични за дијабетична нефропатија, со посебен акцент на промените во гломеруларната филтрациска бариера (гломеруларниот ендотел и подоцитите). Ултраструктурната анализа покажа нарушувања во гломеруларните висцерални епителни клетки,

манифестна како невојдначена фузија на подоцитните продолжетоци. Исто така, евидентно е и проширувањето на мезангијалниот матрикс со задебелување на гломеруларната базална мембрана поради депозити на базално-мембранозен склеротичен материјал. Во крвните садови на реналниот паренхим евидентна е медијална хипертофија со низок степен на задебелување на интимата (Слика 4).



Сл. 4. Електронска микрофотографија од стаорци со дијабет индуциран со STZ, 12 недела. (А и Б) Невојдначена фузија на подоцитните продолжетоци, и проширување на мезангијалниот матрикс со задебелување на гломеруларната базална мембрана (зголемување x20000)

Дискусија

Во оваа студија на експериментално индуциран дијабет, а последователно на тоа и дијабетична нефропатија, беа проценувани и компарирани ренопротективните ефекти на монотерапијата со кандесартан (претставник на ARB) и периндоприл (претставник на АКЕ-инхибиторите) во однос на комбинацијата кандесартан/периндоприл применети во ниски дози.

Еднократната администрација на STZ предизвика дијабет, со изразена албуминурија, проследена со лоша општа состојба, намалување на телесната тежина и зголемување на диурезата. Најголем дел од овие симптоми и знаци беа манифестни веќе по 4 недели, а истите беа поизразени по 8 односно 12 недели од администрацијата на STZ. На крајот од студијата, кај STZ-групата стаорци, евидентирано беше сигнификантно зголемување на вредностите на односот тежина на бубрег/телесна тежина во однос на контролната група на

стаорци, што укажува на значајни оштетувања на бубрезите. Потврда за развојот и прогресијата на дијабетичната нефропатија кај експерименталните животни несомнено претставуваат патохистолошките анализи на бубрежните примероци. Патохистолошките испитувањата со светлосен микроскоп по 8 недели кај дијабетичните стаорци покажуваат присуство на гломерулопатија карактеризирана со задебелување на базалната мембрана, експанзија на мезангијалниот матрикс, артериоларна хијалиноза како и инсудативни протеински депозити кои вршат опструкција на некои капилари. Слични, но од потежок степен беа патохистолошките промени на бубрезите кај истата група на животни по 12 недели од администрацијата на стрептозотоцин. Спроведените семиквантитативни анализи на гломерулите и тубулоинтерстицијалниот компартман исто така укажуваат на значајни нарушувања во гломерулите и тубулоинтерстициумот кај испитуваните животни. Вредностите на гломерулосклеротичниот индекс и тубулоинтерстицијалниот скор по 8, а особено по 12 недели од администрацијата на стрептозотоцин беа за неколку пати повисоки во однос на контролната група, што укажува на развој на умерени до тешки нарушувања во гломерулите и тубулоинтерстициумот. Овие наоди се во согласност со наодите на Nevin E., според кои гломерулопатијата всушност претставува најважна структурна промена кај дијабетичната нефропатија [13]. Освен тоа, хистопатолошките испитувања на бубрезите покажуваат и знаци за интерстицијална фиброза и тубуларна дилатација, што е во согласност со наодите од студијата на Huang *et al.*, во која кај дијабетични глвци се регистрирани гломеруларна хипертрофија, спорадична интерстицијална фиброза и тубуларна атрофија без прекумерно изразена гломеруларна склероза [14].

Монотерапијата со кандесартан или периндоприл почната 4 недели по администрацијата на стрептозотоцин резултираше само со парцијални ренопротективни ефекти. Кај двете групи на стаорци, иако сигнификантно намалени, по 8 и 12 недели од администрацијата на стрептозотоцин, сè уште беа лесно до умерено изразени албуминуријата и патохистолошките нарушувања во гломерулите и тубулоинтерстициумот. За разлика од тоа, комбинираната терапија со кандесартан и периндоприл, која овозможува двојна блокада на RAS, покажа сигнификантно поголеми ренопротективни ефекти во однос на монотерапијата со двата лека. Групата на стаорци кај која беше применета двојна блокада на RAS имаше само лесно изразена албуминурија и патохистолошки наод кој покажува само нарушувања од лесен степен. Анализата на бубрежните приме-

роци (гломерулосклеротичен индекс и тубулоинтерстицијален скор) по 8, а уште поизразено по 12 недели, покажа сигнификантно пониски вредности во однос на групите кои примаа монотерапија со еден од двата лека. Вредностите на овие параметри кај оваа експериментална група иако сигнификантно се разликуваа, беа блиску до вредностите регистрирани кај контролната група.

Порано, истражувањата во однос на молекуларните механизми на развојот на дијабетичната нефропатија и протеинуријата главно биле фокусирани на експанзијата на мезангијалниот матрикс и задебелувањето на гломеруларната базална мембрана како главни нарушувања кај дијабетичната гломерулопатија [4]. Меѓутоа, генезата на протеинуријата кај дијабетот не е целосно разјаснета со експанзијата на мезангијалниот матрикс. Како многу веројатна причина треба да се земат промените во гломеруло-филтрациската бариера, која што е составена од: гломеруларен ендотелиум, гломеруларна базална мембрана и подоцити (гломеруларни висцерални епителни клетки).

Гломеруларен ендотелиум: се смета дека ендотелијаната дисфункција резултира со протеинурија, која што се влошува под влијание на интрагломеруларниот хемодинамски стрес [15-16]. Меѓутоа, и покрај големите оштетувања кои можат да бидат присутни, гломеруларниот ендотелиум може да биде пречка за пермеабилноста на протеините [17,18].

Гломеруларна базална мембрана: задебелувањето и губењето на селективноста како резултат на дијабетот се смета дека може да бидат причина за појавата на протеинуријата [19,20]. Меѓутоа, губењето на селективноста на гломеруларната базална мембрана само делумно ја објаснува протеинуријата [21], со оглед на тоа што намалувањето на негативно наелектризираните протеоглици се појавува во покасната фаза на дијабетичната нефропатија, понекогаш долго по појавата на микроалбуминурија [22]. Ова доведува до заклучок дека финалната бариера за плазматските протеини всушност претставува тенката дијафрагма на подоцитите [23]. Резултатите од поголем број биоптични студии спроведени кај пациенти со дијабетес мелитус и неколку експериментални студии покажуваат дека функционалните и структурни оштетувања на подоцитите се јавуваат многу рано кај дијабетичната нефропатија [24-28].

Наодите од истражувањата спроведени со електронска микроскопија од оваа студија се во согласност со ваквите податоци и покажуваат дека кај експериментално индуцираната дијабетична нефропатија со стрептозотоцин, посебно изразени се нарушувањата во гломеруларните висцерал-

ни клетки, манифестни како неоедначена фузија на подоцитните продолжетоци.

Точната етиологија на оштетувањето и губењето на подоцитите кај дијабетичната нефропатија е сè уште недоволно разјаснета и спекулативна, но се смета дека во основа лежат два механизма и тоа: апоптоза на подоцитите и одлепување на подоцитите од гломеруларната базална мембрана и нивна елиминација со урината (подоцитопенија). Во одлепувањето и апоптозата на подоцитите, значајна улога може да има и зголеменото ниво и прекумерната активност на интрагломеруларниот трансформиращки фактор на раст (TGF- β), а посебно TGF- β 1 [29-31]. Податоците, за примарната улога на апоптозата кај хуманата дијабетична нефропатија се сè уште лимитирани. Меѓутоа, апоптозата, како еден од главните механизми во развојот на дијабетичната нефропатија е покажана во неколку *in vitro* и *in vivo* експериментални студии. При тоа, како главен фактор за развојот и индукцијата на апоптозата се издвојува ангиотензин-II. Уште во трудот на Suzuki J, *et al.*, е покажано дека ангиотензин-II поседува антипролиферативни и проапоптотички ефекти на васкуларните мазни мускулни клетки (VSMC) [32]. Резултатите од неколку студии покажуваат дека ангиотензин-II ја стимулира апоптозата не само во тубуларниот бубрежен компартман, туку и во гломерулите и интерстициумот. Истовремено, резултатите од овие студии покажуваат дека апоптозата индуцирана со ангиотензин-II може да се превенира со употреба на AT-1 блокатори (кандесартан) [33].

Во студијата на Menini S, *et al.*, изведена на експериментален модел на дијабетична нефропатија индуцирана со стрептозотозин кај стаорци е покажано дека една од главните патолошки промени, всушност претставува зголемената апоптоза во гломерулите, посебно изразена во подоцитите, во споредба со недијабетичните стаорци [34]. Постојат лимитиран број на експериментални студии на стаорци во кои било испитувано влијанието на комбинацијата АКЕ инхибитори/ARBs на реналните оштетувања кај дијабетична нефропатија индуцирана со стрептозотозин. Резултатите од овие испитувања покажале сигнификантно подобрување на реналната функција со комбинацијата во споредба со монотерапијата, во однос на клиренсот на креатининот, протеинуријата и реналната хистологија. Во однос на протеинуријата забележано е значајно намалување со комбинацијата АКЕ инхибитори/ARBs во однос на монотерапијата и тоа кај експерименталните модели каде што има сигнификантна протеинурија, за разлика од експерименталните модели каде што протеинуријата не била изразена како

што е кај хипертензивните ренални оштетувања [31,35-37]. Податоците добиени како од хуманите така и од анималните студии покажуваат комплексна слика во однос на потенцијалниот бенефит од третманот со комбинацијата АКЕ инхибитори/ARBs во остварувањето на ренопротективните ефекти. Се смета дека комбинацијата има подобри ефекти кај дијабетичната нефропатија и хиперпротеинуричните заболувања во однос на ефектот кај хипертензивните ренални оштетувања каде што овој третман нема додатен бенефит. Овие сознанија може да се должат на фактот што главна компонента во прогресијата на дијабетичната нефропатија е променетата рецепторна експресија на интратреналниот RAAS [38, 39], што ѝ дава поголема можност на двојната блокада на RAAS за подобар ефект кај дијабетот во однос на другите заболувања. Што се однесува до протеинуријата, гломеруларниот притисок кој е регулиран од RAAS-има големо значење и може да биде намален со комбинирана RAAS-блокада, со што се објаснуваат подобрите ефекти на комбинираната RAAS-блокада на протеинуријата [40].

Заклучок

Резултатите добиени и во оваа експериментална студија јасно потврдуваат дека двојната блокада на RAAS со ниски дози на АКЕ-инхибитор (периндоприл) и ARB (кандесартан) има синергистички ефект во остварувањето на ренопротективните ефекти. Таа манифестира сигнификантно поизразени ренопротективни ефекти во однос на монотерапијата со кој било од двата лека применети како монотерапија и би можела да претставува медикаментозна тераписка опција за третман на пациенти со дијабетична нефропатија.

Конфликт на интереси. Не е деклариран.

Литература

1. Fioretto P, Mauer M. Histopathology of diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 2007; 27: 195-207.
2. Mason RM, Wahab NA. Extracellular matrix metabolism in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1358-1373.
3. Kanwar YS, Wada J, Sun L, *et al.* Diabetic nephropathy: mechanisms of renal disease progression. *Exp Biol Med (Maywood)* 2008; 233(1): 4-11.
4. Mauer SM, Steffes MW, Ellis EN, *et al.* Structural-functional relationships in diabetic nephropathy. *J Clin Invest* 1984; 74: 1143-1155.
5. Ziyadeh FN, Goldfarb S. The renal tubulointerstitium in diabetes mellitus. *Kidney Int* 1991; 39: 464-475.
6. Remuzzi G, Bertani T. Pathophysiology of progressive nephropathies. *N Engl J Med* 1998; 339: 1448-1456.
7. Vanhoutte PM. Endothelium and control of vascular function: state of the art lecture. *Hypertension* 1989; 13: 658-667.

8. Hollenberg NK, Fisher ND, Price DA. Pathways for angiotensin II generation in intact human tissue. Evidence from comparative pharmacological interruption of the renin system. *Hypertension* 2000; 32: 387-392.
9. Huang XR, Chen WY, Truong LD, Lan HY. Chymase is upregulated in diabetic nephropathy; implications for an alternative pathway of angiotensin II-mediated diabetic renal and vascular disease. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1738-1747.
10. Van den Meiracker AH, Man in 't Veld AJ, Admiraal PJ, *et al.* Partial escape of ACE inhibition during prolonged ACE inhibitor treatment; does it exist and does it effect the antihypertensive response? *J Hypertens* 1992; 10: 803-812.
11. Nussberger J, Brunner DB, Wreber B, Brunner HR. Plasma angiotensins under sustained converting enzyme inhibition with enalapril in normal humans. *J Hypertens* 1985; 3(suppl): S269-S270.
12. Saito T, Sumithran E, Glasgow EF, Atkins RC. The enhancement of aminonucleoside nephrosis by the co-administration of protamine. *Kidney Int* 1987; 32: 691-699.
13. Nevin E, Selma Y, Melek O, *et al.* Effects of ACE inhibition on the expression of type IV collagen and laminin in renal glomeruli in experimental diabetes. *Acta Histochemica* 2004; 106 (4): 279-287.
14. Huang W, Yves G, Nadine B, *et al.* Genetically increased angiotensin I converting enzyme level and renal complications in the diabetic mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(23): 13330-13334.
15. Deckert T, Feldt-Rasmussen B, Borch-Johnsen K, *et al.* Albuminuria reflects widespread vascular damage: the Steno hypothesis. *Diabetologia* 1989; 32: 219-226.
16. Zatz R, Meyer TW, Rennke HG, Brenner BM. Predominance of hemodynamic rather than metabolic factors in the pathogenesis of diabetic glomerulopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985; 82: 5963-5967.
17. Deen WM, Lazzara MJ, Myers BD. Structural determinants of glomerular permeability. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 281: F579-F596.
18. Deen WM. What determines glomerular capillary permeability? *J Clin Invest* 2004; 114: 1412-1414.
19. Kefalides NA. Basement membrane research in diabetes mellitus. *Coll Relat Res* 1981; 1: 295-299.
20. Isogai S, Mogami K, Shiina N, Yoshino G. Initial ultrastructural changes in pore size and anionic sites of the glomerular basement membrane in streptozotocin-induced diabetic rats and their prevention by insulin treatment. *Nephron* 1999; 83: 53-58.
21. Menne J, Park JK, Boehne M, *et al.* Diminished loss of proteoglycans and lack of albuminuria in protein kinase C-deficient diabetic mice. *Diabetes* 2004; 53: 2101-2109.
22. Vernier RL, Steffes MW, Sisson-Ross S, Mauer SM. Heparan sulfate proteoglycan in the glomerular basement membrane in type 1 diabetes mellitus. *Kidney Int* 1992; 41: 1070-1080.
23. Pavenstadt H, Kriz W, Kretzler M. Cell biology of the glomerular podocyte. *Physiol Rev* 2003; 83: 253-307.
24. Patari A, Forsblom C, Havana M, Taipale H, Groop PH, Holthofer H. Nephropathy in diabetic nephropathy of type 1 diabetes. *Diabetes* 2003; 52: 2969-2974.
25. Koop K, Eikmans M, Baelde HJ, *et al.* Expression of podocyte-associated molecules in acquired human kidney diseases. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2063-2071.
26. Langham RG, Kelly DJ, Cox AJ, *et al.* Proteinuria and the expression of the podocyte slit diaphragm protein, nephrin, in diabetic nephropathy: effects of angiotensin converting enzyme inhibition. *Diabetologia* 2002; 45: 1572-1576.
27. Mifsud SA, Allen TJ, Bertram JF, *et al.* Podocyte foot process broadening in experimental diabetic nephropathy: amelioration with renin-angiotensin blockade. *Diabetologia* 2001; 44: 878-882.
28. Kelly DJ, Aaltonen P, Cox AJ, *et al.* Expression of the slit diaphragm protein, nephrin, in experimental diabetic nephropathy: differing effects of anti-proteinuric therapies. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1327-1332.
29. Ding G, Reddy K, Kapasi AA, *et al.* Angiotensin II induces apoptosis in rat glomerular epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 283: F173-F180.
30. Schiffer M, Mundel P, Shaw AS, Bottinger EP. A novel role for the adaptor molecule CD2-associated protein in transforming growth factor-beta-induced apoptosis. *J Biol Chem* 2004; 279: 37004-37012.
31. Zoja C, Corona D, Gagliardini E, *et al.* Adding a statin to combination of ACE inhibitor and ARG normalizes proteinuria in experimental diabetes, which translates into full renoprotection. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 299: F1203-F1211.
32. Suzuki J, Iwai M, Nakagami H, *et al.* Role of angiotensin II-regulated apoptosis through distinct AT1 and AT2 receptors in neointimal formation. *Circulation* 2002; 106(7): 847-853.
33. Eskild-Jensen A, Paulsen LF, Wogensen L, *et al.* AT1 receptor blockade prevents interstitial and glomerular apoptosis but not fibrosis in pigs with neonatal induced partial unilateral ureteral obstruction. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292 (6): F1771-F1781.
34. Menini S, Iacobini C, Oddi G, *et al.* Increased glomerular cell (podocyte) apoptosis in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus: role in the development of diabetic glomerular disease. *Diabetologia* 2007; 50(12): 2591-2599.
35. Erman A, Veksler S, Gaftor U, *et al.* Renin-angiotensin system blockade prevents the increase in plasma transforming growth factor beta 1 and reduces proteinuria and kidney hypertrophy in the streptozotocin-diabetic rat. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2004; 5(3): 146-151.
36. Toblli JE, DeRosa G, Cao G, *et al.* ACE inhibitor and angiotensin type I receptor antagonist in combination reduce renal damage in obese Zucker rats. *Kidney Int* 2004; 65(6): 2343-2359.
37. Zoja C, Coma D, Camozzi D, *et al.* How to fully protect the kidney in a severe model of progressive nephropathy: a multi-drug approach. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(12): 2898-2908.
38. Zimpelmann J, Kumar D, Levine DZ, *et al.* Early diabetes mellitus stimulates proximal tubule renin mRNA expression in the rat. *Kidney Int* 2000; 58(6): 2320-2330.
39. Wehbi GJ, Zimpelmann J, Carey RM, *et al.* Early streptozotocin-diabetes mellitus downregulates rat kidney AT2 receptors. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 280(2): F254-F265.
40. Schmerbach K, Kalak P, Wengenmayer C, *et al.* Renal Outcome in Equipotent Antihypertensive Treatment with Telmisartan, Ramipril and in Combination in SHR-SP. *Rats Clin Lab* 2012; 58: 625-633.

Оригинален труд

VARIATIONS IN LEVELS OF IL-6 AND HS-CRP IN CORONARY AND SYSTEMIC CIRCULATION IN PATIENTS WITH ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION

ВАРИЈАЦИИ ВО НИВОАТА НА IL-6 И HS-CRP ВО КОРОНАРНАТА И СИСТЕМСКА ЦИРКУЛАЦИЈА КАЈ ПАЦИЕНТИ СО АКУТЕН ИНФАРКТ НА МИОКАРДОТ

Hristo Pejkov¹, Sasko Kedev¹, Saso Panov², Elizabeta Srbinovska-Kostovska¹ and Irene Lang³

¹University Clinic of Cardiology, Medical Faculty-Skopje, ²Laboratory of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Natural Sciences-Skopje, University "Ss. Cyril and Methodius", Skopje, Republic of Macedonia, ³Cardiology Clinic, AKH-Vienna, Medical University Vienna, Austria

Abstract

Introduction. Endothelial injury is the earliest and clinically relevant pathophysiological process in the atherosclerosis development. The loss of biological activity of the endothelium causes reduction of nitric oxide and is related to increased expression of pro-thrombotic factors, pro-inflammatory adhesive molecules, cytokines and chemotactic factors. Cytokine such as the tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) or interleukin 1(IL-1) may stimulate the interleukin 6(IL-6) and interleukin 8(IL-8) expressions.

Methods. For the purposes of this study results of 38 patients with ST-elevation myocardial infarction were evaluated and compared during the period of 2009-2012. All patients included in the study underwent percutaneous coronary interventions and thromboaspiration.

Results. The average level of IL-6 in peripheral blood was $5,6 \pm 6,3$, with minimum of 0,29 and maximum 31,1. The peripheral blood samples showed higher values, the average being $14,9 \pm 25,8$; minimum 0,5 and maximum 144,2. According to the Mann-Whitney U test, the difference between the average levels of IL-6 in the peripheral blood samples and the culprit samples was statistically significant. The average value of CRP in the peripheral blood of patients was $3,1 \pm 3,7$; minimum 0,2 and maximum 15,37. The culprit sample showed higher values, the average being $2,48 \pm 3,3$; minimum 0,16 and maximum 15,1. According to the Mann-Whitney U test, the difference between the average values of CRP in the peripheral sample and the culprit sample was statistically insignificant.

Conclusions. These variations of IL-6 levels in coronary and systemic circulation indicate that IL-6 is produced at the site of ruptured plaque by endothelial cells, macrophages and vascular smooth muscle cells, whereas CRP has mainly hepatic origin and is driven locally by the process of phagocytosis.

Key words: IL-6, hs-CRP, acute myocardial infarction,

percutaneous coronary interventions

Апстракт

Вовед. Повредата на ендотелот претставува почетен и клинички релевантен патофизиолошки механизам во развојот на атеросклерозата. Губењето на биолошката активност на ендотелот предизвикува редукција на азотниот оксид и е поврзано со зголемена експресија на про-тромботичките фактори, про-инфламаторните адхезивни молекули, цитокини и хемотактични фактори. Примарните цитокини ја стимулираат продукцијата на IL-6, кој, пак, ја индуцира експресијата на хепаталните гени кои ја индуцираат експресијата на реактантите на акутната фаза каков што е C-реактивниот протеин (CRP).

Методи. За целите на оваа студија беа евалуирани и споредени резултатите од 38 пациенти со СТ-елевација миокарден инфаркт, третирани со перкутани коронарни интервенции и тромбواسпирација во периодот од 2009 до 2012 година.

Резултати. Средната вредност на IL-6 во периферната крв на испитуваните пациенти изнесуваше $5,6 \pm 6,3$ (ранг 0,29-31,1), во примероците од коронарната циркулација средната вредност на IL-6 беше повисока и изнесуваше $14,9 \pm 25,8$, (ранг 0,5-144,2). Според Mann-Whitney U тест разликите меѓу средните вредности на IL-6 во периферната и коронарната циркулација беа статистички значајни ($p=0,02$). Средната вредност на CRP во периферната крв на испитуваните пациенти изнесуваше $3,1 \pm 3,7$ (ранг 0,2-15,37), во примероците од коронарната циркулација средната вредност на CRP беше пониска и изнесуваше $2,48 \pm 3,3$, (ранг 0,16-15,1). Според Mann-Whitney U тест, разликите меѓу средните вредности на CRP во периферната и коронарната циркулација беа статистички незначајни.

Заклучок. Овие разлики во нивоата на IL-6 во коронарната и системската циркулација сугерираат

Correspondence to: Hristo Pejkov, University Clinic for Cardiology, "Vodnjaska" 17, 1000 Skopje, R. Macedonia; Phone: + 389 (0)2 3 11 31 16; E-mail: pejkovh@yahoo.com

дека IL-6 се продуцира на местото на руптурираната плака од страна на ендотекните клетки, макрофагите и васкуларните мазни мускулни клетки, додека ЦРП има потекло од хепарот и преку процесот на фагоцитоза се среќава на местото на руптурираната плака.

Клучни зборови: IL-6, hs-CRP, акутен инфаркт на миокард, перкутани коронарни интервенции

Introduction

Endothelial injury is the earliest and clinically relevant pathophysiological process in the atherosclerosis development [1]. There is an increased risk of cardiovascular diseases in patients with endothelial dysfunction [2]. The loss of biological activity of the endothelium causes reduction of nitric oxide and is related to increased expression of pro-thrombolytic factors, pro-inflammatory adhesive molecules, cytokines and chemotactic factors. Cytokines decrease bioavailability of NO, thus increasing the production of reactive oxygen groups (ROG). ROG reduce the activity of NO directly through oxidation modification of NO-synthetase or guanosine cyclase. The reduced bioavailability of NO influences the regulation of the expression of the vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1). VCAM-1 causes linking of monocytes and lymphocytes in the endothelium, which is actually the first step of vascular wall invasion [3].

Another effect of the NO is inhibition of the lymphocytes adhesion. The NO reduction also induces expression of the monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), which results in activation of the monocytes [4,5]. NO is in permanent equilibrium with endothelin 1 (ET1), which regulates the vascular tonus. Plasma concentrations of ET1 increase in patients with advanced atherosclerosis and these are in positive correlation with the seriousness of the disease. Except for vasoconstrictory action, ET1 causes adhesion of leukocytes and formation of thrombi [6].

With dysfunctional endothelium there is expression of E-selectin (stimulated by agonists as the thrombin) and E-selectin (induced by interleukin 1 (IL-1)) or tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) [7]. The expression of the intracellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) by the macrophages and the endothelium and the expression of VCAM-1 from the endothelial cells are induced by the inflammatory cytokines such as IL-1, TNF-alpha and interferon-gamma (IFN-gamma) [8].

Endothelial cells produce MCP-1, too, stimulating the factor of monocyte colony (M-CSF, monocyte colony stimulating factor) and interleukin 6 (IL-6) which strengthens the inflammatory cascade. The production of IL-6 by the smooth muscle cells is the main stimulus for production of C-reactive protein (CRP). The studies have shown that CRP plays a role in the pro-inflammatory

condition of the plaque through mediation of the monocyte activation and through stimulation of the monocytes that release IL-1, IL-6, and TNF-alpha [9]. The injured endothelium is the site where lipids freely enter the sub-endothelial area.

Cytokine such as the tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) or interleukin 1 (IL-1) may stimulate the interleukin 6 (IL-6) and interleukin 8 (IL-8) expressions. These cytokines are produced by neutrophils and macrophages located in the atheromatous plaques. They are derivatives of non-vascular sources and are reflection of generalised inflammatory conditions such as chronic infection, conditions related to atherogenesis and its clinical manifestations. The presence of vascular and extravascular sources of inflammatory cytokines is individual [10]. The primary cytokines (TNF-alpha), IL-1, stimulate production of endothelial cells, adhesive molecules, procoagulants and other mediators that are found in the circulation. The primary cytokines also stimulate production of messenger cytokin IL-6 which induces expression of hepatic genes leading to activation of the acute stage reactants such as C-reactive protein (CRP) found in the circulation. TNF-alpha also causes stimulation of IL-6 [11-13].

In acute coronary syndrome patients the leukocytes adhesion is increased, which points to strong inflammatory response in these patients.

Materials and methods

For the purposes of this study results of 38 patients with STEMI were evaluated and compared during the period of 2009-2012. All patients included in the study underwent percutaneous coronary interventions and thromboaspiration. The results of the inflammatory markers obtained in the coronary (culprit lesion) circulation and systemic circulation of random patients were compared. The levels of inflammatory markers in the systemic circulation after 6 months were considered as control group compared with the level of inflammatory markers in the coronary circulation with same patient.

The coronary angiographies and re-coronary angiographies were performed by standard procedures in the Laboratory for interventional cardiology, University Clinic of Cardiology, Skopje using Shinoby apparatus.

All percutaneous interventions were done by transradial approach.

After identification of the culprit lesion, 100 IU/kg heparin was applied. The culprit artery was entered with 6F guiding catheter and Guard Wire. Export catheter is 6F (1,37 mm internal lumen). At its proximal end a vacuum syringe is connected while the distal point during aspiration of the thrombus is a guide in front of the wire. When opening the vacuum syringe with simple mechanical aspiration, the thrombus is eliminated from the coronary artery. PCI was performed by pre-dilatation and installing of one or more stents.

Blood Collection and Plaque Aspiration

The blood samples were collected according to the following protocol. Firstly, sample was taken from the radial artery, which is peripheral blood. Samples from the occlusion areas were taken with the first aspiration immediately at entering into the lesion; the second aspiration was done during passing through the lesion. Aspiration catheter Export was used for the thrombus aspiration. To this end, syringe filled with air was applied in order to evade thrombus dilution. For prevention of thrombi adherence for the lumen, clearance with physiological solution was used prior to the next passing through with the catheter. The separation of the aspirated plaque from the blood was made by "seeding through" technique using filter with pores of 40mm. The heparinized blood was centrifuged and the obtained serum was frozen at -20C for further analysis of specific parameters.

Immunochemical Analyses

For the study objectives, the following parameters were examined:

- High sensitive CRP
- Interleukin 6 (IL-6)

Hs-CRP was determined on Roche-Integra analyzer using commercial tests from Roche Diagnostics GmbH with maximum coefficients varying from 2,8-5,8%.

For detection of specific antibodies to IL-6, Immulite system was used from DPC, LA, USA. The Immulite system

uses essay-specific antibodies or antigens put on plastic ball carriers as solid stage, reagent marked with alkaline phosphatase and chemiluminescent enzyme-substrate. The ball carrier is located in a test unit, which is a vessel in which the immune reaction is ongoing, the incubation, the procedure of clearance as well as creation of light signal. The whole process in the Immulite system is automated. After application of previously dissolved serum, the dissolving is equal for all antigens (1:20) in the test unit; incubation with alkaline phosphatase follows, then liquid mixture is swiftly separated from the ball carrier in the process of clearance when the test unit rolls with fast speed by its vertical axis. The unnecessary liquid is collected in the appropriate chamber of the test unit, the ball carrier is free and contains only the bound to itself specific antibody. Then the bound antibodies are quantified with substrate which produces light. The lighting emission detects the photo multiplication tube, and the report for each sample is generated in its computer system. The interpretation of the results is as following: if the value is $<0,9$, the result is negative. If the value is $\geq 1,1$, the result is positive regarding presence of specific antibodies. IL-6 was analyzed on Immulite 2000 analyzer with application of chemiluminescent method by DPC with maximum coefficient of variation of 11%.

Results

We evaluated and compared 38 patients with STEMI, 34(89,4%) were males and 4(10,5%) were females. The average age of patients was 51 years (Figure 1).

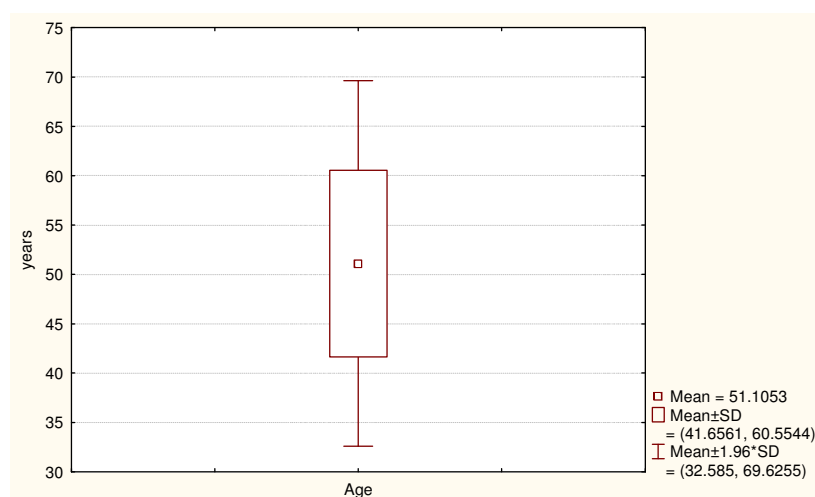


Fig. 1. Graphic presentation of patients' average age

The average value of IL-6 in peripheral blood of patients was $5,6 \pm 6,3$, with minimum of 0,29 and maximum 31,1. The peripheral blood samples showed higher values, the average being $14,9 \pm 25,8$, where the minimum was 0,5 and maximum 144,2. The difference between the average values of IL-6 in the peripheral samples and the culprit samples was statistically significant ($p < 0,01$). The average

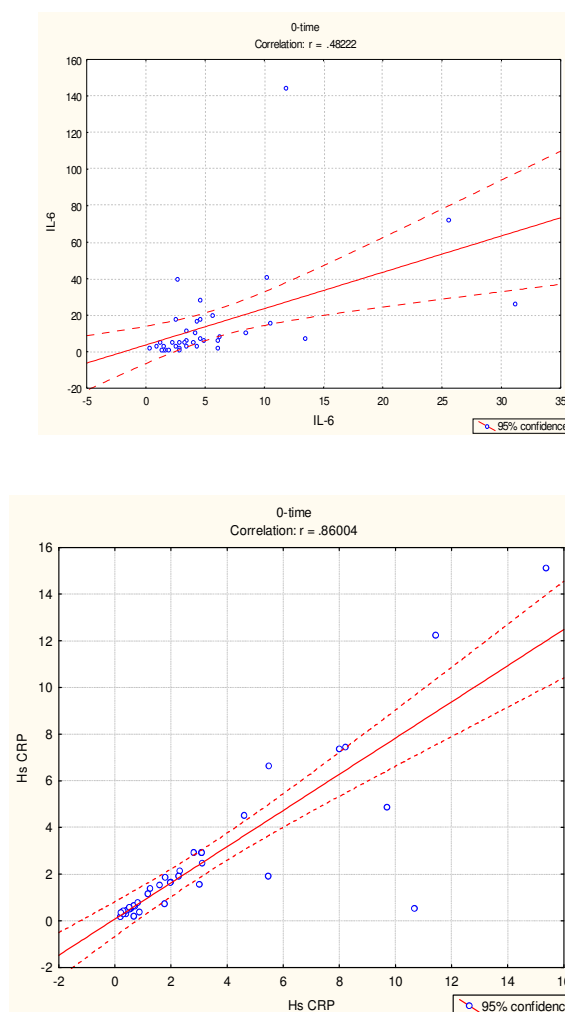
value of CRP in the peripheral blood of patients was $3,1 \pm 3,7$, minimum 0,2 and maximum 15,37. The culprit sample showed lower values, the average being $2,48 \pm 3,3$, with minimum of 0,16 and maximum 15,1. The difference between the average values of CRP in the peripheral samples and the culprit samples was statistically insignificant ($p > 0,01$) (Tables 1, 2 Figure 2).

Table 1. Average values of molecular parameters in peripheral samples and culprit samples – acute phase

Acute phase	Variable	Valid N	Mean	Minimum	Maximum	Std.Dev.
Peripheral samples	IL-6	38	5,60763	0,29	31,13	6,25902
	hs-CRP	38	3,10237	0,2	15,37	3,68248
Culprit samples	IL-6	38	14,88789	0,5	144,2	25,81322
	hs-CRP	38	2,48053	0,16	15,1	3,32141

Table 2. The difference in molecular parameters in peripheral samples and culprit samples-acute phase

Variable	Rank Sum Group 1	Rank Sum Group 2	U	Z	p-level
IL-6	1249,000	1677,000	508,0000	-2,22318	0,026204
hs-CRP	1561,500	1364,500	623,5000	1,02329	0,306172

**Fig. 2.** Correlation of molecular parameters in peripheral samples and culprit samples in acute phase

The average value of patients' IL-6 in peripheral sample after 6 months was $3,7 \pm 3,9$, with minimum of 1,13 and maximum 19,5. The peripheral sample showed higher values, the average being $4,1 \pm 4,5$, where the minimum was 1,58 and maximum 26,63. The difference between the average values of IL-6 in the peripheral samples and the coronary samples was statistically insignificant ($p > 0,01$). The average value of the patients' Hs-CRP in the periphe-

ral blood after 6 months was $1,7 \pm 2,7$, minimum 0,07 and maximum 12,6. The intracoronary sample showed higher values, the average being $1,6 \pm 2,5$, with minimum of 0,1 and maximum of 10,62. The difference between the average values of Hs-CRP in the peripheral sample and the coronary sample was statistically insignificant ($p > 0,01$) (Tables 3, 4). Three patients (7,9%) died at 6 months follow-up.

Table 3. Average values of molecular parameters in peripheral samples and coronary samples after 6 months

After 6 months	Variable	Valid N	Mean	Minimum	Maximum	Std.Dev.
Peripheral sample	IL-6	35	3,68371	1,13	19,49	3,89559
	hs-CRP	35	1,70294	0,07	12,6	2,74421
Culprit sample	IL-6	35	4,07886	1,58	26,63	4,51393
	hs-CRP	35	1,59971	0,1	10,62	2,46252

Table 4. Difference in molecular parameters in peripheral sample and coronary sample after 6 months

Variable	Rank Sum Group 1	Rank Sum Group 2	U	Z	p-level
IL-6	1145.000	1340.000	515.0000	-1.14524	0.252109
hs-CRP	1250.000	1235.000	605.0000	0.08810	0.929801

Discussion

The plaque rupture in acute myocardial infarction triggers inflammatory processes, which are driven from the endothelial dysfunction. The role of CRP is still controversial, is CRP a mediator of a disease or a marker of an inflammatory process? In our study the levels of hs-CRP from the coronary circulation were notably lower compared to the levels of IL-6 from the same blood samples. The reason for the decreased levels of hs-CRP in coronary circulation may be that the occluded artery represents a closed environment and hence prevents systemic hs-CRP reach the occluded artery as well as the increased local uptake of hs-CRP in the process of plaque formation. CRP is one of the most important acute stage reactants in people. Although CRP is mainly produced in the liver as a response to injury or infection, it may also be found in the wall of the blood vessels, synthesised by macrophages and smooth muscle cells. Studies of Burke and Jabs showed presence of CRP in the atherosclerotic lesions and the atherectomy samples [14]. In the atherogenesis process, CRP is mobilizing LDL from the artery wall [15]. CRP is involved directly in the intra-plaque inflammatory process through stimulating monocytes to release inflammatory cytokines, while through LDL opsonization, [16] CRP is a promotor of foam cells formation. CRP, through activation of the complement, leads to further progression and destabilization of the atherosclerotic plaques [17]. IL-6 is a cytokine which has a role in the humoral and cellular immunity. It is produced as a response to many factors among which are infection, IL-1, Interferon gamma and TNF-alpha [18]. Interleukin 6 is a central mediator to the response of the acute stage and primary determinant of the hepatic production of CRP. Although increased levels of IL-6 are found in some chronic inflammatory conditions, experimental studies indicate that vascular endothelia and smooth muscle cells from normal arteries and arteries with atherosclerotic lesions produce interleukin 6. Interleukin 6 gene transcripts are expressed in atherosclerotic lesions [19]. Prospective studies of healthy and high-risk patients indicate that increased levels of CRP, as marker of the IL-6 activity, are related to coronary and cerebrovascular incidence [18,19]. The in-

creased production of interleukin 6 from the endothelium and the smooth muscle cells has direct effects on the proliferation of the plaque and its stability. In the FRISC II study, IL-6 has been reported to be an independent predictor of mortality in ACS patients. Application of early invasive strategy in patients with increased levels of IL-6 results in dramatic (65%) reduction of mortality after one-year follow-up [20,21].

Conclusions

Inflammatory processes play a pivotal role in all stages of atherosclerosis. Many risk factors trigger inflammatory reactions and injury to the endothelium. Levels of high sensitive CRP in systemic circulation and in blood samples from coronary arteries were approximately equal, while levels of IL-6 were higher in coronary compared to systemic circulation. These variations of IL-6 levels in coronary and systemic circulation suggested that IL-6 is produced at the site of ruptured plaque by endothelial cells, macrophages and vascular smooth muscle cells, whereas CRP has mainly hepatic origin and is driven locally by the process of phagocytosis. These findings suggest that many risks initiate activation of local inflammatory process in coronary vessels which leads to plaque rupture, formation of thrombi and occlusion of coronary arteries and developing of ischemia and acute myocardial infarction. Growing evidence suggests that elevated plasma levels of vascular wall inflammation markers may help to predict future risk of plaque rupture.

Conflict of interest statement. None declared.

References

1. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-126.
2. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF Jr, Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 1149-1160.
3. Stocker R, Keaney JF Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004; 84: 1381-1478.

4. Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of Leucocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 4651-4655.
5. Zeiher AM, Fisslthaler B, Schray-Utz B, Busse R. Nitric oxide modulates the expression of monocyte chemoattractant protein 1 in cultured human endothelial cells. *Circ Res* 1995; 76: 980-986.
6. Halim A, Kanayama N, el Maradny E, *et al.* Coagulation in vivo microcirculation and in vitro caused by endothelin-1. *Thromb Res* 1993; 72: 203-209.
7. Benagiano M, D'Elios MM, Amedei A, *et al.* Human 60-kDa heat shock protein is a target autoantigen of T cells derived from atherosclerotic plaques. *J Immunol* 2005; 174: 6509-6517.
8. Hansson GK, Libby P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol* 2006; 6: 508-519.
9. Verma S, Devaraj S, Jialal I. Is C-reactive protein an innocent bystander or proatherogenic culprit? C-reactive protein promotes atherothrombosis. *Circulation* 2006; 113: 2135-2150.
10. Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in Atherosclerosis: Pathogenic and Regulatory Pathways. *Physiol Rev* 2006; 86: 515-581.
11. Kolodgie FD, Narula J, Burke AP, *et al.* Localization of apoptotic macrophages at the site of plaque rupture in sudden coronary death. *Am J Pathol* 2000; 157: 1259-1268.
12. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420: 868-874.
13. Naghavi M, Libby P, Falk E, *et al.* From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: part II. *Circulation* 2003; 108: 1772-1778.
14. Norja S, Nuutila L, Karhunen PJ, Goebeler S. C-reactive protein in vulnerable coronary plaques. *J Clin Pathol* 2007; 60: 545-548.
15. Ortolani P, Marzocchi A, Marrozzini C, *et al.* Predictive value of high sensitivity C-reactive protein in patients with ST-elevation myocardial infarction treated with percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J* 2008; 29: 1241-1249.
16. Doroteia S, de Lacerda PA. High-sensitivity C-reactive protein as a biomarker of risk in coronary artery disease. *Rev Port Cardiol* 2012; 31: 733-745.
17. Lopez-Cuenca A, Manzano-Fernandez S, Lip GY, *et al.* Interleukin-6 and High-sensitivity C-reactive Protein for the Prediction of Outcomes in Non-ST-segment Elevation Acute Coronary Syndromes. *Rev Esp Cardiol* 2013; 66(3): 185-192.
18. Shantsila E, Tapp LD, Wrigley BJ, *et al.* Receptors to interleukin-6 and adhesion molecules on circulating monocyte subsets in acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2013; 110(2): 340-348.
19. Anderson DR, Poterucha JT, Mikuls TR, *et al.* IL-6 and its receptors in coronary artery disease and acute myocardial infarction. *Cytokine* 2013; 62(3): 395-400.
20. FRISC II investigators. Fragmin and Fast Revascularization during Instability in Coronary artery disease. *Lancet* 1999; 354: 701-707.
21. Dutta P, Courties G, Wei Y, *et al.* Myocardial infarction accelerates atherosclerosis. *Nature* 2012; 487(7407): 325-329.

Оригинален труд

ПРЕВЕНЦИЈА НА ПОСТ-ЕНДОСКОПСКА РЕТРОГРАДНА ХОЛАНГИОПАНКРЕАТОГРАФИЈА ПАНКРЕАТИТ

PREVENTION OF POST-ENDOSCOPIC RETROGRADE CHOLANGIOPANCREATOGRAPHY PANCREATITIS

Ѓорги Дерибан, Урим Исахи, Владимир Андреевски, Јане Мишевски, Емилија Николовска, Мирко Крстевски и Ненад Јоксимовиќ

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

Апстракт

Вовед. Акутниот панкреатит се јавува во 5-15% од случаите по ендоскопска ретроградна холангиопанкреатографија (ЕРЦП) и ја претставува најчестата сериозна компликација по ЕРЦП. Ендоскопската интервенција може да резултира со едем и компрометирана дренажа на панкреасниот канал што претставува важен фактор во патогенезата на панкреатитот. Панкреасните стентови имаат цел механички да ја превенираат компрометираната дренажа со што го намалуваат ризикот за пост-ЕРЦП панкреатит. Целта на трудот е да се прикаже искуството на нашата клиника со панкреасните стентови во превенција на пост-ЕРЦП панкреатит и да се даде краток преглед на останатите опции за превенција на пост-ЕРЦП панкреатит.

Методи. Во трудот се вклучени вкупно 10 пациенти кај кои поради висок ризик за пост-ЕРЦП панкреатит е поставен панкреасен стент. Панкреасните стентови беа полиетиленски, 7 френчни, со флап на дисталниот крај и вкупна должина од 5 cm.

Резултати. Кај 10 пациенти со повеќекратни неуспешни обиди за билијарна канилација или прикат-папилотомија или пак, повторени (повеќе од три) панкреасни канилации беше поставен панкреасен стент. Кај 6 пациенти, по поставувањето на панкреасниот стент, во текот на истата интервенција успешно се канилираше и билијарното стебло. При второто ЕРЦП, кај двајца пациенти успешно се канилираше билијарното стебло, додека кај другите два пациента и повторниот обид остана без успешен. Кај ниту еден пациент не се јави тежок пост-ЕРЦП панкреатит.

Заклучок. Нашите првични искуства укажуваат дека панкреасните стентови имаат ефект во превенција на пост-ЕРЦП панкреатитот.

Процентот на пост-ЕРЦП панкреатит кај селектирани ризични пациенти изнесува и до 20,5%. Со поставувањето на панкреасен стент кај нашите високо ризични пациенти, во ниту еден случај не се јави умерен или тежок пост-ЕРЦП панкреатит. Останува во натамошни студии да се потврди ефикасноста на панкреасните стентови во превенција на пост-ЕРЦП панкреатитот, но и да се процени дали треба да се прошират индикациите за панкреасното стентирање.

Клучни зборови: ЕРЦП, панкреатит, панкреасни стентови

Abstract

Introduction. Acute pancreatitis presents the most common complication after endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) occurring in 5-15% of patients. Instrumental manipulation during the procedure may result in edema of the papilla and/or pancreatic duct causing impairment of the pancreatic drainage. Impaired pancreatic drainage plays an important role in the pathogenesis of acute pancreatitis. Pancreatic stents aim to preserve outflow of the pancreatic juice thereby reducing post-ERCP pancreatitis. This paper presents our experience with the efficacy of pancreatic stents in reducing post-ERCP pancreatitis and outlines further options for prevention of post-ERCP pancreatitis.

Methods. In ten patients with increased risk for post-ERCP pancreatitis pancreatic stents were placed. Risk factors for post-ERCP pancreatitis were difficult cannulation or repeated (more than 3) pancreatic cannulations or precut papillotomy. The inserted stents were flanged with a diameter of 7 F and total length of 5 cm.

Results. In 6 out of 10 patients, after multiple attempts for biliary cannulation or repeated pancreatic cannulations, a pancreatic stent was placed and subsequently the bile duct was cannulated. In the remaining 4 patients a pan-

creatic stent was placed and biliary cannulation attempted during repeat ERCP. In two patients biliary cannulation succeeded in the second ERCP while in the other two cannulation failed. None of these 10 patients had moderate or severe post-ERCP pancreatitis.

Conclusions. According to our initial experience, pancreatic stents showed efficacy in preventing post-ERCP pancreatitis. None of our stented patients developed post-ERCP pancreatitis while this complication occurs in about 20,5% of unstented (high risk) patients. Further experience is required to confirm our promising initial data and to assess if this technique also reduces post-ERCP pancreatitis in unselected patients.

Key words: ERCP, pancreatitis, pancreatic stent

Вовед

Пост-ЕРЦП панкреатитот се дефинира како де ново настанат акутен панкреатит по ЕРЦП. Се јавува во 5-15% од случаите по ЕРЦП [1] и се карактеризира со јака панкреасна абдоминална болка и барем трикратен пораст на амлазите настанати во текот на 24 часа по ЕРЦП [2]. За разлика од пост-ЕРЦП панкреатитот, транзиторната хиперамилаземија се јавува во 75% од случаите по ЕРЦП и е безначајна [3]. Andriulli *и сор.* во систематски преглед на студии нашле дека пост-ЕРЦП панкреатитот во 45% е лесен панкреатит, во околу 44% умерено тежок панкреатит, додека во 11% е тежок панкреатит. Морталитетот кај пациентите со пост-ЕРЦП панкреатит, во овој систематски преглед на студии со вкупно 16885 пациенти, бил 3% [4]. Патофизиологијата на пост-ЕРЦП панкреатитот вклучува ризик-фактори поврзани со пациентот и ризик-фактори поврзани со интервенцијата. Според Masci *и сор.* во мета-анализа од 15 студии [5] како значајни фактори на ризик од страна на пациентот се идентифицирани дисфункција на Одиевиот сфинктер (RR 4,09, 95% CI 3,37-4,96), претходен панкреатит (RR 2,46, 95% CI 1,93-3,12), женски пол (RR 2,23, 95% CI 1,75-2,84), возраст под 60 години (OR 1,5, 95% CI 1,046-2,103) и отсуство на хроничен панкреатит (OR 1,87, 95% CI 1,00-3,48). Фактори на ризик поврзани со интервенцијата се прикат-папилотомија (RR 2,71, 95% CI 2,02-3,63), инјектирање на контраст во панкреасниот канал (RR 2,2, 95% CI 1,6-3,01), повеќекратни (повеќе од 10) обиди за канилација (OR 14,9, 95% CI 10,50-21,26), болка во тек на ЕРЦП (OR 1,9, 95% CI 1,113-3,438), папилотомија на минорната папила (OR 3,82, 95% CI 2,003-7,106) и опацификација на секундарните панкреасни канали. Ризик-факторите се кумулативни, така што пациент

со повеќе ризик-фактори има исклучително голем ризик за пост-ЕРЦП панкреатит.

Ойции за редуција на йосй-ЕРЦП йанкреаийий

Постојат повеќе фармаколошки агенси чие дејство се испитува во однос на превенирањето на пост-ЕРЦП панкреатитот. Нестероидните антиревматици (НСАИД) се потентни инхибитори на проинфламаторните медијатори фосфолипаза А(2) и простагландин и поради ваквото нивно својство се испитуваат во превенција на пост-ЕРЦП панкреатит [6]. Elmunzer *и сор.* во метаанализа од 4 студии со вкупно 912 пациенти нашол дека профилактичкото давање на НСАИД ефективно го редуира пост-ЕРЦП панкреатитот (RR 0,36 по ректално аплицирање на НСАИД 0,36) [7]. Глицерил тринитрат како мазно мукулен релаксанс има својство да го снижува притисокот на Одиевиот сфинктер, но во моментов поради контрадикторните резултати во однос на успешноста на превенирање на пост-ЕРЦП панкреатит [8-11] не се препорачува за рутинска превенција. Соматостатинот и неговиот синтетски аналог октреотидот се потентни инхибитори на егзокрината панкреасна секреција со што би можело да влијаат врз патогенезата на акутниот панкреатит [12]. Резултатите од повеќе студии [13-16] засега не дадоа доволно потврда за нивната ефикасност во превенирање на пост-ЕРЦП панкреатитот, но во препораките на Европското здружение за гастроинтестинална ендоскопија (ESGE) е напоменато дека се потребни повеќе студии за да се процени ефектот на октреотидот даден во доволно високи дози (над 0,5mg) [17]. Протеазните инхибитори габексат, улинастатин и нафамостат мезилат имаат својство да превенираат активирање на трипсин поради што би можеле да бидат од корист во превенција и третман на пост-ЕРЦП панкреатитот. Сепак досегашните студии покажале само умерен ефект во превенција на пост-ЕРЦП панкреатитот, при што овие лекови имаат многу висока цена, а нивната апликација е непрактична (долготрајни континуирани инфузии) така што засега не е можно да се препорача нивна рутинска примена [18,19]. Сумирано, фармаколошката превенција на пост-ЕРЦП панкреатитот засега е ограничена на ректални НСАИД [20]. Останатите наведени препарати се недоволно ефективни, тешко достапни и со непрактична апликација и/или многу висока цена.

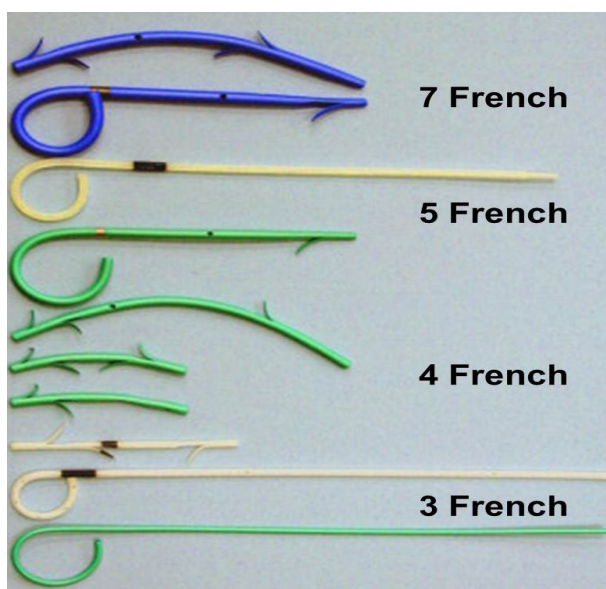
Технички асйектйи йри ЕРЦП за редуција на йосй-ЕРЦП йанкреаийий

Канилација со атрауматска жица-водич наместо инјектирање на контраст, независно дали се рабо-

ти за високо или нискоосмоларен контраст [21], овозможува да се намали бројот на контрастни инјектирања во панкреасниот канал [22] со што се намалува и ризикот за пост-ЕРЦП панкреатит [23,24]. Засега нема консензус со кој тип струја треба да се изведува сфинктеротомијата за да се намали ризикот од пост-ЕРЦП панкреатит [25-29].

Панкреасно сџенџирање

Панкреасните стентови иницијално беа дизајнирани и користени во третман на стриктури или руптури на панкреасниот канал. Откако почнаа зачестено да се употребуваат, експертите забележаа дека со нивната примена се превенираат и епизоди, особено на тежок, пост-ЕРЦП панкреатит. По неколку години овој "експертски став" почна да се потврдува и со резултатите од рандомизирани контролирани студии, а потоа и метаанализи [30,31]. Во метаанализа од 5 проспективни студии со вкупно 483 пациенти ризикот за пост-ЕРЦП панкреатит кај нестентирани пациенти бил три пати повисок наспроти групата на пациенти со панкреасен стент (15,5% vs. 5,8%; OR 3,2: 95%) [32]. Користените панкреасни стентови имаат дијаметар од 3 до 7 френчи и должина од 2 до 8 цм. Долгите панкреасни стентови се елиминираат спонтано во 80-85%, додека кратките стентови во над 90% од случаите (Слика 1).



Сл. 1. Панкреасни стентови со дијаметар од 3 до 7Ф

Според некои студии пласирањето на панкреасен стент доведува до морфолошки алтерации на каналниот систем еднакви на оние кај хроничен панкреатит [33], но резултатите од други студии не ги потврдиле ваквите наоди така што податоците се контрадикторни т.е. инконклузивни. Наспроти сомнението за можни алтерации на канал-

ниот систем, ефектот на панкреасните стентови во превенција на пост-ЕРЦП панкреатитот е несомнено докажан. Поради тоа механичката превенција на пост-ЕРЦП панкреатитот е индицирана кај состојбите асоцирани со висок ризик за појава на пост-ЕРЦП панкреатит [31,34].

Механичката превенција на пост-ЕРЦП панкреатит со панкреасни стентови за прв пат се применува на Клиниката за гастроентерохепатологија од 2012 година. Во натамошниот текст ќе биде прикажано нашето искуство со панкреасните стентови во превенција на пост-ЕРЦП панкреатитот.

Материјал и методи

Во трудот се вклучени вкупно 10 пациенти, кај кои заради висок ризик за пост-ЕРЦП панкреатит е поставен панкреасен стент. Состојби со висок ризик за пост-ЕРЦП панкреатит кај нашите пациенти беа тешка канилација (со 10 или повеќе обиди за канилација), над три панкреасни канилации (со две или повеќе опацификации на панкреасниот канал) и прикат-папилотомија. Сите ЕРЦП процедури се работени во Кабинетот за билијарна ендоскопија на Клиниката за гастроентерохепатологија (ГЕХ) во Скопје. Интервенциите се работени со Olympus TJF 145 или Pentax видеоудоденоскопи. Користените панкреасни стентови беа пластични (полиетиленски), со дијаметар од 7 френчи, со флап на дисталниот крај (за -



Сл. 2. ЕРЦП приказ на пласиран панкреасен стент (десно) и билијарен стент. Заради стеноза на дисталниот холедох беше отежната канилацијата на билијарното стебло поради што беше потребно да се пласира панкреасниот стент за потоа успешно да се пласира и билијарниот стент

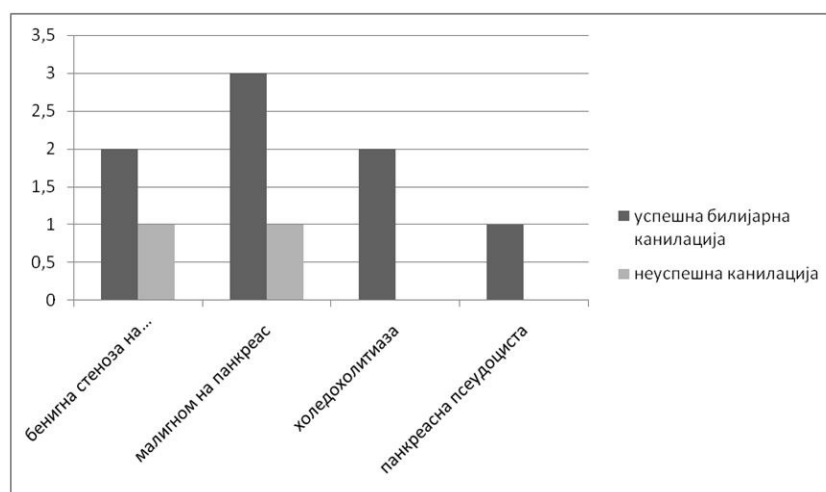
ради спречување на проксимална миграција) и вкупна должина од 5 цм. Жиците водилки беа со дијаметар од 25 или 35 инчи. Пациентите беа седирани со премедикација Мидазолам/Бутилско-паламид со пулсоксиметриско мониторирање (без присуство на анестезиолог). Сите пациенти, откако беа детално запознаени со очекуваниот бенефит, но и можните ризици и компликации од методата имаа дадено писмена согласност за интервенцијата.

Резултати

Кај 10 пациенти, заради тешка канилација со повеќекратни неуспешни обиди да се влезе во би-

лиопанкреатичниот канален систем, поставен е панкреасен стент при влезот во панкреасниот канал. Кај 6 пациенти во тек на првото ЕРЦП, откако е поставен панкреасен стент, успешно е канилирано и билијарното стебло. Кај 2 пациенти во второто ЕРЦП успешно се канилираше билијарното стебло, додека кај другите два и повторениот обид остана безуспешен.

Кај ниту еден од пациентите со панкреасен стент не е регистриран умерен или тежок пост-ЕРЦП панкреатит. Панкреасните стентови беа оставени спонтано да се елиминираат, т.е. добриот клинички тек не наложи во ниту еден случај ендоскопска екстракција (Слика 2, Графикон 1).



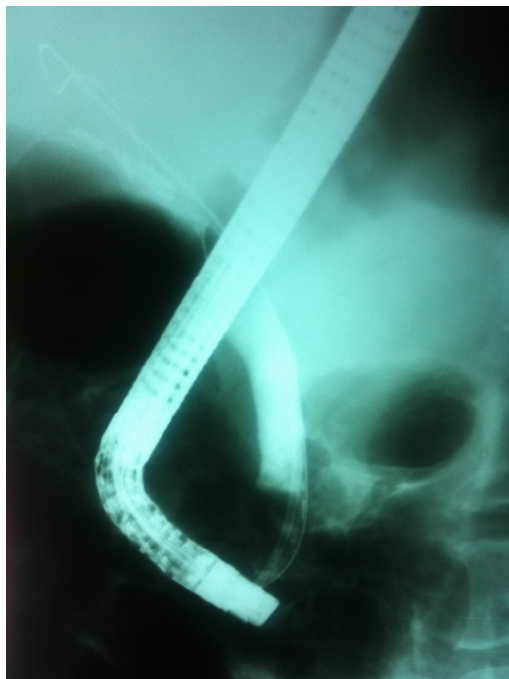
Граф. 1. Преглед на дијагнози кај пациентите со тешка канилација и ризик за пост-ЕРЦП панкреатит, кај кои беа поставени панкреасните стентови

Дискусија

Наведените 10 случаи се пациенти со тешка канилација, при што беа потребни повеќе обиди, подолго време на манипулирање или претходеа повеќекратни панкреасни канилирања пред да се канилира билијарното стебло. Пролонгираното манипулирање и механичката иритација можат консекутивно да доведат до едем на периампуларното ткиво и панкреасниот канал што претставува значаен ризик-фактор за појава на пост-ЕРЦП панкреатит. Процентот на пост-ЕРЦП панкреатит кај вака селектирани пациенти изнесува и до 20,5% [35]. Панкреасните стентови имаат цел механички да ја превенираат компромитираната дренажа со што го намалуваат ризикот за пост-ЕРЦП панкреатит. Поставувањето на панкреасен стент го попречува и повторното навлегување на акцесориите/жицата-водилка во панкреасниот канал со што се превенира натамошна иритација на панкреасот. Панкреасниот стент ја олеснува и канилацијата на холедохот придонесувајќи процентот на успешна билијарна канилација кај нашите пациенти да изнесува 80%. Со

оглед дека се работи за селектирани случаи со тешка канилација, 80% на успешност е задоволително и е компарабилно со публикуирани студии од големи центри [35]. Со поставувањето на панкреасен стент, во нашата група од 10 вискоризични пациенти не се јави во ниту еден случај на умерен или тежок пост-ЕРЦП панкреатит. Користените панкреасни стентови беа со дијаметар од 7 френчи и должина од 5 цм. Ваквите димензии на стентовите овозможуваат пласирање и преку 35-инчна жица, односно истата жица која ја користиме и низ папилотомот при обидот за билијарна канилација. Притоа е доволно врвот на жицата да е навлезен само 6-7 цм во панкреасниот канал. Пласирањето на долги стентови бара како предуслов жицата-водилка да е внесена многу подлабоко во панкреасниот канал што при постоење на остри колена на панкреасниот канал може да биде технички многу тешко изводливо или невозможно. Користењето на кратки стентови ни овозможи обидот за панкреасно стентирање, кај сите пациенти со панкреасна канилација, да заврши успешно. Кратката димензија на стентовите овозможи кај сите пациенти спонтана

елиминација, а добриот клинички тек укажува дека не би се очекувале промени на панкреасниот канал во смисла на хроничен панкреатит (Слика 3).



Сл. 3. Приказ на пласиран стент во панкреасниот канал и жица водилка во холедох. Причина за тешка канилација во наведениот случај беше долгиот паралелен тек на двата канали поради што повеќекратно се канилираше панкреасниот канал. По поставување на панкреасен стент успешно се канилираше и холедох

Заклучок

Нашите искуства со поставувањето на панкреасни стентови укажуваат дека методата е безбедна и има ефект во превенција на пост-ЕРЦП панкреатитот. Со оглед дека се работи за првични искуства на мал број стентирани пациенти не е можно да се наведе со колкав процент е намален ризикот за пост-ЕРЦП панкреатит. Сепак, отсуството на пост-ЕРЦП панкреатит и добриот клинички тек во оваа ризична група на пациенти се во согласност со резултатите од метаанализи [32] и охрабруваат оваа метода да стане рутинска пракса во превенција на пост-ЕРЦП панкреатит на нашата клиника.

Опциите за превенција на пост-ЕРЦП панкреатитот на Клиниката за гастроентерохепатологија бележат континуирана надградба. Медикаментозната превенција со НСАИД супозитории во изминативе 5 години е веќе воспоставена пракса. Сознанијата за високоризичен профил на пациент за пост-ЕРЦП панкреатит се почитуваат и во нејасни случаи се применуваат неинвазивни или помалку ризични процедури (МРЦП, ендоскопски ултразвук)-потврда за ова се наоѓа и во податокот дека на дијагностичките ЕРЦП на Кли-

никата за ГЕХ отпааѓаат помалку од 5%. Канилацијата со атрауматска жица водилка, наместо контрастно инјектирање, во изминативе 3-4 години стана рутинска пракса. Од 2012 година во превенција на пост-ЕРЦП панкреатитот е додадена и механичката превенција со стентирање на панкреасниот канал. Нашите првични искуства се позитивни, останува во натамошни студии да се потврдат ваквите резултати, но и да се побара одговор на прашањата: дали постојат и како би изгледале (димензии, форма, материјал) "идеалните" панкреасни стентови и дали треба да се прошират или/и редефинираат индикациите за панкреасното стентирање.

Конфликт на интереси. Не е деклариран.

Литература

1. Tamasky PR. Mechanical prevention of post-ERCP pancreatitis: results, techniques, and indications. *JOP* 2003; 4: 58-67.
2. Cotton PB, Lehman G, Vennes J, *et al.* Endoscopic sphincterotomy complications and their management: an attempt at consensus. *Gastrointest Endosc* 1991; 37(3): 383-393.
3. Lopperfido S, Costamagna G. "Post-ERCP pancreatitis" *UpToDate* 2013.
4. Andriulli A, Loperfido S, Napolitano G, *et al.* Incidence rates of post-ERCP complications: a systematic survey of prospective studies. *Am J Gastroenterol* 2007; 102(8): 1781-1788.
5. Masci E, Mariani A, Curioni S, *et al.* Risk factors for pancreatitis following endoscopic retrograde cholangiopancreatography: a meta-analysis. *Endoscopy* 2003; 35(10): 830-834.
6. Cheon YK, Cho KB, Watkins JL, *et al.* Efficacy of diclofenac in the prevention of post-ERCP pancreatitis in predominantly high-risk patients: a randomized double-blind prospective trial. *Gastrointest Endosc* 2007; 66(6): 1126-1132.
7. Elmunzer BJ, Waljee AK, Elta GH, *et al.* A meta-analysis of rectal NSAIDs in the prevention of post-ERCP pancreatitis. *Gut* 2008; 57(9): 1262-1267.
8. Moreto M, Zaballa M, Casado I, *et al.* Transdermal glyceryl trinitrate for prevention of post-ERCP pancreatitis: a randomized double-blind trial. *Gastrointest Endosc* 2003; 57(1): 1-7.
9. Bai Y, Xu C, Yang X, *et al.* Glyceryl trinitrate for prevention of pancreatitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography: a meta-analysis of randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *Endoscopy* 2009; 41(8): 690-695.
10. Bang UC, Nojgaard C, Andersen PK, *et al.* Meta-analysis: nitroglycerin for prevention of post-ERCP pancreatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29: 1078-1085.
11. Shao LM, Chen QY, Chen MY, *et al.* Nitroglycerin in the prevention of post-ERCP pancreatitis: a meta-analysis. *Dig Dis Sci* 2010; 55(1): 1-7.
12. Tulassay Z, Papp J. The effect of long-acting somatostatin analogue on enzyme changes after endoscopic pancreatography. *Gastrointest Endosc* 1991; 37(1): 48-50.
13. Andriulli A, Leandro G, Federici T, *et al.* Prophylactic administration of somatostatin or gabexate does not prevent pancreatitis after ERCP: an updated meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2007; 65(4): 624-632.
14. Rudin D, Kiss A, Wetz RV, *et al.* Somatostatin and gabexate for post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis prevention: meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22(7): 977-983.

15. Zhang Y, Chen QB, Gao ZY, *et al.* Meta-analysis: octreotide prevents post-ERCP pancreatitis, but only at sufficient doses. *Aliment Pharmacol Therap* 2009; 29(11): 1155-1164.
16. Bai Y, Gao J, Zou DW, *et al.* Prophylactic octreotide administration does not prevent post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Pancreas* 2008; 37(3): 241-246.
17. Dumonceau JM, Andriulli A, Deviere J, *et al.* European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline: prophylaxis of post-ERCP pancreatitis. *Endoscopy* 2010; 42(6): 503-515.
18. Chen S, Shi H, Zou X, *et al.* Role of ulinastatin in preventing post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis: the Emperor's new clothes or Aladdin's magic lamp?. *Pancreas* 2010; 39(8): 1231-1237.
19. Choi CW, Kang DH, Kim GH, *et al.* Nafamostat mesylate in the prevention of post-ERCP pancreatitis and risk factors for post-ERCP pancreatitis. *Gastrointest Endosc* 2009; 69(4): 11-18.
20. Elmunzer BJ, Scheiman JM, Lehman GA, *et al.* A randomized trial of rectal indomethacin to prevent post-ERCP pancreatitis. *N Engl J Med* 2012; 366(15): 1414-1422.
21. George S, Kulkarni AA, Stevens G, *et al.* Role of osmolality of contrast media in the development of post-ERCP pancreatitis: a metaanalysis. *Dig Dis Sci* 2004; 49(3): 503-508.
22. Cheng CL, Sherman S, Watkins JL, *et al.* Risk factors for post-ERCP pancreatitis: a prospective multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2006; 101(1): 139-147.
23. Vandervoort J, Soetikno RM, Tham TCK, *et al.* Risk factors for complications after performance of ERCP. *Gastrointest Endosc* 2002; 56(5): 652-656.
24. Cheung J, Tsoi KK, Quan WL, *et al.* Guidewire versus conventional contrast cannulation of the common bile duct for the prevention of post-ERCP pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2009; 70(6): 1211-1219.
25. Elta GH, Barnett JL, Wille RT, *et al.* Pure cut electrocautery current for sphincterotomy causes less post-procedure pancreatitis than blended current. *Gastrointest Endosc* 1998; 47(2): 149-153.
26. Stefanidis G, Karamanolis G, Viazis N, *et al.* A comparative study of postendoscopic sphincterotomy complications with various types of electrosurgical current in patients with choledocholithiasis. *Gastrointest Endosc* 2003; 57(2): 192-197.
27. MacIntosh DG, Love J, and Abraham NS. Endoscopic sphincterotomy by using pure-cut electrosurgical current and the risk of post-ERCP pancreatitis: a prospective randomized trial. *Gastrointest Endosc* 2004; 60(4): 551-556.
28. Norton ID, Petersen BT, Bosco J, *et al.* A randomized trial of endoscopic biliary sphincterotomy using pure-cut versus combined cut and coagulation waveforms. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3(10): 1029-1033.
29. Verma D, Kapadia A and Adler AD. Pure versus mixed electrosurgical current for endoscopic biliary sphincterotomy: a meta-analysis of adverse outcomes. *Gastrointest Endosc* 2007; 66(2): 283-290.
30. Elton E, Howell DA, Parsons WG, *et al.* Endoscopic pancreatic sphincterotomy: indications, outcome, and a safe stentless technique. *Gastrointest Endosc* 1998; 47: 240-249.
31. Fogel EL, Eversman D, Jamidar P, *et al.* Sphincter of Oddi dysfunction: pancreaticobiliary sphincterotomy with pancreatic stent placement has a lower rate of pancreatitis than biliary sphincterotomy alone. *Endoscopy* 2002; 34: 280-285.
32. Singh P, Das A, Isenberg G, *et al.* Does prophylactic pancreatic stent placement reduce the risk of Post-ERCP acute pancreatitis? A meta-analysis of controlled trials. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 544-550.
33. Smith MT, Sherman S, Ikenberry SO, *et al.* Alterations in pancreatic ductal morphology following polyethylene pancreatic stent therapy. *Gastrointest Endosc* 1996; 44: 268-275.
34. Tamasky PR, Palesch YY, Cunningham JT, *et al.* Pancreatic stenting prevents pancreatitis after biliary sphincterotomy in patients with sphincter of Oddi dysfunction. *Gastroenterology* 1998; 115: 1518-1524.
35. Swan MP, Alexander S, Moss A, *et al.* Needle knife sphincterotomy does not increase the risk of pancreatitis in patients with difficult biliary cannulation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11(4): 430-436.

Оригинален труд

ОПТИМАЛНА ЛОКАЛНА АНЕСТЕЗИЈА КАЈ ТРАНСРЕКТАЛНА БИОПСИЈА НА ПРОСТАТА

OPTIMAL LOCAL ANESTHESIA WHEN PERFORMING PROSTATE BIOPSY

Сотир Ставридис, Оливер Станков, Сашо Дохчев, Скендер Саиди и Михаил Пенев

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

Апстракт

Вовед. Биопсијата на простата водена со трансректален ултразвук е основен метод за дијагностицирање на карцином на простатата. Цел на оваа студија е да се одреди најсоодветен начин на анестезија при изведување на оваа процедура преку одредување на толеранција на болка кај пациентите.

Методи. Направивме анализа на 297 пациенти кои се обратија во нашата институција заради изведување на биопсија на простата водена со трансректален ултразвук (ТРУЗ) во периодот од декември 2011 до јуни 2012 година. Кај сите пациенти беше администрирана локална анестезија во форма на 20 gr (400mg) Lidocain-гел per rectum, 45 минути пред интервенцијата, а потоа сите беа рандомизирани во 3 групи. Група 1 кај која пациентите дополнително добија перипростатична локална анестезија со 2% lidocaine, група 2 во која пациентите добија супозитории Ketoprofen од 100 mg во ректумот 30 минути пред биопсијата и група 3 во која пациентите не добија никаква дополнителна анестезија. Одговорот на пациентите беше анализиран со визуелна аналогна скала за одредување на болка од 0-нема болка до 10-максимална болка.

Резултати. Регистрирана е статистички значајна разлика во постоењето на болка помеѓу трите групи за време на сите анализирани сегменти за време на изведување на биопсија на простатата. Најмала е болката во групата еден додека најголема е во групата 3. Не се најде статистички значајна разлика во морбидитетот по биопсијата во сите 3 групи. Не дојде до појава на позначајни компликации по направените биопсии.

Заклучок. Биопсијата на простата водена со ултразвук е инвазивна, но безбедна процедура, со минимална стапка на компликации и релативно добар одговор кај пациентите. Најголемо обезбо-

лување и комфорт на пациентите им овозможува примената на перипростатичната блок-анестезија со инфилтрација на локален анестетик во невоваскулатната петелка и апексот на простатата и се чини дека овој тип анестезија е асоциран со подобра толеранција кај пациентите за време на испитувањето.

Клучни зборови: биопсија на простата, ТРУЗ, локална анестезија, визуелна аналогна скала за болка

Abstract

Introduction. Transrectal ultrasound-guided prostate biopsy is the basic method of prostate cancer detection. The aim of this study was to determine the most convenient modality of anesthesia for this procedure through assessment of pain tolerance in the selected patients.

Methods. We evaluated 297 patients that were referred to our institution for TRUS guided biopsy of the prostate, in the period from December 2011 to June 2012. All patients were administered 20 gr (400mg) Lidocain gel per rectum local anesthesia 45 minutes before the intervention and then they were randomized into 3 groups. Group 1 received additional periprostatic local anesthesia with 2% lidocaine, group 2 received 100 mg Ketoprofen suppositories placed in the rectum 30 minutes before biopsy while group 3 received no additional anesthesia. The patient responses to pain were analyzed with a visual analog scale of 0-none to 10-maximal.

Results. We found statistically significant difference between the 3 groups in the pain scores during all the analyzed segments of the TRUS biopsy procedure. We registered less pain in group 1 patients whilst most intensive pain in group 3 patients. We found no statistical significance in the morbidity after the biopsy in all 3 groups. No significant complications occurred after the biopsy procedures.

Conclusions. Transrectal ultrasound-guided biopsy of the prostate is an invasive but safe procedure, with minimal rate of complications, and relatively good response in patients. The periprostatic block anesthesia in the neuro-vascular bundle and the apex of the prostate gives the patient

least pain and biggest comfort and its use seems to be associated with more tolerance during the examination.

Key words: prostate biopsy, TRUS, local anesthesia, visual analogue pain score

Вовед

Секојдневно сè поголем е бројот на мажи на возраст помеѓу 55 и 65 години кај кои се дијагностицира карцином на простата (КП). Тој претставува најчест карцином кај мажите и втора причина за смрт во машката популација во светски рамки. Во Република Македонија се наоѓа на трето место, според инциденца, по карциномот на белите дробови и колоректалниот карцином [1]. Постојат различни модалитети на третман во зависност од клиничкиот стадиум, локализацијата, возраста на пациентот и малигниот потенцијал на туморот. Скринингот заради КП сè уште го бара своето место во праксата и нема доволно докази кои би укажале на корисноста односно немањето полза од спроведување на скрининг за овој тип на малигном [2,3]. Во 2006 година, КП бил најчесто дијагностицираниот карцином кај европските мажи со околу 345900 нови случаи, што претставувало 20,3% од сите карциноми кај мажите [4]. Трендовите на инциденца на КП во САД се речиси пресликани во Европа со највисока стапка на инциденца во 1993 година и мал тренд на опаѓање до 1999 година од кога постои едно плато во делот на инциденцата [5,6].

Биопсијата на простата водена со ултразвук претставува основна дијагностичка алатка на секој уролог при дијагностицирањето на КП. ТРУЗ, заедно со дигиторекталниот преглед и одредувањето на вредностите на серумскиот специфичен антиген на простатата се есенцијални процедури кај пациенти кај кои постои сомнение за постоење на простатичен карцином [7]. Употребата и примена на биопсијата на простатата сè повеќе се користи во уролошката пракса, а интересно е дека оваа процедура повеќето уролози во САД и Велика Британија ја изведуваат без користење на никаква седација или анестезија [8-11].

И покрај ваквата пракса, самата процедура не е ни малку пријатна и безболна за пациентот. Постојат повеќе сегменти во текот на интервенцијата при кои пациентот, освен нелагодност, на моменти чувствува и јака болка како при внесувањето на трансректалната сонда во ректумот, моментот на пенетрирање на иглата преку ректумот во простатата и моментот на испукување на биопсискиот апарат и земањето на ткиво. Се смета дека моментот на пенетрирање на иглата за биопсија преку

ректумот во простатата е моментот кога пациентот ја чувствува најголемата болка [12,13].

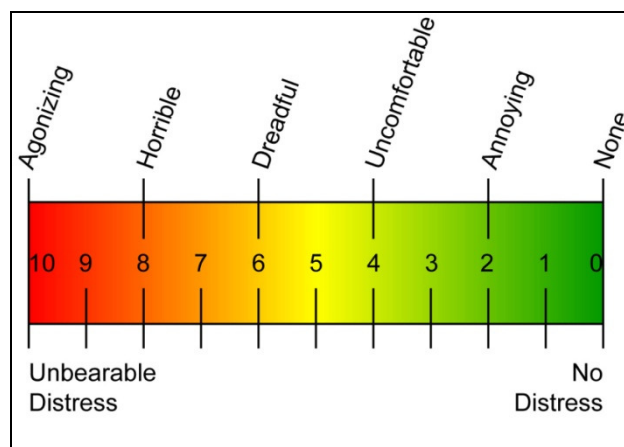
Цел на оваа студија е да се одреди толерирањето на болка кај пациентите кај кои се изведува биопсија на простата со помош на трансректален ултразвук (ТРУЗ) и се користи локална интраректална анестезија спроведена на различни начини и со различни медикаменти.

Материјал и методи

Во студијата беа вклучени 297 пациенти кај кои е поставена индикација за изведување на биопсија на простатата водена со ТРУЗ заради сомнение за КП, во периодот од 1. декември 2011 до 1. јуни 2012 година. Биопсијата беше изведувана на Siemens Acuson 2100 premium edition и трансректална сонда од 7,5 MHz со помош на BARD® MAGNUM® Reusable Core Biopsy System, апарат за земање биопсија и беа користени стандардни MN1820 игли за биопсија (Слика 1).



Сл. 1. Надолжен пресек на простата (испрекината линија) и места на земен примерок од простата (стрелки)



Сл. 2. Визуелна аналогна скала за одредување на степен на болка

Кај сите пациенти беше администрирана локална анестезија во форма на 20 gr (400mg) Lidocain-гел

per rectum, 45 минути пред интервенцијата, а потоа сите беа рандомизирани во 3 групи: група 1, во која пациентите дополнително добија перипростатична локална анестезија со 2% lidocaine; група 2 која доби супозитории Ketoprofen од 100 mg во ректумот 30 минути пред биопсијата и група 3 која не доби никаква дополнителна анестезија. Одговорот на пациентите беше анализиран со визуелна аналогна скала за одредување на болка од 0-нема болка до 10-максимална болка (Слика 2).

Како инклузивни параметри се сметаа: абнормален наод на дигиторекталниот преглед и/или вредности на серумско ПСА до 40 ng/ml. Како ексклузивни параметри беа сметани вредностите на серумско ПСА поголеми од 40 ng/ml, постоење на анамнеза за алергија на Lidocaine и кетопрофен, понатаму хеморагична дијатеза, пациенти кои не направиле пауза со антикоагулантна или антиагрегациска терапија, акутен простатитис и неспособност да се направи самовалуација и пополнување на визуелната аналогна скала за одредување на степенот на болка (ВАС). Не беа земани предвид евентуални претходни биопсии на простатата. Сите пациенти беа претходно информирани за потребата, бенефитот и потенцијалните компликации од изведувањето на трансректалната биопсија на простатата. Како профилакса се користеа таблети ципрофлоксацин од 500 mg, еден ден пред интервенцијата, утрото пред и уште 5 дена по интервенцијата. Трансректалната биопсија на простатата беше изведувана со поставување на пациентите во лева латерална бочна позиција. Процедурата започнуваше со изведување на дигиторектален преглед и администрирање на локален анестетик Lidocaine 20 gr (400mg) во форма на гел, per rectum, 45 минути пред интервенцијата кај сите пациенти и потоа сите пациенти беа рандомизирани во 3 групи. Кај пациентите од групата 1, перипростатичната блок-анестезија беше изведувана со инфилтрирање на 2 ml на 1% лидокаин хидрохлорид без адреналин. Беа правени по една инфилтрација во предел на базата на простатата блиску до васкуларната петелка на простатата и на апексот, билатерално, додека кај пациентите од група 2 беше администрирана супозиторија Ketoprofen од 100 mg во ректумот 30 минути пред биопсијата.

Беа земани по 12 примероци, по 6 од секој лобус, според претходно одредена шема: апекс 1, средишен дел латерално 1, средишен дел медијално 1,

база 1, преодна зона кон апекс 1, преодна зона кон база 1. Одговорот на пациентите беше анализиран со визуелна аналогна скала за одредување на болка од 0 (нема болка) до 10 (максимална болка) во три времиња: за време на инсерција на ректалната сонда, за време на првото боцнување со иглата за биопсија и за време на испукување на пиштолот за биопсија. Веднаш по завршувањето на биопсијата, пациентите го пополнуваа ВАС-прашалникот кој претходно има беше детално разјаснет.

Во поглед на степенот на болка беа анализирани три момента од процедурата на трансректалната биопсија. Како прв момент, инсерцијата на трансректалната сонда во ректумот на пациентот, како втор момент, инсерцијата на иглата за биопсија преку ректалниот сид во простатата и како трет момент испукувањето на биоптичниот пиштол за земање на примерок од простатичното ткиво.

Сите компликации настанати за време и по биопсијата беа исто така забележани и анализирани.

Статистичка обработка

Статистичката обработка на податоците е изведена во статистичката програма STATISTICA 7.1.

Применети се следните методи:

Кај сериите со нумерички белези работена е дескриптивна статистика-Descriptive statistics (Mean $\pm$ Std. Dev., $\pm$ 95,00 CI., минимална вредност, максимална вредност) додека разликата во болката помеѓу трите групи е тестирана со Analysis of Variance (F)/ Post-hoc-Scheffe Test.

Сигнификантноста е одредувана за $p < 0,05$.

Податоците се прикажани табеларно и графички.

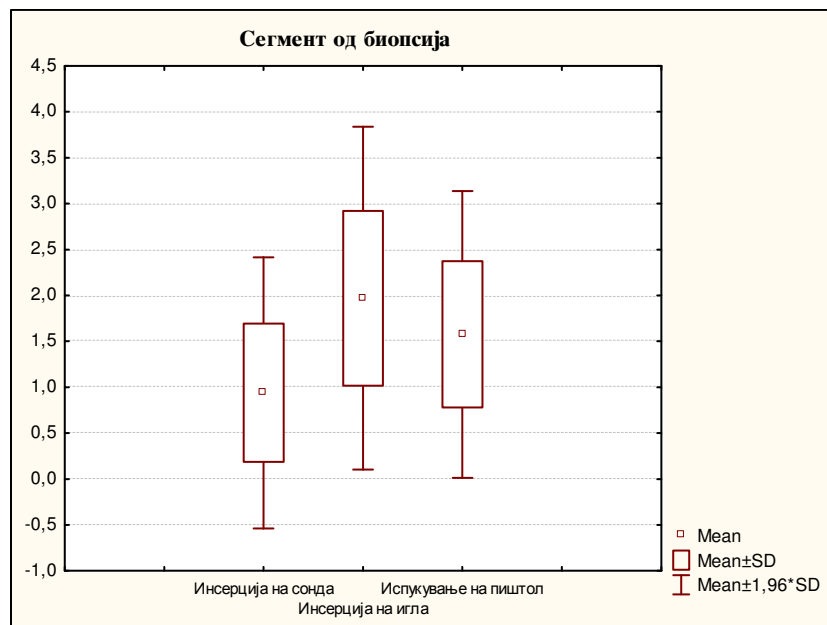
Резултати

Во нашата студија беа вклучени и анализирани 297 пациенти кои беа поделени во 3 групи од по 99 пациенти. Средната возраст на сите пациенти беше 72 години, од 54 до 82 години. Средната вредност на ПСА беше 17,9, додека волуменот на биопсираниите простати изнесуваше од 29 до 51 грама. Веднаш по завршувањето биопсијата, пациентите го пополнуваа ВАС, кој претходно им беше детално објаснет.

Добиените резултати за интензитетот на болката според ВАС, поединечно за секоја група се дескриптивно прикажани во со $\pm$ 95,00%CI (Табела 1, Графикон 1, 2 и 3).

Табела 1. Дескриптивна статистика на вредности на ВАС во три различни сегменти на процедура за сите три групи

Сегмент од процедура	Група 1	Група 2	Група 3
Инсерција на сонда	0,94 $\pm$ 0,75	1,19 $\pm$ 0,63	1,24 $\pm$ 0,64
Инсерција на игла	1,97 $\pm$ 0,95	2,74 $\pm$ 1,15	3,27 $\pm$ 1,05
Испукување на пиштол	1,59 $\pm$ 0,80	2,51 $\pm$ 1,04	2,86 $\pm$ 1,20



Граф. 1. Вредности на ВАС за пациентите од група 1.

Резултатите укажаа на постоење на значајна разлика во интензитетот на болката помеѓу трите групи во моментот на инсерција на трансректалната сонда за $F=5,68$ и $p<0,01$ ($p=0,004$).

Постои статистички значајна разлика помеѓу група 1 и група 2 [$p<0,05$ ($p=0,03$)] и група 1 и група 3 [$p<0,01$ ($p=0,008$)], додека разликата во интензитетот на болката помеѓу група 2 и група 3 не е статистички значајна [$p>0,05$ ($p=0,87$)].

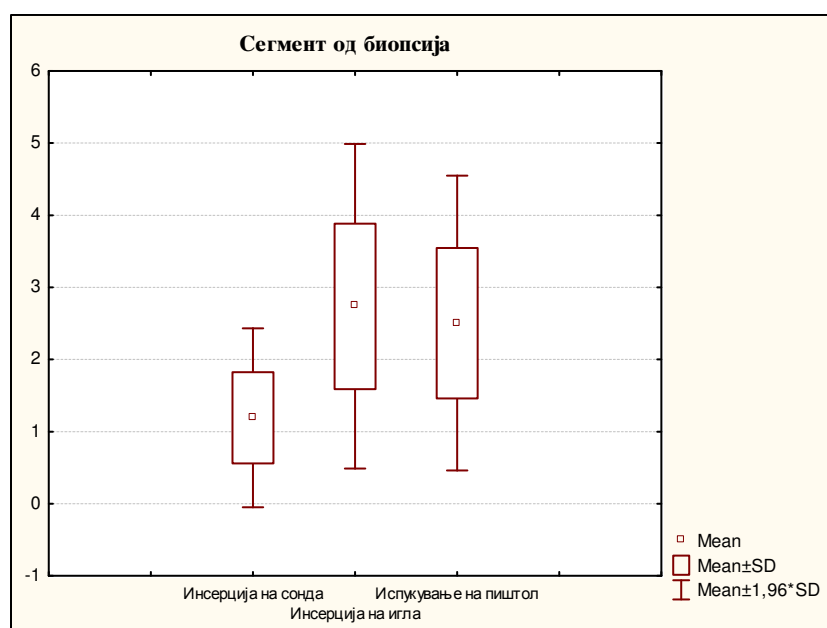
Постои значајна разлика во интензитетот на болката помеѓу трите групи во моментот на инсерција на иглата за биопсија за $F=38,33$ и $p<0,001$ ($p=0,000$).

Разликата е значајна помеѓу сите анализирани груп

пи. Група 1 и група 2 [$p<0,001$ ($p=0,000$)], група 1 и група 3 [$p<0,001$ ($p=0,000$)] и група 2 и група 3 [$p<0,01$ ($p=0,002$)].

Исто така, постои значајна разлика во интензитетот на болката помеѓу трите групи во моментот на испукување на пиштолот за биопсија за $F=41,10$ и $p<0,001$ ($p=0,000$).

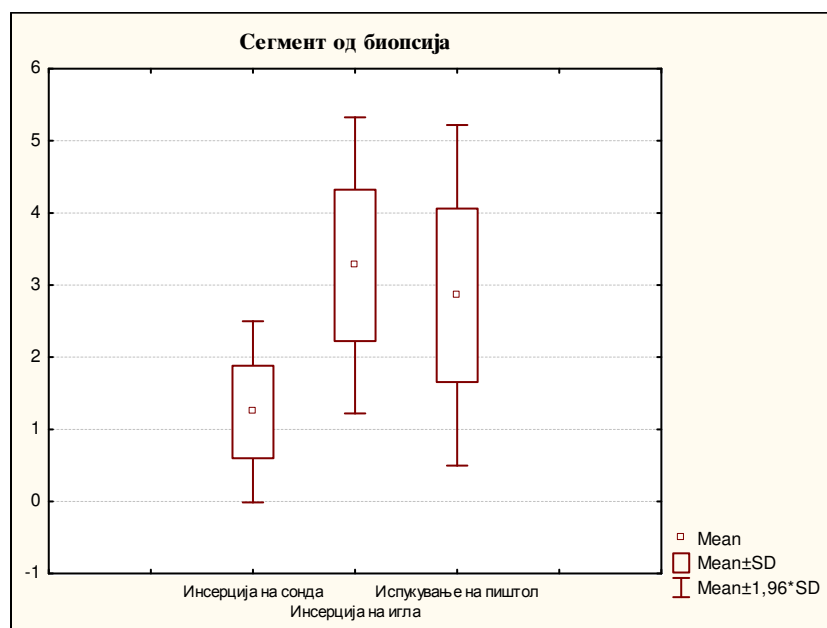
Интензитетот на болката во втората ($M=2,51$) и третата група ($M=1,58$) се значајно поголеми споредено со првата група за $p<0,001$ ($p=0,000$) поединечно. Нема значајна разлика во болката помеѓу втората ($M=2,51$) и третата група ($M=2,86$) за $p>0,05$ ($p=0,06$).



Граф. 2. Вредности на ВАС за пациентите од група 2

Сите пациенти беа повикани на контролен преглед 2 недели по биопсијата заради нотирање на евентуалните компликации од биопсијата и преглед на хистопатолошките наоди од биопсијата. Кај вкупно 9(3,03%) пациенти беа забележани помали компликации од дијагностичката процедура. Кај 5 пациенти беше забележана изразена хематурија со намалување на хематокритот, кај 3 пациенти е забележана пролонгирана фебрилна сос-

тојба со температура поголема од 38°C, и кај еден пациент имаше продолжено крварење per rectum кое изискуваше локална хируршка експлорација. Постоенето на умерена хематоспермија, десетина дена по биопсијата, не го сметавме за компликација. Кај ниеден пациент во студијата не се забележа компликација поврзана со употребата и/или администрирањето на анестетиците.



Граф. 3. Вредности на ВАС за пациенти те од група 3.

Дискусија

Биопсијата на простата водена со ТРУЗ, веќе подолг период е дел од секојдневната уролошка пракса и претставува стандардна процедура во дијагностицирањето на карциномот на простатата. Во различни установи постојат различни ставови и доктрини поврзани со користењето на анестезија за време на оваа процедура. Во периодот на воведување на биопсијата на простата водена со ултразвук како нова процедура, биопсиите биле изведувани без никаква анестезија, особено во САД и Велика Британија [8-11]. Сепак со воспоставувањето на процедурата и усовршување на истата, сè повеќе се води сметка за комфортоот и обезболувањето на пациентот за време на биопсијата и се започнува со администрирање на анестетици на различни начини и во различна форма. Во студијата изведена на нашата клиника, вредностите на ВАС беа релативно ниски во сите три групи, независно од типот на администрираниот анестетик и начинот на администрација, што укажува на добрата подносливост на оваа интервенција од страна на пациентите. Утврдивме дека во сите три групи пациенти, и кај оние со најагресивно администрирање на анестетик пред интер-

венцијата и кај оние со просто аплицирање на хидрофилен анестетик-гел, биопсијата станува многу поподнослива и полесна за изведување. Сепак, резултатите укажаа на статистички значајна разлика во отсуството на болка, кај пациентите кај кои користевме перипростатична администрација на локален анестетик во комбинација со хидрофилен гел лидокаин. Бројот и процентот на компликациите, споредбено, не се разликуваше во трите групи и самиот процент беше минимален (n=9; 3,03%). Најчесто пријавуван проблем со кој се среќаваа пациентите беше продолжена хематоспермија, но истата не ја сметавме за компликација. Литературата брои повеќе студии кои се осврнуваат на дискомфортот на пациентите за време и по изведување на биопсиите на простатата. Опишаните болки се движат од мала nelaгодност до јаки и неиздржливи болки кои биле причина за прекин на изведувањето на процедурата. Во некои студии особено болни биле одделни сегменти од процедурата, но истите не биле пречка за доведување на процедурата до крај. Дури било анализирано и влијанието на големината на ректалните сонди и евентуалното присуство на хроничен простатит врз крајниот интензитет на болката и подносливоста на процедурата [14-18].

Во нашата проспективна студија ние презентираме резултати сумирани од 297 пациенти кои се различни пред сè од аспект на подносливост и толерабилност на биопсиите и конкомитентната болка за време на изведувањето и по самата биопсија на простатата.

Висината на вредноста на ВАС во сите три групи само кај 11 пациенти ја надминува бројката 5 (VAS-7 $n=3$; VAS-6 $n=8$) или средната вредност на ВАС. Сите овие пациенти беа од групите 2 и 3 и тоа повеќе од 60% од групата 3 каде администрираме само хидрофилен локален анестетик. Само за споредба, во групата 1, каде перипростатично се администрираше локален анестетик, само кај 5(5,05%) е забележана вредност на ВАС, 4, 5 и 7, во сите три анализирани времиња, додека кај 36(36,36%) вредноста на ВАС изнесува најмногу 1. Од добиените резултати јасно произлегува дека пациентите имаат најголем комфорт и најмала или никаква болка кога применуваме перипростатична инфилтративна анестезија со локален анестетик. Сепак, нашата студија укажа и на фактот дека и двата други начини на обезболување се исто така ефикасни, иако не во толкава мерка. Локалната администрација на супозитории со нестероиден антиинфламаторен медикамент во комбинација со хидрофилен анестетик-гел и само администрација на хидрофилен анестетик-гел без дополнителен анестетички агенс се прифатлив начин за изведување на трансректални биопсии на простата, со тоа што болката и комфортоот на пациентите е далеку помал. Она што го забележавме за време на изведувањето на студијата е и полесното прифаќање на самата интервенција и поголема смиреност од страна на пациентите во групата на пациенти со перипростатична блок-анестезија.

Заклучок

Користењето на анестезија за време на изведување на трансректалните биопсии на простатата е пожелно заради постигнување на подобри резултати и повисоко ниво на квалитет на здравствената услуга. Најголемо обезболување и комфорт на пациентите им овозможува примената на перипростатичната блок-анестезија со инфилтрација на локален анестетик во невоваскуларната петелка и апексот на простатата. Локалното аплицирање на хидрофилен гел со анестетик, со или без додавање на супозиторија на нестероиден антиинфламаторен лек, кое го практикуваме на нашата клиника, се покажа како добар начин за изведување на квалитетна биопсија со земање на адекватен мате-

ријал за патохистолошка анализа и одржување на задоволителен степен на комфорт кај пациентите.

Конфликт на интереси. Не е деклариран.

Литература

1. Регистар за рак на PM, P333, Скопје, 2007.
2. Schroder FH. Screening for prostate cancer (PC)-an update on recent findings of the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC). *Urol Oncol* 2008; 26: 533-541.
3. Stavridis S, Saidi S, Lekovski L et al. Screening for prostate cancer: a controversy or fact. *Hippokratia* 2010; 14(3): 170-175.
4. Ferlay J, Autier P, Boniol M, et al. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 2007; 18(3): 581-592.
5. Available from: http://www.urotoday.com/prod/contents/prosCan/cpm_seurope.asp
6. Levi F, Lucchini F, Negri E, et al. Leveling of prostate cancer mortality in Western Europe. *Prostate* 2004; 60(1): 46-52.
7. Irani J, Fournier F, Bon D. Patient tolerance of transrectal ultrasound-guided biopsy of the prostate. *Br J Urol* 1997; 97: 608-610.
8. Soloway MS, Obek C. Periprostatic local anesthesia before ultrasound guided prostate biopsy. *J Urol* 2000; 163: 172-173.
9. Westenberg AM, Cossar EH, Lorimer LB, et al. The acceptability of transrectal ultrasound guided prostatic biopsy without anaesthesia. *NZ Med J* 1999; 112: 231-232.
10. Desmond PM, Clark J, Thompson IM, et al. Morbidity with contemporary prostate biopsy. *J Urol* 1993; 150: 1425-1426.
11. Hammerer P, Huland H. Systematic sextant biopsies in 651 patients referred for prostate evaluation. *J Urol* 1994; 151: 99-102.
12. Naughton CK, Ornstein DK, Smith DS, et al. Pain and morbidity of transrectal ultrasound guided prostate biopsy: A prospective randomized trial of 6 versus 12 cores. *J Urol* 2000; 163: 160-171.
13. Al-Ghazo MA, Ghalayini IF, Matalka II. Ultrasound-guided transrectal extended prostate biopsy: a prospective study. *Asian J Androl* 2005; 7: 165-169.
14. Tufek I, Akpınar H, Atug F, et al. The impact of local anesthetic volume and concentration on pain during prostate biopsy: a prospective randomized trial. *J Endourol* 2012; 26(2): 174-177.
15. Otuncemur A, Dursun M, Besiroglu H, et al. The effectiveness of periprostatic nerve blockade for the pain control during transrectal ultrasound guided prostate biopsy. *Arch Ital Urol Androl* 2013; 85(2): 69-72.
16. Koprulu S, Cevik I, Unlu N, et al. Size of the transrectal ultrasound probe makes no difference in pain perception during TRUS-Bx under adequate local anesthesia. *Int Urol Nephrol* 2012; 44(1): 29-33.
17. Skriapas K, Konstantinidis C, Samarinas M, et al. Comparison between lidocaine and glyceryl trinitrate ointment for perianal-intrarectal local anesthesia before transrectal ultrasound-guided prostate biopsy: a placebo-controlled trial. *Urology* 2011; 77(4): 905-908.
18. Chopra S, Rowe EW, Laniado M, et al. A prospective study analysing the effect of pain on probe insertion, and the biopsy strategy, on the patients' perception of pain during TRUS-guided biopsy of the prostate. *N Z Med J* 2008; 121(1287): 39-43.

Приказ на случај

ПРЕДЕН УВЕИТ ПРИДРУЖЕН СО IRIS PIGMENT EPITHELITIS

ANTERIOR UVEITIS ASSOCIATED WITH IRIS PIGMENT EPITHELITIS

Милена Голубовиќ и Наташа Трпевска

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

Апстракт

Вовед. Воспалението на предниот дел на увеата е често заболување. Причините за неговата појава се многубројни, а клиничката слика, независно од причинителот е слична. Сепак постојат клинички ентитети каде клиничката слика е патогномонична за некои од нив, што е од посебно значење во нивната дијагностика. Цел на трудот е преку приказ на случај со вирусна афекција на предниот дел на увеата со вирусот херпес, да се укаже на карактеристиките на ова заболување.

Приказ на случај. Прикажан е маж на 32-годишна возраст кој се јавува на преглед заради болка и црвенило на левото око придружено со намалување на видната острина. Заболувањето започнало дваесетина дена претходно со иритација и солзење на окото. На препишаната антибиотска терапија не настанало значајно подобрување, и покрај болката која перзистирала се јавило и намалување на видната острина. При преглед на преден сегмент со биомикроскоп, патогномонично е значајно присуство на пигмент на ендотелните преципитате и атрофични промени на ирисот што се евидентни со индиректно осветлување /indirect illumination. Направени се рутински анализи на крв, рендген на бели дробови и сакроилијачниот предел, анализа на HLA и серолошки анализи за вирусни инфекции. Кај пациентот е ординирана локална антиинфламаторна, кортикостероидна терапија во вид на капки, локален антихолинергик и антиглаукоматозна терапија во вид на капки; per os ординиран е вирусостатик.

Заклучок. Препознавањето на овој клинички ентитет на воспаление на предниот дел на увеата, а со тоа и свесноста за причинителот, е круцијално во третманот на таков болен. Ако се имаат предвид овие карактеристични знаци со кои се

манифестира херпетичната афекција, случаите со овој тип на увеално воспаление нема да претставуваат дијагностички и тераписки проблем.

Клучни зборови: преден увеит, херпес вирус, ирис пигмент епителитис

Abstract

Introduction. Inflammation of anterior segment of uvea is the most common disease in ophthalmological practice. Etiology of this disease is multifactorial, but the clinical signs independently of pathogen are very similar. However, there are clinical entities where clinical signs are pathognomic, which is crucial for their diagnosis. The aim of this article was, by presenting a case of anterior uveal inflammation caused by viral affection-herpes virus, to point out the typical characteristics of this disease.

Case report. We present a 32-year-old male patient who was referred to our Clinic for pain and redness in the left eye accompanied with decreased visual acuity. The signs and symptoms appeared about twenty days ago with eye irritation and lacrimation. He did not respond to the prescribed antibiotic therapy, and in addition to the persisting pain, decreased visual acuity developed. Biomicroscopy examination of the anterior segment revealed pathognomic significant pigmentation in the endothelial precipitates and atrophic changes in the iris evident with indirect illumination. Routine blood analyses were made, as well as x-ray of the chest and sacroiliac region, HLA analysis and serological analyses for viral infections. The patient was given local anti-inflammatory, corticosteroid eye drops, local anti-cholinergic and anti-glaucoma eye drops treatment; virusostatic agent was given per os.

Conclusions. Recognition of this clinical entity of uveal anterior segment inflammation, as well as the awareness of its cause, is crucial for its treatment. Having in mind the presented characteristic signs of manifestation of herpetic affection, patients with this type of uveal inflammation would not pose diagnostic and therapeutic problem.

Key words: uveitis anterior, herpes virus, iris pigment epithelitis

Вовед

Преден увеит е воспалителен процес кој го зафаќа предниот дел на увеата, ирисот и цилијарното тело. Може да се јави изолирано на една овие структури, но најчесто ги инволвира и двете. Причините за негова појава се повеќебројни. Најчесто се работи за идиопатски преден увеит, каде причината и по комплетно систематско испитување не може да се најде. Според некои испитувања, во 47% од случаите, предниот увеит се поврзува со ХЛА, а од нив, околу 25% имаат системско заболување од типот на анкилозирачки спондилит или Reiter-ов синдром [1]. Но, заболувањето може да се јави и во рамки на неспецифични системски заболувања и да му претходи на еден панувеит како што е во случај на саркоидоза, Behçet-овото заболување, или пак можеда е дел од други имунолошки нарушувања. Секако, не треба да се исклучи и некој инфективен агенс како причинител. Иако клиничката слика на воспалението кај одделни етиолошки причинители е доста карактеристична, сепак мора да се нагласи дека клиничките слика во манифестацијата на предниот увеит е неспецифична и униформна во однос на многубројните фактори кои го предизвикуваат. Исто така,

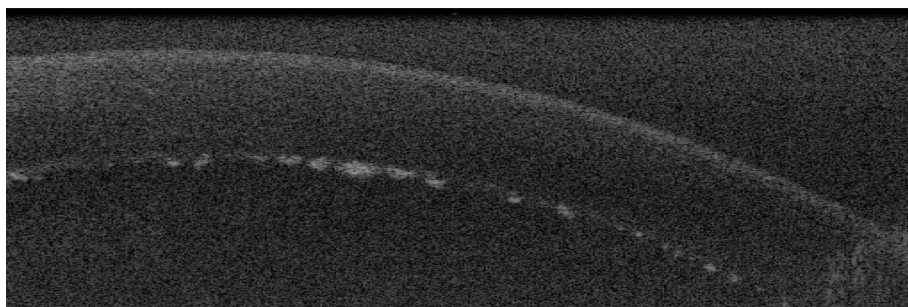
треба да се нагласи дека ист причинител може да даде варијации во експресијата на заболувањето [1].

Цел на трудот

Целта на овој труд е, преку приказ на случај со воспаление на предниот дел на увеата кој се манифестира со карактеристични знаци што насочуваат кон етиолошкиот фактор, да се намалат дилемите во дијагностиката на еден таков преден увеит и да му се даде адекватен третман на болниот.

Приказ на случај

Маж на 32-годишна возраст е примен на Клиниката заради болка и црвенило на левото око проследено со лесно намалување на видната острина. Заболувањето почнало дваесетина дена пред тоа, со црвенило, болка и солзење заради што била ординирана антибиотска терапија во вид на капки. Немало видно подобрување од препишаната терапија. Дури по три недели од започнување на тегобите се јавила болка и намалување на видната острина. Болниот негира претходни заболувања на околото или други заболувања од интерес.



Фиг. 1. Приказ на преципитати на ендотелот на роговицата со оптичка кохерентна томографија на преден сегмент (AS-OCT)



Фиг. 2. Приказ на роговица на биомикроскоп со видливи пигментирани преципитати

При прием, кај пациентот наодот на околината на околото е уреден, освен присутен лесен блефароспазам. Булбусите се нормопозиционирани со сочуван мотилитет. Тонусот на левиот булбус е зголемен и изнесува 34 mmHg. Се забележува епифора и присутен е мешан тип на конјунктивална хиперимија. Рожницата е со лесно едематозен епител, но прозирна и без други видливи промени на епителот. Сензибилитетот на рожницата намален. На ендотелот се присутни преципитати со значајна содржина на пигмент (Фигура 1, Фигура 2).

Во предната комора е видлив Tyndal-ов феномен со богатство на пигментни клетки. Ирисот е деколориран, со изменета структура со феномен на изеденост како од молец, што се забележува при индиректно просветлување со процепна лампа на биомикроскоп (Фигура 3). Пупилата е округла,

лесно миотична и со нежни речиси циркуларни синехии. Леќата е на свое место, со уреден наод, а исто така и подлабоките структури на окото. Очното дно е со уреден наод. Видната острина е намалена и изнесува 0,50 со корекција.



Фиг. 3. Приказ на преден сегмент на окото на биомикроскопија со ретроилуминација

Кај болниот се спроведени испитувања со цел да се открие причинителот. Анализата на крвта и леукоцитарната формула не покажаа значајно отстапување од нормалата. RTG на белите дробови и карличниот појас со лумбосакралниот дел на рбетниот столб беше без особености. Испитувањето на HLA (Human Leucocyte Antigen) за постоење на HLA B27 не покажа негово присуство. Анализата на ACE (Angiotenzin Converting Enzyme) и лизозимите во крвта покажаа вредности кои се движеа во границите на нормалните. Серолошките анализи во рамки на постоење на вирусно заболување покажаа постоење на антитела за херпес симплекс (HSV IgG >1,1, Immulite) што оди во прилог на постоечка инфекција.

При престој на Клиниката, на болниот му е ордирирана локална антиинфламаторна и кортико-стероидна терапија во вид на капки, антиглаукоматозна терапија со која се постигна регулација на интраокуларниот притисок. Исто така, ординиран е вирусостатик per os и антихолинергик-Sol. Atropin sulfat 1% за да ја дилатира пупилата без да останат прираслици. И покрај терапијата, уште долго време беше присутен Tyndal, а на ендотелот на рожницата преципитатите, иако се намалија, останала во вид на пигментирани точки. Останатиот наод на окото беше уреден. Видната острина под ординираната терапија се подобри на 1.0s.c. (без корекција).

Дискусија

Предниот увеит е најзастапена форма на увеит и се среќава со годишна инциденца од 8 на 100000 во популацијата [1].

Клинички, заболувањето се манифестира со болка во окото која може да иридира во околината. Постои блефароспазам и поизразена фотофобија. Некогаш, на оваа симптоматологија може да ѝ се придружи и извесно намалување на видот. Окото е најчесто црвено со ливиден колоритет заради конгестија на крните садови на интрасклералниот перикорнеален плексус. Она што е од значење е присуството на ексудација во предната комора, фибринска и клеточна, што на очната водичка ѝ дава опалесценција. Се појавува Tyndal-ов феномен, а со таложење на клеточните елементи на ендотелот на рожницата се формираат преципитати. Ирисот е едематозен со изменет релјеф, а заради протеинската ексудација и блискиот допир на пупиларниот раб на ирисот и предната страна на леќата, се формираат прираслици кои ја деформираат пупилата. Кај поизразени воспалителни процеси, воспалителните клетки се забележливи во предниот дел на витреалното тело, а може да се јави и цистоиден едем во m.lutea.

Кај воспалителните процеси на предниот дел на увеата најчесто доаѓа до лесно намалување на интраокуларниот притисок, но некогаш доколку дојде до инволвирање на трабекуларниот дел на иридокорнеалниот агол со воспаление или создавање на прираслици во аголот, како последица може да има покачување на интраокуларниот притисок. Кога воспалителниот процес ограничен на предниот дел на увеата, видната острина е обично сочувана или благо намалена.

Како што напоменаваме, причините можат да бидат повеќебројни и клиничката слика може да се разликува кај еден ист причинител [2], и тоа ги прави воспаленијата на увеата вистински предизвик за офталмологот.

При дијагностиката на увеитите офталмологот има на располагање голем број испитувања. Кои испитувања ќе се спроведат и кои ќе бидат конклузивни зависи од експресијата на самото заболување, тргнувајќи од анатомската локализација, типот на ексудацијата, должината на траење на заболувањето и други клинички карактеристики.

Во дијагностиката на вирусните увеити испитувањата се состојат во изолација и идентификација на самиот вирус, антигените на дадениот вирус in situ во очната водичка (PCR техника) или пак докажување на специфични антитела во серумот и очната водичка со пресметување на Witmer-овиот коефициент, секако доколку постојат услови за тоа. Но, многу често вирусната инфекција се препознава врз основа на клиничкиот изглед на промените на окото [3,4].

Во прикажаниот случај, клиничката слика е патогномонична и се работи за преден увеит здружен со iris pigment epithelit или iris vasculitis, наод кој

е специфичен за инфекција со вирусот херпес и кој е опишан во литературата [5]. Кај нашиот болен, во моментот на испитување, односно при прием, немаше промени на рожницата, иако самиот болен анамнестички даде податок дека претходно имал атака на конјунктивитис, што не исклучува дека претходно немал и некоја од поблагите афекции на рожницата. Имено, иако е невообичаено, воспалението може да се јави и без претходна инволвираност на рожницата [4,5]. Кај пациентот е забележан значајно намален корнеален рефлекс како резултат на намалена сензитивност на рожницата, заради афекција на сензитивните тригеминални влакна што беше присутно цело време во текот на болничкиот престој. Една од карактеристиките на овој ентитет на предниот увеит е појава на васкулит на ирисот, проследен со голема дисперзија на пигмент, појава на пигментирани преципитати, депигментација и појава на зона на атрофија на пигментниот епител на ирисот, што при преглед на биомикроскоп со ретроилуминација се манифестира со изглед на ирис изеден како од молец [6] (Фигура 3). Многу често доаѓа до инфламација на структурите на придокорнеалниот агол, што резултира со покачување на интраокуларниот притисок (ИОП) [4,5], затоа е манифестирано и кај нашиот болен. Покачениот интраокуларниот притисок кај херпетичната инфекција често може да биде рефрактерен на терапија [4].



Фиг. 4. Приказ на преден сегмент

Заради афинитетот на вирусот да ги инволвира и другите окуларни структури, пред сè оптичкиот нерв и ретината, локалната антиинфламаторна кортикостероидна терапија, антиглаукоматозната терапија како и вирусостатската терапија, кај овој тип на инфламација на предната увеа се терапија на избор (Фигура 4).

Заклучок

Дијагностиката и третманот на увеитите се вистински предизвик за офталмологот. Препознавањето на овој ентитет, а со тоа и свесноста за причинителот, е посебно значајно, но исто така претставува и олеснување за самиот болен од понатамошни бројни испитувања за чие спроведување некогаш и не постојат можности, а често се и многу поскапи. Последното го истакнува значењето на анамнезата и анализата на клиничките знаци на заболувањето, препознавањето на клиничките специфики на одделни патогени агенси, битни во нивната дијагностика.

Конфликт на интереси. Не е деклариран.

Литература

1. Nussenblatt R B, Whitcup SM, Palestine AG. Fundamentals and clinical practice. Ch 19: Anterior uveitis, St. Luis, Missouri. *Mosby* 1989; p 265-266.
2. Dua HS, Dick AD, Watson NJ, Forrester JV. A spectrum of clinical signs in anterior uveitis. *Eye* 1993; 7 (1): 68-73.
3. Stanojevic-Paovic A, Lukic M. Uveitisi: Patofiziologija i terapija. Poglavlje 19. Virusni uveitisi Proimpex, Beograd 1992, 19.1- 19.9.
4. Nussenblatt R B, Whitcup SM, Palestine AG. Fundamentals and clinical practice. Ch 13: Other viral diseases St. Luis, Missouri. *Mosby* 1989; p.207-210.
5. Yee Fong Choong, Michael W. Secondary glaucoma associated with anterior uveitis, iris pigment epithelitis and herpetic eye infection. *Austin Acta Ophthalmol Scand* 2002; 80(6): 672-674. Available at: onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1034/j.1600-0420.2002...
6. Van der Lelij A, Ooijman FM, Kijlstra A, Rothova A. Anterior uveitis with sectoral iris atrophy in the absence of keratitis: a distinct clinical entity among herpetic eye diseases. *Ophthalmology* 2000; 107(6): 1164-1170.

Case report

LAPAROSCOPIC INCISIONAL HERNIA REPAIR IN OBESE PATIENT: A CASE REPORT

ЛАПАРОСКОПСКА ПОПРАВКА НА ИНЦИЗИОНА ХЕРНИЈА КАЈ ПАЦИЕНТ СО ПРЕКУМЕРНА ТЕЖИНА: ПРИКАЗ НА СЛУЧАЈ

Aleksandar Mitevski¹, Svetozar Antovic², Biljana Kuzmanovska³ and Nikola Jankulovski²

¹Clinical Hospital Stip, University "Goce Delcev"-Stip, ²University Clinic for Digestive Surgery, Skopje, ³CARIC (Clinic for Anesthesiology, Reanimation and Intensive Care) Skopje, Medical Faculty, University "Sts Cyril and Methodius" - Skopje, Republic of Macedonia

Abstract

Introduction. Laparoscopic repair of ventral-incisional hernia is increasing compared to open technique. It has become a safe method, with low complications and cost comparable with open techniques. Shorter recovery and length of hospital stay are also associated with laparoscopic repair, especially among obese patients.

Case report. We present a case of a 42-year-old patient with BMI (Body Mass Index) of 44. He has had three previous open operations for incisional hernia, the last one being two years ago. We performed a laparoscopic IPOM (Intraperitoneal Onlay Mesh) repair with composite mesh using trans fascial (transabdominal) sutures and tacks (staples).

Conclusions. Low rate of conversion, minimal perioperative morbidity and low recurrence indicate safety in obese and morbidly obese patients treated with laparoscopic approach.

Key words: laparoscopy, incisional hernia, ventral hernia, IPOM, obesity

Апстракт

Вовед. Сè поголем е бројот на венстрални-инцизионни херниа кои се репарираат лапароскопски во споредба со употребата на отворените методи. Лапароскопската поправка е безбедна, со низок степен на компликации и рецидиви во споредба со отворените методи. Скратениот постоперативен тек и пократката хоспитализација се значајни, особено кај пациентите со прекумерна тежина.

Приказ на случај. Презентираме случај на 42-годишен пациент со БМИ од 44. Пациентот имал три претходни поправки на венстрална-инцизионна кила со отворена метода, а последната била пред две години. Изведовме лапароскопска IPOM поправка

со композитна мрежа употребувајќи трансфасцијални шевови и титаниумски такери.

Заклучок. Нискиот број на конверзии, минималниот периоперативен морбидитет и малиот број рецидиви укажува на тоа дека лапароскопската поправка на инцизионни херниа е безбедна кај пациенти со прекумерна тежина.

Клучни зборови: лапароскопија, инцизионна хернија, венстрална хернија, IPOM, прекумерна тежина

Introduction

Approximately 4 million abdominal operations are done every year; 10-20% of them will develop incisional hernia. Laparoscopic ventral hernia repair was introduced in 1993 by LeBlanc and Booth and since then it has become the new golden standard for abdominal wall hernias [1]. Laparoscopic procedure has been designed to avoid the extensive dissection; it mimics the conventional retrorectus ventral herniorrhaphy but avoids the extensive dissection required to place the prosthesis in the abdominal wall [2].

Case report

We present a case of a 42-year-old patient with incisional hernia and a BMI (body mass index) of 44. The patient has had three previous open repairs for incisional hernia in the umbilical and supraumbilical area with polypropylene prosthesis. The last one was performed two years ago. On inspection, the patient had a supraumbilical midline incision, ending on the right lateral side of the umbilicus. Under the lower third of the incision he had a large protrusion that was reduced on palpation through a large abdominal wall defect (6-8cm). Another smaller defect of 3-4 cm was palpated above the large one. Laparoscopic incisional hernia repair was performed. On the left mid-axillary line with open approach 12 mm trocar cannula was introduced and pneumoperitoneum was estab-

Correspondence to: Aleksandar Mitevski, Clinical hospital Stip, "Ljuben Ivanov" bb, 2000 Stip, R. Macedonia; Phone: 072 22 19 03; E-mail: acence03@yahoo.com

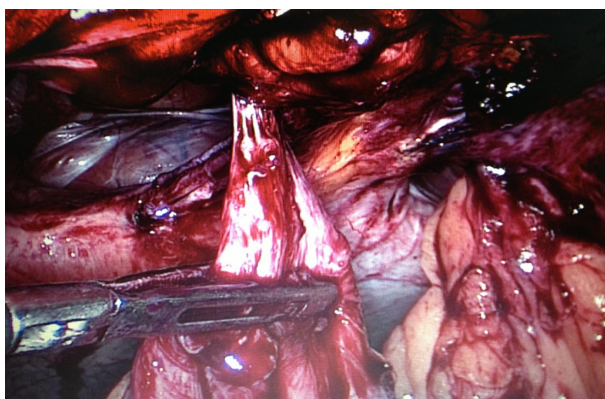


Fig. 1. Adhesiolysis

lished. Additional three 5 mm trocars were placed; two on the left side and one on the right side. Complete adhesiolysis with sharp dissection was performed (Figure 1).

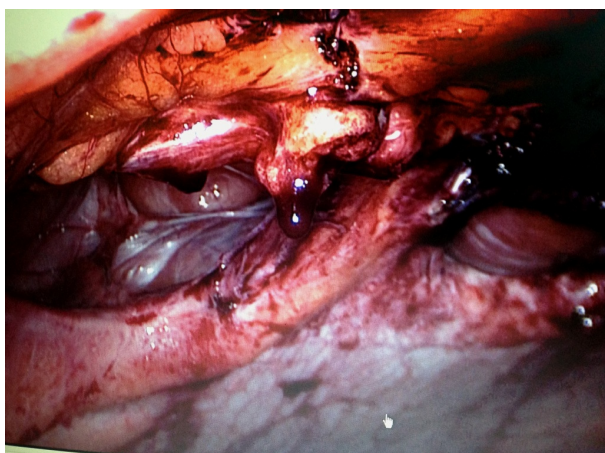


Fig. 2. Two large hernia defects

Two large and two small defects were found and a visible under lay placed small polypropylene mesh (Figure 2).

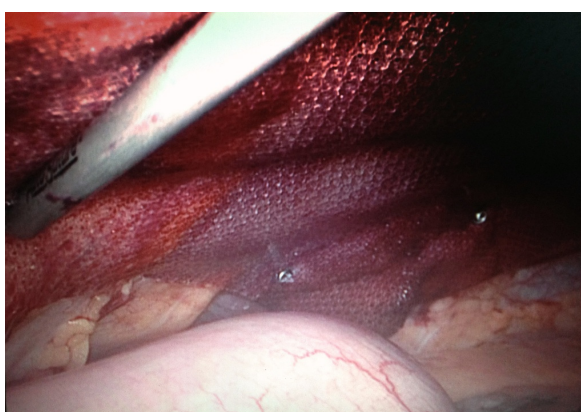


Fig. 3. Large mesh covering the defects attached with titanium clips

IPOM-Intraperitoneal Onlay Mesh technique was performed. A large composite mesh (polypropylene coated with collagen, 35x25cm) was introduced through a 12 mm trocar. It covered the defects and an overlay margin of 5 cm was achieved. Four transfascial sutures were placed

on the angles of the mesh and the border of the mesh was attached with titanium staples to the inner side of the abdominal wall (Figure 3). An intraabdominal drain was placed through the lower left 5 mm trocar site. The postoperative course was uneventful; the drain was taken out on the first postoperative day and the second postoperative day the patient was discharged from the hospital.

Discussion

The laparoscopic approach for treatment of incisional hernia is gaining an increasing interest; it seems to be an effective approach with a very low complication and recurrence rate [3].

Hernia repair is often formidable clinical problem, especially in obese patients. In this subgroup of patients minimal invasive techniques minimize perioperative complications and failure rates [4,5]. Laparoscopic procedure has a short learning curve (only 3 cases) and a general surgeon with training in basic laparoscopy can safely perform hernia repair in obese patients [6].

Overall complications of laparoscopic incisional-ventral hernia repair versus open one in obese patients are 6,3 vs 13,7 (7). Complications rates and recurrence are closely related to the BMI, type and hernia size, although they show no significant difference when comparing to patients with laparoscopic treatment [8-12].

There is little data on laparoscopic repair for incisional hernia in morbidly obese patients (BMI>40). The results have shown that it is feasible, with an acceptable risk of recurrence and that it minimises the wound and mesh complications compared to open mesh repair [13,14].

Conclusions

Low rate of conversion, minimal perioperative morbidity and low recurrence indicates safety in obese and morbidly obese patients treated with laparoscopic approach. The data show better efficiency of laparoscopy compared to open surgery. Our patient had BMI of 44 which is rare, and there are not many cases described in the literature. Yet, in experienced hands laparoscopy is the approach of choice for patients with BMI of 35 or greater.

Conflict of interest statement. None declared.

Literature

1. Bell RL, Seymour NE. Abdominal Wall, Omentum, Mesentery, and Retroperitoneum (Chapter 35). In: Brunicaudi CF, editor. *Schwartz's Principles of surgery*. 9th ed. New York: McGraw-Hill. 2010; 1267-1281.
2. Amirlak B, Mittal SK, Fitzgibbons RJ. Hernia repair (Chapter 46). In: Zinner MJ, Stanley W, Ashley SW, editors. *Maingor's Abdominal Operations*. 11th ed. New York: The McGraw-Hill Companies. 2011; 1125-1151.
3. Berger D, Bientzle M. Laparoscopic repair (Chapter 24). In: Schumpelick V, Fitzgibbons RJ, editors. *Recurrent hernia*. Berlin: Springer-Verlag. 2007; 223-226.
4. Novitsky YW, Cobb WS, Kercher KW, et al. Laparoscopic

- ventral hernia repair in obese patients: a new standard of care. *Arch Surg* 2006; 141(1): 57-61.
5. Colon MJ, Kitamura R, Telem DA, *et al.* Laparoscopic umbilical hernia repair is the preferred approach in obese patients. *Am J Surg* 2013; 205(2): 231-236.
 6. Johna S. Laparoscopic incisional hernia repair in obese patients. *JSLS* 2005; 9(1): 47-50.
 7. Lee J, Mabardy A, Kermani R, *et al.* Laparoscopic vs open ventral hernia repair in the era of obesity. *JAMA Surg* 2013; 12: 1-4.
 8. Ching SS, Sarela AI, Dexter SP, *et al.* Comparison of early outcomes for laparoscopic ventral hernia repair between non-obese and morbidly obese patient populations. *Surg Endosc* 2008; 22(10): 2244-2250.
 9. Raftopoulos I, Vanuno D, Khorsand J, *et al.* Outcome of laparoscopic ventral hernia repair in correlation with obesity, type of hernia, and hernia size. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2002; 12(6): 425-429.
 10. Ferrari GC, Miranda A, Sansonna F, *et al.* Laparoscopic management of incisional hernias ≥ 15 cm in diameter. *Hernia* 2008; 12(6): 571-576.
 11. Birgisson G, Park AE, Mastrangelo MJ Jr, *et al.* Obesity and laparoscopic repair of ventral hernias. *Surg Endosc* 2001; 15(12): 1419-1422.
 12. Bower CE, Reade CC, Kirby LW, Roth JS. Complications of laparoscopic incisional-ventral hernia repair: the experience of a single institution. *Surg Endosc* 2004; 18(4): 672-675.
 13. Tsereteli Z, Pryor BA, Heniford BT, *et al.* Laparoscopic ventral hernia repair (LVHR) in morbidly obese patients. *Hernia* 2008; 12(3): 233-238.
 14. Raftopoulos I, Courcoulas AP. Outcome of laparoscopic ventral hernia repair in morbidly obese patients with a body mass index exceeding 35 kg/m². *Surg Endosc* 2007; 21(12): 2293-2297.

Приказ на случај

ЕВАЛУАЦИЈА НА ИДИОПАТСКА ЦЕНТРАЛНА СЕРОЗНА ХОРИОРЕТИНОПАТИЈА СО ОПТИЧКА КОХЕРЕНТНА ТОМОГРАФИЈА

EVALUATION OF THE IDIOPATHIC CENTRAL SEROUS CHORIORETINOPATHY WITH OPTICAL COHERENT TOMOGRAPHY

Наташа Трпевска и Весна Димовска-Јорданова

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

Апстракт

Вовед. Идиопатска Централна Серозна Хориоретинопатија (ICSH) е болест на централниот дел на ретината чиј дијагностички профил пред сè е врз основа на симптомите и клиничкиот наод, но демографските карактеристики и дополнителните дијагностички процедури само го потврдуваат ентитетот и патогенезата на истата. Иако етиологијата е дилема и најголем акцент се става на емотивниот и физичкиот стрес, прогнозата е релативно добра.

Дијагностичкиот протокол за пациентите со ICSH опфаќа фундус-биомикроскопско испитување и евалуација врз основа на флуоресцеин-ангиографски наоди. Воведувањето на Оптичката Кохерентна томографија (ОСТ) овозможи неинвазивно дијагностицирање и следење на пациентите на покуси интервали, обезбеди дополнителни информации за степенот на инволвираните зони како и нивна корелација со видната острината. Цел на овој труд е преку серија на случаи со ICSH да се потенцира значењето на методата ОСТ за евалуација на промените на хориоретиналниот слој и корелацијата меѓу ретиналното и фовеалното задебелување, анатомските промени и секако афекцијата врз видната острината кај нив.

Приказ на случаи. Проспективно следење на пациенти со унилатерална афекција од идиопатска централна серозна хориоретинопатија (ICSH) и нивна евалуација со примена на оптичка кохерентна томографија ОСТ (ТОРCON 3D ОСТ-2000) програма макула (6,0mmx 6,0mm-512x128) центрирано на фовеа. Ретиналната дебелина беше измерена со користење на калипер, фокусиран на две нивоа : макуларна и фовеална дебелина.

Заклучок. Воведувањето на ОСТ овозможи неинвазивно дијагностицирање на заболувањето со примена на трансверзални скенови, како и можност за следење на пациентите на покуси интервали. Предноста на методот дава можност за добивање информации околу најсуптилните промени на ретината, идентификација на субретиналната течност и нејзиниот интензитет, како и следење на афекцијата на видната острината во тек на заболувањето.

Клучни зборови: Идиопатска централна серозна хориоретинопатија (ICSH), Оптичка кохерентна томографија (ОСТ), макуларна дебелина, видна острината

Abstract

Introduction. The Idiopathic Central Serous Chorioretinopathy (ICSH) is a disease of the central part of the retina and chorioid which diagnostic profile is usually based on the symptoms and clinical findings, but the demographic characteristics and the additional diagnostic accurately confirm the entity and the pathogenesis of the disease. Although the etiology is a dilemma and the emphasis is on the emotional and physical stress, the prognosis is relatively good.

The diagnostic protocol for the ICSH patients covers Fundus-Biomicroscopy (Slit) examination and evaluation based on Fluorescein Angiographic expertise. The inclusion of the Optical Coherent Tomography (OCT) provided noninvasive diagnosing and monitoring of the patients in shorter periods, as well as additional information on the degree of the involved areas and their correlation with the visual acuity. The aim of this work is to accentuate the significance of the high-resolutive contemporary method OCT for evaluation of the changes in the chorioretinal layer and the correlation between the retinal and foveal thickening, the anatomic changes, as well as the affection over the visual acuity through series of cases with ISCH.

Case reports. Prospective follow-up of patients with unilateral affection due to idiopathic central serous chorioretinopathy (ICSH) and their evaluation using optical coherent tomography OCT (TOPCON 3D OCT-2000)

3D macula program (6,0mm x 6,0mm-512x128) centered on the fovea. Retinal thickness was measured using caliper focusing on two levels: macular and foveal thickness.

Conclusions. The introduction of OCT provided non-invasive diagnosis of the disease, by using transverse scans, and the ability to monitor patients on shorter intervals. The advantage of the method gives an opportunity to obtain information regarding the most subtle changes in the retina, identification of subretinal fluid, the extent of the same in correlation with the ophthalmoscopic findings and the affection of visual acuity during the disease.

Key words: idiopathic central serous, chorioretinopathy (ICSH), optical coherent tomography (OCT), macular thickness, visual acuity

Вовед

Централна серозна хориоретинопатија е идиопатско заболување каде во основа на неговата патогенеза постои пореметување на хороидалната циркулација и ретиналниот епител што доведува до булозно одлепување на сензорната ретина, односно инфлукс на субретинална течност на централната ретина (макула) [1].

Вообичаено презентацијата на заболувањето е унилатерална со еволуција од две до три недели и со можна ремисија, но се сретнуваат и случаи со билатерална афекција. Предилекција има кон мажи на 30-50 год. возраст со инциденца на јавување десет пати повеќе во однос на жени, подложни на физички или емоционален стрес. Влијанието на вазоконстрикторните агенси, системската примена на кортикостероиди и други предиспонирачки фактори како хипертензија, бременост, дијализа, орган трансплантација, мигрена, генетските фактори е нејасно, што само го потврдува фактот за идиопатската етиологија на ова заболување [1,2].

Клинички субјективни симптоми се пад на видот од полесен степен, релативен централен скотом, искривени слики-метаморфопсија, намалени слики-микропсија, нарушена перцепција за плава и жолта боја-дисхроматопсија, феномен на заблестување (3-5 мин).

Протоколот за дијагностика на ICSH се базира на ангиографија со флуоресцеин (FI Na 20,0%) или индоцијанин зелено (indocyaninegreen), т.е. фотографско следење на протокот на флуоресцеин низ фокални подрачја на хиперфлуоресценција кои кореспондираат со истекување на ниво на ретиналниот пигментен епител (RPE).

Но, OCT се повеќе го зема приматот на "златен стандард" за дијагностика, евалуација на прогресијата и резолуцијата на ICSH. Впрочем, како

современа "imaging" метода со висока резолуција овозможува да се забележат и најсуптилните промени на ретината, идентификација на субретиналната течност, степенот на истата во корелација со офталмоскопскиот наод и афекција на видната острина во тек на заболувањето.

Целта на овој труд е преку серија на случаи со ICSH да се потенцира значењето на високо-резолутивната метода OCT за евалуација на промените на хориоретиналниот слој и корелацијата меѓу фовеалното задебелување, анатомските промени и видната острина кај нив.

Материјал и методи

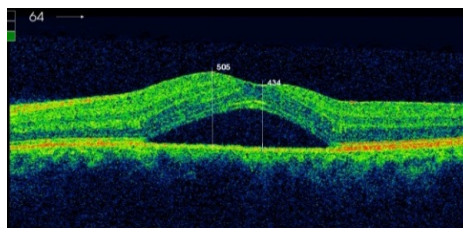
Во серијата случаи беа вклучени и следните пациенти со унилатерална афекција од идиопатска централна серозна хориоретинопатија (ICSH) и евалуирани со оптичка кохерентна томографија (OCT).

Случај 1: Ч.П. маж 42 год, се јавува на ЈЗУ Клиника за очни болести во октомври 2012 со субјективен симптом за редуциран вид на левото око од пред два месеци. Во анамнезата дава јасен податок за намален вид, искривени слики и "присутна дамка пред око". Личните медицински и фамилијарни анамнестилки податоци беа негативни. Негира други окуларни заболувања, примена на редовна терапија и алергии, односно од полно здравје забележал проблеми со видот. Некорегираниот видна острина на десното око изнесува VOD. 1,0 и на левото око VOS. 0,33. Интраокуларниот притисок со неконтактен тонометар (TOPCON CT-80) изнесува 14mmHg на десното и 16mmHg на левото око. Amsler-тест на десно око со уреден наод, а на левото око присутни централни метаморфопсии. Колорен вид со уреден наод на двете очи; уредна реакција на САК (светлина, акомодација и конвергенција); преден сегмент со уреден наод; предна очна комора со нормална длабочина без паталогски субстрат; иридокорнеален агол отворен 4/4 по Shaffer.

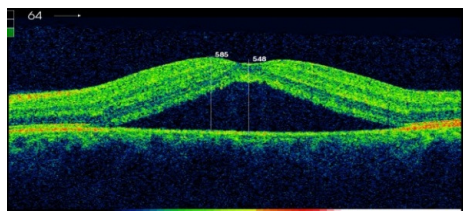
На пациентот му беше направен фундус-биомикроскопски преглед во мидријаза (Sol, Mydriacyl 1% и Sol. Phenylephrin 2,5% OU) со контактна лупа. Фундус прегледот покажа комплетно уреден наод на даесното око, додека на левото беше утврдено присутно централно серозно ретинално одлепување 1ДД над фовеа. Периферната ретина на двете очи без патолошки испади.

На пациентот му беше препорачана примена на OCT, која ја потврди дијагнозата за централна серозна хориоретинопатија, присутна субретинална течност меѓу ретиналниот пигментен епител и неуроретиналниот слој, односно серозно одлепување на сензорната ретина.

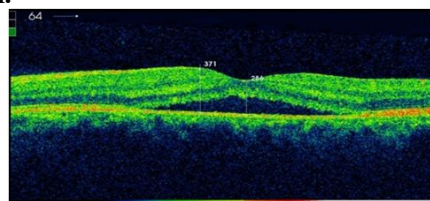
* Пациент Ч.П.



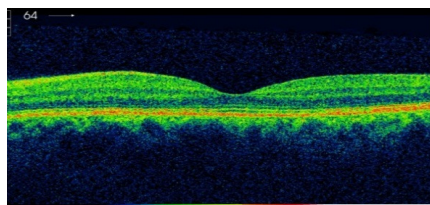
08/10/2012; VOS: 0.33 sc; MT: 505 μm; CT : 434 μm



01/11/2012; VOS: 0.33 sc; MT: 585μm; -8μm

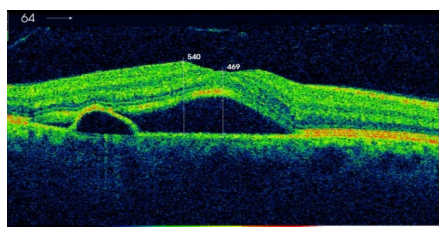


20/11/2012; VOS: 0.66 sc; MT: 371μm; CT: 286μm

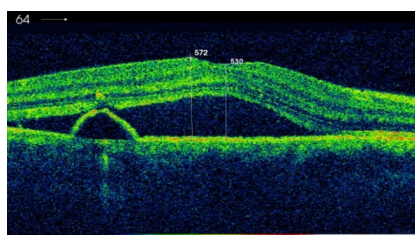


03/01/2013; Наод уреден

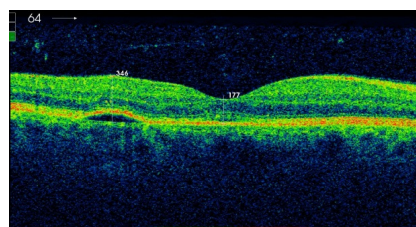
* Пациент М.З.



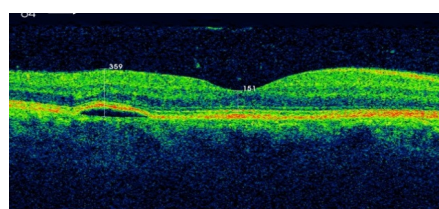
26/04/2012; VOD:0,25 s.c.; MT: 540 μm; CT: 489 μm



28/05/2012; VOD: 0,14 s.c.; MT: 572μm; CT : 530μm

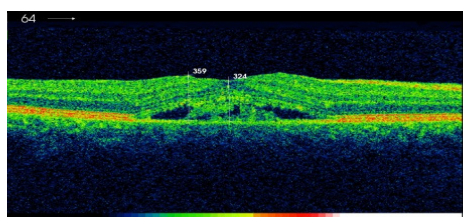


05/07/2012; VOD:0,8 s.c.; MT: 346μm; CT: 177μm

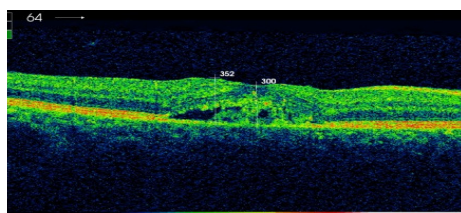


06/09/2012; VOD: 0.8 s.c.; MT: 359μm; CT: 151μm

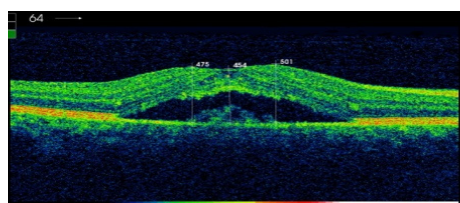
* Пациент Ј.М.



29/10/2012; VOS: 0,33 s.c.; MT: 359μm; CT: 324μm



05/12/2012; VOS: 0,25 s.c.; MT: 352μm; CT: 300μm



03/01/2013; VOS: 0,25 s.c.; MT: 458μm; CT: 454μm

Сл. 1-11. Приказ на промена на хориоретиналниот слој со ОКТ VOD/VOS (visus oculi dex./sin/): Видна острина на десно/лево око, MT (macular tickness): макуларна дебелина, CT (central tickness): централна (фовеоларна) дебелина

Случај 2: М.З., 46 год. маж, професионален возач, се јавува во Клиниката за Очни болести во април 2012г. поради намален вид на десното око, симптоми кои се појавиле пред повеќе од 3 месеци, но поради професионални обврски го одложил своето доаѓање. Анамнестичките податоци не даваат некој потенцијален ризик фактор, не исклучувајќи ја стресната природа на професијата. VOD 0,50 и VOS 1,0 без дополнителна корекција. Интраокуларниот притисок обострано во граници на нормални вредности. Наод по сегменти уреден без значајно влијание врз дијагностицирање на болеста.

Пациентот беше прегледан во мидријаза на биомикроскоп со контактна лупа, дијагностицирано е заболувањето, а потоа проследен со ОСТ за степенот на промената на ретиналниот слој, односно задабелувањето на ниво на макула.

Случај 3: Ј.М., маж 41 год од Струга, се јавил во институцијата во октомври 2012 поради намален вид кој перзистирал веќе една година. Видната острина изнесува 0,33 на десното око и 0,66 на левото (корегирани со стакла до 1,0). По дијагностичките методи наодот по сегменти беше уреден освен видливи промени на централна ретина на десното око од каде потекнуваат субјективните симптоми. На ниво на макула е видлива јасно ограничена серозна аблација на ретиналниот пигментен епител во вид на була и жолтеникава ексудација локализирана субретинално.

Прегледот со тродимензионалната метода ОСТ јасно ја докажа и ја потврди патолошката промена промената на микроретиналното ткиво. Кај секој од нив беше ординирана интензивна витаминска терапија и антиоксиданси.

Серијата случаи континуирано беа следени со ОЦТ на редовни контролни прегледи (еднаш месечно) во тек на 3 месеци до кога и вообичаено се очекува спонтанa регресија на болеста.

Резултати

Евалуација на пациентите со ICSH беше направена со "imaging" методата OCT (TOPCON 3D OCT-2000), процедура која ја користи рефлексивната на светлина од ретиналните слоеви и продуцира создавање на слика на ретината и ретиналниот пигментен епител со резолуција 3D (6,0mmx 6,0mm -512x128) центрирано на макула.

Ретиналната дебелина беше измерена користејќи калипер (macula thickness caliper) при тоа фокусирајќи се на две нивоа: макуларна и фовеоларна дебелина.

Дискусија

Идиопатска централна серозна хориоретинопатија или позната како централна серозна ретинопатија, централна серозна пигмент епителиопатија и централен серозен ретинитис е болест која се појавува како резултат на нарушување на хороидалната циркулација што доведува до нарушување на централниот ретинален пигментен епител (RPE) и серозно одлепување на ретината [3]. Имено, во акутната фаза на болеста се смета дека доаѓа до дисрупција на континуитетот на ретиналниот пигментен епител, аблација на истиот се до фокално истекување од невросензорната ретина, што е и патогномичен супстрат на заболувањето. Оваа форма на механичка алтерација на интегритетот на ретиналниот пигментен епител која се нарекува "blowout" и "micro rip" ја менува нормалната непроодност и доведува до серозното одлепување.

Впрочем се смета дека зафаќањето на ретиналното ткиво е секундарно, додека внатрешните хороидални промени претставуваат примарна патогенеза на болеста, водејќи до дезигнација на болеста како Централна Серозна Хориоретинопатија [4,5].

Примарното ексудативно пореметување на внатрешната хороида што ќе резултира во макуларно одлепување се смета дека е аваскуларно, односно не е асоцирано со пролиферација на хороидални крвни садови [4].

Природниот тек на акутна форма на ICSH е добар, со спонтанa регресија во тек на 3-4 месеци [4,6]. Сепак, мал процент од случаите имаат рекурентни или перзистентни напади во траење од 6 месеци и подолго. Унилатералната локализирана серозна хориоретинопатија и невросензорна ретинална аблација претставуваат карактеристичен клинички наод. Обично видната острина е умерено намалена на заболениот око 0,33-0,50 и со корегирање на псеудохиперметропијата (+0,75) се добива нормална видна острина од 1,0. Во зависност од големината на невросензорната ретинална аблација, благ аферентен пупиларен дефект и релативен скотом може да биде презентираан во клиничката слика на истата.

Воведувањето на ОСТ овозможи неинвазивно дијагностицирање и следење на пациентите на покуси интервали и дава дополнителни информации за степенот на инволвираните зони и нивна корелација со видната острина [6-8].

ОСТ обезбедува комплементарни морфолошки информации кај пациентите со ICSH. Присуството на повеќе дифузни промени на ретиналниот пигментен епител (RPE) само го потврдува понаатамошниот концепт дека истата е повеќе дифуз-

на наместо локализирана аномалија на RPE, притоа детектирајќи и суптилни промени на ретината, задебелување на хороидеата и евентуалното присуство на неоваскуларизација [8].

Евентуалното присуство на хороидалната неоваскуларизација (CNV) најчесто се јавува кај пациенти со историја на долготрпачка форма, рецидиви, хронична дифузна епителиопатија или презентација на истата на постара возраст. Точната патогенезата за развој на CNV е нејасна. Хипотезата е дека хроничната декомпензација или нарушување на мембраната RPE-Bruch комплекс заедно со исхемични промени на хориокапиларната мрежа може да биде важен фактор во CNV [8].

Заклучок

Новите дијагностички и терапевтски алатки ја зголемија можноста за неинвазивно и периодично следење на состојбата, при што придонесуваат за дефинирање на нови теории за механизмот на настанување на заболувањето. Од особена важност е можноста за испитување на корелацијата помеѓу задебелувањето на ретиналните слоеви и афекцијата врз видната острината. Иако Флуоресцеин ангиографијата и понатаму е од суштинско значење за ретиналните болести, повторуваната употреба на контраст временски, економски и превентивно може да се избегне со користење на не-инвазивната високо резолутивна метода ОСТ. Може да се користи на кути интервали, особено кога употребата на конт-

раст е контраиндизирана, како во период на бременост или кај нотиран алергии.

ОСТ овозможува објективна потврда на присуството на серозното пигмент епително одлепување и содржината на субретинална течност кај овие пациенти, со можност за континуирана евалуација на прогресијата, односно регресијата на заболувањето и неговиот дефинитивен исход.

Конфликт на интереси: Не е деклариран.

Литература

1. Kanski J. Jack Clinical ophthalmology 5th Ed.
2. Wang M, Sander B, Lund-Andersen H, *et al.* Detection of shallow detachments in central serous chorioretinopathy. *Acta Ophthalmol Scand* 1999; 77: 402-405. [PubMed]
3. Yanoff, M, Duker, JS. Ophthalmology, 1st Ed. London Mosby International Ltd. 1999.
4. Yannuzzi LA, Shakin JL, Fisher YL, Altomonte MA. Peripheral retinal detachments and retinal pigment epithelial atrophic tracts secondary to central serous pigment epitheliopathy. *Ophthalmology* 1984; 91: 1554-1572.
5. Yannuzzi LA. Type A behavior and central serous chorioretinopathy. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1986; 8(4): 799-845.
6. Iida T, Hagimura N, Sato T, *et al.* Evaluation of central serous chorioretinopathy with optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2000; 129: 16-20. [PubMed]
7. Hee MR, Puliafito CA, Wong C, *et al.* Optical coherence tomography of central serous chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol* 1995; 120: 65-74. [PubMed]
8. Spaide RF, Koizumi H, Pozzoni MC. Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography. *Am Ophthalmol* 2008; 146: 496-500.

Case report

ILIACO-RENAL BYPASS SURGERY WITH SAPHENOUS VEIN GRAFT IN KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENT

ИЛИЈАКО-РЕНАЛНО ХИРУРШКО ПРЕМОСТУВАЊЕ СО ГРАФТ ОД ВЕНА САФЕНА КАЈ ПАЦИЕНТ СО ТРАНСПЛАНТИРАН БУБРЕГ

Aleksandar Josifov¹, Aleksandra Simeonova¹, Jelka Masin-Spasovska², Saso Dohcev³, Oliver Stankov³, Sotir Stavridis³, Skender Saidi³, Irena Rambabova-Busletic², Menka Lazarevska⁴, Maja Mojsova-Miovska⁵ and Goce Spasovski²

¹Department of Vascular Surgery, ²University Department of Nephrology, ³Department of Urology, ⁴Institute of Radiology, ⁵Intensive Care Unit, University "Ss. Cyril and Methodius" of Skopje, Republic of Macedonia

Abstract

Introduction. The success of kidney transplantation (KTx) depends on the evaluation of the donor and recipient, but primarily on the surgical skill. The quality of the blood vessels and eventual anatomical complications may influence the renal blood flow which is essential for sufficient perfusion and function of the graft.

Case report. We report a case of a 28-year-old diabetic female patient with living donor KTx from her mother and slow recovery of the graft function. The ultrasound (US) and Doppler showed narrow parenchyma of 16 mm with insufficient renal blood flow <65cm/sec and a low parenchymal RI of 0,55-7. Renal CT angiography revealed a distorted renal artery in almost 1 cm long segment before the anastomosis and partially narrowed lumen of the internal iliac artery immediately after the bifurcation from the common iliac artery. The patient underwent another surgery for shortening of the renal artery and latero-lateral anastomosis between the renal and iliac external artery by a venous autologous graft from saphena. The Doppler US showed an improved blood flow in the renal artery of 102 cm/sec, with an improved kidney function and normalization of the serum creatinine in the following days.

Conclusion. Nephrologists should diagnose, but only surgeons may improve the hemodynamic of the transplanted kidney. Through an autologous saphenous vein graft an improved perfusion could be obtained by latero-lateral anastomosis between renal and iliac external artery as a procedure of choice presented as first case ever reported.

Key words: kidney transplantation, Doppler ultrasound,

renal blood flow

Апстракт

Вовед. Успешноста на реналната трансплантација (РТ) зависи од добрата проценка на донорот и примателот, но пред сè, од вештината и способноста на хирургот. Квалитетот на крвните садови и евентуалните анатомски компликации може да влијаат на реналниот крвен проток, што е значајно за соодветна перфузија и функција на графто.

Приказ на случај. Претставуваме случај на 28-годишна дијабетична пациентка со РТ од жив донор, нејзината мајка, и бавното опоравување на функцијата на графто. Ултразвукот и доплер сонографијата покажаа тесен паренхим од 16 мм со недоволен ренален проток <65 см/сек. и низок паренхимен РИ од 0,55-7. Реналната КТ ангиографија покажа искривена ренална артерија во должина од речиси 1 см пред анастомозата и делумно стеснет лумен на интерната илијачна артерија веднаш по бифуркацијата/разгранувањето од заедничката илијачна артерија. Пациентката беше подложена на уште една операција за скратување на реналната артерија и поставување латеролатерална анастомоза меѓу реналната и илијачната екстерна артерија со венски автологен графт од вена сапхена. Следните денови испитувањето со Доплер ултрасонографијата покажа подобрен крвен проток во реналната артерија од 102 см/сек. со подобрена ренална функција и нормализирање на серумскиот креатинин.

Заклучок. нефролозите треба да ја постават дијагнозата, но само хирурзите можат да ја подобрат хемодинамиката на трансплантираниот бибрег. Подобрена перфузија може да се постигне преку графт од автологна вена сапхена со ла-

Correspondence to: Aleksandar Josifov, University Department of Vascular Surgery, "Vodnjanska" 17, 1000 Skopje, R. Macedonia; Phone: 02 31 47 147; E-mail: alek_jos@yahoo.com

теролатерална анастомоза меѓу реналната и илијачната екстерна артерија како процедура на избор, овде претставена како прв случај.

Клучни зборови: трансплантација на бубрег, Доплер ултразвук, ренален крвен проток

Introduction

Besides the nephrological pretransplant work-up the successful kidney transplantation (KTx) primarily depends on the quality and functionality of the blood vessels for anastomosis and skill of the surgeon within the selected vascular procedures. Although through the check-up any organ damage or failure is excluded, sometimes, especially in diabetics, a rare anatomical complication may influence the graft function of the recipient that could not be resolved by any other means except a new surgical intervention. Especially important for the graft function is the renal blood flow which in turns depends on the iliac blood flow. There are reports on the use of vascular graft (Gore-Tex) to overcome severe arterioscleroses of the iliac vessels [1] and various femoro-femoral bypasses [2]. However, we do report for graft function salvage by an improved renal flow through autologous saphenous vein graft (SVG) bypass surgery between the renal and iliac external artery.

Case report

A 28-year-old diabetic female patient commenced dialysis in 2011 with diabetic nephropathy as an underlying cause of the disease. Her mother was a potential kidney donor. A complete evaluation of the donor and the recipient was without any contraindication for transplantation. In addition, the recipient's CT angiography of the iliac blood vessels did not reveal any substantial hemodynamic problem.

During transplantation, after declamping of the vessels, the kidney recolored but it did not achieve the usual hard consistency. Otherwise, there was an initial urine output on the table, and transplantation went well.

In the following days, there was a slow recovery of the graft function and serum creatinine remained around 300 $\mu\text{mol/l}$ with patient gaining some excess of fluid and peripheral edema. The ultrasound (US) and Doppler showed a narrow parenchyma of 16 mm with insufficient renal blood flow $<65\text{cm/sec}$ and a low parenchymal RI of 0,55-7. A new CT graft renal angiography was performed finding a distorted renal artery in almost 1 cm long segment before the anastomosis. There was also a segment of 5-6 mm with a narrowed lumen of the internal iliac artery immediately after the bifurcation from the common iliac artery. It was too risky to consider

stenting of the renal artery hence the patient underwent another surgical intervention for shortening of the renal artery. Since the consistency of the kidney did not substantially improve compared to the first operation, another blood supply was required. Thus, latero-lateral anastomosis was performed between the renal and iliac external artery by a venous autologous graft from saphena. The Doppler US showed an improved blood flow in the renal artery of 102 cm/sec , 19 mm parenchymal width and RI of 0,61-0,63. The clinical condition and the kidney function improved with normalization of the serum creatinine in the following days and she was discharged from hospital 10 days after the second surgery.

Discussion

The blood perfusion of the graft is the most important parameter for an appropriate function of the transplanted kidney. It is not unusual that many of the chronic kidney disease patients on dialysis have atherosclerotic blood vessels that may impede the regular blood flow from the iliac to the renal artery. It may also be influenced by the lumen of the renal artery of the donor as well as of quality of the anastomosis performed. Undoubtedly, there are reports on cases of progressive deterioration in renal function and decreased renal graft perfusion induced by extensive aorto-iliac atherosclerotic lesions proximal to a patent renal graft artery [3]. Hence, a significant improvement in kidney graft function has been obtained by axillo-femoral or femoro-femoral bypass graft surgery [3,4]. Importantly, to the best of our knowledge, our case of an iliac-renal bypass with SVG has never been performed previously for permanent maintenance of renal transplant perfusion (Figure 1).

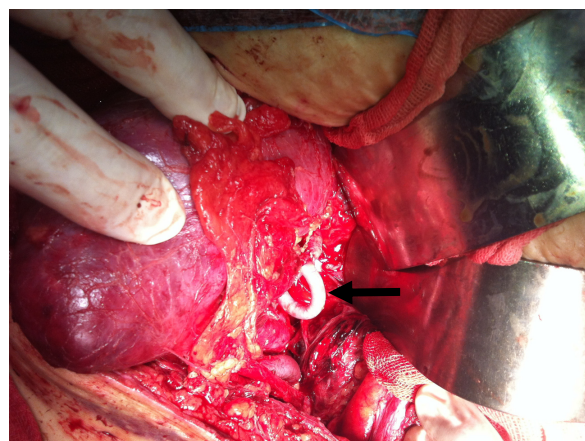


Fig 1. Iliac-renal bypass with autologous saphenous vein graft (arrow)

Our case confirms the importance of blood vessel complications in patients after renal transplantation. On the other hand, a prompt diagnosis and surgical treatment is necessary for the graft survival and prevention of any eventually life-threatening complications.

Conclusions

Nephrologists should diagnose, but only surgeons may improve the hemodynamic of the transplanted kidney. In cases with insufficient renal blood flow through the kidney allograft an improved perfusion could be obtained by latero-lateral anastomosis as bridging vascular technique between the renal and iliac external artery with an autologous vein graft from saphena as a procedure of choice.

Conflict of interest statement. None declared.

References:

1. Ozcelik A, Treckmann J, Paul A, *et al.* Results of kidney transplantation with simultaneous implantation of vascular graft. *Transplant Proc* 2007; 39(2): 509-510.
2. El-Harakeh MA, Barbari A, Stephan A, *et al.* A transplanted kidney surviving total vessel occlusion and anuria. *Clin Nephrol* 2005; 64(2): 159-162.
3. Tovbin D, Feldman L, Basok A, *et al.* Renal transplant dysfunction due to severe aorto-iliac atherosclerosis in the presence of patent renal transplant artery. *Am J Nephrol* 2000; 20(6): 487-490.
4. Sienko J, Teichman K, Cnotliwy M, *et al.* Crossed bypass femoro-femoralis in patient with external iliac artery occlusion in the course of septic hemorrhage after renal graft explantation. *Ann Transplant* 2006; 11(3): 12-14.

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 секавање„ 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, графици 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.

Насловнаџаа сѝрана 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.

Извадокој 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.

Извадокој 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.

Воведој 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 достават до 5 прилога (табели, фигури./слики - илустрации).

Табелите 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) ситирање во ситисание (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 соp.) 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 автор

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

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

г) илустрација во книга 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 2011 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.