



ČASOPIS UDRUŽENJA ANESTEZISTA REANIMATORA I TRANSFUZISTA SRBIJE



ANESTEZIJA REANIMACIJA TRANSFUZIJA

BEOGRAD
2009

Časopis udruženja anestezista, reanimatora i transfuzista Srbije

Glavni i odgovorni urednik:

Dragoslav Itov

Tehnički urednik :

Biljana Milutinović

Uređivački odbor:

**Draga Udovica
Radivoje Milovanović
Ninoslav Stojković**

Recenzenti:

**Prof. dr sc med. Bela Balint
Dr med. Snežana Drašković
Dr sc med. Gradimir Bogdanović
Puk. Prof. dr sc med. Nikola Filipović
Puk. Prof. dr sc med. Predrag Romić
Puk. Prof. dr sc med. Miroljub Trkuljić
Prim. dr sc med. Slađana Anđelić
Prim. dr med. Snežana Petrović
Prof. dr sc med. Maja Šurbatović**

Časopis izlazi kao dvobroj:

Tiraž : 300

Štampa:

Art grafik, Beograd

Predsednik Udruženja:

Draga Udovica

Izdaje:

**Udruženje anestezista, reanimatora
i transfuzista Srbije
Beograd, Crnotravska 17**



S A D R Ź A J

DONORSKE vs. TERAPIJSKE CITAFEREZE – PRINCIPI I KLINIČKI ASPEKTI Bela Balint, Gordana Ostojić, Milena Todorović	9	INTERAKCIJE MEDIJATORA U SEPSI Maja Šurbatović, Miodrag Jevtić, Nikola Filipović, Sonja Radaković, Maja Marković	69 73
CITOGENETSKI I MOLEKULSKO– GENETSKI MARKERI PRIHVATANJA ALOKALEMA MATIČNIH ČELIJA Marika Ljubenov, Dragana Stamatović, Milena Todorović, Biljana Todorović–Živanović, Gordana Ostojić, Bela Balint	23	UPORABA SUPRAGLOTIČNEGA PRIPOMOČKA I-GEL V AMBULANTNI ANESTEZIJI Brigita Erbežnik – Zdravković	77
PRIMENA FIBRINSKOG LEPKA KAO NOSAČA ZA LOKALNU APLIKACIJU BIOLOŠKI AKTIVNIH SUPSTANCI KOD ANASTOMOZE KOLONA Zoran Stanojković, Goran Stanojević, Antic Ana, Mirjana Stanojković	33	SUB-TENON'S BLOCK PERFORMED BY ANAESTHETIC TECHNICIANS – NEW ROLE DEVELOPMENT Jagdish Prajapati, Nikac Tomanovic	83
SUCCESSFUL TREATMENT OF DIFFUSE LARGE B–CELL LYMPHOMA AS A COMPLICATION OF "COMMON VARIABLE IMMUNODEFICIENCY" Milena Todorovic, Sladjana Andrejevic, Bela Balint, Boško Andjelic, Vuk Palibrk, Nada Kraguljac, Biljana Mihaljevic	41	SUB-TENON'S BLOK ANESTEZIJA IZBORA ZA OPERACIJE PREDNJEG SEGMENTA OKA Nikac Tomanović, Jagdish Prajapati	85
PRAĆENJE PARAMETARA ZAPALJENSKOG PROCESA I UTICAJ NA STEPEN ANEMIJE I TERAPIJU KONCENTRATIMA ERITROCITA KOD PACIJENATA SA KARCINOMOM DOJKE Ana Antić, Zoran Stanojković, Marija Jelić	45	SUB-TENON'S ANAESTHESIA – NEW ROLE FOR ANAESTHETIC TECHNICIAN Nikac Tomanovic, Jagdish Prajapati	88
ZNAČAJ MIKROAGLUTINACIONE TEHNIKE U ODREĐIVANJU KRVNOGRUPNE PRIPADNOSTI ABO/Rh KOD NOVOROĐENČADI Ivana Pešić Stevanović, Slobodanka Milošević, Tamara Paris , Vesna Jocić, Olga Čavić	53	POSTINTUBACIONI GRANULOM LARINKSA Milan Vasić, Petar Vasiljević, Dušanka Milošević, Sandra Stojanović, Vladimir Šaranović, Mirjana Petrović-Lazić	91
PRIMARY vs. SECONDARY HEART AND LARGE BLOOD VESSEL TUMORS Sašo Rafajlovski	57	SRČANI UDAR I „POMOĆNI“ VITALNI PARAMETRI Branko M.Vujković, Miroslav Popović, Tomislav Tomić, Marija Vujković, Maja Čanak	101
PRIKAZ I ANALIZA URAĐENIH TESTOVA KOMPATIBILNOSTI KLASIČNOM METODOM I METODOM U MIKRO-GELU TOKOM ŠEST GODINA U KBC “DR DRAGIŠA MIŠOVIĆ-DEDINJE” B. Mihić-Tomić, Lj. Ilinčić, S. Stojković,		AKUTNI MOŽDANI UDAR Jovica Mičić, Branko Vujković	105
		HIPOGLIKEMIJA I HIPERGLIKEMIJA– TERENSKA ISKUSTVA SHMP ŠABAC Jelena Obrovac	107
		ANAFILAKSA NA FIZIČKI NAPOR : IMA LI RAZLIKE? Branko M.Vujković, Miroslav Popović, Tomislav Tomić, Marija Vujković, Maja Čanak	109



UPUTSTVO AUTORIMA ZA PRIPREMANJE RADA

Časopis "ANESTEZIJA, REANIMACIJA, TRANSFUZIJA" je časopis Udruženja anesteziologa, reanimatologa i transfuzijologa Srbije registrovan kao glasilo javnog informisanja 1982. godine, u kojem se objavljuju radovi članova Udruženja, i članova drugih društava medicinskih i srodnih struka. Časopis objavljuje: originalne radove, saopštenja, prikaze bolesnika, preglede iz literature, radove iz istorije medicine, radove za praksu, vodiče kliničke prakse.

Prispeli rukopis Uređivački odbor šalje recenzentima radi stručne procene. Ukoliko recenzenti predlože izmene ili dopune, kopija recenzije se dostavlja autoru s molbom da unese tražene izmene u tekst rada ili da argumentovano obrazloži svoje neslaganje s primedbama recenzenta. Konačnu odluku o prihvatanju rada za štampu donosi glavni i odgovorni urednik.

Časopis se štampa na srpskom jeziku, sa kratkim sadržajem prevedenim na engleski jezik. Radovi stranih autora se štampaju na engleskom jeziku sa kratkim sadržajem na srpskom i engleskom jeziku.

OPŠTA UPUTSTVA

Tekst rada kucati u programu za obradu teksta Word, latinicom, sa dvostrukim proredom, isključivo fontom Times New Roman i veličinom slova 12 tačaka (12 pt). Sve margine podesiti na 25 mm, veličinu stranice na A4, a tekst kucati sa levim poravnanjem i uvlačenjem svakog pasusa za 10 mm, bez deljenja reči (hifenacije). Izbegavati upotrebu tabulatora i uzastopnih praznih karaktera (spejsova) radi poravnanja teksta, već za to koristiti alatke za kontrolu poravnanja na lenjiru i Toolbars. Posle svakog znaka interpunkcije staviti samo jedan prazan karakter. Ako se u tekstu koriste specijalni znaci (simboli), koristiti font Symbol.

Rukopis rada dostaviti odštampan jednostrano na beloj hartiji formata A4 u tri primerka, zajedno sa disketom ili diskom (CD) na koje je snimljen identičan tekst koji je i na papiru. Stranice numerisati redom u okviru donje margine, počev

od naslovne strane. Podaci o korišćenoj literaturi u tekstu označavaju se arapskim brojevima u

uglastim zagradama – npr. [1, 2], i to onim redosledom kojim se pojavljuju u tekstu.

Naslovna strana: Na posebnoj, prvoj stranici rukopisa treba navesti sledeće:

- naslov rada bez skraćenica;
- **puna imena i prezimena autora i koautora (bez titula) sa tačnom godinom rođenja svakog od njih;**
- zvaničan naziv ustanova u kojima autori rade i mesto, i to redosledom koji odgovara indeksiranim brojevima autora;
- ukoliko je rad prethodno saopšten na nekom stručnom sastanku, navesti zvaničan naziv sastanka, mesto i vreme održavanja;
- na dnu stranice navesti ime i prezime, kontakt-adresu, broj telefona, faksa i e-mail adresu jednog od autora radi korespondencije.

Autorstvo: Sve osobe koje su navedene kao autori rada treba da se kvalifikuju za autorstvo. Svaki autor treba da je učestvovao dovoljno u radu na rukopisu kako bi mogao da preuzme odgovornost za celokupan tekst i rezultate iznesene u radu. Autorstvo se zasniva samo na:

- bitnom doprinosu koncepciji rada, dobijanju rezultata ili analizi i tumačenju rezultata,
- planiranju rukopisa ili njegovoj kritičkoj reviziji od znatnog intelektualnog značaja,
- završnom doterivanju verzije rukopisa koji se priprema za štampanje.

Autori treba da prilože opis doprinosa u rukopisu za svakog koautora pojedinačno. Finansiranje, sakupljanje podataka ili generalno nadgledanje istraživačke grupe sami po sebi ne mogu opravdati autorstvo. Svi drugi koji su doprineli izradi rada, a koji nisu autori rukopisa, trebalo bi da budu navedeni u zahvalnici s opisom njihovog rada, naravno, uz pisani pristanak.

Kratak sadržaj – SAŽETAK: Uz originalni rad, saopštenje, prikaz bolesnika, pregled iz literature, rad iz istorije medicine i rad za praksu, na posebnoj stranici treba priložiti kratak sadržaj rada obima 200-300 reči. Za originale radove kratak sadržaj

treba da ima sledeću strukturu: uvod, cilj rada, metod rada, rezultati i zaključak. Svaki od navedenih segmenata pisati kao poseban pasus, koji počinje boldovanom reči "Uvod", "Cilj rada", "Metod rada", "Rezultati" i "Zaključak". Navesti najvažnije rezultate (numeričke vrednosti) statističke analize i nivo značajnosti.

Ključne reči: Ispod kratkog sadržaja navesti ključne reči (od tri do šest). U izboru ključnih reči koristiti Medical Subject Headings – MeSH (<http://gateway.nlm.nih.gov>).

Prevod na engleski jezik: Na posebnoj stranici otkucati naslov rada na engleskom jeziku, puna imena i prezimena autora, nazive ustanova na engleskom jeziku i mesto.

Na sledećoj stranici priložiti kratak sadržaj na engleskom jeziku (Abstract) sa ključnim rečima (Key words), i to za radove u kojima je obavezan kratak sadržaj na srpskom jeziku, koji treba da ima 200-300 reči. Apstrakt na engleskom treba da ima istu strukturu kao i kratak sadržaj na srpskom.

Prevesti nazive tabela, grafikona, slika, shema, celokupni srpski tekst u njima i legendu.

Struktura rada: Svi podnaslovi se pišu velikim slovima i boldovano.

Originalni rad treba da ima sledeće podnaslove: uvod, cilj rada, metod rada, rezultati, diskusija, zaključak, literatura.

Prikaz bolesnika čine: uvod, prikaz bolesnika, diskusija, zaključak, literatura. Ne treba koristiti imena bolesnika, inicijale ili brojeve istorija bolesti, naročito u ilustracijama.

Pregled iz literature čine: uvod, odgovarajući podnaslovi, zaključak, literatura. Pregledne radove iz literature mogu objavljivati samo autori koji navedu najmanje pet autocitata (reference u kojima su ili autori ili koautori rada).

Tekst rukopisa: Koristiti kratke i jasne rečenice. Prevod pojmova iz strane literature treba da bude u duhu srpskog jezika. Sve strane reči ili sintagme za koje postoji odgovarajuće ime u našem jeziku zameniti tim nazivom.

Za nazive lekova koristiti isključivo generička imena. Uređaji (aparati) se označavaju trgovačkim nazivima, a ime i mesto proizvođača treba navesti u obliku zagrada. Ukoliko se u tekstu koriste oznake koje su spoj slova i brojeva, precizno

napisati broj koji se javlja kao eksponent ili kao indeks (npr. ^{99}Tc , IL-6, O_2 , B_{12} , CD8).

Skraćenice: Koristiti samo kada je neophodno, i to za veoma dugačke nazive hemijskih jedinjenja, odnosno nazive koji su kao skraćenice već prepoznatljivi (standardne skraćenice, kao npr. DNK). Za svaku skraćenicu pun termin treba navesti pri prvom navođenju u tekstu, sem ako nije

standardna jedinica mere. Ne koristiti skraćenice u naslovu. Izbegavati korišćenje skraćenica u kratkom sadržaju, ali ako su neophodne, svaku skraćenicu ponovo objasniti pri prvom navođenju u tekstu.

Decimalni brojevi: U tekstu rada decimalne brojeve pisati sa zarezom, a u tabelama, na grafikonima i drugim priložima, budući da se u njima navodi i prevod na engleskom jeziku, decimalne brojeve pisati sa tačkom (npr. u tekstu će biti $12,5 \pm 3,8$, a u tabeli 12.5 ± 3.8). Kad god je moguće broj zaokružiti na jednu decimalu.

Jedinice mere: Dužinu, visinu, težinu i zapreminu (volumen) izražavati u metričkim jedinicama (metar – m, kilogram – kg, litar – l) ili njihovim delovima. Temperaturu izražavati u stepenima Celzijusa ($^{\circ}\text{C}$), količinu supstance u molima (mol), a pritisak krvi u milimetrima živinog stuba (mm Hg). Sve rezultate hematoloških, kliničkih i biohemijskih merenja navoditi u metričkom sistemu prema Internacionalnom sistemu jedinica (SI).

Obim rukopisa: Celokupni rukopis rada – koji čine naslovna strana, kratak sadržaj, tekst rada, spisak literature, svi prilozi, odnosno potpisi za njih i legenda (tabele, fotografije, grafikoni, sheme, crteži), naslovna strana i kratak sadržaj na engleskom jeziku – mora iznositi za originalni rad, saopštenje, pregled iz literature i vodič kliničke prakse do 5.000 reči, za prikaz bolesnika do 2.000 reči, za rad iz istorije medicine do 3.000 reči, za rad za praksu do 1.500 reči; radovi za ostale rubrike moraju imati do 1.000 reči.

Provera broja reči u dokumentu može se izvršiti u programu Word kroz podmeni Tools–Word Count ili File–Properties–Statistics.

Tabele: Tabele se označavaju arapskim brojevima po redosledu navođenja u tekstu, sa nazivom na srpskom i engleskom jeziku. Tabele raditi isključivo u programu Word, kroz meni Table–Insert–Table, uz definisanje tačnog broja kolona i

redova koji će činiti mrežu tabele. Desnim klikom na mišu – pomoću opcija Merge Cells i Split Cells – spajati, odnosno deliti ćelije. U jednu tabelu, u okviru iste ćelije, uneti i tekst na srpskom i tekst na engleskom jeziku – nikako ne praviti dve tabele sa dva jezika! Koristiti font Times New Roman, veličina slova 12 pt, sa jednostrukim proredom i bez uvlačenja teksta.

Korišćene skraćenice u tabeli treba objasniti u legendi ispod tabele na srpskom i engleskom jeziku.

Svaku tabelu odštampati na posebnom listu papira i dostaviti po jedan primerak uz svaku kopiju rada (ukupno tri primerka tabele za rad koji se predaje).

Fotografije: Fotografije se označavaju arapskim brojevima po redosledu navođenja u tekstu, sa nazivom na srpskom i engleskom jeziku. Za svaku fotografiju dostaviti tri primerka ili tri seta u odvojenim kovertama. Primaju se isključivo originalne fotografije (crno-bele ili u boji), na sjajnom (glatkom, a ne mat) papiru, po mogućstvu formata 9×13 cm ili 10×15 cm.

Na poledini svake fotografije staviti nalepnicu. Na njoj napisati redni broj fotografije i strelicom označiti gornji deo slike. Voditi računa da se fotografije ne oštete na bilo koji način.

Fotografije snimljene digitalnim fotoaparatom dostaviti na CD i odštampane na papiru, vodeći računa o kvalitetu (oštrini) i veličini digitalnog zapisa. Poželjno je da rezolucija bude najmanje 150 dpi, format fotografije 10×15 cm, a format zapisa *.JPG.

Ukoliko autori nisu u mogućnosti da dostave originalne fotografije, treba ih skenirati kao Grayscale sa rezolucijom 300 dpi, u originalnoj veličini i snimiti na CD.

Fotografije se mogu objaviti u boji, ali dodatne troškove štampe snosi autor.

Grafikoni: Grafikoni treba da budu urađeni i dostavljeni u programu Excel, da bi se videle prateće vrednosti raspoređene po ćelijama. Iste grafikone linkovati i u Word-ov dokument, gde se grafikoni označavaju arapskim brojevima po redosledu navođenja u tekstu, sa nazivom na srpskom i engleskom jeziku. Svi podaci na grafikonu kucaju se u fontu Times New Roman, na srpskom i engleskom jeziku.

Korišćene skraćenice na grafikonu treba objasniti u legendi ispod grafikona na srpskom i engleskom jeziku.

Svaki grafikon odštampati na posebnom listu papira i dostaviti po jedan primerak uz svaku kopiju rada (ukupno tri primerka za rad koji se predaje).

Sheme (crteži): Sheme raditi u programu Corel Draw ili Adobe Illustrator (programi za rad sa vektorima, krivama). Svi podaci na shemi kucaju se u fontu Times New Roman, na srpskom i engleskom jeziku, veličina slova 10 pt.

Korišćene skraćenice na shemi treba objasniti u legendi ispod sheme na srpskom i engleskom jeziku.

Svaku shemu odštampati na posebnom listu papira i dostaviti po jedan primerak uz svaku kopiju rada (ukupno tri primerka za rad koji se predaje).

Zahvalnica: Navesti sve one koji su doprineli stvaranju rada a ne ispunjavaju merila za autorstvo, kao što su osobe koje obezbeđuju tehničku pomoć, pomoć u pisanju rada ili rukovode odeljenjem koje obezbeđuje opštu podršku. Finansijska i materijalna pomoć, u obliku sponzorstva, stipendija, poklona, opreme, lekova i drugo, treba takođe da bude navedena.

Literatura: Reference numerisati rednim arapskim brojevima prema redosledu navođenja u tekstu. Broj referenci ne bi trebalo da bude veći od 30, osim u pregledu iz literature, u kojem je dozvoljeno da ih bude do 50, dok za vodiče kliničke prakse broj referenci nije ograničen. Broj citiranih originalnih radova mora biti najmanje 80% od ukupnog broja referenci, odnosno broj citiranih knjiga, poglavlja u knjigama i preglednih članaka manji od 20%.

Izbegavati korišćenje apstrakta kao reference, a apstrakte starije od dve godine ne citirati. Reference članaka koji su prihvaćeni za štampu treba označiti kao "u štampi" (in press) i priložiti dokaz o prihvatanju rada.

Reference se citiraju prema tzv. vankuverskim pravilima (Vankuverski stil), koja su zasnovana na formatima koja koriste National Library of Medicine i Index Medicus. Naslove časopisa skraćivati takođe prema načinu koji koristi Index Medicus (ne stavljati tačke posle skraćenica!). Za

radove koji imaju do šest autora navesti sve autore. Za radove koji imaju više od šest autora navesti prva tri i et al. Stranice se citiraju tako što se navede početna stranica, a krajnja bez cifre ili cifara koje se ponavljaju (npr. od 152. do 157. stranice navodi se: 152-7).

Prilikom navođenja literature treba se pridržavati pomenutog standarda, jer je to vrlo

bitan faktor za indeksiranje prilikom klasifikacije naučnih časopisa. Pravilnim navođenjem literature Srpski arhiv bi dobio na kvalitetu i bolje bi se kotirao na listi svetskih naučnih časopisa.

Primeri:

1. Članak u časopisu:

Maisch B, Seferovic PM, Ristic AD, et al. Guidelines on the diagnosis and management of pericardial diseases. Executive summary. Eur Heart J 2004; 25(7):587-610.

2. Poglavlje u knjizi:

Maisch B, Ristic AD, Funck R, et al. Dilated cardiomyopathies and congestive heart failure. In: Singal PK, Dixon IMC, Kirshenbaum LA, Dhalla NS, editors. Cardiac Remodeling and Failure. Boston-Dordrecht-London: Kluwer Academic Publishers; 2003. p.35-65.

3. Knjiga:

Seferovic PM, Spodick DH, Maisch B, editors, Maksimovic R, Ristic AD, assoc. editors. Pericardiology: Contemporary Answers to Continuing Challenges. Beograd: Nauka; 2000.

Propratno pismo: Uz rukopis obavezno priložiti pismo koje su potpisali svi autori, a koje treba da sadrži:

- **puna imena i prezimena autora (bez titula) sa tačnom godinom rođenja svakog od njih;**
- **izjavu da rad prethodno nije publikovan i da nije istovremeno**

podnet za objavljivanje u nekom drugom časopisu i

- **izjavu da su rukopis pročitali i odobrili svi autori koji ispunjavaju merila autorstva.**

Takođe je potrebno dostaviti kopije svih dozvola za: reprodukovanje prethodno objavljenog materijala, upotrebu ilustracija i objavljivanje informacija o poznatim ljudima ili imenovanje ljudi koji su doprineli izradi rada.

Slanje rukopisa: Rukopis rada i svi prilozi uz rad dostavljaju se u tri primerka, zajedno sa CD-om na kome je snimljen identičan tekst koji je i na papiru. Rad se šalje preporučenom pošiljkom (ili donosi lično u Uredništvo) na adresu: Udrženje anestezišta, reanimatora i transfuzista Srbije, ul.Svetog Save 39, 11000 Beograd, sa naznakom za časopis ANESTEZIJA, REANIMACIJA, TRANSFUZIJA, ili e-mailom glavnom uredniku časopisa.

Napomena: Rad koji ne ispunjava uslove ovog uputstva ne može biti upućen na recenziju i biće vraćen autorima da ga dopune i isprave. Pridržavanjem uputstva za pisanje rada znatno će se skratiti vreme celokupnog procesa do objavljivanja rada u časopisu, što će pozitivno uticati na kvalitet i redovnost izlaženja časopisa.

Adresa:

Udrženje anestezišta, reanimatora i
transfuzista Srbije
ul. Svetog Save 39
11000 Beograd

E-mail: udruzenjeart@gmail.com
Telefon glavnog urednika: 011 3615-015





DONORSKE vs. TERAPIJSKE CITAFOREZE – PRINCIPI I KLINIČKI ASPEKTI

Bela Balint^{1,2}, Gordana Ostojić¹, Milena Todorović³

¹Vojnomedicinska akademija, Institut za transfuziologiju, Beograd; ²Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinska istraživanja, Beograd, ³Klinički centar Srbije, Klinika za hematologiju, Beograd

Proces afereza obuhvata skup postupaka vezanih za eksfuziju davaočeve ili bolesnikove krvi, njeno razdvajanje na komponente, uz zadržavanje – prikupljanje ili otklanjanje – nekog sastojka i vraćanje u cirkulaciju preostalog ili "rekombinovanog" dela krvi. Selektivnom TIP moguće je redukovati plazmatski sadržaj lipoproteina male gustine (tzv. LDL–afereza) i cirkulišućih auto(alo)antitela. Ovi terapijski postupci označeni su kao ekstrakorporalna imunomodulacija – a pored selektivne TIP – obuhvataju fotoferezu i adsorpcijsku granulocitaforezu (1–6).

Fotofereza predstavlja citaforeznu proceduru izdvajanja mononukleusnih ćelija (MNC) – kombinovanu sa njihovim *ex vivo* zračenjem ultravioletnim zracima A (UVA) uz upotrebu psoralena (PUVA) ili neke druge fotosenzitišuće supstance. S druge strane, nagomilavanje granulocita u tkivima dovodi do oštećenja posredstvom oslobođenih inflamacijskih citokina i drugih molekula. Zato, kod ovih stanja opravdano je lečenje adsorpcijskom granulocitaforezom radi postizanje imunomodulacijskog efekta (7–19). Uvođenju novih afereznihi procedura, potrebno je prilagoditi i njenu definiciju – terapijsku aferezu predstavlja izvođenje postupaka vezanih za eksfuziju bolesnikove krvi, *ex vivo* modulaciju njenog sastava i/ili nekih funkcija i (re)infuziju tako obrađene krvi (10).

S terapijskog aspekta, afereze mogu biti izvedene u cilju: a) pripremanja pojedinihi krvnih konstituenta – plazme ili krvnih ćelija u koncentrovanom obliku od zdravihi osoba (donorske afereze) za nadoknadu i b) radi postizanja određenog terapijskog efekta kod bolesnika u čijoj cirkulaciji se nalazi neki "patogeni supstrat" ili ekscresne količine nekog normalnog ili izmenjenog krvnog sastojka (terapijske afereze). U praktičnom radu, razdvajanje krvi na njene komponente može biti postignuto centrifugiranjem (manuelnom tehnikom ili upotrebom separatora krvnih ćelija), a na osnovu razlika u gustini krvnih sastojaka ili filtriranjem, tj. upotrebom filtera sa porama

promera koji dozvoljavaju izdvajanje plazme, ali ne i krvnih ćelija (5).

Opšte je prihvaćeno da izvođenje donorskih i terapijskih afereza je nemoguće bez: a) poznavanja hemobiologije – tj. fiziologije i patofiziologije krvi, osnova imunologije, biohemije, hemoreologije, ali i kardiopulmonalne reanimacije; b) osposobljenosti osoblja za rad sa opremom za vantelesni krvotok i c) raspolaganja savremenom opremom za aferezno lečenje. Zbog toga se aferezno lečenje još uvek izvodi samo u većim transfuziološkim centrima i u zemljama sa razvijenom medicinskom službom.

Donorske citaforeze

Ovu grupu afereza čine donorske afereze tj. plazmaforeza i citaforeze – u prvom redu trombocitaforeza i različite procedure leukafereza. Zavisno od vrste prikupljenih leukocita, moguće je govoriti o granulocitaforezi (prikupljanje neutrofilnih granulocita) i aferezi MNC za adoptivnu imunoterapiju ili transplantaciju MČ (5, 20–37).

Trombocitaforeza

Trombocitaforeza predstavlja afereznu proceduru kojom se prikuplja dovoljan broj trombocita iz krvi (po mogućnosti, HLA tipiziranog) davaoca za lečenje bolesnika sa trombocitopenijom – i to, refraktornih na trombocite nebiranihi davalaca ili kojima se predviđa transplantacija MČ. Izvodi se upotrebom sistema višedelnihi plastičnih kesa (manuelni postupak) ili separatorima krvnih ćelija (automatizovani postupak) (40–45). Kao i drugi alogeni hemoprodukti, terapijska primena koncentrovanih trombocita prikupljenih separatorima krvnih ćelija predstavlja, među ostalima, rizik za imunomodulaciju (sa posledničnim infekcijama) usled prisustva i delovanja leukocita donora, posebno kod imunosuprimovanihi bolesnika – pojava je označena kao transfuzijom posredovana

imunomodulacija (Transfusion-Related Immuno-Modulation ili TRIM) (80). Da bi ovaj efekat bio sprečen, potrebno je trombocite pre terapijske upotrebe filtrirati ili ih prikupljati koristeći tzv. leukoredukcijski sistem – kao integralni deo seta separatora krvnih ćelija novije generacije.

Prema standardima AABB, između dve uzastopne trombocitaferenze trebalo bi da prođe najmanje 48–72 sati, uz izvođenje afereza najviše 24 puta godišnje (3–6, 41). Aferezom prikupljene trombocite je potrebno transfundovati neposredno po pripremanju, a u posebnim situacijama je dozvoljeno njihovo skladištenje. Čuvanje dovodi do smanjenja broja, promena morfologije (a time i sniženja vrednosti tzv. morfološkog skora trombocita) i slabljenja funkcija trombocita (40, 41). Kao što to potvrđuju i naši rezultati (43), tokom petodnevnog skladištenja nastaju brojne morfološke, ultrastrukturalne i funkcionalne promene u jedinicama koncentrovanih trombocita. Tako, zastupljenost trombocita diskoidnog i sfernog oblika progresivno opada, a broj funkcionalno manje vrednih oblika (dendritskih i baloniziranih) se istovremeno povećava. Biohemijska i funkcionalna testiranja, pokazala su sniženje plazmatskog sadržaja glikoze, porast koncentracije laktata, promene vrednosti pH, pO₂ i pCO₂, uz smanjenu osmotsku rezistenciju i agregabilnost ispitivanih trombocita (44).

Granulocitaferenza

Najčešći problemi vezani za primenu granulocita su kratko *in vivo* (a time i *in vitro*) preživljavanje, njihova aktivacija tokom prikupljanja i čuvanja i složeni postupci prikupljanja adekvatnog broja ćelija. Kliničke studije ukazale su na korist transfuzija granulocita kod odraslih bolesnika sa neutropenijom (granulociti < 0,5x10⁹/L krvi) i sepsom, kod kojih je izostao efekat antimikrobne terapije (40, 41). Međutim, poslednjih godina izvodi se efikasna stimulacija granulocitopoeze faktorom rasta granulocitopoeze ili granulo-monocitopoeze (rHuG-CSF ili rHuGM-CSF). Danas se ipak smatra da su transfuzije granulocita indikovane u terapiji bolesnika nakon transplantacije MČ, a posebno kod novorođenčadi. To je verovatno u vezi sa većom terapijskom dozom granulocita (zbog male telesne mase primalaca) ili odsustvom aloimunizacije na antigene HLA (45–49).

Korišćenjem separatora krvnih ćelija, jednom procedurom granulocitaferenze moguće je prikupljati oko 1–2x10¹⁰ granulocita. Povećanjem broja granulocita u cirkulaciji, povećava se i njihov prinos u afereznom produktu. Zbog toga, pre afereze trebalo bi primenjivati mobilisuća sredstva nove generacije. Njihovom upotrebom moguće je ostvariti dvostruko (kortikosteroidi), odnosno čak desetostruko (rHuG-CSF) veći prinos granulocita granulocitaferenzom (5, 40, 41).

Transfuzije granulocita mogu biti udružene sa sporednim efektima, kao što su febrilna nehemolizna transfuzijska reakcija, transmisija virusa (CMV) i neke druge (na primer, transfuzijom udruženo akutno oštećenje pluća i GvHD). Ove reakcije se mogu sprečiti primenom kompatibilnih granulocita, adekvatnom brzinom transfuzije i upotrebom antihistaminika, analgoantipiretika, a po potrebi kortikosteroida pre transfuzije (3–6). Ukoliko su granulociti namenjeni transfuziji bolesnika sa imunodeficijencijom, pre primene treba ozračiti jedinice sa 15–25 Gy (41).

Afereza MNČ za imunomodulaciju

Citaferenze danas imaju svoju posebnu primenu i u sklopu adoptivne imunoterapije, kada se govori o prikupljanju MNČ iz periferne krvi radi njihove infuzije bolesniku ("donor-specifični limfociti") ili *in vitro* aktivacije interleukinom 2 (IL–2), tj. produkcije ćelija LAK (22–25).

U praktičnom radu, pripremanje i terapijsku upotrebu ćelija LAK čine sledeći postupci: a) prikupljanje MNČ iz periferne krvi; b) njihovo prečišćavanje (procesiranje) i aktivacija sa IL–2 u ćelijskoj kulturi; c) prikupljanje i koncentrisanje aktivisanih MNČ (tj. ćelija LAK) iz kulture i d) reinfuzija tako pripremljenih ćelija LAK. Za prikupljanje MNČ iz periferne krvi koriste se separatori krvnih ćelija sa programom za automatizovanu citaferenzu. Aktivacija prečišćenih ćelija se izvodi u kulturi, primenom rekombinantnog IL–2 (u dozi od oko 1 000 IU/mL ćelijske suspenzije). Nakon odgovarajuće inkubacije, ćelije LAK se izdvajaju i resuspenduju u infuzionom medijumu radi održavanja njihove biološke aktivnosti do upotrebe, tj. (re)infuzije (22–25).

Već je rečeno da afereza MNČ se izvodi i za potrebe transfuzija "donor-specifičnih" limfocita – tj. radi lečenja bolesnika sa relapsom leukemije



nakon transplantacije MĆ. Osnovni cilj transfuzije ovih limfocita – koji nisu aktivisani citokinima *in vitro*, ali mogu biti primenjeni u kombinaciji sa IL-2 i drugim citokinima (IFN- α) – je postizanje imunomodulacijskog efekta, na primer, reakcije "kalem protiv leukemije" (Graft versus Leukemia – GvL) (23–25). O efikasnom lečenju bolesnika (sa relapsom hronične mijeloidne leukemije nakon transplantacije MĆ) infuzijama "donor-specifičnih" limfocita postoje i domaća saopštenja (26, 27).

Afereza matičnih ćelija hematopoeze

U literaturi postoje brojni podaci o afereznom prikupljanju MNC periferne krvi (koji sadrže i MĆ) nekada u fazi fiziološke ravnoteže hematopoeze, a danas nakon mobilizacije (28–37). Afereze se izvode upotrebom separatora krvnih ćelija. Postupak afereze je u potpunosti automatizovan – podrazumeva korišćenje standardizovanih programa za aferezu MĆ. Međutim, po potrebi, a u cilju povećanja prinosa MĆ ili redukcije volumena ćelijske suspenzije (što je od posebnog značaja pri kriokonzervaciji autolognih ćelija), moguće je modifikovati proceduru.

U fiziološkim uslovima je broj MĆ u perifernoj krvi najmanje oko 100 puta manji nego u kostnoj srži (28–30). Zbog toga, a da bi prinos prikupljenih MĆ bio bolji, danas se izvodi njihova mobilizacija u perifernu krv. Mobilizaciju MĆ, zavisno od vrste transplantacije (autologna ili alogena) moguće je postići primenom: (a) hemioterapije (na primer, ciklofosamid u dozi od 4–7 g/m² telesne površine za autolognu transplantaciju) ili polihemioterapije; (b) rHuG-CSF u odgovarajućim dozama (oko 5–10 µg/kgtm za alogenu, odnosno oko 10–16 µg/kgtm za autolognu transplantaciju) ili (c) kombinacijom prva dva (4, 32–37).

Većina autora smatra (3–6, 36, 40) da bi transplantacija MĆ mogla biti uspešna treba da broj MNC bude najmanje 2–4x10⁸/kgtm primaoca, broj opredeljenih matičnih ćelija granulo-monocitopoeze (Colony Forming Unit–Granulocyte–Monocyte – CFU–GM) ne manji od 20–50x10⁴/kgtm i broj CD34⁺ ćelija 2–4x10⁶/kgtm ili više (danas se preporučuje broj ćelija $\geq 5 \times 10^6$ /kgtm). Da bi navedene vrednosti mogle biti postignute: (a) treba da volumen procesirane krvi jednom procedurom afereze MĆ

iznosi dva (konvencionalna afereza), odnosno tri do četiri volumena (Large Volume Leukapheresis – LVL) cirkulišuće krvi osobe, tj. oko 12–16 L (odnosno do dva volumena u dece manjeg uzrasta), pri čemu afereza traje oko 4–5 sati i (b) afereze je potrebno izvoditi ukupno jedan do tri puta ukoliko je izvedeno mobilisanje MĆ u perifernu krv, odnosno i 6–9 puta u fiziološkoj ravnoteži hematopoeze (danas se retko primenjuje) – što zahteva i kriokonzervaciju prikupljenih MĆ (4, 36).

Terapijske citaferenze

Generalno, terapijska afereza je procedura kojom se otklanja onaj deo bolesnikove krvi (plazma, neki njen sastojak ili krvne ćelije) koji je patološki izmenjen ili u kome se nalazi "patogeni supstrat". Zavisno od vrste izdvojenog supstrata, terapijske afereze je moguće razvrstati na izmenu plazme i citaferenze, s jedne strane, kao i na konvencionalne i selektivne afereze – otklanjanje del plazme ili samo nekih vrsta leukocita, odnosno modulacija njihove aktivnosti (5, 40). Prilikom izvođenja afereza, osnovni cilj je da se postigne smanjenje sadržaja "patogena" u cirkulaciji otklanjanjem ili zamenom plazme ili pojedinih krvnih ćelija ("konvencionalna" leukaferenza ili trombocitaferenza i adsorpcijska leukaferenza), odnosno modulacijom njihove funkcije (na primer, fotofereza) do nivoa koji više neće nepovoljno uticati na tok bolesti (4, 20, 21, 50, 55). Mehanizmi povoljnog efekta terapijskih afereza mogu biti postignuti menjanjem odnosa antigena i antitela, modifikacijom aktivnosti medijatora/modulatora inflamacijskih procesa ili imunskog sistema, deblokiranjem mononukleusno-fagocitnog sistema, smanjenjem ekscitabilnosti krvnih ćelija i poboljšanjem reoloških svojstava krvi, a ponekad placebo efektom. S druge strane, infuzijom normalne humane plazme – kao zamenika za otklonjeni volumen – moguće je postići nadoknadu onog konstituenta plazme koji je deficitaran, odnosno nedostaje u bolesnikovoj krvi.

Terapijskom citaferenzom se otklanjaju suvišne količine ili patološki izmenjene krvne ćelije u cilju redukcije njihovog broja u organizmu i prevencije ili ublažavanja simptoma i znakova izazvanih pojedinim citemijama. Radi se zapravo o danas opšteprihvaćenom obliku lečenja bolesnika sa akumulacijom pojedinih ili svih vrsta



krvnih ćelija. Kada su u pitanju hemopatije sa prekomernim brojem malignih ćelija u krvi, njihovo otklanjanje citaferozom bilo bi adekvatno parcijalnoj eksciziji tumorske mase. Terapijskim citaferozama je takođe moguće *ex vivo* menjati funkciju pojedinih, u prvom redu imunokompetentnih ćelija, odnosno primeniti ove procedure u sklopu multi-modalne ili multi-manevarske terapijske afereze – koji modaliteti lečenja će biti prikazani u daljem delu ovog poglavlja (5, 21, 50, 55).

Terapijske citaferoze se izvode pomoću separatora krvnih ćelija, a u terapiji bolesnika sa policitemijom ili sekundarnom eritrocitozom manuelnom tehnikom – korišćenjem višedelnih plastičnih kesa. Otklanjanje krvnih ćelija pomoću separatora je brže i za bolesnika pogodnije, jer je istovremeno udruženo sa regulacijom intravaskulnog volumena i nadoknadom normalnim ćelijama krvi, ako je potrebno. Antikoagulacija najčešće se postiže rastvorima ACD-a (formule B farmakopeje SAD) i natrijumovog-citrata, po potrebi uz korišćenje ruloformirajućeg agensa – rastvora hidroksietilnog skroba (HES). U odnosu na vrstu krvnih ćelija koje treba otkloniti, terapijske citaferoze mogu biti razvrstane u sledeće kategorije: leukaferoze, trombocitaferoze, eritrocitaferoze i izmena eritrocita (4, 20, 21, 55).

Terapijska leukaferoze

Frekventnim leukaferozama se želi postići redukcija broja leukocita u organizmu, zatim prevencija i/ili lečenje hiperleukocitnog sindroma sa leukostazom, regresija organo- i limfadenomegalije i opšte poboljšanje stanja bolesnika. Kada je vrednost "leukokrita" veća od 0,20–dolazi do ispoljavanja simptoma i znakova ćelijskog hiperviskoziteta krvi sa sledstvenim poremećajima pulmonalnog i cerebralnog krvotoka i kompromitovane tkivne oksigenacije usled usporenog protoka krvi u mikrocirkulaciji. Leukaferoze je indicirana kada broj leukocita u cirkulaciji iznosi $100 \times 10^9/L$ ili više, uz postojanje manifestnog leukostaznog sindroma. Izvođenjem pojedinačnih procedura leukaferoze moguće je postići redukciju broja leukocita za 20–50%. Međutim, efekti leukaferoze su tranzitornog karaktera, te je potrebna primena hemioterapije. Ponovljene ili "hronične" leukaferoze su opravdane u situacijama kada je primena

citostatika kontraindikovana (na primer, trudnoća) (20, 21, 50).

Najbolji rezultati leukaferozama se postižu kod bolesnika sa hroničnom limfocitnom leukemijom. Pri tome, za postavljanje prave indikacije za leukaferozno lečenje od posebnog su značaja relativno spora dinamika stvaranja leukocita (koja može biti nadvladana učestalim i intenzivnim citaferozama) i veliki broj cirkulišućih leukocitnih ćelija kod bolesnika sa hroničnom limfocitnom leukemijom. Nasuprot tome, leukaferoze u akutnim leukemijama indikovane su kada nije moguće sprovesti lečenje radio-hemioterapijom i kada zbog velikog broja cirkulišućih leukocita postoji rizik od komplikacije hiperleukocitne leukostaze (42, 50). Treba istaći da, iako predstavljaju veoma efikasnu citoreduktivnu terapiju, leukaferoze ne utiču na tok i ishod leukemija (20, 74).

Poslednjih godina, kada se kod bolesnika želi postići imunomodulacijski efekat, izvode se procedure limfocitaferoze. Učestalim otklanjanjem dovoljnog broja limfocita iz periferne krvi moguće je postići limfocitopeniju, sa sledstvenim promenama u celularnom imunitetu kod bolesnika sa reumatoidnim artritisom, ali i nekim drugim autoimunskim poremećajima. Ima podataka o limfocitaferizi kod bolesnika sa multiplom sklerozom, lečenih transplantacijom MČ (stvaranje uslova za prihvatanje ili duže održavanje alografta). Sličan terapijski postupak predstavlja fotofereza koja će biti kasnije detaljno opisana (4, 5).

Najzad, u lečenju bolesnika sa hroničnom inflamacijom izvode se terapijske granulocitaferoze u cilju postizanja specifičnog imunomodulacijskog efekta. Tako, zapaženo je da kod nekih bolesnika dolazi do porasta broja granulocita, uz limfocitopeniju. U lečenju ovih bolesnika, granulocitaferoze (uz upotrebu sintetskih materija za *ex vivo* adsorpciju granulocita) je novi oblik imunomodulacijske terapije o čemu će biti detaljnije pisano u kasnijem delu ovog poglavlja (57–67).

Terapijska trombocitaferoze

Kod bolesnika sa pojedinim mijeloproliferativnim poremećajima sa trombocitozom, nije retka pojava tromboza i/ili hemoragija. Većina autora smatra da su trombocitaferoze indikovane kada je broj trombocita $1 \times 10^{12}/L$ ili veći. Međutim, nije



uočena jasna korelacija između stepena povećanja broja trombocita i težine kliničke slike kod bolesnika sa trombocitemijom (5, 40, 41).

Efikasnost ove urgentne citoreduktivne terapije zavisi, pored ostalog, od početnog broja cirkulišućih trombocita, dinamike stvaranja trombocita i volumena procesiranja krvi tokom trombocitaferenze. Jednom procedurom trombocitaferenze se postiže smanjenje broja cirkulišućih trombocita za oko 30–50%, ali dugotrajni terapijski efekat je moguće postići samo istovremenom primenom hemioterapije (20, 56, 74).

Terapijska eritrocitaferenza

Pored otklanjanja viška eritrocita iz bolesnikove krvi, eritrocitaferenzno lečenje bolesnika sa pravom policitemijom i sekundarnom eritrocitozom dovodi do normalizovanja vrednosti Ht i hemoreoloških parametara, tj. do iščezavanja simptoma i znakova ćelijskog hiperviskoznog sindroma. Ona se izvodi primenom jednostavnijeg manuelnog afereznog postupka, što je od posebnog ekonomskog značaja (20, 51–56). U ovoj grupi bolesnika, periodično afereznno otklanjanje viška eritrocita iz krvi može predstavljati optimalnu terapiju od dugoročnog značaja.

Izmena eritrocita

Specifičan i relativno novi oblik terapijske afereze predstavlja izmena eritrocita. Ona se primenjuje kod bolesnika sa patološki izmenjenim eritrocitima i sledstvenim hemoreološkim abnormalnostima, oligemijskim sindromom i drugim poremećajima. Najšeće se izvodi u terapiji bolesnika sa hemoglobinopatijom, mikrosferocitozom, teškim oblikom parazitemija, paroksizmalnom hemoglobinurijom i još nekim poremećajima. Izmjena eritrocita predstavlja veoma efikasan oblik lečenja bolesnika sa bolešću srpastih ćelija – njime se želi postići sprečavanje akutnih okluzivnih komplikacija. Opravdanje za primenu izmena eritrocita treba tražiti i u korekciji stanja hipoksije, odnosno obezbeđenju bolesniku normalnih eritrocita, po mogućnosti neocita (5, 40, 41).

Prve izmene eritrocita su izvedene i u našoj zemlji (74–76) u lečenju bolesnika obolelih od teškog oblika malarije sa masivnom hemolizom i

sledstvenom akutnom bubrežnom insuficijencijom, upotrebom aparature i setova namenjenih za izmenu eritrocita. Posebno važna uloga pripada izmeni eritrocita u sklopu lečenja bolesnika originalnom metodom "multi-modalne" afereze. Naime, izvodjenjem multimodalne ili multimanevarske terapijske afereze, prvi put kod nas, ali i u svetu uspešno je lečeno kod nas već desetak bolesnika sa nekim malignim ili autoimunskim bolestima ili poremećajima koji su im direktno i nedvosmisleno ugrožavali život.

Osnovni cilj ove kompleksne aferezne procedure je istovremeno, tj. simultano menjanje funkcije ili sastava više krvnih komponenti, odnosno različitih krvnih ćelija i plazme. Menjanjem spomenutih krvnih komponenti aferezom, moguće je postići povratak bolesnika iz nekog urgentnog stanja, opasnog po njegovom životu, u normalno stanje ili u situaciju koja je i dalje kritična po zdravlju – ali omogućava njegov kasniji oporavak, kako na nivou krvi (tačnije krvnih ćelija i specifičnih regulacijskih plazmatskih sistema), tako i opšteg kliničkog statusa. Tako je moguće postići stanje fiziološke ravnoteže krvi, ali i celog organizma (76).

Na osnovu iznetog, može se zaključiti da su terapijske afereze, a u sklopu njih citafereze od posebnog značaja u terapiji onih urgentnih stanja gde povećan broj krvnih ćelija, odnosno prisustvo patološki izmenjenih ćelija uzrokuje određene kliničke tegobe ili razvoj vitalno-ugrožavajućih stanja. Tada se, uz oslobađanje od suviška krvnih ćelija ili njihovom adekvatnom zamenom, postiže i izvlačenje bolesnika iz spomenutih stanja, kao što su hiperviskozne leukostazne i trombotsko-hemoragijske krize, ali i teški deficit oksiformne funkcije krvi (74–76).

Selektivne, adsorpcijske i fotohemioterapijske procedure

Kao što je navedeno, posebnu grupu afereza čine procedure čiji je cilj selektivna redukcija koncentracije nekog plazmatskog konstituenta, kao što su autoantitela, aloantitela, imunski kompleksi ili lipoproteini male gustine, odnosno selektivno otklanjanje ili *ex vivo* modulacija pojedinih krvnih ćelija. Selektivna TIP – u zavisnosti od namene, tj. vrste specifičnog supstrata (autoantitela, aloantitela i drugi nepoželjni plazmatski konstituenti) čija se koncentracija želi bitno redukovati u cirkulaciji

bolesnika, uz očuvanje ostalih sastojaka plazme – zasnovana je na principima afinitetne hromatografije, odnosno ekstrakorporalne imunoadsorpcije. Prilikom LDL–afereze, na primer, adsorpcija lipoproteina male gustine može biti postignuta imunsko–afinitetnim (upotreba antitela anti–LDL) ili hemijsko–afinitetnim (korišćenje dekstran–sulfata ili apoprotein B) kolonama. Pored toga, u upotrebi su različiti adsorbensi – biološki ili sintetski ligandi – kao što su stafilokokni protein A (za vezivanje autoantitela, prvenstveno subklase IgG1, IgG2 i IgG4), protein G (za selektivno vezivanje IgG3), derivati galaktoze ili N–acetil–galaktozamina (za adsorpciju antitela specifičnosti ABO), triptofan (za vezivanje antitela sistema HLA), fenilalanin (za redukciju titra anti–acetilholin receptorskih antitela) i drugi (4, 5, 77). Međutim, o selektivnim izmenama plazme u ovom tekstu neće biti govora.

Tokom poslednjih decenija, uz adsorpcijsko ili selektivno otklanjanje specifičnog patogena iz bolesnikove plazme, ogroman napredak je postignut i na polju leukaferaze. To je rezultovalo uvođenjem čitavog niza novih afereznih procedura, kao što su fotofereza za lečenje bolesnika sa nekim vrstama limfoma i drugim poremećajima usled disfunkcije limfocita T (na primer, GvHD) (17–19, 68–73), odnosno leukaferaze sa vantelesnom adsorpcijom granulocita za tretman nekih autoimunski posredovanih poremećaja (na primer, ulcerozni kolitis, Crohnova bolest, vaskulitisi, gangrenozna piodermija) (58–67).

In vitro vs. in vivo imunomodulacija /inaktivacija.

Različite strategije autologne transfuzije (preoperacijska autologna kolekcija krvi, akutna normovolemijska hemodilucija i perioperacijsko spašavanje krvi) i/ili racionalna primena drugih alternativa alogene krvi zajedno mogu smanjiti potrebe za tuđom krvlju, ali ne u svim situacijama. Zbog toga, napor treba da budu usmereni i ka iznalaženju efikasnih metoda za redukciju broja, odnosno inaktivaciju leukocita u celularnim hemoproduktima. Naša institucija se oko dve decenije bavi izučavanjem mehanizama etiopatogeneze i prevencijom hemomodulacijskih i imunosupresivnih efekata nastalih posredstvom pojedinih alogenih imunokompetentnih ćelija, plazmatskih konstituenata – uključujući i

proinflamacijske citokine i druge medijatora imunskog odgovora (5, 11, 79, 80). Zbog posebnog značaja u procesima inaktivacije ne samo leukocita već i infektivnih patogenih agenasa, ali i prilikom imunomodulacijskog tretmana bolesnika (fotofereza) biće sažeto prikazane osnovne karakteristike UV zračenja.

UV zraci pripadaju spektrumu elektromagnetskih talasa i mogu biti razvrstani u zrake tipa A (UV–A) čija talasna dužina (λ) iznosi 320 do 400 nm, zatim UV–B (λ =280–320 nm) i UV–C zrake (λ =200–280 nm). Biološko delovanje UV–C zraka je najsnažnije – njihova aktivnost je oko deset puta veća u poređenju sa UV–B, odnosno oko 100.000 puta veća od aktivnosti UV–A. Imunomodulatorno delovanje UV zraka može biti značajno pojačano primenom nekog fotosenzitišućeg agensa, kao što je, npr. psoralen (5, 11, 80). U daljem tekstu biće ukratko prikazani neki od mehanizama delovanja UV zraka pomoću kojih oni mogu sprečavati (ili barem svesti na najmanji stepen) imunomodulatorne efekte alogenih transfuzija.

Odavno je poznato da je UV zračenje snažan modulator specifičnog, ćelijama posredovanog imunskog odgovora *in vitro* i *in vivo*. U skladu sa ovim, UV zračenje hemoprodukata dozama dovoljnim za inaktivaciju imunokompetentnih ćelija uz funkcionalnu očuvanost željenih krvnih ćelija predstavlja efikasan metod za sprečavanje “nepovoljnih” imunomodulatornih efekata transfuzije alogene krvi. Tako je pokazano da je primenom koncentrovanih trombocita ozračenih optimalnom dozom UV–B zraka moguće sprečiti stvaranje limfocitotoksičnih antitela, kao i refraktornost na transfuzije trombocita, uz očuvanje funkcija eritrocita i/ili trombocita. Međutim, ozračenje hemoprodukata većim dozama UV–C zraka oštećuje i trombocite. Naime, pokazano je da UV–C zračenje može dovesti do gubitka membranskog glikoproteina označenog kao GPIb, zatim agregacije trombocita (indukovane Ca–zavisnim vezivanjem fibrinogena za GPIIb/IIIa) i gubitka sadržaja alfa i gustih granula, a time i slabljenja funkcija trombocita (11, 80).

U većini dosadašnjih istraživanja ispitivane su posledice dejstva UV–B zraka na ciljne ćelije. Mehanizmi kojima se sprečavaju imunomodulatorni efekti alogenih transfuzija zračenjem davaočevih imunokompetentnih ćelija UV zracima, do danas nisu u potpunosti

objašnjeni ni na ćelijskom, niti na molekularnom nivou. *In vitro* studije su pokazale da nakon ozračivanja UV-B zracima rezidualni leukociti gube sposobnost da stimulišu proliferaciju limfocita T kao odgovor na aloantigene ili mitogene. Ovo je pre svega posledica nemogućnosti ozračenih APC donora da obezbede kostimulacioni signal za proliferaciju limfocita T. Pored inhibicije primarnog imunskog odgovora, tj. nemogućnosti da stimulišu alogene "devičanske" limfocite T, UV-B ozračene MNC ne mogu da stimulišu proliferaciju memorijskih limfocita T. Drugim rečima, UV-B zračenje kompletno inhibira i sekundarni imunski odgovor (5, 11, 80). Pored navedenih, postoje podaci da imunomodulatorno dejstvo UV-B zraka može biti posledica i indukcije apoptoze u nekim leukocitima, zatim smanjenja broja monocita u odnosu na ukupni broj leukocita ($CD45^+$ ćelije) što direktno korelira sa smanjenim stvaranjem IL-8 u ozračenim koncentrovanim trombocitima. Različite populacije limfocita su različito osetljive na UV-zračenje. Tako je preživljavanje limfocita B nakon tretmana UV zracima značajno veće od preživljavanja limfocita T (81).

Odavno je poznato da UV zračenje izaziva strukturne promene na molekulu DNK, tako što dovodi do nastanka pirimidinskih dimera stvaranjem kovalentnih veza između dve susedne pirimidinske baze (81). Ove promene, ako ćelija nema način da ih "koriguje" (tj. ako ostaju navedeni pirimidinski dimeri), dovode do poremećaja u replikaciji DNK i sintezi molekula RNK. Pored dejstva na DNK, UV zraci mogu da dovedu do strukturnih promena u proteinima što je, barem delom, posledica ekscitacije elektrona u konjugovanim prstenovima aminokiselina triptofana, fenilalanina i tirozina. Pokazano je da UV zračenje trombocita (koji nemaju jedro, te kod njih ciljni molekuli UV zraka nisu nukleinske kiseline) izaziva promene u strukturi proteina koje se registruju čak i kao gubitak nekih proteinskih frakcija u SDS-page elektroforezi (80, 81).

Većina opisanih bioloških efekata je posledica tretmana ciljnih ćelija i molekula UV-B zracima. UV-A zraci imaju znatno manje dejstvo u odnosu na UV zrake kraćih talasnih dužina. Međutim biološko dejstvo UV-A zraka se može povećati ako se prethodno primene neki fotosenzitišući agensi, kao što su, psoraleni. Rezultati *in vitro* i *in vivo* studija rađenih na životinjama su pokazali da tretman koncentrovanih trombocita psoralenima i

UV-A zracima smanjuje aloimunizaciju histokompatibilnim antigenima u primaoca (80).

Pored navedenih procedura, UV zračenje se koristi i kao zaseban metod inaktivacije virusa, npr. HIV-a (59). Tako, upotrebom UV zračenja moguće je postići inaktivaciju oko 2–5 Log_{10} HIV-a u plazmi, odnosno u krioprecipitatu (59). UV-B zračenje može izazvati oštećenje nukleinskih kiselina virusa tj. njihovu inaktivaciju, uz minimalna oštećenja trombocita. Međutim, UV-B zračenje visokim intenzitetom dovodi do oštećenja trombocita, kao i proteina plazme, i to bez značajnog povećanja stepena inaktivacije virusa (11, 80).

Ekstrakorporalna fotofereza

Fotofereza je prvi put primenjivana početkom osamdesetih godina u lečenju bolesnika sa kutanim T-ćelijskim limfomom. Da je fotofereza ili ekstrakorporalna fotohemioterapija, označena još i kao fotoimunoterapija efikasna u tretmanu navedenog limfoma, u narednom periodu potvrđuju brojni izveštaji drugih autora (17–19).

Procedura fotofereze je izvedena iz klasičnog, tzv. PUVA-terapijskog postupka. Reč je o *ex vivo* ozračivanju aferezom izdvojenih limfocita pomoću UVA, uz prethodnu upotrebu 8-metoksi-psoralena (8-MOP), kao fotosenzitišućeg sredstva (11, 17–19). U praktičnom radu, bolesniku se najpre daje 8-MOP per os u dozi od 0,6 mg/kg telesne mase oko jedan sat pre ekzfuzije krvi. Inače, na osnovu preporuka FDA, danas su doze 8-MOP smanjene na oko 50% od prvobitnih. Potom slede leukaferiza kombinovana sa plazmaferezom u dva uzastopna dana i *ex vivo* izlaganje ćelija UVA zracima (u dozi od 2 J/cm² po ćeliji) u posebnom, za tu namenu predviđenom kontejneru. Tako "pretretirane" ćelije se na kraju procedure reinfunduju bolesniku (68–73).

Fotofereza se pokazala kao uspešna u terapiji bolesnika sa kutanog T-ćelijskog limfoma – bilo da je bila izvedena kao "monoterapija", bilo u vidu kombinovane terapije, tj. udruženo sa primenom modulatora biološkog odgovora (IFN- α i drugi citokini). Najzad, fotofereza se izvodi i kao održavajuća terapija, često posle ozračenja cele kože (Total Skin Electron Beam Therapy – TSEBT). Ima podataka o primeni fotofereze kod bolesnika sa brojnim drugim (uglavnom sistemskim autoimunskim) poremećajima, kao što su progresivna sistemska skleroza, pemfigus



vularis, sistemski eritemski lupus, bolesti digestivnog sistema. Ona može biti efikasna i u sprečavanju akutnog odbacivanja transplantata solidnih organa (pluća, bubreg, srce) (17–19, 68–73).

Najznačajnije podatke o ulozi fotofereze u prevenciji odbacivanja transplantata srca daje multicentrična studija objavljena 1998. godine. Ovo ispitivanje obuhvata 60 primalaca transplantata srca koji su razvrstane u dve grupe. Prvu grupu su činili oni koji su primali standardnu imunosupresivnu terapiju (kombinacija ciklosporina, azatioprina i kortikosteroida). Kod druge grupe bolesnika, uz spomenutu medikamentoznu terapiju, primenjena je fotofereza (ukupno 24 tretmana tokom prvih šest meseci posle transplantacije). Utvrđeno je da je u grupi bolesnika lečenih fotoferezom učestalost akutnog odbacivanja transplantata bila statistički značajno manja u odnosu na grupu bolesnika tretiranih standardnom medikamantoznom imunosupresijom (70).

Devedesetih godina ukazano je na korisne efekte fotofereze kod bolesnika sa atopičnim dermatitisom (69). Kada konvencionalna terapija (na primer, kortikosteroidi, antihistaminici) nije bila efikasna zbog "rezistencije" bolesnika, primenjena je fotofereza. Primena fotofereze rezultirala je povlačenjem kožnih lezija, pruritusa i eritema, ali i smanjenjem intenziteta inflamatornog procesa, uz redukciju serumske koncentracije IgE – ali ne i drugih klasa imunoglobulina (IgG, IgM i IgA). Kod nekih bolesnika su kožne lezije praktično nestale posle pet ciklusa afereze. Kod njih su primenjivane održavajuće fotofereze da bi se sačuvala postignuta klinička remisija. Kod ove grupe bolesnika nisu konstatovani sporedni efekti primene fotofereze, tako ni znaci neželjene imunosupresije. Fotofereze su primenjivane po sledećem protokolu: dve aferezne procedure tokom dva uzastopna dana, koje su ponavljane nakon pauze od 4–6 nedelja (69).

Brojne studije su potvrdile efikasnost fotofereze u lečenju bolesnika uznapredovalom formom kutanog T–ćelijskog limfoma – postizanje remisije, poboljšanje kvaliteta života i produženje perioda preživljavanja (17–19, 68–73).

Bilo je potrebno dati realnu procenu varijabli koje mogu da utiču na stepen ili termin terapijskog odgovora. Ovim studijama je utvrđeno da fotofereza može biti efikasna, ali ne kod svih

bolesnika sa eritrodermnom formom kutanog T–ćelijskog limfoma i da su pojava i trajanje remisije nešto manjih vrednosti od očekivanih. Takođe su analizirane efikasnost, sigurnost i preživljavanje fotoferezom tretiranih bolesnika sa refrakternim T–ćelijskim limfomom (u različitim stadijumima kožnih promena). Kompletan terapijski odgovor je zabeležen u 25% bolesnika, a delimičan (nestanak barem 50% lezija) u još 25% bolesnika. Nije uočena značajna razlika između respondera i nonrespondera u pogledu demografskih, kliničkih i laboratorijskih varijabli. Zaključak većine istraživača je da je fotofereza sigurna i efikasna, alternativna terapija za kutani T ćelijski limfom, refrakteran na druge terapije. Ona može da indukuje dugotrajniju remisiju bolesti (tzv. disease-free remission) kod manjeg broja bolesnika. Odgovor u prvih 6–8 meseci tretmana predviđa ishod na dužim stazama (68–73).

Terapija GvHD je oduvek bio manje uspešan od njegove prevencije – najvažnije je rano početi sa lečenjem. U tretmanu GvHD, pored kortikosteroida, imunosupresivnih i drugih medikamenata, uspešnom se pokazala i fotofereza koja je omogućila nastanak remisiju u nekih bolesnika sa hroničnom GvHD. Jedna od takvih studija (68) je obuhvatila 20 bolesnika sa hroničnom i 21 bolesnika sa akutnom formom GvHD refrakternom na kortikosteroide i bez povoljnog efekta primene ciklosporina A. U ovom kliničkom ispitivanju vantelesna fotohemoterapija, tj. fotofereza je korišćena kao terapija druge linije. Ona je primenjivana u dva uzastopna dana, u početku svakih 7 do 14 dana, a kasnije svake 4 nedelje. Posle tromesečne terapije remisija je postignuta kod skoro svih bolesnika sa II stadijumom GvHD, u njih 70% sa stadijumom III i kod 12% bolesnika koji su razvili IV stadijum GvHD. Kompletan odgovor je postignut kod 60% bolesnika sa kožnim promenama, kod njih 70% sa znacima oštećenja jetre. Međutim, u ovoj studiji fotofereza kod bolesnika sa crevnim promenama nije se pokazala kao efikasna (5, 68).

Što se tiče hronične forme GvHD, kod oko 80% bolesnika sa kožnim promenama je postignuta kompletna remisija, a kod preostalih 20% parcijalan odgovor. Praktično su svi bolesnici (95%) sa promenama u usnoj duplji uvedeni u kompletnu remisiju. Najzad, kod oko 80% bolesnika sa promenama na jetri fotofereze su bile efikasne (postignuta je kompletna ili

parcijalna remisija). Kao zaključak nameće se činjenica da je fotofereza sigurna i efikasna dodatna terapija za akutni i hronični ekstenzivni oblik GvHD gde se javljaju kožne i visceralne promene, a koji su rezistentne na konvencionalnu imunosupresivnu terapiju (4–6, 68).

Adsorpcijska granulocitafereza

Nedavno uočeno je da u osoba sa reumatoidnim artritisom ili karcinomom, kao i u bolesnika sa Crohn–vom bolešću ili ulceroznim kolitisom dolazi do granulocitoze (uz limfocitopeniju). Njihovo nagomilavanje u tkivima dovodi do inflamacijskih oštećenja lučenjem proteolitičkih enzima i slobodnih radikala kiseonika, odnosno posredstvom oslobođenih inflamacijskih citokina i adhezivnih molekula. Zbog toga, kod ovih bolesnika je opravdano lečenje terapijskom granulocitaferezom, čiji je cilj postizanje imunomodulacijskog efekta, smanjenjem ukupnog broja granulocita u organizmu i sledstvenom redukcijom oslobađanja i aktivnosti spomenutih medijatora inflamacije (50–56).

Sporedni efekti afereza

Treba istaći da su afereze (u prvom redu terapijske) agresivne procedure, kojima se direktno interveniše u cirkulaciju davalaca ili bolesnika i zato mogu biti praćene sporednim efektima. Da bi se oni sveli na najmanju moguću meru, primenjuju se posebni kriterijumi za izbor davalaca i bolesnika i izvodi se permanentno praćenje odgovarajućih bioloških parametara (kao što su, hemogram, biohemizam krvi, skринing testovi koagulacije), uz kliničko praćenje osoba kojima se predviđa afereza (82–88).

Prisutan je određen broj komplikacija i sporednih efekata koje treba na vreme prepoznati i otkloniti: komplikacije postupka venepunkcije, lokalna infekcija i tromboza, hipokalcemija, hipotenzija, embolija, sepsa i zastoj srca. Najčešće komplikacije su problemi vezani za venepunkciju. U koliko je vena davaoca slabije izražena, a ako pri tome postoji meko potporno tkivo ispod nje, može doći do probijanja donjeg zida vene, što će izazvati jak bol, a takođe i brzo formiranje hematoma. U koliko se hematom ne organizuje, već značajno poveća svoju zapreminu, može izazvati kompresiju nerva. Lokalno, na mestu

venepunkcije, moguće je da dođe i do infekcije, kao posledice nedovoljno pripremljenog polja za intervenciju. Takođe, može se desiti obliteracija vene nakon završene afereze, pa sledstveno tome tromboza. U koliko trombozu prati upalni proces, tromb će velikom površinom biti vezan za intimu krvnog suda i tokom vremena rekanalisan, pa ne predstavlja neposrednu opasnost. No, ako je reakcija na stvaranje tromba slaba, tromb će samo malom površinom biti uz intimu vene i strujom krvi može biti pokrenut do desne pretkomore, a zatim i komore u kojoj će biti razbijen. Partikule tromba prelaze u plućni krvotok i dovode do začepljenja malih krvnih sudova. U koliko je veći tromb, može doći do obliteracije plućne arterije i smrtnog ishoda. Treba istaći i komplikacije naročito pri plasiranju katetera u centralnu venu.

Hipokalcemija je relativno česta komplikacija (40). Spada u benigne posledice neadekvatno zadatog odnosa antikoagulansa i krvi ili preosetljivosti davaoca na konzervans (najčešće acidum citricum – ACD). Pojava je karakterisana drhtavicom i nelagodnošću koja prelazi u kolaps sa jasno izraženim generalizovanim tremorom. Hipokalcemija traje kratko.

Od navedenih sporednih efekata najčešće se javljaju oni, uzrokovani viškom citrata, i to u vidu: perioralne parestezije, trnjenja, povraćanja, tetanije, srčane aritmije. Njihovom razvoju doprinose hiperventilacija, hipotermija, hipomagnezijemija i upotreba plazme kao nadoknadne tečnosti. Sporedni efekti izazvani citratom obično mogu biti sprečeni menjanjem odnosa cele krvi i citrata ili sporijom reinfuzijom krvnih ćelija, odnosno najcelishodnijim izborom nadoknadne tečnosti kod TIP. Posebnu pažnju zahtevaju oni bolesnici koji, usled osnovnog oboljenja, nisu u stanju da govore i ne mogu saopštiti pojavu početnih blagih efekata trovanja citratom, te nije moguće sprovesti blagovremenu terapiju (3–5, 82–88).

Pored tromboembolije, jedna od retkih komplikacija je i vazдушna embolija. Kod kontinuiranog afereznog postupka, zbog veoma dobrog konstrukcionog rešenja aparata, vazduh teško da ne bude primećen od strane senzora koji su na izlaznom delu. Ipak, 2–3 mL vazduha može ostati u proširenoj komori sa mrežicom, upravo u konveksitetu vrha mrežice, tako da zaostane neprimećen prilikom punjenja sistema fiziološkim rastvorom. Pri nailasku krvi menja se površinski napon između zaostalog vazduha i fluida, pa



embolus krene ka veni davaoca. Isti mehanizam prolaska embolusa je i kod aparata sa diskontinuiranim protokom, s tim da dodatna mogućnost za ulazak vazduha u krvotok davaoca postoji pri povratnom ciklusu, iz transfer-kese koja se nalazi na ulazno-izlaznoj liniji neposredno posle igle za punkciju. U koliko je veći vazdušni mehur, može se desiti da zastane na račvi plućne arterije i da onemogućiti protok krvi što dovodi do zastoja srca i smrtnog ishoda.

Sepsa, kao komplikacija afereza je izuzetno retka komplikacija i smatra se da dolazi neodgovornim ponašanjem medicinskog osoblja, jer se radi sterilnim sistemima za jednokratnu upotrebu. Znači, ako se polje za punkciju ne pripremi kako treba, ili nesterilno rukuje iglom, demontiraju pojedini delovi sistema za aferezu, vrše nedozvoljene improvizacije u radu, moguće je inficirati davaoca i dovesti do infekcije koja može preći u sepsu.

Zastoj srca može nastati iz više razloga: neadekvatan i velik priliv acidum citricum-a, hipervolemijska ekstenzija miokarda sa akutnim popuštanjem srca, neotkriveno srčano oboljenje sa promenama u sprovodnom sistemu i dr. Zastoj srca je najozbiljnija komplikacija koja zahteva odmah prekid afereze, asistiranu masažu srca, uključivanje kiseonika, bikarbonatnog rastvora (ako potraje duže od dva minuta), davanje intrakardijalno adrenalina i hitan transport do koronarne jedinice gde će biti pod kontrolom najmanje 24 sata. Ovo je izuzetno retka komplikacija (na 10 000 afereza jedan slučaj). Komplikacije se odnose i nasniženje koncentracije normalnih konstituenata plazme sa sledstvenim farmakodinamskim promenama (posebno onih lekova koji se vezuju za albumin), respiratornu insuficijenciju, zastoj srca i infekciju (5, 40, 41). Incidenca sporednih efekata kod naših bolesnika iznosila je oko 12% u odnosu na primenjene aferezne procedure, odnosno oko 40% u odnosu na osobe tretirane aferezama. Sporedni efekti su bili češći kod bolesnika u odnosu na davaoce i prilikom izvođenja TIP u poređenju sa citaferezama – uključujući i aferezu MNC radi prikupljanja MC, kada je volumen procesirane krvi iznosio i do oko 20 l tokom jedne procedure (82–88).

Najzad, učestalost komplikacija sa smrtnim ishodom pri izvođenju terapijskih afereza varira od 1/500 do 3/10 000 procedura (40). Međutim, najčešći uzrok smrti je pre afereze postojeća kardiorespiratorna insuficijencija. Ukoliko afereze izvodi dovoljno edukovano osoblje, uz adekvatno

kliničko i laboratorijsko praćenje osoba podvrgnutih aferezi, sva ova neželjena dejstva mogu u najvećem broju slučajeva biti uspešno sprečena urgentnom primenom medikamenata, iako nažalost postoje, kao što je rečeno, i afereze sa veoma teškim komplikacijama i smrtnim ishodom.

LITERATURA

1. Buskard NA. Therapeutic apheresis. Clin Oncol 1983; 2: 705–18.
2. Arsić M, Balint B, Radović M. Separatori krvnih ćelija i njihova primena u savremenoj medicini. Anest Reanim Transf 1982; 14: 85–90
3. Valbonesi M, Pineda AA, Biggs JC. Therapeutic apheresis. Milano: Wichtig Editore, 1986.
4. McLeod BC. Apheresis: principles and practice. 2nd ed. Bethesda: AABB Press; 2005.
5. Balint B. Principi intenzivne hemoterapije. Beograd: GŠ–SCG i VMA; 2004.
6. Balint B, Bogdanović G, Dimitrijević G. Hemaferaze. In: Balint B, ed. Transfuziologija. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2004. p. 455–77.
7. Balint B, Jovičić A, Taseski J, Malešević M, Mitrović D. Primena afereznih procedura u lečenju bolesnika sa hemobiološkim poremećajima. Vojnosanit Pregl 1999; 56: 45–55.
8. Valbonesi M, Bruni R, De Luigi MC. Therapeutical hemapheresis as of 2000. Vox Snag 2000; 78 (2 Suppl): 51–6.
9. Borberg H. Quo vadis haemapheresis. Current developments in haemapheresis. Transfus Apher Sci 2006; 34(1): 51–73.
10. Balint B, Radović M. Afereza: prošlost i savremena transfuziološka aplikacija. Anest Reanim Transf 1995; 24(1/2): 1–12.
11. Balint B, Ilić V, Taseski J, Vučetić D. Transfuzijom posredovana imunomodulacija i njena prevencija ultravioletnim zračenjem. Anest Reanim Transf 1998; 27: 5–11.
12. Bosch T, Wendler T. State of the art of low-density lipoprotein apheresis in the year 2003. Ther Apher Dial 2004; 8(2): 76–9.
13. Sulowicz W, Stompfort T. LDL-apheresis and immunoabsorption: novel methods in the treatment of renal diseases refractory to



- conventional therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18 Suppl 5: v59–62.
14. Canaud B, Leray–Moragues H, Kamoun K, Garrigue V. Temporary vascular access for extracorporeal therapies. *Ther Apher* 2000; 4(3): 249–55.
 15. Santoro A, Mancini E, Ferramosca E, Faenza S. Liver support systems. *Contrib Nephrol* 2007; 156: 396–404.
 16. Hanai H. Leucocytapheresis for inflammatory bowel disease in the era of biologic therapy. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20(7): 596–600.
 17. Edelson RL. Photopheresis: a clinically relevant immunobiologic response modifier. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 636: 154–64.
 18. Knobler R. Extracorporeal photochemotherapy – present and future. *Vox Sang* 2000; 78 (2 Suppl): 197–201.
 19. Mathur K, Morris S, Deighan C, Green R, Douglas KW. Extracorporeal photopheresis improves nephrogenic fibrosing dermopathy/nephrogenic systemic fibrosis: three case reports and review of literature. *J Clin Apher* 2008; 23(4): 144–50.
 20. Radović M, Balint B, Đurić D, Taseski J, Milenković Lj, Krstić Č, Tiška–Rudman Lj, Ciko Z, Malešević M: Clinical application of therapeutic cytappheresis. *Libri Oncol* 1990; 19: 15–9.
 21. Ostojić G, Basarić S, Balint B, Taseski J. Terapijske citafereze u tretmanu bolesnika sa hematološkim poremećajima. *Anest Reanim Transf* 2000; 28: 75–7.
 22. Rosenberg SA, Lotze MZ, Muul LM et al. Observations on the systemic administration of autologous lymphokine–activated killer cells and rIL–2 to patients with metastatic cancer. *N Engl J Med* 1985; 313: 1485–92.
 23. Laws HJ, Nurnberger W, Korholz D, Kogler G, Fischer J, Niehues T, et al. U Successful treatment of relapsed CML after cord blood transplantation with donor leukocyte infusion IL–2 and IFNalpha. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25: 219–22.
 24. Weiss L, Reich S, Slavin S. Allogeneic cell therapy in murine B–cell leukemia (BCL1): 2. The role of non–activated and rIL–2–activated CD4+ and CD8+ T cells in immunotherapy for leukemia. *Cytokines Cell Mol Ther* 1999; 5: 153–8.
 25. Hoffman DM, Gitlitz BJ, Belldegrun A, Figlin RA. Adoptive cellular therapy. *Semin Oncol* 2000; 27(2): 221–33.
 26. Stamatović D, Balint B, Obradović S, Malešević M. Successful treatment of the CML–Ph+ relaps after the allogeneic bone marrow transplantation with donor’s lymphocytes transfusion (DLT). 2nd International Symposium on Allogeneic Peripheral Blood and Cord Blood transplantation. Oct 30–Nov 1, 1997, Geneva. Geneva: EBMT; 1997. p. 68.
 27. Petakov M, Balint B, Bugarski D, Jovčić G, Stojanović N, Vojvodić D et al. Donor leukocyte infusion – the effect of mutual reactivity of donor’s and recipient’s peripheral blood mononuclear cell on hematopoietic progenitor cells growth. *Vojnosanit Pregl* 2000; 57(5 Suppl): 89–93.
 28. Lasky LC. Peripheral blood stem cells. In: Lasky L, Warkentin P, editors. *Marrow and stem cell processing for transplantation*. Bethesda, MD: AABB Press; 1995. p. 169–89.
 29. Kessinger A. Peripheral stem cell transplantation. In: Petz LD, Swisher SN, Kleiman S, Spence RK, Strauss RG, editors. *Clinical practice of transfusion medicine*, 3rd ed. New York: Churchill Livingstone; 1996. p. 1041–52.
 30. Balint B, Ivanović Z: Transplantacija matičnih ćelija hematopoeze mobilisanih u perifernu krv. *Bilt Transfusiol* 1995; 24: 5–11.
 31. Moog R. Mobilization and harvesting of peripheral blood stem cells. *Curr Stem Cell Res Ther* 2006; 1(2): 189–201.
 32. Robinet E, Lapierre V, Tayebi H, Kuentz M, Blaise D, Tiberghien P. Blood versus marrow hematopoietic allogeneic graft. *Transfus Apher Sci* 2003; 29(1): 53–9.
 33. Balint B, Stamatović D, Taseski J, Vojvodić D, Todorić B, Malešević M. Mononuclear cell harvesting for allogeneic peripheral blood transplantation. 2nd International Symposium on Allogeneic Peripheral Blood and Cord Blood transplantation. Oct 30–Nov 1, 1997, Geneva. Geneva: EBMT; 1997. p. 42.
 34. Rogojan C, Frederiksen JL. Hematopoietic stem cell transplantation in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 2009; 120(6): 371–82.
 35. Balint B. Coexistent cryopreservation strategies: microprocessor–restricted vs. uncontrolled–rate freezing of the



- "blood-derived" progenitors/cells. *Blood Banking Transf Med* 2004; 2(2): 62–71.
36. Balint B. Stem and progenitor cell harvesting, extracorporeal "graft engineering" and clinical use – initial expansion vs. current dilemmas. *Clin Appl Immunol* 2006; 5(1): 518–27.
37. Stamatovic D, Marjanovic S, Balint B, Todoric B, Tukic Lj, Malesevic M. High dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation in the treatment of refractory and relapsed Hodgkin's disease. *Vojnosanit Pregl* 2000; 57 (5 Suppl): 55–61.
38. Herschler R, Brugger W, Luft T, Frez T, Mertelsmann R, Kanz L. Maintenance of transplantation potential in ex vivo expanded CD34⁺-selected human peripheral blood progenitor cells. *Blood* 1994; 84: 2898–903.
39. Douay L. Experimental culture conditions are critical for ex vivo expansion of hematopoietic cells. *J Hematother Stem Cell Res* 2001; 10(3): 341–6.
40. Klein HG, Anstee DJ. *Mollison's Blood transfusion in clinical medicine*. 11th ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2005.
41. Brecher ME, editor. *Technical Manual*, 15th ed. Bethesda: AABB Press, 2005.
42. Balint B, Radović M. Citaferze i njihova primena u lečenju. *Bilten Hematol Transfuziol* 1990; 18: 81–8.
43. Milenković Lj, Balint B, Škaro–Milić A, Lakić–Trajković Z, Radović M, Spasić P. Prinos i morfologija koncentrovanih trombocita pripremanih iz buffy coat–a. *Vojnosanit Pregl* 1995; 52: 18–24.
44. Vučetić D, Balint B, Milenković Lj, Taseski J, Mandić–Radić S, Regović V. Biohemijske promene u jedinicama koncentrovanih trombocita skladištenih pet dana. *Vojnosanit Pregl* 2000; 57 (5 Suppl): 29–36.
45. Vamvakas EC. Pneumonia as a complication of blood product transfusion in the critically ill: transfusion-related immunomodulation (TRIM). *Crit Care Med* 2006; 34(5 Suppl): S151–9.
46. Dale DC, Price TH. Granulocyte transfusion therapy: a new era? *Curr Opin Hematol* 2009; 16(1): 1–2.
47. Drewniak A, Kuijpers TW. Granulocyte transfusion therapy: randomization after all? *Haematologica* 2009; 94(12): 1644–8.
48. Price TH. Granulocyte transfusion therapy. *J Clin Apher* 2006; 21(1): 65–71.
49. Atallah E, Schiffer CA. Granulocyte transfusion. *Curr Opin Hematol* 2006; 13(1): 45–9.
50. Radović M, Balint B, Milenković Lj, Tiška–Rudman Lj, Taseski J. Therapeutic leukapheresis. *Transf Sci* 1991; 12: 193–6.
51. Belak M, Jako J. Indications of urgent plasma exchange and cytapheresis therapies – a review based on literature data and personal experience. *Orv Hetil* 2006; 147(38): 1843–8.
52. Poullin P, Lefèvre P. Therapeutic erythrocytapheresis: technical aspects and clinical applications. *Rev Med Interne* 2008; 29(4): 290–6.
53. Nieuwenhuis JA, Meertens JH, Zijlstra JG, Ligtenberg JJ, Tulleken JE, van der Werf TS. Automated erythrocytapheresis in severe falciparum malaria: A critical appraisal. *Acta Trop* 2006; 98(3): 201–6.
54. Valbonesi M, Bruni R. Clinical application of therapeutic erythrocytapheresis (TEA). *Transfus Sci* 2000; 22(3): 183–94.
55. Balint B, Ostojic G, Pavlovic M, Hrvacevic R, Pavlovic M, Tukic Lj, et al. Cytopheresis in the treatment of cell-affected blood disorders and abnormalities. *Transf Apher Sci* 2006; 35: 25–31.
56. Balint B. Hemomodulacijski mehanizmi i terapijski pristupi. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, 1999.
57. Bosch T. Current status in extracorporeal immunomodulation: immune disorders. *Artif Organs*. 1996; 20(8): 902–5.
58. Fukunaga K, Fukuda Y, Sawada K, Hori K, Matoba Y, Sagayama K, Ohnishi K, Fukui S, Shimoyama T. Poorly controlled ulcerative colitis treated by colectomy during remission induced by extracorporeal leukocyte removal therapy. *J Gastroenterol* 2003; 38(7): 684–9.
59. Nakamura T, Suzuki Y, Koide H. Granulocyte and monocyte adsorption apheresis in a patient with antglomerular basement membrane glomerulonephritis and active ulcerative colitis. *Am J Med Sci* 2003; 325(5): 296–8.
60. Hanai H. Positions of selective leukocytapheresis in the medical therapy of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12(47): 7568–77.



61. Caprilli R, D'Ovidio V. Leukocytapheresis as promising therapy for inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis* 2007; 39(5): 435–7.
62. Yamamoto T, Umegae S, Matsumoto K. Safety and clinical efficacy of granulocyte and monocyte adsorptive apheresis therapy for ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12(4): 520–5.
63. Hanai H, Watanabe F, Saniabadi AR, Matsushita I, Takeuchi K, Iida T. Therapeutic efficacy of granulocyte and monocyte adsorption apheresis in severe active ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 2002; 47(10): 2349–53.
64. Sułowicz W, Stompór T. LDL-apheresis and immunoadsorption: novel methods in the treatment of renal diseases refractory to conventional therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18 Suppl 5: v59–62.
65. Tsukada Y, Nakamura T, Iimura M, Iizuka BE, Hayashi N. Cytokine profile in colonic mucosa of ulcerative colitis correlates with disease activity and response to leukocytapheresis. *Am J Gastroenterol* 2002; 97(11): 2820–8.
66. Endo Y, Tsuzuki H, Fujino M, Tabata T, Oka H, Shimizu T, et al. Off-line leukapheresis using leukofiltration for active ulcerative colitis: a case report. *Ther Apher* 2001; 5(6): 480–3.
67. Lim HK, Anderson J, Leong JY, Pepe S, Salamonsen RF, Rosenfeldt FL. What is the role of leukocyte depletion in cardiac surgery? *Heart Lung Circ* 2007; 16(4): 243–53.
68. Grenix H. Successful use of extracorporeal photochemotherapy in the treatment of severe acute and chronic Graft-versus-Host Disease. *Blood* 1998; 12: 3098–104.
69. Prinz B, Nachbar F, Plewig G. Treatment of severe atopic dermatitis with extracorporeal photopheresis. *Arch Dermatol Res* 1994; 287: 48–52.
70. Barr MI. Photopheresis for the prevention of rejection in cardiac transplantation. *N Engl J Med* 1998; 339: 1744–51.
71. Duvic M, Hester JP, Lemak N. Photopheresis therapy for cutaneous T cell lymphoma. *J Am Acad Dermatol* 1996; 35: 573–9.
72. Zic JA. Long-term follow-up of patients with cutaneous T-cell lymphoma treated with extracorporeal photochemotherapy. *J Am Acad Dermatol* 1996; 35: 935–45.
73. Gottlieb G. Treatment of cutaneous T-cell lymphoma with extracorporeal photopheresis monotherapy and in combination with recombinant interferon alfa: A 10-year experience at a single institution. *J Am Acad Dermatol* 1996; 35: 946–57.
74. Balint B and the National Apheresis Group. Apheresis in donor and therapeutic settings: recruitments vs. possibilities – a multicenter study. *Transf Apher Sci* 2005; 33: 229–37.
75. Todorovic M, Balint B, Suvajdzic N, Pavlovic M, Petrovic M, Jevtic M, et al. Triple-way therapeutic approach for paraganglioma-dependent erythrocytosis: drugs plus surgery plus "multi-manner" apheresis. *Med Oncol* 2008; 25(2): 148–53.
76. Balint B, Pavlovic M, Todorovic M, Jevtic M, Ristanovic E, Ignjatovic LJ. The use of simplified *ex vivo* immunoadsorption and "multi-manner" apheresis in ABO/H-mismatched kidney transplant setting – phase II clinical study. *Transf Apher Sci*. In press 2010.
77. Gordana Ostojić. Ocena efikasnosti originalnog sistema za ekstrakorporalnu imunoadsorpciju kod transplantacije ABO-inkompatibilnih bubrega [disertacija]. Beograd: VMA, 2007.
78. Paunovic D, van der Meer P, Kjeldsen-Kragh J, Kekomaki R, Larsson S, Greppi N, Porretti L, Balint B, et al. Multicenter evaluation of a hole blood filter that saves platelets. *Transfusion* 2004; 44: 1197–203.
79. Balint B, Cavor LJ, Paunovic D. Effect of leukoreduction on the proinflammatory cytokine concentration in platelet concentrates. *Bulet Transfus* 2003; 49: 5–12.
80. Pamphilon DH. The treatment of blood components with ultraviolet-B irradiation. *Vox Sang* 1998; 3 (Suppl 2): 15–20.
81. Chen Yi-Rong, Wang X, Templeton D, Davis RJ, Tan TH. The role of c-Jun N-terminal kinase (JNK) in apoptosis induced by ultraviolet C and gamma radiation. Duration of JNK activation may determine cell death and proliferation. *J Biol Chem* 1996; 271: 31929–36.

82. Strauss RG. Mechanisms of adverse effects during hemapheresis. *J Clin Apher.* 1996; 11(3): 160–4.
83. Uhl L, Maillet S, King S, Kruskall MS. Unexpected citrate toxicity and severe hypocalcemia during apheresis. *Transfusion* 1997; 37: 1063–5.
84. Weinstein R. Hypocalcemic toxicity and atypical reactions in therapeutic plasma exchange. *J Clin Apher* 2001; 16(4): 210–1.
85. Farrokhi P, Farahmand H, Bismuth A, Suarez C, Ducot B, Gillon MC et al. How to stabilize the level of ionized calcium and citrate during plateletpheresis. *Vox Sang* 1998; 74: 7–12.
86. Despotis GJ, Goodnough LT, Dynis M, Baorto D, Spitznagel E. Adverse events in platelet apheresis donors: a multivariate analysis in a hospital-based program. *Vox Sang* 1999; 77: 24–32.
87. D'Souza A, Jaiyesimi I, Trainor L, Venuturumili P. Granulocyte colony-stimulating factor administration: adverse events. *Transfus Med Rev* 2008; 22(4): 280–90.
88. Pulsipher MA, Nagler A, Iannone R, Nelson RM. Weighing the risks of G-CSF administration, leukopheresis, and standard marrow harvest: ethical and safety considerations for normal pediatric hematopoietic cell donors. *Pediatr Blood Cancer* 2006; 46(4): 422–33.





CITOGENETSKI I MOLEKULSKO–GENETSKI MARKERI PRIHVATANJA ALOKALEMA MATIČNIH ČELIJA

Marika Ljubenov¹, Milena Todorović², Biljana Todoric–Živanović¹,
Gordana Ostojić¹, Dragana Stamatović¹, Bela Balint^{1 3}, Miroљub Trkuljić¹,

¹Vojnomedicinska akademija, Beograd; ²Klinika za hematologiju Kliničkog centra Srbije, Beograd; ³Institut za medicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu.

Praćenje uspešnosti alogene transplantacije matičnih ćelija (MĆ) (od opšteg kliničkog do molekuskog nivoa) i pravovremena primena adekvatnih profilaktičkih i terapijskih protokola kod transplantiranih bolesnika, zasniva se, između ostalog, i na proceni stepena himerizma – tj. ispitivanju prisustva i zastupljenosti donorskih ćelija hematopoetskog, a time i imunskog sistema. Generalno, posle transplantacije MĆ, kod bolesnika se mogu se javiti četiri mogućnosti po pitanju postizanja himerizma. U prvom slučaju po isteku određenog posttransplantacijskog perioda dolazi do postizanja kompletnog donorskog himerizma (DH) tj. nalazimo samo ćelije donora prilikom analize. U drugoj situaciji postizanja tzv. tranzitornog mešanog himerizma (TMH) imamo mešami profil u kome je prisutno oko 1–5% ćelija primaoca koje su detektovane u prvih 6 meseci posttransplantacionog toka, sa postepenom prelaskom na kompletni donorski himerizam. Zatim, kod postojanja stabilnog mešanog himerizma (SMH) postoji mešana ćelijska populacija sa obično 1–20% ćelija primaoca koje se nekon alogene transplantacije održavaju u konstantnom nivou tokom perioda praćenja. Najposle, u slučaju progresivnog mešanog himerizma (PMH), postoji mešani profil donorskih ćelija i ćelija primaoca koje progresivno rastu na nivo >10% (1–7).

Stabilno prihvatanje davaočevih ćelija i nizak stepen mešanog himerizma u kome primaočeve ćelije mogu koegzistirati sa donorskim ćelijama različiti vremenski period, često koreliraju sa trajanjem remisije (2). Suprotno, detekcija progresivnog

povratka, porasta procentualne zastupljenosti ćelija primaoca nije uvek u korelaciji sa rizikom nastanka relapsa osnovne bolesti ili odbacivanja alokalema, jer te ćelije mogu biti kako maligne, tako i normalne (3). Naime, pokazalo se da u odnosu na maligne ćelije i alogene efektorske ćelije imunskog odgovora, zdrave hematopoetske ćelije u većem broju preživljavanju kondicioni tretman (4).

Do sada su urađena mnoga ispitivanja gde je prikazana korelacija između minimalne rezidualne bolesti (minimal residual disease–MRD), kliničke i biološke karakteristike bolesti i njenog ishoda. Jasno je da detekcija minimalne rezidualne bolesti podrazumeva prisustvo leukemijskih MĆ, odgovornih za povratak bolesti (5).

Korišćenje različitih postupaka i tehnika za procenu stepena ili vrste himerizma ali i za detekciju minimalne rezidualne bolesti koje daju konačni zaključak o prihvatanju alokalema, zasnivaju se na metodama hemofenotipizacije (ispitivanje antigena eritrocita i leukocita: pojavljivanje novog, donor–specifičnog antigena (DSA) na eritrocitima; nestanak dotadašnjeg recipijent–specifičnog antigena (RSA), u skladu sa fenotipom davaoca i promena u plazmatskom sadržaju odgovarajućih prirodno–prisutnih ili ponekad iregularnih antitela sistema ABO, na analizi izotipova imunoglobulina i citogenetskim studijama (1–9). Na osnovu iznetog, moguće je tvrditi da uspešnost lečenja primenom MĆ, svakako uz praćenje kliničkih i hematoloških parametara, treba potvrditi i specifičnim imunohematološkim, citogenetskim i molekulska–genetskim markerima prihvatanja alokalema.



Najvažniji imunohematološki markeri su membranski eritrocitni (krvnogrupni) antigeni specifičnih krvnogrupnih sistema, a od citogenetskih markera zbog učestalosti praćenja, treba spomenuti: Filadelfijski hromozom (Ph hromozom) čije se odsustvo konstatuje kod prihvatanja alokalema. Praćenjem polnih hromozoma X i Y (ukoliko su primalac i davalac MČ različitih polova) vidimo novu polnu karakteristiku posle prihvatanja kalema, kada primalac prima kariotip davaoca. Citogenetska i molekulsko-genetska ispitivanja genetskih markera daju veoma pouzdan i raniji podatak o prihvatanju alokalema u odnosu na hemofenotipizaciju (u proseku +28. nasuprot +87. dan), zatim daju i validnu informaciju o postojanju rezidualne bolesti na nivou kariotipa, kao i o relapsu hematološkog maligniteta posle transplantacije.

Kao što je već rečeno, citogenetske analize se uspešno koriste za procenu prihvatanja kalema s jedne strane, odnosno za detekciju relapsa u određenim okolnostima, s druge strane, ali nažalost, hromozomske studije ne pribavljaju bilo kakvu informaciju o ćelijama u G₀ fazi ili u težim oblicima pancitopenije, a mogu biti i kompromitovane kod transfuzijski zavisnih bolesnika (6).

Što se ćelijske osnove poremećaja tiče, kad posmatramo bolesnike sa hroničnom mijeloidnom leukemijom (CML) mora se imati u vidu da je to klonalna hematološka bolest na nivou najprimitivnijih populacija MČ. Genski defekt se ogleda u translokaciji genetskog materijala između hromozoma 9 i hromozoma 22 koja je pozitivna u 90–95% slučajeva, a rezultuje prisustvom već spomenute citogenetske abnormalnosti hromozoma Ph. Ukoliko se potencijalno neki kancerogeni gen (proto-onkogen) koji obično nije transkripcijski aktivan "naslanja ili udružuje" sa genom koji aktivno učestvuje u procesu transkripcije, to može rezultovati ushodnom regulacijom ekspresije i datog proto-onkogen. (10, 11).

Ova recipročna translokacija između dugog kraka hromozoma 9 i 22 [t(9;22)(q34;q11)] povlači gen ABL iz 9q34, te C-ABL protoonkogen iz hromozoma 9 postaje vezan za tačku klasterizacije, označen kao "Break-Point Cluster Region" (BCR) na hromozomu 22q11 rezultujući himeričkim fuzionisanjem proteina koji ima osobine tirozin kinaze i tako mehanizmima nepoznatim u potpunosti vodi do tipičnog CML fenotipa (11).

Proizašli fuzioni (hibridni) gen BCR-ABL kodira protein (uobičajeno veličine 210 kDa) koji ima povećanu aktivnost tirozin-kinaze, a čija aktivnost vodi ka nishodnoj aktivaciji pojedinih proteina, uključujući intracelularne puteve signalne trasdukcije; Crkl i AKT, Ras/Raf-1, Stat 1 i 5. Dakle, BCR-ABL protein i aktivnost tirozin kinaze vezane za njegovo postojanje imaju centralno mesto u patogenezi CML, tako što tirozin kinaza utiče brojnim kaskadama signala na aktivisanje ćelijskog rasta, inhibiranja apoptoze i nishodne regulacije ekspresije gena koji kodiraju adhezione molekule (10, 11).

Zavisno od tačne pozicije translociranog gena ABL (exon b2) unutar BCR, mogu biti stvorena tri različita fuzion produkt: p190 (molekulske težine 190 kDa, ekson e1), p210 (ekson b2 ili b3) i p230 (ekson e19). Bolesnici sa CML ekspiruju najčešće p210 protein i retko p230, dok bolesnici sa ALL obično ekspiruju p190. Ponekad bolesnici sa ALL prezentuju ekspresiju p210 ali većina tih slučajeva predstavlja limfoidnu blastnu krizu CML (10).

Kod oko 90% bolesnika sa CML dokazano je prisustvo hromozoma Ph rutinskim citogenetskim ispitivanjem. Kod većine preostalih bolesnika hromozom Ph nedostaje, ali BCR-ABL translokacija može biti detektovana fluorescentnom *in situ* hibridizacijom (FISH) ili RT-PCR. Progresija bolesti kod CML je udružena sa akvizicijom jedne ili više dodatnih kopija Ph1 ili klinalnom evolucijom, kao što je trizomija



hromozoma 8. Na kraju, oko 25% odraslih osoba sa ALL i oko 3% pedijatrijskih ALL je pozitivno na prisustvo hromozoma Ph. Prisustvo ovog hromozoma obično je udruženo sa lošijim ishodom bolesti (10, 11).

Jedna od veoma senzitivnih metoda, tzv. fluorescentna *in situ* hibridizacija (FISH) sa probama specifičnim za hromozom X, odnosno Y – isto može da se primeni ukoliko su davalac i primalac različitog pola (1). FISH se upotrebljava i za ispitivanje CML, negativne za Philadelphia (Ph) hromozom, a sa rearanžmanom BCR/ABL, kao i za karakterisanje stanja u kojima su standardne citogenetske analize neefikasne ili daju lažno pozitivne ili negativne rezultate. Ova tehnika može biti kvantitativna i kvalitativna, poboljšava dijagnostiku i predviđanje evolucije bolesti i može ukazati na neophodnost blagovremenog (ranijeg) terapijskog pristupa (6).

Savremeni pristup u ispitivanju stepena himerizma zasniva se, između ostalog, na direktnoj analizi genetskog materijala – tj. DNK. U molekulu DNK razlikujemo dva osnovna tipa polimorfizma: bialelski i multialelski. U grupu bialelskih polimorfizama spadaju oni genski lokusi koji (populacijski gledano) mogu postojati u jednom od dva alternativna alelska stanja. Najčešće se takvi aleli razlikuju u samo jednom nukleotidu ili u manjoj grupi nukleotida prisutnih ili odsutnih u nekom lokusu. Multialelski polimorfni genski lokusi su najčešće predstavljeni tzv. mini- i mikrosatelitima, tj. sekvencama u kojima se neki duži ili kraći motiv (od nekoliko nukleotida) uzastopno ponavlja više puta. Oko 50% takvih sekvenci – koje sadrže uzastopne "ponovke" (termin koji odgovara anglosaksonskom nazivu "repeats") – je polimorfno u populaciji, odnosno prisutne su u većem broju različitih alelskih formi. Budući da se različiti aleli razlikuju po broju uzastopnih "ponovaka" – a da taj broj može biti veoma varirijabilan u populaciji (u nekim mikrosatelitima osnovni motiv se može ponavljati i više hiljada puta) – ovi genski

lokusi su označeni kao hipervarijabilni genski lokusi (1).

Na osnovu broja nukleotida koji se nalaze u strukturi ponovljenog motiva ("ponovka"), ove sekvence se mogu podeliti na: a) mikrosatelitske – u kojima je sekvenca osnovnog ponovka dužine dva do 10 nukleotida i b) minisatelitske – u kojima osnovni "ponovci" mogu biti dužine i do nekoliko stotina nukleotida. U literaturi postoji načelna saglasnost da se termini "VNTR" (Variable Number of Tandem Repeat) i "minisateliti" koriste kao sinonimi, dok je za mikrosatelitske sekvence rezervisan termin "kratki uzastopni ponovci" (Short Tandem Repeats – STR). Dobijene sekvence STR imenuju se prema dužini osnovnog motiva kao di-, tri-, tetra- i penta-nukleotidni "ponovci". Do sada je – zahvaljujući istraživanjima u naučnim i komercijalnim laboratorijama – identifikovano više desetina hiljada lokusa STR, prilično ravnomerno raspoređenih po svim hromozomima humanog genoma (1).

Analiza multialelskih polimorfni genskih lokusa započela je razvojem tehnike koja nosi naziv "Restriction Fragment Length Polymorphism" (RFLP), ali je tek uvođenje tehnologije Polymerase Chain Reaction (PCR) sredinom devedesetih godina prošlog veka obezbedilo moćan pristup u proceni mešanog i kompletnog himerizma. Analize RFLP su bile pogodne za dokazivanja prihvatanja kalema kod svih ispitivanih bolesnika najranije oko 14 dana po transplantaciji iz 2–3 mL aspirata kostne srži ili 10 ml periferne krvi, ukoliko je broj leukocita veći od $0.4 \times 10^9/L$ (3).

Ipak, izvođenje ove analize je od manje pomoći za predviđanje relapsa bolesti posle transplantacije MĆ. Inače, istovremeno izvedene analize himerizma posle transplantacije MĆ pomoću VNTR i RFLP, ispitivanjem kariotipa i detekcijom genskog rearanžmana, trebalo bi da pokažu uvek usklađene rezultate (3).

Za razliku od tehnika RFLP, koje su zahtevale korišćenje 500 ng do 1 µg



genomske DNK, za obavljanje ispitivanja pomoću PCR amplifikacije dovoljno je tek DNK od 0,5 do 2 ng, te ona predstavlja brzi i tehnički lakši skrining metod (2). Pored toga, tehnika PCR je veoma senzitivna i specifična – detektujući praktično već jednu abnormalnu ćeliju u suspenziji koja sadrži 106 ćelija (6). U ovom dijagnostičkom pristupu, fluorescentno obeleženi prajmeri se koriste za umnožavanje genskih lokusa STR, a kvalitativna i kvantitativna analiza umnoženih produkata u aparatima za automatsko sekvencionisanje molekula DNK omogućuje preciznu procenu udela davaočevih i primaočevih alela u ispitivanom uzorku periferne krvi transplantiranog bolesnika. Budući da ovaj dijagnostički pristup obezbeđuje senzitivnost od 0,1 do 5%, tzv. Međunarodni Registar za transplantaciju kostne srži (International Bone Marrow Transplant Registry – IBMTR) preporučuje PCR analizu mikrosatelitskih genskih lokusa u uzorcima periferne krvi bolesnika – kao dovoljno senzitivan, specifičan, reproducibilan, te siguran postupak za procenu stepena (mešanog ili kompletnog) himerizma (1).

Savremeni PCR–STR pristup podrazumeva simultano umnožavanje petnaestak genskih lokusa STR pri multipleks amplifikaciji PCR. Osnovna prednost ovog

postupka je dostupnost veoma pažljivo dizajniranih kitova koji se koriste u humanoj identifikaciji u forenzičkoj genetici. Velika polimorfnost odabranih lokusa omogućava da se čak i u slučaju kada su davalac i bolesnik u najbližem srodstvu, među analiziranim genskim lokusima može pronaći više informativnih markera. Na osnovu njihove analize, moguće je proceniti kvantitativno učešće davaočevih i primaočevih alela u perifernoj krvi bolesnika. (1). Sve navedene, imunohematološke, citogenetske i molekulsko–genetske analize komplementarne, a ne kompetitivne metode za detekciju himerizma (3).

Prikaz sopstvenih ispitivanja i komentar

U ovoj studiji ispitana je grupa od 22 bolesnika, prosečnog uzrasta $28,36 \pm 9,8$ godina (od 9 do 46), 11 muškog pola i 11 ženskog, kojima je u periodu od 2 000 do 2008. (period praćenja 8 godina) urađena alogena transplantacija MĆ od porodičnog, u sistemu HLA podudarnog davaoca. Od ispitanih bolesnika, tešku aplastičnu anemiju (severe aplasti anaemia–SAA) je imalo četiri, CML četiri, akutnu mijeloidnu leukemiju (AML) tri, akutnu limfoblastnu (ALL) 9 i po jedan bolesnik bio je sa multiplim mijelomom (MM) i granulocitnim sarkomom (tabela 1).

Tabela 1 : Bolesnici i bolesti tretirani transplantacijom matičnih ćelija

PARAMETRI		
Uzrast bolesnika (SV $\pm$ SD)		28,36 $\pm$ 9,8
Pol bolesnika	muški	11
	ženski	11
Dijagnoze	AML	3
	CML	4
	SAA	4
	MM	1
	Granulocitni sarkom	1
Izvori MĆ	Kostna srž	7
	Periferna krv	15

Ispitivani bolesnici su podeljeni u četiri grupe: bilo je 7 ispitanika sa istogrupnim davaocem (u tkivno–krvnogrupnom sistemu ABO), tri sa bidirekcijskom (major/minor) inkompatibilnošću ABO, 11 sa major i jedan sa minor inkompatibilnošću ABO. Izvor MČ kod 7 bolesnika je bila kostna srž. Kod 15 bolesnika izvor MČ je bila periferna krv. Mobilizacija MČ u perifernu krv davaoca vršena je petodnevnom subkutanom primenom rHuG-CSF u dozi od 5–12 $\mu\text{g/kgtm}$. Afereza perifernih MČ izvedena je separatorom krvnih ćelija Cobe–Spektra (Caridian, USA), koristeći periferni venski pristup krvotoku, uz antikoagulaciju rastvorom ACD–B. Intenzivni aferezni tretman bolesnici su podneli dobro, bez pojave sporednih ili nepovoljnih efekata.

Kondicioni režimi bili su prilagođeni prirodi osnovne bolesti. Broj ukupnih nukleiranih ćelija (TNČ) u suspenziji MČ prikupljenih iz kostne srži je bio adekvatan (tj. najmanje $2 \times 10^8/\text{kgtm}$). Za kvantifikaciju i funkcionalnu očuvanosti pojedinih ćelijskih populacija u afereznom produktu, ispitivani su: broj TNČ, broj i vijabilnost mononukleusnih ćelija (MNČ), kao broj CD34+ ćelija. Broj TNČ i MNČ je determinisan pomoću protočne citometrije (Advia–2120 Bayer, Germany; Technicon H–3 System, USA). Ekspresija CD34+ ćelijskog antigena je ispitivana pomoću EPICS XL–MCL uređaja (Coulter, Germany).

Prevenција bolesti kalema protiv domaćina (GvHD) je najčešće sprovedena trojnom imunosupresivnom terapijom, tj. davanjem Metotreksata, Ciklosporina A i Metilprednizolona. Dijagnostika i stepenovanje akutnog i hroničnog GvHD vršeni su standardnim prihvaćenim metodama. Prevencija mogućih vidova infekcije je sprovedena redovnom primenom antimikrobnih agenasa uz upotrebu preparata intravenskog imunoglobulina (12).

Prihvatanje alogenog kalema objektivizirano je dostupnim, standardnim tehnikama. Prema parametrima krvne slike: porast broja leukocita, odnosno neutrofila $\geq 1.0 \times 10^9/\text{L}$, tj. $\geq 0.5 \times 10^9/\text{L}$ tokom tri uzastopna dana i trombocita $20\text{--}30 \times 10^9/\text{L}$ u istom periodu. Uz to, rađena je analiza punktata i biopsije kostne srži, procena stepena (mešanog i kompletnog) himerizma – citogenetski marker bolesti, polni hromozom, molekulski ispitivanja i eritrocitni fenotip.

Postupci pre, odnosno peritransplantacijske transfuziološke pripreme su sprovedeni zavisno od oblika ABO–inkompatibilnosti. Kod minor ABO–inkompatibilnosti centrifugovanjem suspenzije TNČ sa prisutnim MČ iz kostne srži (aspirat) uklanjan su antitela usmerena protiv eritocitnih antigena primaoca. U slučaju major ABO–inkompatibilnosti izvedene su izmene plazme kod primaoca u cilju smanjenja plazmatske koncentracije, tj. titra antitela usmerenih protiv davaočevih antigena (osnovni cilj je bio da titar bude ≤ 16), uz maksimalno otklanjanje eritrocita iz pripremljene suspenzije MČ: procesiranjem aspirata i upotrebom ruloformirajućeg agensa, odnosno maksimalnom redukcijom broja eritrocita u afereznom produktu prilikom prikupljanja ("harvest"). Bidirekcijska ABO–inkompatibilnost je zahtevala istovremeno izvođenje gore navedenih procedura iz prethodna dva oblika nepodudarnosti.

Ćelijski produkti krvi (koncentrovani trombociti i eritrociti) su neposredno pre izmene ozračeni sa 25 Gy i filtrirani radi smanjenja broja leukocita (leukodeplecija $\geq 3\text{--}5 \text{ Log}_{10}$), a time su prevenirani transfuzijom udruženi GvHD i/ili alosenzibilizacije. U slučaju major ABO–inkompatibilnosti u ranom posttransplantacijskom periodu sprovedena je supstitucija eritrocitima O krvne grupe, sve do prihvatanja alogenog kalema, a potom eritrocitima davaočeve krvne grupe. Isti postupak je sproveden i u slučaju bidirekcijske ABO–inkompatibilnosti (videti prikazani protokol u poglavlju uvod).

Citogenetska i molekulsko–genetska ispitivanja

Za citogenetsko ispitivanje korišćeni su aspirati kostne srži bolesnika sa klonalnim markerom bolesti. Aspirati kostne srži obrađivani su direktno i/ili su kultivisani 24 sata nakon čega je rađena preparacija hromozoma. Analizirano je po 20 metafaza. Mitoze su slikane i slagane su po dva kariotipa za svakog bolesnika. Kariotipovi su opisivani prema međunarodnom sistemu za nomenklaturu humanih hromozoma.

Izolovanje leukocita periferne krvi za RT–PCR analizu rađeno je kod bolesnika koji su imali varijantne translokacije i kod bolesnika kod kojih se nije uočavao hromozom Ph klasičnom citogenetskom analizom.



Pošto molekul ribonukleinske kiseline (RNK) ne može da služi kao matrica za PCR (Taq polimeraza kao matricu koristi isključivo jednolančani molekul DNK), proces reverzne transkripcije (RT) ima za zadatak da konvertuje RNK molekul u komplementarnu DNK (cDNK), koja se zatim koristi kao matrica za PCR. Kao pozitivna kontrola korišćena je RNK izolovana iz K562 ćelijske linije, a kao negativna sve komponente reakcione smeše osim RNK. Tako dobijena cDNK koristi se za reakciju lančane

polimerizacije. "Nested" RT-PCR primenjivan je, po potrebi, kod bolesnika kod kojih je RT-PCR nalaz bio negativan.

Rezultati citogenetskih ispitivanja

Rezultati metafazne citogenetike bolesnika pre i posle transplantacija MČ (primarne i sekundarne) – i to u smislu evaluacije kariotipa i postizanja donorskog himerizma na nivou kariotipa prikazani su u tabeli 2.

Tabela 2: Rezultati metafazne citogenetike bolesnika pre i posle transplantacija MČ

bolesnik D → P	bolest	kariotip pre TMC [broj metafaza]	TMC	kariotip posle TMC [broj metafaza]
BB M → Ž	CML Ph+	46, XX, t(9;22) (q34;q11) [20]	30.10.2007.	+27. dan: 46, XY, inv(9)(p11;q13) [20]
ŠB Ž → M	CML Ph+	46, XY, t(9;22) (q34; q11) [20]	05.02.2008.	+29. dan: bez mitotičke +141. dan: bez mitotičke
RM M → Ž	ALL – T	nema podataka	25.07.2007. 21.04.2008	+27. dan: 46, XY [5] pre TMC: 46XX [1] / 46XY [1] TMC: +43. dan: 46, XY [20]
TB M → Ž	CML Ph+	46, XX, t(9;22)(q34;q11) [20]	12.02.2003.	+28. dan: 46, XY [20]
BB Ž → M	ALL-T	46, XY, del (11)(q23) [3] / 46, XY, del (11)(q23), add (10)(p15) [2] / 46, XY, del (11)(q23), del (3) (q12) [1] / 46, XY [14]	23.12.2005. 05.04.2007.	+181. dan: 46, XX [15] 8.3.2007. 45–47 XY, +mar1, +mar2, inc(8)/>60, XXY, inc(4) [12] TMC: +17. dan: 46, XX [14] 23.1.2008. 47, XY, del(11)(q23), add(10)(p15), +22(10)/>80, XXY[2] /46,XX[1] [13]
VV Ž → M	ALL – T	46, XY[20]	03.12.2007.	+25. dan: 46, XX [17]
IV Ž → M	ALL – B	nema podataka	16.10.2000.	+21. dan: 46, XX [20]
PI M → M	ALL – T/limfob l. limfom	60–80, XXY, inc [20]	16.04.2008.	+28. dan: 46, XY [20]
VM M → Ž	granulocitni sarkom	46, XX [20]	08.04.2008.	+28. dan: 46, XY [20]
LD M → M	AML – M4	47, XY, +mar [13]/46, XY [7]	28.11.2006.	+11 mes.: 46, XY [13]
FB Ž → M	ALL – T	nema podataka	25.11.2003.	+22. dan: 46, XX [20]
IS Ž → M	ALL	46, XY [20]	27.9.2004.	+21. dan: 46, XX [20]
GO M → Ž	CML Ph+	46, XX, t(9;22) (q34;q11) [20]	16.10.2007.	+112. dan: 46, XY [5]
MS M → M	AML – M2	46, XY, i (17)(q10)[9]	16.11.2004.	+3. god: 46, XY [20]
ŠG Ž → Ž	AML – M2	46, XX, t(8;21)(q22;q22) [8] / 46,XX [12]	18.06.2007.	+6. mes.: 46, XX [20]
BJ M → Ž	SAA	46, XX, del (C) [1] /46,XX, inc [19]	01.03.2005.	+29. dan: 46, XY [20]

D → P = pol (M = muški, Ž = ženski) davaoca i primaoca; TMC – transplantacija MČ; sekundarna TMC.



Kod prve bolesnice BB sa CML Ph+ kariotipa 46, XX, t(9;22) (q34;q11) [20], analiza kariotipa na +27. dan posle transplantacije MĆ pokazala je kariotip 46, XY, inv(9) (p11;q13) [20], što je ukazalo na to da je muški donor BZ, imao prisustvo konstitutivne inverzije hromozoma 9 u svih 20 pregledanih mitotičkih ćelija, uz istovremenu verifikaciju postizanja kompletnog donorskog himerizma.

U narednog bolesnika ŠB sa istom dijagnozom i kariotipom 46, XY, t(9;22) (q34;q11) [20], nije bilo moguće analizirati donorski himerizam nakon transplantacije MĆ jer na +29. dan, kao i +141. dan nije bilo ćelija u mitozima. Kod još ukupno dva transplantirana bolesnika sa istom dijagnozom, analiza kariotipa pokazala je prisustvo kompletnog donorskog himerizma, tj. sledstveno prihvatanje alotransplantata.

U tri bolesnika sa dijagnozom ALL-T (RM, RM, FB) nije bilo podataka o inicijalnom kariotipu na prezentaciji, jer se radi o preuzetim bolesnicima prethodno lečenim u drugim institucijama.

U bolesnice RM na +27. dan nakon transplantacije MĆ kariotip je bio 46, XY [5], da bi u narednom toku bio konstatovan mozaični kariotip donora i bolesnice 46, XX [1] / 46, XY [1], te je izvedena sekundarna transplantacija MĆ sa postizanjem kompletnog donorskog himerizma 46, XY [20] na +43. dan. Kod ove bolesnice je na +21. dan postignut kariotip donora 46, XX [20], a kod bolesnika FB na +21. dan, pokazano je postojanje 46, XX [20], kao rezultat donorskog himerizma.

Ispitivanje bolesnika BB pokazalo je prisustvo kompleksnog kariotipa 46, XY, del (11) (q23) [3] / 46, XY, del (11)(q23), add (10) (p15) [2] / 46, XY, del (11)(q23), del (3) (q12) [1] / 46, XY [14]. Na +181. dan postignut je kariotip sestre donorka 46, XX [15]. Posle dve godine bio je verifikovan citogenetski relaps sa nalazom patološkog kariotipa 45-47 XY, +mar1, +mar2, inc(8)/>60, XXYY, inc(4) [12] u okviru sistemskog recidiva ALL-T. Urađena je sekundarna transplantacija MĆ sa prihvatanjem alokalema i postizanjem kariotipa donorka na +17. dan u 14 analiziranih

mitotičkih ćelija. Međutim, 9 meseci posle transplantacije na nastanak recidiva bolesti ukazalo je postojanje kompleksnog patološkog kariotipa 47, XY, del(11)(q23), add(10)(p15), +22(10)/>80, XXYY[2] / 46, XX [1] [13].

U naredna dva muška bolesnika sa ALL (VV, IS) i normalnim kariotipom 46, XY [20], vidi se da je na +25 dan, odnosno +21. dan kariotip bio 46, XX [20].

U bolesnika PI sa precursor ALL-T/limfoblastnim limfomom i poliploidnim kariotipom 60-80, XXYY, inc. [20], na +28. dan konstatuje se potpuno prihvatanje alokalema (46, XY [20]). Alogena transplantacija MĆ je urađena i u dva bolesnika sa AML-M2, a u oba je postignuto potpuno prihvatanje alokalema. Naime, provera donorskog himerizma bolesnice ŠG sa inicijalnim kariotipom 46, XX, t(8;21)(q22;q22) [8] / 46,XX [12], izvršeno je posle +6. meseci, uz kariotip 46, XX [20] donorka. Sledeći bolesnik je bio MS sa inicijalnim kariotipom 46, XY i (17) (q10) [9], a u koga je poslednja procena urađena nakon tri godine, sa sledstvenim nalazom 46, XY [20], što odgovara kariotipu muškog donora. U okviru AML, transplantacija MĆ urađena je u bolesnika LD sa AML-M4 i inicijalnim kariotipom 47, XY, +mar [13]/46, XY [7], a u koga je nakon 11 meseci verifikovan kompletni donorski himerizam sa kariotipom 46, XY [13]. Bolesnica sa normalnim kariotipom u okviru ekstramedularne leukemije na +28. dan imala je kariotip muškog donora u sklopu potpunog prihvatanja alokalema (46, XY [20]). Naj kraju, prikazana je bolesnica sa SAA koja je imala kariotip 46, XX, del (C) [1] / 46,XX, inc [19] na prezentaciji. Kao što je prikazano, ona je u jednoj mitozima imala deleciju hromozoma iz grupe C, što ne predstavlja patološki klon po numeričkoj definiciji. Posle transplantacije MĆ na +29. dan izvršena je citogenetska analiza koja je pokazala postojanje kariotipa muškog donora 46, XY [20].

U tabeli 3 su prikazani rezultati prihvatanja alokalema kod četiri bolesnika primenom molekularno-genetskih ispitivanja.

**Tabela 3:** Rezultati molekularno–genetskih ispitivanja ekspresije BCR–ABL gena

bolesnik	bolest	Pre TMĆ		TMĆ	Posle TMĆ	
		RT– CR	forma rearanžmana		RT – PCR	„ nested ” RT – PCR
BB	CML Ph+	+	b3a2	30.10.2007.	+75. dan: –	+
TB	CML Ph+	+	b3a2	12.02.2003	+69. dan: – +5 god.: –	+ –
FB	ALL – T	+	ela2 i b3a2	25.11.2003	+85. dan: –	–
GO	CML Ph+	+	b3a2	16.10.2007	+7. mes.: –	+

Od prikazanih bolesnika analiziranih tehnikom RT–PCR, tj. "nested" RT–PCR, pre i nakon trasplantacije MĆ, tri su bila sa dijagnozom CML Ph+, a jedan sa ALL–T fenotipom. Postojanje t(9;22) (q34;q11), potvrđeno je na molekularno–genetskom nivou prisustvom fuzionog transkripta gena BCR–ABL na prezentaciji u sva tri prikazana bolesnika sa CML Ph+. U svih je bila prisutna b3a2 forma rearanžmana (standardne tačke prekida) pri dijagnozi, a odsutna posle trasplantacije MĆ korišćenjem tehnike RT–PCR. Takođe u bolesnika sa ALL–T, pored standardnog rearanžmana b3a2, utvrđena je i forma ela2 na prezentaciji. Pomenuti rearanžmani su bili odsutni korišćenjem iste tehnike nakon trasplantacije MĆ. Visokosenzitivni kvantitativni "nested" RT–PCR, u sva tri bolesnika sa CML Ph+ pri prvoj analizi donorskog himerizma – posle trasplantacije MĆ – na nivou praćenja nivoa produkta ekspresije BCR–ABL gena pokazao je prisustvo fuzionog transkripta. Tek u periodu poznog praćenja funkcionisanja alokalema, u bolesnice TB, tačnije nakon 5 godina od trasplantacije, došlo je do potpunog gubitka molekularno–genetskog markera bolesti. U bolesnika sa ALL–T, već +85. dana nije detektovana nijedna forma ekspresije pomenutog gena.

Uspešnost prihvatanja kalema se karakteriše pojavljivanjem, odnosno dokazivanjem donor–specifičnih ćelija u kostnoj srži primaoca unutar dve nedelje od trasplantacije MĆ, a u mitogenima stimulisanju kulturi ćelija iz periferne krvi posle tri nedelje (7). Hromozomi ćelija kostne srži se pripremaju korišćenjem modifikacije direktnog metoda i u 24–satnoj kulturi, tehnikom tzv. ćelijske sinhronizacije. Ćelije za kultivisanje iz periferne krvi se uzimaju iz sloja "buffy–coat"–a ili cele

krvi u specifičnom ćelijskom medijumu, uz stimulaciju mitogenima ili bez toga. Vreme kultivisanja može da varira od dva do 7 dana u različitim slučajevima zavisno i od primenjene tehnike. Prate se ćelije u mitozu, njihov kariotip i postojanje eventualnih patoloških promena ili izvesnih abnormalnosti (aberracija) na hromozomima. Povećani broj metafaza kod ćelija primaoca je često loš prognostički znak – te citogenetska procena može služiti kao najraniji pokazatelj relapsa (9). Kod trasplantacija u kojima su bolesnik i donor različitog pola, polni hromozom je ključni marker za ćelije mijeloidne i limfoidne loze (7).

Termin prihvatanja kalema – donorskih ili sopstvenih MĆ (alogena ili autologna trasplantacija) – procenjuje se na osnovu porasta broja granulocita od oko desetog dana do druge nedelje posle trasplantacije. Ovaj fenomen odražava se i prisustvom donorskih metafaza (alogena trasplantacija) u kostnoj srži. Ukoliko su limfoidne ćelije u pitanju, uspešnost prihvatanja transplantata udružena je sa prisustvom donorskih metafaza u perifernim krvnim kulturama, uz korišćenje mitogenskih stimulatora predominantno limfocita klase T ili B (7).

Pravovremeno korišćenje svih navedenih metoda praćenja himerizma na nivou imunohepatologije, citogenetike i molekularne genetike, pored kliničkih i hematoloških parametara obezbeđuje jasan uvid u prihvatanje i funkcionisanje kalema nakon alogene trasplantacije MĆ, što je prikazano i našim rezultatima.



LITERATURA

1. Stojković O, Varljen T, Krstić A, Vujić D. Procena himerizma kod pacijenata sa transplantacijom kostne srži primenom molekularno–genetskih tehnika. Minisimpozijum: Matične ćelije i njihova primena u regenerativnoj medicini. Inter medica and dental 2007, 1. međunarodna specijalizovana izložba medicinskih i stomatoloških sredstava 10–12. maj 2007.
2. Molloy BK, Goulden N, Lawler M, Cornish J, Oakhill A, Pamphilon D, Potter M, Steward C, Langlands K, Humphries P, McCann SR. Patterns of Hematopoietic Chimerism Following Bone Marrow Transplantation for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia From Volunteer Unrelated Donors. *Blood* 1996; 87 (7): 3027–31.
3. Suttorp M, Schmitz N, Dreger P, Schaub J, Löffler H. Monitoring of chimerism after allogeneic bone marrow transplantation with unmanipulated marrow by use of DNA polymorphisms. *Leukemia* 1993; 7: 679–87.
4. Elmaagacli AH, Becks HW, Beelen DW, Stockova J, Bützler R, Opalka B, Schaefer UW. Detection of minimal residual disease and persistence of host–type hematopoiesis: a study in 28 patients after sex–mismatched, non–T cell –depleted allogeneic bone marrow transplantation for Philadelphia–chromosome positive chronic myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplantation* 1995; 16: 823–9.
5. Campana D. Determination of minimal residual disease in leukaemia patients. *British Journal of Haematology* 2003; 121: 823–38.
6. Palka G, Stuppia L, Bartolomeo PD, Morizio E, Peila R, Franchi PG, Calabrese G. FISH detection of mixed chimerism in 33 patients submitted to bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1996; 17: 231–6.
7. Lawler SD, Baker MC, Harris H, Morgenstern GR. Cytogenetic studies on recipients of allogeneic bone marrow using the sex chromosomes as markers of cellular origin. *British Journal of Haematology* 1984; 56: 431–43.
8. Balint B, Stamatović D, Andrić Z. Transplantacija matičnih ćelija hematopoeze. In: Balint B, editor. *Transfuziologija*. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2004. p. 525–47.
9. Walker H, Singer CRJ, Patterson J, Goldstone AH, Prentice HG. The significance of host haemopoietic cells detected by cytogenetic analysis of bone marrow from recipients of bone marrow transplants. *British Journal of Haematology* 1986; 62: 385–91.
10. Provan D, Gribben JG. *Molecular Hematology*, 2nd edition. Oxford: Blackwell Publishing Ltd; 2005.
11. Ciesla B. *Hematology in practice*. Philadelphia: F.A. Davis Company; 2007.
12. Gorin NC. Collection, manipulation and freezing of haemopoietic stem cells. *Clin Haematol* 1986; 15: 19–48.





PRIMENA FIBRINSKOG LEPKA KAO NOSAČA ZA LOKALNU APLIKACIJU BIOLOŠKI AKTIVNIH SUPSTANCI KOD ANASTOMOZE KOLONA

Zoran Stanojković¹, Goran Stanojević², Antic Ana¹, Mirjana Stanojković³

¹Zavod za transfuziju krvi Niš;

²Klinika za opštu hirurgiju Klinički centar Niš;

³Centar za medicinsku biohemiju Klinički centar Niš

SAŽETAK

Uvod: Fibrinski lepak je dvokomponentni biološki sistem, sa lokalnim hemostaznim, adhezivnim, zaptivnim, a može da posluži i kao nosač za lokalnu aplikaciju biološki aktivnih supstanci (faktori rasta, antibiotici).

Cilj: Cilj je eksperimentalno istraživanja na malim životinjama gde treba istražiti da li primena fibrinskog lepka u kombinaciji sa antibioticima i fibrinskog lepka sa faktorom rasta (rekombinanti humani EFG) može da spreči dehiscencije anastomoze kolona, smanji učestalost morbiditeta i mortaliteta u odnosu na kontrolnu grupu i grupu samo sa primenom fibrinskog lepka.

Materijal i metode: Istraživanje je obavljeno na Medicinskom fakultetu u Nišu, odsek za Eksperimentalnu hirurgiju Centra za biomedicinska istraživanja, u Centru za medicinsku biohemiju-Kliničkog centra Niš, Zavodu za transfuziju krvi Niš. Kao eksperimentalne životinje korišćeni su pacovi Wister soja. Istraživanje se sastojalo iz: primene fibrinskog lepka, izvođenja hirurških intervencija na životinjama, žrtvovanja životinja i određivanje kvaliteta i jačine anastomoze na osnovu: a) određivanje koncentracije kolagena (hidroksiprolina) u zidu kolona na mestu anastomoze, b) histološke analize dela zida kolona sa anastomozom uz pomoć svetlosnog mikroskopa.

Rezultati: Vrednosti hidroksiprolina na mestu anastomoze kod sve četiri grupe rastu u korelaciji sa protokom postoperativnog vremena, s tim što treba zapaziti dve razlike: 1) porast je različit od grupe do grupe i 2) porast pokazuje varijabilnost prema postoperativnim danima, odnosno nema potpuni sukcesivni rast. Najveće vrednosti hidroksiprolina na mestu anastomoze i to u svim postoperativnim danima utvrđeni su u grupi sa primenom fibrinskog lepka i faktora rasta.

Zaključak: Primenom fibrinskog lepka sa antibioticima i fibrinskog lepka sa faktorima rasta kod izvođenja anastomoza na kolonu može se postići manji broj dehiscencija i skraćuje vreme zarastanja anastomoze

Ključne reči: fibrinski lepak, antibiotici, faktori rasta, dehiscencija, kolon

UVOD

Fibrinski lepak koji danas ima široku primenu u savremenoj hirurškoj praksi i u hirurgiji kolona je hemostatsko adhezivna supstanca. Fibrinski lepak je dvokomponentni biološki sistem, sa lokalnim hemostaznim, adhezivnim, zaptivnim, a može da posluži i kao nosač za lokalnu aplikaciju biološki aktivnih supstanci (faktori rasta, antibiotici). S obzirom na to da se radi o produktu prirodnog, a najvećim delom i humanog porekla - on nije tkivno-toksičan i biodegradabilan je. Smatra se da bi osobine takvog hemostazno-adhezivnog sistema najviše odgovarale svojstvima nekog idealnog hirurškog lepka. Komponenta 1 sadrži koncentrovani

fibrinogen, fibronektin, faktor XIII koagulacije i još neke krioprecipitujuće konstituente plazme.

Komponenta 2 sadrži goveđi trombin u liofilizovanom obliku, koji se najčešće rekonstituiše pomoću adekvatne količine 40 mmol/L rastvora kalcijumovog hlorida(1). Snaga istezanja i adhezivna moć fibrinskog lepka su u direktnoj proporciji sa sadržajem fibrinogena i mogu biti povećani delovanjem aktivisanog faktora XIII koagulacije. Koncentracije fibrinogena u krioprecipitatu obogaćenom u fibrinogenu (pripremanom iz autologne plazme prikupljene plazmaferezom), odnosno u komercijalnim preparatima fibrinskog lepka iznose oko 40 odnosno 80 g/L (2,3). Te vrednosti govore u prilog potentnog adhezivnog, ali i



hemostazog produkta. U komponenti 2 fibrinskog lepka, nalazi se već stvoreni trombin (humanog ili goveđeg porekla). Sadržaj trombina je od presudnog je značaja kada aplikacija ima za cilj ispoljavanje prvenstveno hemostaznog efekta fibrinskog lepka, jer od njega zavisi brzina pretvaranja fibrinogena u fibrin (2,3). Pri upotrebi trombina u koncentraciji od 4 jedinica/mL proces traje od 30 sekundi do nekoliko minuta, dok pri višim koncentracijama trombina (500 jedinica/mL), fibringeneza će biti obavljena za manje od 5 sekundi. Međutim, izgleda da su koncentracija trombina i adhezivna moć produkta u obrnutoj proporciji (2,3,4).

Joni kalcijuma su potrebni radi: a) neutralizacije dejstva natrijumovog citrata (kada je izvor fibrinogena citratna plazma), te odvijanja procesa fibringeneze pri spajanju komponente 1 i 2 fibrinskog lepka i b) posredovanja polimerizacije fibrinskih monomera (u sadejstvu aktivisanim faktorom XIII koagulacije) (2,5).

Iako aktivnost faktora XIII koagulacije u ranama može biti visoka, za postizanje boljeg terapijskog efekta poželjno je njegovo koncentrisanje u komponenti 1 fibrinskog lepka. Inače, funkcionalna aktivnost faktora XIII koagulacije u proizvedenim produktima iznosi oko 5-10 jedinica/mL (2,4,5).

Fibronektin deluje kao opson, tj. doprinosi eliminaciji patogena i stranih antigena iz cirkulacije. Međutim, u sastavu fibrinskog lepka, on pospešuje formiranje fibrinskih polimera, odnosno adheziju fibroblasta i reepitelizaciju tkiva, a time se ubrzava zarastanje rana. Inače, njegova koncentracija u fibrinskom lepku iznosi oko 5-10 g/L (2,4,5).

Stavovi u vezi dodavanja egzogenih antifibrinoliznih agenasa u produkt fibrinskog lepka nisu potpuno ujednačeni. Ima mišljenja (3,4) da upotreba antifibrinoliznog agensa nije neophodna, jer aktivnost fibrinoliznog sistema (plazminogena, prekalikreina i kalikreina) tokom procesa pripremanja biva dovoljno snižena. Po drugima, dodavanje egzogenog antifibrinolitika (npr. aprotinina, ciklokapronska kiselina) je poželjno, jer se time sprečava prevremena liza fibrinskih polimera. Kada su u pitanju tkiva sa poznatom visokom fibrinoliznom aktivnošću (npr. pluća, bubrezi, prostata, uterus), korišćenje egzogenih antifibrinoliznih agenasa je potrebno (4,5).

Osnovne karakteristike krioprecipitacijskog pripremanja fibrinogena iz jedne jedinice plazme su jednostavno i lako izvođenje, široka primenljivost i reproducibilnost i ekonomičnost. Pri tome je rizik od virusnih infekcija jednak riziku aplikacije jedne jedinice krvi/plazme. Radi povećanja prinosa fibrinogena u krioprecipitatu, uvedene su dvostruka krioprecipitacija od strane Wan-a i saradnika, odnosno Casali-a i saradnika (6,7,8).

Hirurške intervencije veoma su složene i delikatne na kolonu.. Složenost i dubioznost izvođenja anastomoza rezultat je dobro poznatih i definisanih sledećih specifičnih anatomskih, fizioloških i mikrobioloških osobina kolona: ograničena dužina, tanji crevni zid u odnosu na tanko crevo, postojanje retroperitonealnih delova bez seroze, specifična vaskularizacija, prisustvo bogate mešovite aerobno-anaerobne mikrobiološke flore. Dehiscencije anastomoza, ne retke i veoma opasne postoperativne komplikacije u gastrointestinalnoj hirurgiji iz ovih razloga znatno su češće kod hirurških intervencija na kolonu u odnosu na druge delove digestivnog trakta. I danas dehiscencije anastomoze kolona prisutne su u elektivnim hiruškim zahvatima kreće od 3 do 10%, a kod urgentnih čak i do 30% (9,10,11).

Jedno od najznačajnijih otkrića na polju savremene molekularne biologije i biohemije u toku poslednje decenije su citokini. U složenom biološkom procesu zarastanja rane učestvuju veliki broj citokina, dejstvujući na različite ćelije i na različite načine. Smatra se da je ceo proces zarastanja rane pod njihovom kontrolom i regulacijom (13,14,15). Najznačajniji danas poznati citokini koji učestvuju u složenom procesu zarastanja su: Trombocitni faktor rasta (PDGF), Transformišući faktor rasta β (TGF- β), Epidermalni faktor rasta (EGF), Transformišući faktor rasta- α (TGF- α), Interleukin 1 (IL-1), Tumor nekrotizirajući faktor (TNF), Fibroblastni faktor rasta (FGF).

Pod hirurškim infekcijama podrazumevaju se infekcije za čije je izlečenje neophodna hirurška intervencija, infekcija koja nastaje za vreme, ili kao komplikacija hirurških postupaka i prisutne latentne ili hronične infekcije, koje posle hirurških zahvata, postaju hirurške infekcije. Treba se ponovo ukratko podsetiti da se kod hirurških infekcija u najvećem broju slučajeva radi o mešovitoj enteralnoj Gram-negativnoj i

anaerobnoj bakterijskoj flori (oko 95%) u kojoj predominiraju *E.coli*, *Bacteroides fragilis*, *Enterococcus faecalis*, *Clostridium* sa snažnim sinergističkim dejstvom između anaeroba i aeroba. Kod hirurških infekcija se primenjuju baktericidni lekovi zbog težine infekcije i prirode prouzrokovaca. Kada se radi o mešovitoj flori primenjuju se kombinacije baktericidnih antibiotika: Najčešće se primenjuju dva antibiotika („dvostruka terapija“) redje kombinacija tri ili četiri antibiotika („trostruka“ ili „četvorostruka“ terapija) (16).

Cilj ovog planiranog i kontrolisanog eksperimentalnog istraživanja na malim životinjama je da odgovori: da li primena fibrinskog lepka u kombinaciji sa antibioticima i fibrinskog lepka sa faktorom rasta (rekombinanti humani EFG) može da spreči dehiscencije anastomoze kolona, smanji učestalost morbiditeta i mortaliteta u odnosu na kontrolnu grupu i grupu samo sa primenom fibrinskog lepka.

MATERIJAL I METODE

Istraživanje je obavljeno na Medicinskom fakultetu u Nišu, odsek za Eksperimentalnu hirurgiju Centra za biomedicinska istraživanja, u Centru za medicinsku biohemiju-Kliničkog centra Niš, Zavodu za transfuziju krvi Niš, od marta 2006. godine do marta 2008. godine.

Kao eksperimentalne životinje korišćeni su pacovi Wister soja iz istog gnezda, muškog pola, težine od 350 do 490 grama. Ovo eksperimentalno istraživanje se sastojalo iz: primene fibrinskog lepka, izvođenja hirurških intervencija na životinjama, žrtvovanja životinja i određivanje kvaliteta i jačine anastomoze na osnovu: a) određivanje koncentracije kolagena (hidroksiprolina) u zidu kolona na mestu anastomoze, b) histološke analize dela zida kolona sa anastomozom uz pomoć svetlosnog mikroskopa.

Korišćeni fibrinski lepak sastoji se iz dve komponente. Komponenta 1 fibrinskog lepka pripremana je u Zavodu za transfuziju krvi Niš iz plazme davalaca krvi postupkom krioprecipitacije korišćenjem četvorodelne plastične kese sa antikoagulantno – konzervišućim ratvorom CPD/SAGM (MacoPharma, France), centrifuga sa hlađenjem (Heraeus, Cryofuga 8500i) i zamrzivačaa (Blast shock freezer, Angelantoni, Italy). Komponenta 2 fibrinskog lepka sastoji se od

trombina-Trombina 400 (Bio Med Lublin Poland) u liofiliziranom obliku (400j/ml), koji se rekonstituiše pomoću 2 mililitra 154 mmol/L rastvora natrijum hlorida i 0,5 mililitra 40 mmol/L kalcijum hlorida.

Sve životinje su operisane u opštoj anesteziji. Premedikacija se sastojala iz aplikacije Atropina i Bensedina. Opšta anestezija izvodjena je davanjem Ketalara, u dozi od 8 mg/100grama telesne težine, intraperitonealno. Trbušna duplja je otvarana gornjom i donjom medijalnom incizijom u dužini od oko 4 cm. Nakon eksploracije trbušne duplje na levoj polovini kolona 3-4 cm iznad peritonealne refleksije izvodjena je parcijalna resekcija, uz prethodno podvezivanje paraintestinalne arkade sa odstranjivanjem kolona u dužini od 1,5 do 2 cm. Nakon odstranjivanja segmenta kolona kontinuitet creva je ponovo uspostavljen izvođenjem termino-terminalne anastomoze. Eksperimentalne životinje su podeljeno u 4 grupe. Kontrolna grupa u daljem tekstu grupa 1- životinja nakon izvedene parcijalne resekcije leve polovine kolona izvedena je termino-terminalna (T-T) anastomoza jednoslojnim produžnim invertrirajućim šavom, grupa životinja sa primenom fibrinskog lepka u daljem tekstu grupa 2 - na mestu anastomoze aplikovan je fibrinski lepak i grupa životinja sa primenom fibrinskog lepka i antibiotika u daljem tekstu grupa 3 - na mestu anastomoze aplikovan je fibrinski lepak sa antibioticima(klindamicin i ceftriakson) i grupa 4 na mestu anastomoze aplikovan je fibrinski lepak i rekombinantni humani EGF (RD system).

Po 6 životinja iz sve tri grupe žrtvovane su V, VII i XIII dana. Pregled organa trbušne duplje i izvedene anastomoze vršena je pomoću incizije u obliku obrnutog slova “U”, kojom se omogućava podizanje prednjeg trbušnog zida. Određivanje koncentracije kolagena vršeno je indirektno praćenjem koncentracije hidroksiprolina u zidu kolona na mestu anastomoze: V, VII i XIII postoperativnog dana. Određivanje koncentracije kolagena obavljeno je indirektno preko kvantitativnog određivanja L-hidroxy-prolina oslobođenog kiselim hidrolizom tkiva. Koncentracije L-hidroxy-prolina su određivane sa standardne krive. Rezultat je izražavan u mg L-hidroxy-prolina na gram tkiva, a zatim preračunavan u mg kolagena na gram tkiva, množenjem sa faktorom 7,46(17).

Za histomorfološku obradu tkiva iz područja anastomoze uziman je tkivni uzorak koji je obrađivan za svetlosnu mikroskopiju i bojani



klasičnim metodama - hematoksilin eozin (H&E) i PAS, kao specijalnim metodama za bojenje fibrina (modifikovana metoda po Wegert-u), elastičnih vlakana (Weiger-ov rezorcin-fuksin) i kolagena (trihromno bojenje Masson)

Najveći mortalitet je u grupi 1 gde je uginulo 6 životinja ili 20%, zatim sledi grupa 2 sa 2 uginule životinje ili 6,67%, dok u grupi 3 i 4 nije došlo do uginuća nijedne od eksperimentalnih životinja (tabela 1).

REZULTATI

Tabela 1: Mortalitet u grupama eksperimentalnih životinja

	Grupa 1		Grupa 2		Grupa 3		Grupa 4	
Uginuli	6	20,00%	2	6,67%	0	0,00%	0	0,00%
Preživeli	24	80,00%	28	93,33%	30	100,00%	30	100,00%
Ukupno	30	100,00%	30	100,00%	30	100,00%	30	100,00%

Najveću incidencu oboljevanja pokazuju eksperimentalne životinje iz grupe 1, sa 30% (devet eksperimentalnih životinja), za razliku od grupe 2 sa 13,33% (četiri eksperimentalne životinje) i grupa 3 sa 3,33% (jedna eksperimentalna životinja), dok u grupi 4 nije bilo komplikacija. Postoji statistički značajno veća učestalost oboljevanja u grupi 1 za razliku od grupe 3 ($\chi^2=5,88$, $p<0,05$). Komplikaciju 1 predstavlja infekcija operativne rane najveća u

grupi 1-13,33%, komplikaciju 2 parcijalna dehiscencija anastomoze najveća u grupi 1-6,67% i komplikaciju 3 intraabdominalne priraslice najveća u grupi 2 i grupi 3 -3,33%.

Srednje vrednosti hidroksiprolina petog, sedmog i trinaestog postoperativnog dana na mestu anastomoze najviše su u grupi 4, a najniže u grupi 1, sa utvrđenim statistički značajnim razlikama između svih grupa na nivou $p<0,001$ prikazano u (tabeli 2).

Tabela 2: Srednje vrednosti hidroksiprolina po grupama i postoperativnim danima

Grupe Dani	Grupa 4 X $\pm$ SD	Grupa 3 X $\pm$ SD	Grupa 2 X $\pm$ SD	Grupa 1 X $\pm$ SD
V	34,2 $\pm$ 2,76	32,78 $\pm$ 1,71	28,18 $\pm$ 1,76	18,02 $\pm$ 0,70
VII	26,9 $\pm$ 3,6	26,50 $\pm$ 1,32	23,91 $\pm$ 1,10	18,38 $\pm$ 0,60
XIII	33,69 $\pm$ 0,2	29,46 $\pm$ 1,96	25,12 $\pm$ 1,65	19,24 $\pm$ 0,96

Vrednosti hidroksiprolina na mestu anastomoze kod sve četiri grupe rastu u korelaciji sa protokom postoperativnog vremena, s tim što treba zapaziti dve razlike: 1) porast je različit od grupe do grupe i 2) porast pokazuje varijabilnost prema postoperativnim danima, odnosno nema potpuni sukcesivni rast. Najveće vrednosti hidroksiprolina na mestu anastomoze i to u svim postoperativnim danima utvrđeni su u grupi 4.

Histološka analiza je urađena na parafinskim tkivnim isečcima koji su bojeni metodama HE, PAS, na kolagen, fibrin i elastin. Analize su radjene periodično petog, sedmog i trinaestog

postoperativnog dana. Petog postoperativnog dana u grupi 1 se može zapaziti prisustvo velikog broja polimorfonuklearnih leukocita mada se tu i tamo mogu zapaziti početni znaci formiranja granulacionog tkiva. U grupi 3 i grupi 4 petog postoperativnog dana mogu se zapaziti takodje daleko manje neutrofilnih leukocita u odnosu na grupu 1 a broj mladih krvnih sudova koji se formiraju u toku nastanka granulacionog tkiva je bio znatno veći. Trinaestog postoperativnog dana u grupi 1 eksperimentalnih životinja prisutno je granulacionog tkiva sa dosta polimorfonuklearnih leukocita i jako izraženom još uvek prisutnom

granulocitnom infiltracijom, mada se u ovom stadijumu može uočiti prisustvo pojedinačnih ili u grupicama limfocita i drugih mononuklearnih ćelija. U grupi 3 i grupi 4 trinaestog postoperativnog dana uočava se na preseku kroz anastomozu, pored vezivnog tkiva glatko-mišićnog, veća količina kolagena sa brojnim mladim krvnim sudovima.

DISKUSIJA

Prvi opis procedure lepljenja sa biološkim materijalom opisao je Bergel 1909 godine. Tidrick i Warner su 1944 godine izvestili o dobrim kliničkim rezultatima primene citratne plazme i trombina na kožnom graftu. Matras sa saradnicima 1972 godine opisuje primenu fibrinogena u kombinaciji sa bovinim trombinom. Tada počinje moderna era fibrinskog lepka i prvi izveštaj o kliničkoj aplikaciji fibrinskog lepka objavio je Spangler 1975 godine. Mehanizmi terapijskih dejstava proističu iz veoma važne uloge fibrinogena koji učestvuje u složenim biološkim procesima hemostaze i zarastanja rana u ljudskom organizmu.

Fibrinski lepak je hemostatsko adhezivna supstanca. Pored značajnog mehaničkog poseduje i biološki efekat u procesu zarastanja anastomoze. Nakon aplikacije, najpre usled kataliznog delovanja trombina dolazi do konverzije fibrinogena u solubilne fibrinske monomere. Stvoreni monomeri se pretvaraju pod dejstvom XIII faktora koagulacije i kalcijumovih jona u mrežu nesolubilnih fibrinskih polimera. S tim u vezi prvo nastupa redukcija električnih naboja, a potom stvaranje stabilnih unakrsnih veza između molekula fibrina, sa sledstvenim ispoljavanjem adhezivnog učinka fibrina na površini na kojoj je apliciran. Fibronektin pospešuje polimerizaciju fibrina ali i migraciju ćelija, akciju fibroblasta i reepitelizaciju (17,18).

Praćenjem mortaliteta ispitivanih grupa životinja uočava se da je najveća incidenca u grupi 1, gde je uginulo 20% eksperimentalnih životinja, zatim sledi grupa 2 sa 6,67%, a u grupi 3 i grupi 4 nije bilo uginulih eksperimentalnih životinja. Međusobnim upoređivanjem grupa uočava se statistički značajna razlika između grupa $p < 0,05$. Što se tiče uzroka mortaliteta rezultati našeg istraživanja pokazuju da su ileus i peritonitis podjednako zastupljeni u grupi 1, dok je u grupi 2 uzrok smrti bio ileus.

Određivanje kolagena u zidu kolona vršeno je preko određivanja količine hidroksiprolina u mg/g 10% homogenata tkiva creva. U tkivima kičmenjaka hidroksiprolin se skoro isključivo nalazi u kolagenu, čineći 14% njegove ukupne

težine. Na osnovu ove jedinstvene distribucije hidroksiprolina moguće ga je koristiti kao dobar marker za proučavanje metabolizma kolagena. Određivanje hidroksiprolina vršeno je na mestu anastomoze.

Analizom rezultata naše studije utvrđeno je da vrednost hidroksiprolina na mestu anastomoze kod sve tri grupe raste sa protokom vremena, s tim što treba zapaziti dve razlike: porast je različit od grupe do grupe i porast nema potpuno izražen sukcesivni rast. Najveće količine hidroksiprolina, na mestu anastomoze u svim postoperativnim danima registrovane su u grupi sa fibrinskim lepkom i faktorom rasta. Najveće prosečne količine hidroksiprolina na mestu anastomoze registrovane su petog postoperativnog dana $34,2 \pm 2,76$ mg/g u grupi 4, zatim $32,78 \pm 1,71$ mg/g u grupi 3, zatim $28,18 \pm 1,76$ mg/g u grupi 2 i najmanje $18,02 \pm 0,70$ mg/g u grupi 1. Sve tri razlike su visoko statistički signifikantne za nivo $p < 0,001$.

Jiborn i saradnici su eksperimentalno dokazali da se koncentracija kolagena u zidu kolona na mestu anastomoze smanjuje nakon izvedene resekcije leve polovine (150,151). U pomenutom istraživanju vrednosti hidroksiprolina na mestu anastomoze IV postoperativnog dana su bile $49,7$ μ g/mg, što je za oko 50% manje od vrednosti neoperisanog kolona ($93,8$ μ g/mg) a VII postoperativnog dana hidroksiprolin dostiže vrednosti od $73,1$ μ g/mg. Ispitivanja Cronina i saradnika i Hawley i saradnika su pokazala da se smanjivanje koncentracije kolagena odvija ne samo na anastomozi već i u okolnim segmentima, naročito na proksimalnom delu. Ove promene su izazvane migracijom građivnih elemenata (kolagen i drugi sastojci ekstracelularnog matriksa) ka mestu manjeg otpora – anastomoza, čime se remeti ravnomerna distribucija kolagena intaktnog kolona. U prilog ovome govore i istraživanja pojedinih autora o povećanoj aktivnosti kolagenaze u čitavom debelom crevu nakon izvedenih resekcija kolona (19,20).

Podaci iz literature o primeni fibrinskog lepka u zaštiti anastomoza na kolonu su dosta kontradiktorni. Van der Ham i saradnici su

saopštili rezultate istraživanja u kojima su izneli odnos koncentracije kolagena po pojedinim segmentima izolovanog kolona pacova uz primenu fibrinskog lepka(21,22). U tzv. "kritičnom periodu" zarastanja anastomoze (do V dana) najniže koncentracije pokazuje samo mesto anastomoze. Od V do VII dana dolazi do statistički značajnog skoka vrednosti hidroksiprolina na mestu anastomoze u kontrolnoj grupi. Takođe se primenom fibrinskog lepka i fibrinskog lepka i antibiotika i fibrinskog lepka i faktora rasta ranije postiže potrebna jačina anastomoze (VII postoperativnog dana) u odnosu na kontrolnu grupu(1). Međutim, Houston i Rotstein nisu potvrdili prednost primene fibrinskog lepka kod visoko rizičnih anastomoza na kolonu (20).

Imajući u vidu naše rezultate istraživanja i podatke iz literature može se utvrditi da se primenom fibrinskog lepka ostvaruje znatno veća koncentracija kolagena na mestu anastomoze eksperimentalne životinje, što omogućava bolje i sigurnije zarastanje anastomoze. Adhezivni efekat omogućuje mehanički kontakt okrajaka creva, a biološki obezbeđuje bolju produkciju endogeno stvorenog kolagena što dokazuje i histološko ispitivanje. U našem istraživanju već petog postoperativnog dana u grupi 2 i 3 i 4 na mestu anastomoze koncentracija kolagena prevazilazi koncentraciju neoperisanog kolona i značajno je veća od koncentracije kolagena u grupi 1. Apsolutno najveću vrednost hidroksiprolina u odnosu na sve tri grupe na mestu anastomoze kolona eksperimentalnih životinja pokazuje grupa 4 petog postoperativnog dana.

Analiza histoloških uzoraka zida kolona ukazuje da se prosek zarastanja anastomoze odvija u sve četiri grupe različitom intenzitetom i dinamikom nastajanja promena. U grupi 1 trinaestog postoperativnog dana prisutno je granulaciono tkivo sa dosta polimorfonuklearnih leukocita, mada se uočava i prisustvo mononuklearnih ćelija. U grupi 2 i 3 prisutno je postojanje već dobro razvijenog granulacionog tkiva sa brojnim mladim krvnim sudovima.

Analize autora koji su se bavili histomorfološkim ispitivanjima procesa zarastanja anastomoza ističu da nakon početnih faza u procesu zarastanja (koagulacija i inflamacija), koji traju unutar 24–48 h od završetka izvedene anastomoze, nastupa ćelijsko-proliferativna faza (fibroplazija) sa maksimalnim intenzitetom između

5-7 dana. U toj fazi sinteza kolagena dostiže vrhunac a zatim progresivno opada. Osnovni faktori koji regulišu dužinu trajanja i prelazak jedne faze u drugu su citokini ili ćelijski hormoni. Poznat je njihov uticaj na prelazak ćelije u G₁ fazu ili fazu ćelijskog rasta, zatim stimulišu migraciju ćelija na mesto zarastanja i utiču na stvaranje specifičnih komponenti potrebnih za obnovu ekstracelularnog matriksa (54). Fini i saradnici su histološki analizirali proces zarastanja eksperimentalnih anastomoza uz aplikaciju sintetskog i biološkog lepka (fibrinski lepak). Utvrdili su da primena fibrinskog lepka omogućuje brži i bolji način zarastanja intestinalnih anastomoza. Ne postoji reakcija organizma na prisustvo stranog tela (21).

Analizom naših rezultata i rezultata pomenutih autora uočava se da primena fibrinskog lepka i fibrinskog lepka sa antibiotikom i fibrinskog lepka sa faktorom rasta deluje stimulatивно na proliferativni odgovor obezbeđujući uslove za izmenu kvaliteta ćelijske infiltracije u smislu pojave veće količine mononuklearnih ćelija. Mononuklearna ćelijska infiltracija takođe predstavlja preduslov za povećanu sekreciju kolagena i premda se radi o mladom kolagenu to ipak obezbeđuje povoljne uslove za povećanu otpornost na sile mehaničkog pritiska i istezanja.

Analiza ovog našeg eksperimentalnog rada kao i sa većim brojem kliničkih studija i njihovih rezultata ukazuje da ove protektivne metode mogu naći svoje mesto u svakodnevnom hirurškom radu. Isto tako, analizom rezultata dobijenih primenom navedenih lokalnih protektivnih metoda, koje su komparirane, ukazuje se da prednost ima protekcija fibrinskim lepkom iz sledećih razloga: manji broj dehiscencija anastomoza, bolja mehanička zaštita anastomoze kolona, skraćuje se vreme zarastanja anastomoze, brža i jednostavnija primena.

Na osnovu dobijenih rezultata možemo izvesti sledeće zaključke: osnovne karakteristike metode pripremljenog fibrinskog lepka sa antibioticima i fibrinskog lepka sa faktorima rasta su: jednostavno i lako izvođenje; široka primenljivost, reproducibilnost i ekonomičnost, primenom fibrinskog lepka sa antibioticima i fibrinskog lepka sa faktorima rasta kod izvođenja anastomoza na kolonu može se postići manji broj dehiscencija, primenom fibrinskog lepka sa antibioticima i fibrinskog lepka sa faktorima rasta



ostvaruju se najbolji rezultati jer se postiže dobra mehanička zaštita, zatim skraćuje vreme zarastanja anastomoze.

LITERATURA

1. Eber WN. Massive blood transfusion in the elective surgical stting. *Transfusion and Apheresis Sci* 2002;27:55-57.
2. Lamb C. Further enhancement of the safety of human plasma derivatives. *Transfusion* 2002;42:973-974.
3. Gibble JW, Ness PM, Fibrin glue: The perfect operative sealant? *Transfusion* 1990;30:741-7.
4. Gorlin JB: Standards for blood banks and Transfusion Services, 21st. Ed. Bethesda, AABB 2002.
5. Balint B. Osnovi transfuziologije. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva Beograd, 2002.
6. Siedentrop KH, Harris DM, Sanchez B. Autologous fibrin tissue adhesive. *Laryngoscope* 1985;95:182-5.
7. Blajchman MA. Definition of transfusion medicine. *Transfus Med Rev* 2002;16:85.
8. Stanojković Z, Balint B, Ignjatović D, Ostojić G. Fibrinski lepak - kao efikasan lokalni hemostatik i adhezivni - zaptivni agens. *Anestezija, Reanimacija, Transfuzija* 2004;32: ½:69-74.
9. Balint B, Černak I, Petakov M. The use of single-donor fibrin glue prepared by recycled cryoprecipitation in experimental liver surgery. *Haematologia* 2002;32:2:135-145.
10. De Palma L, Criss VR, Luban NLC. The preparation of fibrinogen concentrate for use as fibrin glue by four different methods. *Transfusion* 1993;33:717-20.
11. Woessner J.F.: The detremination of hydroxyprolin in tissue and protein samples containing small proportions of this amino acid. *Arch. Bioch. Bioph.*, 1961, 93:440-447.
12. Giardino R., Brulatti M., Franchini A.: Colonic anstomoses protected with fibrin sealant. In: Schlag G., Redl H. General surgery and abdominal surgery. 155-158, Springer, Berlin.. Heidelberg New York, 1986.
13. Cotran R, Kumor V, Robbins S. Inflammation and Repair, 85-92. In: *Pathologic basis of disease*, Ed: WB Saunders, 1996.
14. Krivokapic Z. Mere prevencije popustanja anastomoze na debelom crevu. Naucna knjiga Beograd, 1990.
15. Shandall A, Lowndes R, Young HL. Colonic anastomotic healing and oxygen tension. *Br J Surg* 1985;72:606-609.
16. Stojiljković M, Jeremić M, Konstatinović S, Miladinović P. Akutni difuzni peritonitis-monografija, Niš, 1995:35-41.
17. Hess JR., Schmidt PJ. The first blood banker: Oswald Hope Robertson. *Transfusion* 2000;40:110-3.
18. Brecher ME, editor. Technical Manual, 14th ed. Bethesda, MD: American Association of blood banks, 2002.
19. Kannellos I, Mantzoros I, Demetriades H, Kalfadis S, Kelpis T, Sakkas L, Betis D. Sutureless colonic anastomosis in the rat: a randomized controlled study. *Tech Coloproct* 2002;(6):143-146.
20. Hawley PR., Faulk P.: A circulatory collagenase inhibitor. *Br. J. Surg.* 1970, 57: 900-904.
21. Fini M., Giardino R., Giavaresi G., Rocca M., Aldini N.: Tissue Adhesives in Experimental Intestinal Anastomoses. *Fibrin Sealing in Surgical and Nonsurgical Fields. General and Abdominal Surgery. Pediatric Surgery*, 1994, 2, 136-142.
22. Stanojević G, Savić V, Đorđević L, Stanojković Z, Stojanović M, Janjić D. The effects of topical fibrin glue and epidermal growth factor (EGF) on the colon anastomosis healing process-a comparative experimental study. *Facta Universitates* 2004;11:3:113-117.
23. Kanellos I, Demetriades H, Kelpis T, Betsis D. Healing of colon Anastomoses covered with fibrin glue after immediate postoperative intraperitoneal administration of 5-fluorouracil. *Dis Col Rectum* 2004;47(4):510-515.





SUCCESSFUL TREATMENT OF DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA AS A COMPLICATION OF "COMMON VARIABLE IMMUNODEFICIENCY"

Milena Todorovic¹, Sladjana Andrejevic², Bela Balint^{3,4}, Boško Andjelic¹, Vuk Palibrk¹, Nada Kraguljac¹, Biljana Mihaljevic¹.

¹Clinic for hematology, Clinical center of Serbia, Belgrade; ²Clinic for alergology and immunology, Clinical center of Serbia, Belgrade; ³Military Medical Academy, Institute for transfusiology, Belgrade; ⁴University of Belgrade, Institute for medical research, Belgrade

SUMMARY

Introduction: Common variable immunodeficiency (CVID) is the primary hypogammaglobulinemia of unknown aetiopathogenesis. It is characterized by low levels of IgG/IgA antibodies, recurrent respiratory tract infections, granuloma formation, and the predisposition to malignancies. Lymphoma is one of the most severe complications of CVID. We report a case of a patient with diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) developed 3 years after the setting of CVID diagnosis.

Patient's data: A 55-year old female patient was admitted on Clinic for hematology, Clinical center of Serbia with a high fever, mild lymphadenopathy and splenomegaly. In the past history of this patient CVID associated with systemic granulomatosis was diagnosed and substitutive intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy was initiate at a dose of 0.5 g/kg monthly. She had severe hypogammaglobulinemia, IgG was 2.55g/l (N: 6.78–12.60), with mild decrease in IgA (0.26g/l, N: 0.82–2.62). Flow cytometry analysis of lymphocytes revealed a significant decrease in CD4+CD45RA+ cell count and increase in CD4+CD45RO+ cell count. CD4+/CD8+ T cell ratio and NK T cell count were decreased. Vrusological markers for HIV, HBV, HCV and EBV infection were negative. Immunohistochemical analysis of histological sections of lymph node revealed a diffuse large B cell lymphoma (CD20+, CD79α+, CD3–, CD5–, bcl2–, MUM1–/+, Ki 67 40%). Disease staged as IIB clinical stage (CS). Immunochemotherapy R-CHOP-21 was initiated along with monthly IVIg therapy. After VI cy patient achieved complete remission of lymphoma with continuing substitution of hypogammaglobulinemia.

Conclusion: Relative risk of malignant lymphoma development in patients with CVID resembles the same risk in patients with HIV/AIDS patients. The specific phenotypic T cell changes in CVID patients correspond to those in viral infection and correlate with the B cell immaturity. That enhances importance of good viral infection prevention in CVID patients.

INTRODUCTION

Common variable immunodeficiency (CVID) is the primary hypogammaglobulinemia of unknown aetiopathogenesis. The diagnosis is based on low levels of IgG/IgA antibodies, recurrent respiratory tract infections or failure to respond to any vaccination, and exclusion of any other cases of antibody deficiencies. Autoimmune diseases, granuloma formation and the predisposition to malignancies are in the spectrum of the clinical manifestation. Lymphoma is one of the most severe complications of CVID and occurs in around 10% of cases. We report a case of patient in whom diffuse large B cell lymphoma

developed 3 years after CVID have been diagnosed.

PATIENT'S DATA

A 55-year old female patient was admitted on Institute of hematology with a high fever, malaise and cough. In the past history of this patient (2007) CVID associated with systemic granulomatosis was diagnosed and substitutive intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy was initiate at a dose of 0.5 g/kg monthly..

Physical examination detected fingernail thickening (fungal infection), bilateral cervical



lymphadenopathy, splenomegaly and reduced respiratory sound. Laboratory test results showed mild normocytic anemia, 109g/l with normal leukocyte count, $10 \times 10^9/l$; with granulocytosis, $8.1 \times 10^9/l$; lymphopenia, $1.1 \times 10^9/l$; and normal trombocyte count $283 \times 10^9/l$. Analysis of biohumoral parameters showed increase in sedimentation rate 36 mm/h and fibrinogen 5.1 g/l. She had severe hypogammaglobulinemia (2.55g/l, N: 6.78–12.60), with mild decrease in IgA (0.26g/l, N: 0.82–2.62). On chest radiography she had marked pleural effusion. Markers of HIV, HBV, HCV and EBV infection were negative. Flow cytometry analysis of lymphocytes revealed a significant decrease in CD4+CD45RA+T cell count and increase in CD4+CD45RO+ T cell count. The T cell population (CD3+) was 90% among T lymphocytes, with apparent excess in T suppressor cell subset (CD3+CD8+) – 30% and decrease in NK T cell subset – 1.5%. The relation between T helper and T suppressor was 0.75 which is diminished comparing to normal. Population of B – lymphocytes was minor and polyclonal, and the relation between lymphocytes expressing kappa and lambda light chain was within the reference value (1.75, N: 1.10 – 1.80). Immunohistochemical analysis of histological sections from patient's enlarged lymph node showed atypical large cells strongly labeled with anti-CD20, anti – CD79 α , but not with anti-CD3, anti-CD5 and anti – bcl2. A minority of cells expressed MUM1. A proliferation index Ki 67 was expressed in 40% percent of atypical B – cells. Diffuse large B cell lymphoma in II B clinical stadium was diagnosed and immunochemotherapeutical regimen R-CHOP-21 (R-Rituximab 375mg/m² iv D1; C-Cyclophosphamide 750mg/m²iv D2, Hydrodoxorubicine 50 mg/m² iv D2, O-Vincristine 1.4mg/m² iv D2, P- Prednisolone 100mg po D1–5) was initiated along with IVIg treatment. After VI cycles of treatment, she received complete remission of DLBCL, and she received her monthly IVIg substitution. It was very succesful treatment, since patient has inherited immune deficiency syndrome, and she received Rituximab as anti CD 20 antibody which cause consecutive humoral definiency after tretnment. This hummoral depletion is lasting every time for a few weeks after each therapy cycle.

COMMENT AND CONCLUSION

Relative risk of malignant lymphoma development in patients with CVID ranges from 30 to 43% (1, 2). It resembles the risk in patients with HIV/AIDS patients which is according to the recently published data (78 fold)(3). Approximately 50% of patients develop non malignant lymphoid hyperplasia presenting with lymphadenopathy, splenomegaly and/or gastrointestinal nodular hyperplasia (4).

The lymphoma that occurs in association with CVID is generally of B-cell origin(5,6). Comparing to the other immunodefienty syndromes malignant lymphoproliferation in CVID patients is generally not driven by EBV infection (4, 5). In a biggest multicentric retrospective study from patients with primary immunodeficiency 16 patients diagnosed to have lymphoma were CVID patients. The majority of lymphoma samples were NHL, without EBV finding by in situ hybridization. Patients with CVID may have T-cell defects with an increased susceptibility to herpes virus infections (6). Raeiszadeh et al. found an increased proportion of CD8+ T cells specific for CMV derived peptides (7). In this study, the six CVID patients had a higher frequency of perforin positive T cells with this specificity. These patients had a higher incidence of splenomegaly and glaucomatous complications than group of patients with CVID lower frequency of perforin positive T cells. Human herpes virus is found in high copies in the malignant lymph nodes of NHL patients (8). Weat et al found the presence of this virus in six out of nine CVID patients with granulomatous and lymphomatous interstitial lung disease.

In CVID patients Non Hodgkin lymphomas predominate over Hodgkin disease (9). A minority of CVID patients with Hodgkin's lymphoma have visceral rather than nodal involvement. Extranodal marginal zone lymphoma is reported in eleven cases and with majority of lung involvement. This is in discrepancy with the fact that Helicobacter pillory infection, which is implicated in the etiology of MALT, is common in CVID patients.

The histology of lymphoid tissue from antibody deficiency patients is specific, because an infection can result the atypical lymphoid hyperplasia that is difficult to distinguish from lymphoma.



In CVID T cell phenotypic changes induce decrease in CD4/CD8 ratio, with and relative increase in proportion of CD45RO⁺ and decrease in proportion of CD45RA⁺ among the CD4⁺ T cells which is observed in our patient. These phenotypic changes alike the T – cell profile of the patients infected with virus. Recently reported data show correlation of this profile with B – cell immaturity. That issues out the importance of chronic viral infection for lymphoma pathogenesis in CVID patients. Also, in many patients with CVID Monocyte-derived dendritic cells have been shown recently to have reduced expression of surface molecules associated with maturity. Using flow cytometry, we now show that this is due to a partial failure to fix Class II DR molecules on the surface during procedures that induce full maturation in vitro in cells from normal subjects. Major histocompatibility complex (MHC) class I, CD86 and CD83 expression were expressed normally, but CD40 was reduced. These abnormalities are unlikely to be due to prior in vivo exposure of monocytes to lipopolysaccharide (LPS), as addition of LPS to monocytes from normal subjects in vitro caused a different pattern of changes.

Since immune thrombocytopenic purpura (ITP), alone or in combination with autoimmune hemolytic anemia and/or autoimmune neutropenia, is frequent in patients with CVID, tretment with anti CD20 antibody with rituximab might be an option for patients with CVID and ITP that do not respond to other standard immunosuppressive treatments (10). In addition, CVID is associated with autoimmune and inflammatory complications in addition to recurrent infections. IVIg administration reduces the frequency of infections, but does not always prevent autoimmunity or inflammation. TNF antagonists and anti-CD20 immunomodulators have shown some efficacy in CVID in a few patients; further controlled studies are needed to determine the best management of these conditions in the setting of immunodeficiency (11,12). Therefore, the treatment of DLBCL patient in the course of CVID, as a condition which represents the game between autoimmunity and immune dysregulation was succesful in our patient. We conclude that rituximab combined with chemotherapy can be very effective therapy in the treatment of malignant lymphorolipherative disorder in the coarse of CVID.

LITERATURE

1. Kinlen LJ, Webste AD, Bird AG et al. Prospective study of cancer in patients with hzpogammaglobulinemia. *Lancet* 1985; 1: 263–266.
2. Cunningham – Rundles C, Siegal FP, Cinningham–Rundles et al. Incidence of cancer in 98 patients with common varied immunodeficiency. *J Clin Immunol* 1987; 7: 294–299.
3. Grulich A, Leeuwen M, Falster M et al. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients, a metaanalysis. *Lancet* 2007; 370: 59–67.
4. Sander CA, Medeiros LJ, Weiss LM et al. Lymphoproliferative lessions in patients with common variable immunodeficiency syndrome. *Am J Surg Pathol* 1997; 14: 35–47.
5. Gottesman SR, Haas D, Ladanyt M, Amorosi EL. Peripheral T cell lymphoma in a patient with common variable immunodeficiency. *Am J Hematol*; 37: 69–74.
6. Cunningham – Rundless C, Bodian C. Common variable immunodeficiency: Clinical and immunological features of 248 patients. *Clin Immunol* 1999; 92: 34–48.
7. Raeiszadeh M, Kopycinski J, Paston SJ, Diss T, Lowdell M, Hardy GA, Hislop AD, Workman S, Dodi A, Emery V, Webster AD. The T cell response to persistent herpes virus infections in common variable immunodeficiency. *Clin Exp Immunol* 2007; 150(2): 306–11.
8. Cunningham–Rundles C, Lieberman P, Hellman G, Chaganti RS. Non Hodgkin lymphoma in common variable immunodeficiency. *Am J Hematol* 1991; 37: 69 – 74.
9. Scott–Taylor TH, Green MR, Raeiszadeh M, Workman S, Webster AD. Defective maturation of dendritic cells in common variable immunodeficiency. *Clin Exp Immunol*. 2006; 145(3): 420–7.
10. Carbone J, Escudero A, Mayayo M, Ballesteros M, Perez–Corral A, Sanchez–Ramon S, Sarmiento E, Micheloud D, Fernandez–Cruz E. Partial response to anti-CD20 monoclonal antibody treatment of severe immune thrombocytopenic purpura in a patient with common variable



- immunodeficiency. Ann N Y Acad Sci. 2005; 1051: 666–71.
11. Knight AK, Cunningham–Rundles C. Inflammatory and autoimmune complications of common variable immune deficiency. Autoimmun Rev. 2006 Feb; 5(2): 156–9.
12. Jones AM, Davies EG, Cale CM. Rituximab for the treatment of autoimmune cytopenias in children with immune deficiency. Br J Haematol. 2007; 138(1): 94–6.





PRAĆENJE PARAMETARA ZAPALJENSKOG PROCESA I UTICAJ NA STEPEN ANEMIJE I TERAPIJU KONCENTRATIMA ERITROCITA KOD PACIJENATA SA KARCINOMOM DOJKE

Ana Antić¹, Zoran Stanojković¹, Marija Jelić²

¹ Zavod za transfuziju krvi Niš, Srbija

² Vojna bolnica Niš, Kliničko-biohemijska laboratorija, Niš, Srbija

SAŽETAK

Uvod: Anemija je čest poremećaj kod pacijenata sa karcinomom dojke. Ona ima važnu ulogu u redukciji kvaliteta života, efikasnosti primene radio i hemioterapije i stimulaciji angiogeneze, te zahteva ranu dijagnozu i adekvatno lečenje.

Cilj: Utvrditi incidencu razvoja anemije kod pacijenata sa karcinomom dojke, posebno u odnosu na starost, pol, stadijum bolesti, receptorski status, laboratorijske parametre- indikatore zapaljenskog procesa i vrstu terapije, utvrditi prosečnu potrošnju (broj jedinica) eritrocita od strane bolesnika sa karcinomom dojke, kao i poštovanje savremenih principa transfuziološke prakse i preporuka Nacionalnih vodiča za transfuziju eritrocita u lečenju anemije.

Materijal i metode: Retrospektivno su prikupljeni i analizirani podaci o pacijentima sa karcinomom dojke lečenim na Klinici za onkologiju Kliničkog centra u Nišu u periodu 01.03.2004. - 31.10.2009. godine, kao i o primeni transfuzija eritrocita u ovoj grupi pacijenata.

Rezultati: Anemija (koncentracija hemoglobina manja od 100 g/l) se javila kod 67 pacijenata u ispitivanju (67/177, ili 37,85%). Teška anemija (koncentracija hemoglobina manja od 80 g/l) bila je prisutna kod 20 pacijenata (20/67, ili 29,85%), dok je kod 13 pacijenata bila prisutna izuzetno teška anemija (koncentracija hemoglobina manja od 65 g/l). Prema vrsti primenjenog hemioterapijskog protokola do pojave anemije najčešće dovodi primena protokola CEF (ciklofosamid + epirubicin + 5-fluorouracil), CMF (ciklofosamid + metotreksat + 5-fluorouracil) i AC (doxorubicin + ciklofosamid). Ubrzana sedimentacija eritrocita kod pacijenata sa karcinomom dojke povećava rizik razvoja anemije 22,39 puta, a povećana koncentracija C-reaktivnog proteina u serumu 8 puta. U praćenom periodu 65 pacijenata sa karcinomom dojke primilo 173 jedinice eritrocita. Prosečna potrošnja eritrocita po bolesniku sa karcinomom dojke koji je primao krv iznosi 2,66 jedinica. 81,40% bolesnika je primilo transfuzije eritrocita pri koncentraciji hemoglobina manjoj od 80 g/l.

Zaključak: Najznačajniji faktori rizika za pojavu anemije kod pacijenata sa karcinomom dojke jesu starije životno doba, uznapredovali stadijum bolesti, prisustvo metastaza, ubrzana sedimentacija eritrocita, povišena koncentracija C-reaktivnog proteina u serumu i primena adjuvantne hemioterapije. Svi navedeni činioci dovode do oštećenja kostne srži sa posledičnim smanjenjem eritrocitopoeze i povećanim potrebama za nadoknadu oksiformne funkcije krvi transfuzijom koncentrovanih eritrocita.

Cljučne reči: anemija, karcinom dojke, hemioterapija, transfuzija eritrocita

UVOD

Karcinom dojke je najčešći maligni tumor kod žena u Evropi. Stopa incidence karcinoma dojke u razvijenim zemljama iznosi 94/100.000 godišnje, dok je stopa mortaliteta 30/100.000. U Srbiji se godišnje otkrije oko 1400 novih slučajeva karcinoma dojke, sa tendencijom stalnog porasta. Stopa incidence karcinoma dojke u Srbiji iznosi 51,7/100.000 godišnje, što našu zemlju svrstava u zemlje visokog rizika za oboljevanje od ovog oblika malignog oboljenja (1,2).

Anemija je čest poremećaj kod pacijenata sa karcinomom dojke, a njena učestalost i težina zavise od brojnih faktora, kao što su starost pacijenta, nedostatak nutritivnih elemenata u ishrani (gvožđe, vitamin B12, folna kiselina), vrsta i stadijum tumora, stepen raširenosti malignog oboljenja (posebno infiltracija kostne srži malignim ćelijama), intenzitet mijelosupresivne terapije, učestalost infekcija, stepen krvarenja (3). Posebno značajnu ulogu u

nastanku anemije kod pacijenata sa karcinomom dojke ima primena hemioterapije i radioterapije, koje deluju direktno mijelosupresivno i imunosupresivno, dok novija generacija hemioterapeutika može da poveća učestalost anemije i do 90% direktnim delovanjem na bubrežne tubule (4). Najčešće primenjivani protokoli adjuvantne hemioterapije koji uzrokuju pad koncentracije hemoglobina ispod 100 g/l su FAC - 5-Fluorouracil, Doxorubicin, Cyclophosphamide, CMF -Cyclophosphamide, Metotrexate, 5-Fluorouracil, i TAC - Docetaxel, Adrimicin, Cyclophosphamide (5).

S druge strane, pojava metastaza u kostnoj srži dovodi do potiskivanja i zamene matičnih ćelija hematopoeze malignim ćelijama, a, takođe, usled promene mikrosredine u kojoj proliferišu i diferenciraju matične ćelije, smanjeno je stvaranje hematopoeznih faktora rasta (6). Pored toga, može doći do stimulacije produkcije citokina koji inhibiraju eritropoezu ili nastaje poremećaj u iskorišćavanju gvožđa (serumsko gvožđe i ukupni kapacitet vezivanja gvožđa su obično niski, serumski feritin je visok, što ukazuje na blokadu u transferu gvožđa iz depoa u progenitorima eritrocitne loze (7)).

Anemija najčešće pokazuje uznapredovali stadijum karcinoma dojke sa svojim negativnim uticajem na opšte stanje pacijenta. Razvoj anemije često odlaže administraciju terapije, a najveći broj terapijskih protokola, uključujući radioterapiju, doxorubicin i 5-fluorouracil zahtevaju adekvatnu oksigenaciju tkiva da bi ispoljili efikasnost. Slabo oksigenisani tumori reaguju slabije na terapiju, anemija izaziva hipoksiju tkiva, pa pošto ovakvi hipoksični tumori slabije reaguju na terapiju, fenotip tumora postaje agresivniji i povećava rizik metastaziranja (8,9).

Anemija, takođe, igra značajnu ulogu u smislu interakcije između hipoksije tumora i stimulacije angiogeneze. Hipoksija izaziva ekspresiju različitih citokina (interleukin-8, tumor nekrozirajući faktor- α) koji dovode do proliferacije, migracije i diferencijacije endotelnih ćelija odgovornih za razvoj neovaskulature tumora. Sa porastom tumora po veličini rastu i hipoksična polja, ali i angiogeni signali odgovorni za rast i razvoj metastaza (10).

Faktor stimulacije rasta granulocita (G-CSF) koji se primenjuje kod pacijenata sa karcinomom dojke u smislu korekcije neutropenije koja je udružena sa hemioterapijom

još jedan je od faktora koji može pogoršati anemiju kod pacijenata sa karcinomom dojke (11).

Ciljevi ovog rada su bili utvrditi: a) incidencu razvoja anemije kod pacijenata sa karcinomom dojke; b) u pojavu anemije kod pacijenata sa karcinomom dojke u odnosu na starost, pol, stadijum bolesti, receptorski status i laboratorijske parametre (sedimentacija eritrocita, C-reaktivni protein); c) uticaj vrste terapije karcinoma dojke na stepen anemije,

Utvrditi prosečnu potrošnju (broj jedinica) eritrocita od strane bolesnika sa karcinomom dojke i d) poštovanje savremenih principa transfuziološke prakse i preporuka Nacionalnih vodiča za transfuziju eritrocita u lečenju anemije.

MATERIJAL I METODE

Ispitivanje je obuhvatilo 177 pacijenata sa unilateralnim karcinomom dojke, bez prisustva nekog drugog malignog tumora u momentu dijagnostifikovanja bolesti, koji su lečeni na Klinici za onkologiju Kliničkog centra u Nišu u periodu od marta 2004.godine do oktobra 2009. godine. Srednje vreme ispitivanja - „follow-up time“ (vreme od početka ispitivanja do smrti pacijenta ili završetka ispitivanja) iznosilo je 47,78 meseci, a srednji „disease-free“ interval (vreme od dijagnostifikovanja bolesti do pojave rekurentne bolesti ili metastaza ili vreme do kraja perioda ispitivanja) iznosio je 35 meseci.

Podaci o pacijentima prikupljeni su na osnovu podataka iz zdravstvenih kartona i elektronske baze podataka na Klinici za onkologiju, i to: demografski podaci o pacijentu, pol, starost, veličina tumora, receptorski status (estrogenski i progesteronski), histološki gradus tumora, broj zahvaćenih limfnih nodusa, stadijum bolesti (prema TNM klasifikaciji), laboratorijski parametri (koncentracija hemoglobina, sedimentacija eritrocita i C-reaktivni protein), vrsta primenjenih terapijskih protokola (planirana i sprovedena terapija, doza radioterapije, doze i protokoli hemioterapije, broj ciklusa hemioterapije, neželjene reakcije).

Pacijenti su, prema koncentraciji hemoglobina (g/l) i Preporukama Američkog Nacionalnog Instituta za Kancer (NCI) (12), klasifikovani u pet grupa:



- I normalne vrednosti hemoglobina ($Hb \geq 120 \text{ g/l}$),
- II blaga anemija ($Hb = 100-119 \text{ g/l}$),
- III umerena anemija ($Hb = 80-99 \text{ g/l}$),
- IV teška anemija ($Hb = 65-79 \text{ g/l}$),
- V životno ugrožavajuća anemija ($Hb < 65 \text{ g/l}$).

Za korekciju anemije pacijenti su primali različite jedinice koncentrovanih eritrocita, i to: eritrocite resuspendovane u aditivnoj soluciji (SAGM), eritrocite resuspendovane u aditivnoj soluciji (SAGM) osiromašene leukocitima i trombocitima, deplazmatisane eritrocite, isprane eritrocite i filtrirane eritrocite. Svi produkti eritrocita su, prema Preporukama za pripremu, upotrebu i obezbeđenje kvaliteta komponenata krvi Saveta Evrope (13), kontrolisani po utvrđenim parametrima, čime se potvrdio kvalitet proizvoda i obezbedila bezbednost i efikasnost transfuzije. Podaci o broju i vrsti transfundovanih koncentrata eritrocita prikupljeni su na osnovu Protokola pretransfuzijskih ispitivanja i

Transfuzijskog kartona u informacionom sistemu u Zavodu za transfuziju krvi Niš, kao i iz Kartona o transfuziji pacijenta na Klinici za onkologiju.

Prikupljeni podaci statistički su obrađeni primenom softverskog paketa SPSS, verzija 18 (SPSS Software GmbH, Germany). Podaci su prikazani tabelarno i grafički. Za određivanje faktora rizika za pojavu anemije u grupi ispitivanih pacijenata korišćen je Cox Regresioni model analize.

REZULTATI

Prosečna starost pacijenata u ispitivanju iznosila je $56,04 \pm 10,48$ godina (najmlađa pacijentkinja je imala 30 godina, a najstarija 77 godina). Karakteristike pacijenata u ispitivanju prema starosti, veličini tumora, receptorskom statusu (estrogenskom-ER, progesteronskom-PR), zahvaćenosti limfnih nodusa i stadijumu bolesti (prema TNM klasifikaciji) prikazane su u tabeli 1.

Tabela 1: Karakteristike pacijenata sa karcinomom dojke

	Broj pacijenata (%)
Starost pacijenta (godine)	
<50	52 (29,88)
51-64	71 (40,11)
65+	54 (30,51)
Veličina tumora	
pT1a/b	30 (17,00)
pT1c	80 (45,20)
pT2-4	67 (40,80)
Broj zahvaćenih limfnih nodusa	
0	62 (34,80)
1-3	98 (55,10)
3-6	17 (10,17)
Receptorski status	
ER+	135 (75,84)
ER-	42 (24,16)
PR+	93 (52,76)
PR-	84 (47,24)
Stadijum bolesti	
I	29 (16,90)
II	34 (19,10)
III	77 (43,30)
IV	37 (20,80)

Distribucija pacijenata sa karcinomom dojke prema laboratorijskim parametrima u momentu dijagnostifikovanja karcinoma dojke (koncentracija hemoglobina, sedimentacija

eritrocita i C-reaktivni protein), vrsti primenjene terapije (radioterapija, hemioterapija) i vrsti primenjenih protokola adjuvantne hemioterapije prikazana je u tabeli 2.

**Tabela 2:** Distribucija pacijenata sa karcinomom dojke prema laboratorijskim parametrima i vrsti primenjene terapije

	Broj pacijenata (%)
Inicijalna koncentracija hemoglobina (g/l)	
<120	21 (11,80)
≥120	156 (88,20)
Inicijalna brzina sedimentacije eritrocita (mm/h)	
<30	34 (19,10)
30-59	71 (40,11)
60-99	45 (25,52)
100+	27 (15,27)
C-reaktivni protein inicijalno (mg/l)	
<2	13 (7,34)
2-4	128 (72,32)
5+	26 (20,34)
Radioterapija	
Nije primenjena	128 (72,70)
Preoperativna	21 (11,40)
Postoperativna	28 (15,90)
Hemioterapija	
Nije primenjena	31 (17,51)
AC (doxorubicin + ciklofosfamid / 4 ciklusa)	45 (25,43)
CEF (ciklofosfamid + epirubicin + 5-fluorouracil / 6 ciklusa)	72 (40,68)
AC-T/D (AC-4 ciklusa + paclitaxel/docetaxel-4 ciklusa)	11 (6,22)
CAF (ciklofosfamid + doxorubicin + 5-fluorouracil)	10 (5,65)
CMF (ciklofosfamid + metotreksat + 5-fluorouracil)	5 (2,83)
FEC100 (5-fluorouracil + epirubicin + ciklofosfamid)	3 (1,68)

Pacijenti koji su lečeni radioterapijom bili su izloženi dozama zračenja od 4000cGy do 12000cGy u vremenskom periodu od 28 do 90 dana.

U ispitivanom periodu pad koncentracije hemoglobina ispod 100 g/l se javio kod 67 pacijenata (67/177, ili 37,85%), i to prema stepenu anemije:

I Blaga anemija (Hb = 100-119 g/l) – 6 pacijenata (6/67, ili 8,95%)

II Umerena anemija (Hb = 80-99 g/l) – 28 pacijenata (28/67, ili 41,79%)

III Teška anemija (Hb = 65-79 g/l)- 20 pacijenata (20/67, ili 29,85%)

IV Životno ugrožavajuća anemija (Hb<65g/l) – 13 pacijenata (13/67, ili 19,41%).

Analizom svih posmatranih parametara u odnosu na koncentraciju hemoglobina pomoću binarne logističke regresije određeni su faktori rizika za pojavu anemije kod pacijenata sa karcinomom dojke – tabela 3.

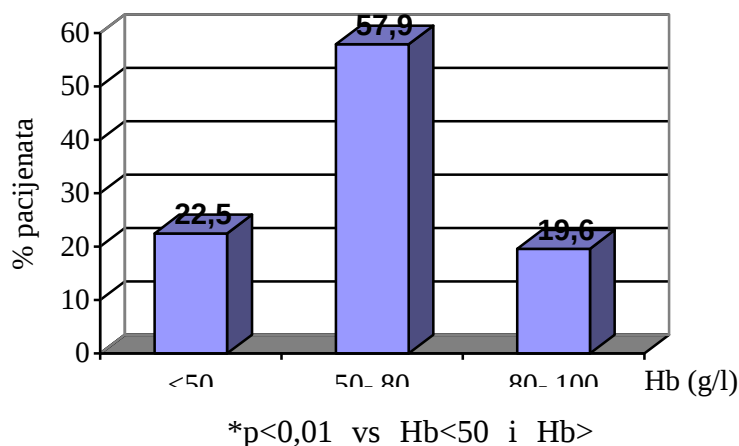
Tabela 3: Crude OR faktora rizika za Hb < 100g/l kod pacijenata sa karcinomom dojke

	OR	95%CI	p
Estrogenski status			
[ER-]	1		
ER+	11,36	4,87-26,52	<0,001
Godine starosti			
continous	40,87	9,74-171,54	<0,001
Kategorija T			
continous	29,06	4,10-205,94	<0,001
Br. Limfnih nodusa			
continous	3,10	2,33-4,15	<0,001
Sedimentacija eritrocita			
continous	22,39	14,72-47,59	<0,001
C-reaktivni protein			
continous	8,02	3,48-18,51	<0,001
Stadijum bolesti			
[I]	1		
II	1.59	0,95-2,68	0,076
III	13.52	5,54-33,03	<0,001
IV	21.43	12.43-31.47	<0,001
Radioterapija			
continous	17,88	4,13-77,43	<0,001

Prema vrsti primenjenog hemioterapijskog protokola uočeno je da do pojave anemije najčešće dovodi primena CEF protokola (37/67, ili 55,22% ukupnog broja pacijenata sa anemijom, odnosno 37/72, ili 51,38% pacijenata koji su primali CEF tokom ispitivanja), primena AC protokola (26/67, ili 34,32% ukupnog broja pacijenata sa anemijom, odnosno 26/31, ili 74,19% pacijenata koji su primali AC tokom ispitivanja) i primena CMF protokola (4/5, ili 80% pacijenata koji su primali CMF tokom perioda ispitivanja). Srednje vreme od početka primene terapije do pojave anemije iznosilo je 24,5 dana.

Ukupno je u posmatranom periodu 65 pacijenata sa karcinomom dojke primilo 173 jedinice eritrocita. Prosečna potrošnja eritrocita po bolesniku sa karcinomom dojke koji je primao krv iznosi 2,66 jedinica, a opseg se kretao od 1 do 5 jedinica. Svi transfundovani pacijenti lečeni su hemioterapijom, dok je 24 pacijenata bilo i zračeno (24/49, ili 48,97% pacijenata koji su primali radioterapiju).

Proverena je koncentracija hemoglobina (Hb(g/l)) kod pacijenata sa karcinomom dojke koja je bila indikacija za transfuziju eritrocita i ona je prikazana na grafikonu 1.


Grafikon 1: Koncentracija hemoglobina (g/l) kod pacijenata sa karcinomom dojke kao indikacija za transfuziju eritrocita

U toku pretransfuzijskih ispitivanja nije utvrđeno prisustvo antieritrocitnih antitela, 4 pacijenta su imala pozitivan direktni Anti-Human Globulin (AHG) test (4/67, ili 5,97%), nije bilo prijavljenih posttransfuzijskih reakcija kod ovih pacijenata.

DISKUSIJA

Ovo ispitivanje je pokazalo razvoj anemije kod 37,85% pacijenata sa karcinomom dojke, što je komparabilno sa podacima prikazanim u literaturi. Ovako visok stepen prevalence reflektuje multifaktorijalnu etiologiju anemije odnosno rezultat je uticaja prirode same maligne bolesti, stadijuma i dužine njenog trajanja, primenjenih terapijskih procedura, učestalosti infekcija, eventualne hirurške intervencije, deficita gvožđa, krvarenja i drugih faktora (14,15). Kod mlađih pacijentkinja koje su u reproduktivnom dobu do pojave anemije mogu dovesti i menstrualna krvarenja, mada je uloga ovog faktora diskutabilna obzirom da se anemija češće javlja kod pacijentkinja starije životne dobi, kod kojih je česta i pojava terapijom uzrokovane prevremene menopauze (16).

Analiza rezultata ovog ispitivanja pokazuje da se pad koncentracije hemoglobina češće javlja kod pacijenata sa karcinomom dojke starije životne dobi u uznapređovalom stadijumu perzistentne ili rekurentne bolesti, koji su na programu hemioterapije, nego kod pacijenata sa novootkrivenim karcinomom dojke. Ova pojava se objašnjava lošim opštim stanjem pacijenata koje je uzrokovano dužinom trajanja malignog oboljenja, većom zahvaćenošću kostne srži uznapređovalim malignim procesom, većom upotrebom taksana, za koje je poznato da dovode do pojave anemije u 67-97% pacijenata, bilo da se primenjuju samostalno, bilo u kombinaciji sa standardnim hemioterapijskim agensima (3,16). Kod najvećeg broja pacijenata u ovom ispitivanju do pojave anemije je dovela primena protokola CEF (ciklofosamid + epirubicin + 5-fluorouracil), CMF (ciklofosamid + doxorubicin + 5-fluorouracil) i AC (doxorubicin + ciklofosamid). Prema *Goldrick-u* i *Olivotto-u* incidenca razvoja anemije kod pacijenata na terapijskim protokolima CEF, CMF i AC je 54%, 32% i 57%, respektivno (5), u našem ispitivanju 51,38%, 80% i 74,19%, respektivno.

Smanjenje koncentracije hemoglobina kod pacijenata sa karcinomom dojke odražava

interreakciju između tumora i domaćina, i do nje dolazi često i pre pojave prvih kliničkih manifestacija malignog oboljenja (17). *Peyman* je u svojim ispitivanjima pokazao da pad koncentracije hemoglobina počinje još u periodu kada su metastaze prisutne, ali se ne mogu detektovati sadašnjim kliničkim, radiološkim i scintigrafskim metodama, te da pojava anemije i ubrzanje sedimentacije eritrocita direktno reflektuju aktivnost malignog procesa (18). Mnogobrojna ispitivanja su pokazala da postoji jasna veza između pada koncentracije hemoglobina, brzine sedimentacije eritrocita, koncentracije C-reaktivnog proteina i koncentracije interleukina-6.

Prema *Kirshner-u* i saradnicima (15) anemija je peta po redu učestalosti neželjenih efekata hemioterapije (groznica, neutropenija sa trombocitopenijom, elektrolitni disbalans, muka, gađenje i povraćanje su ispred). 9% hospitalizacija pacijenata starijih od 65 godina nakon primene hemioterapije su posledica kliničkih manifestacija anemije (5). Ponavljani ciklusi hemioterapije kumulativno oštećuju eritrocitopoezu dovodeći do anemije odnosno pada koncentracije hemoglobina, što se klinički ispoljava iscrpljenošću, malaksalošću i smanjenjem ukupnog kvaliteta života. Takođe, pacijenti koji imaju anemiju tokom primene adjuvantne hemioterapije imaju veći rizik lokalnog relapsa i smanjeno preživljavanje - relaps se javlja kod 7% pacijenata sa normalnom koncentracijom hemoglobina i kod 20% pacijenata sa koncentracijom hemoglobina ispod 100 g/l (19). Prema *Barrett-Lee-u* rizik progresije bolesti je povećan tri puta kod pacijenata sa karcinomom dojke koji imaju anemiju, a, takođe, je i loš prognostički faktor za „relaps-free“ interval i ukupno preživljavanje pacijenata sa karcinomom dojke (4).

Dakle, iako ne ugrožava život bolesnika, anemija ima glavnu ulogu u redukciji kvaliteta života kod pacijenata sa karcinomom dojke, te zahteva ranu dijagnozu i adekvatno lečenje. Rezultati ovog ispitivanja pokazuju da je u terapiji anemije kod pacijenata sa karcinomom dojke ispoštovan princip komponentne transfuzijske terapije i primenjene su transfuzije koncentrovanih eritrocita. Indikovanje transfuzija eritrocita bilo je adekvatno u 81,40% bolesnika, s obzirom da su oni dobili transfuzije eritrocita pri koncentraciji hemoglobina manjoj od 80 g/l.



Onkološki bolesnici uopšte, najčešće zbog lošeg opšteg stanja, teže podnose transfuzijsko lečenje. Većina bolesnika pripada grupi politransfundovanih pacijenata kod kojih je veći rizik od posttransfuzionih reakcija, a neki od njih se senzibilisu na primljene krvnogrupne antigene, te se kasnije javlja problem pronalaženja kompatibilnih jedinica krvi (20). Kod određenog broja ovih pacijenata javljaju se i imunski posredovane pojave: prisustvo autoantitela, paraproteina i formiranja rulo formacija eritrocita, što dovodi do poteškoća u toku pretransfuzionih ispitivanja (21). U toku ovog ispitivanja nisu prijavljene posttransfuzijske reakcije kod pacijenata sa karcinomom dojke koji su transfundovani, niti je utvrđeno prisustvo antieritrocitnih antitela u serumu ovih pacijenata.

Na osnovu iznetih, mogće je zaključiti da anemija kod pacijenata sa karcinomom dojke je izraz odnosa tumor-domaćin i javlja se u 37,85% slučajeva. Najznačajniji faktori rizika za pojavu anemije kod ovih pacijenata jesu starije životno doba, uznapredovali stadijum bolesti, prisustvo metastaza, ubrzana sedimentacija eritrocita, povišena koncentracija C-reaktivnog proteina u serumu i primena adjuvantne hemioterapije. Svi navedeni činioci dovode do oštećenja kostne srži kod pacijenata sa karcinomom dojke, sa posledničnim smanjenjem eritrocitopoeze i povećanim potrebama za nadoknadu oksiformne funkcije krvi transfuzijom koncentrovanih eritrocita.

LITERATURA

1. Perry N, Broeders M, Holand R. European guidelines for quality assurance in breast cancer screening and diagnosis. 4th ed. 2006. European Commission.
2. Filipović S, Filipović A, Stojiljković V, Mišić I, Vrbić S, Pejčić I, Stanojević Z. Karcinom dojke - Kliničke implikacije. JMB 2007; 26:134-43.
3. Spivak LJ, Gascon P, Ludwig H. Anemia management in oncology nad hematology. The Oncologist 2009; 14(1):43-56.
4. Barrett-Lee PJ, Ludwig H, Birgegard G, et al. Independant risk factors for anemia in cancer patients receiving chemotherapy: Results from the European Cancer Anaemia Survey. Oncology 2006; 70:34-48.
5. Goldrick A, Olivotto IA, Alexander CS, Speers CH, Barnett J, Allan SJ, Troung PT. Anemia is a common but neglected complication of adjuvant chemotherapy for early breast cancer. Current Oncol 2007; 14(6):227-33.
6. Besarab A, Horl W, Silverberg D. Iron metabolism, iron deficiency, thrombocytosis, and the cardiorenal anemia syndrome. The Oncologist 2009; 14(1):22-33.
7. Aapro M, Spivak J. Update on erythropoiesis-stimulating agents and clinical trials in oncology. The Oncologist 2009; 14(1):6-15.
8. Vaupel P. Hypoxia and aggressive tumor phenotype: Implications for therapy and prognosis. The Oncologist 2008; 13(3):21-6.
9. Harrison L, Blackwell K. Hypoxia and Anemia: Factors in Decreased Sensitivity to Radiation Therapy and Chemotherapy? The Oncologist 2004; 9 (5):31-40.
10. Clarcke H, Pallister JC. The impact of anemia in outcome in cancer. Clin Lab Haem 2005; 27:1-13.
11. Thomas G, Ali S, Hoebers FJ, et al. Phase III trial to evaluate the efficacy of maintaining hemoglobin levels above 12.0g/dl with erythropoietin vs above 10.0g/dl without erythropoietin in anemic patients receiving concurrent radiation and cisplatin for cervical cancer. Gynecol Oncol 2008; 108:317-25.
12. Groopman JE, Itri LM. Chemotherapy-induced anemia in adults: incidence and treatment. J Natl Cancer Inst 2009; 91:1616-34.
13. Council of Europe. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. European Directorate for the Quality of medicines, Recommendations No. R(95)15. 14th ed. 2008.
14. Bohlius J, Schmidlin K, Briliant CL, et al. Recombinant human erythropoiesis-stimulating agents and mortality in patients with cancer: A metaanalysis of randomized trials. Lancet 2009; 373:1532-42.
15. Kirshner J, Hatch M, Hennessy D, Fridman M, Tannous R. Anemia in stage II and III breast cancer patients treated with adjuvant doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy. The Oncologist 2009; 9:25-32.



16. Dubsky P, Sevela P, Jakesz R, et al. Anemia is a significant prognostic factor in local relapse-free survival of premenopausal primary breast cancer patients receiving adjuvant cyclophosphamide/metotrexate/5-fluorouracil chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2008; 14:2082-87.
17. Spivak JL. The anaemia of cancer: Death by a thousands cuts. *Nat Rev Cancer* 2005; 5:543-55.
18. Peyman MA. The effect of malignant disease on erythrocyte sedimentation rate. *Br J Cancer* 2001; 16:56-71.
19. Cella D. Quality of life and clinical decisions in chemotherapy-induced anemia. *Oncology (Williston Park)* 2006; 20(6):25-8.
20. Balint B, Paunović D, Stanojković Z. Hemotherapy for patients with hemostatic disorders. in: Balint B, editor. *Transfusiology*. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, 2004 (In Serbian), pp.331-38.
21. Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related mortality: The ongoing risks for allogenic blood transfusion and the available strategies for their prevention. *Blood* 2009; 113:3406-17.



ZNAČAJ MIKROAGLUTINACIONE TEHNIKE U ODREĐIVANJU KRVNOGRUPNE PRIPADNOSTI ABO/Rh KOD NOVOROĐENČADI

Ivana Pešić Stevanović, Slobodanka Milošević, Tamara Paris, Vesna Jocić, Olga Čavić
Ginekološko-akušerska klinika „Narodni front“, Kabinet za transfuziju

SAŽETAK

Tehnika aglutinacije u gelu u rutinski rad Kabineta za transfuziju krvi GAK "Narodni front" u određivanju krvnogrupne pripadnosti ABO/Rh novorođenčadi uvedena je 2004 godine.

Cilj rada je prikazati stečeno iskustvo osoblja u određivanju krvnogrupne pripadnosti ABO/Rh tehnikom mikro gel aglutinacije. Retrospektivnom metodom urađena je analiza podataka smeštenih u protokolu krvnih grupa beba u periodu od 2004-2007 god. U radu smo koristili ID-kartice (DiaMed ID gel sistem, Morat Switzerland, „DiaClon ABO/Rh for newborns“). U periodu od 4 godine ukupno je testirano 14 027 novorođenčadi na ABO/RhD krvnogrupnu pripadnost testom na pločici i u gel metodi.

Ukoliko se procedura poštuje ova metoda se pokazala superiornijom u dokazivanju eritrocitnih antigena i klinički značajnih antieritrocitnih antitela od konvencionalne metode aglutinacije u tečnoj sredini. Posebno je povećana mogućnost otkrivanja slabih antigena i podgrupa, kao i nižih koncentracija antieritrocitnih antitela.

Ključne reči: aglutinacija u gelu, krvnogrupna pripadnost

UVOD

Aglutinacija u gelu

U Francuskoj 1985.godine Y.Lapier je patentirao i opisao tehniku reakcije antigen-antitelo mikrometodom aglutinacije u gelu, ali je metoda prezentovana široj stručnoj javnosti tek 1988. godine u Luganu. DiaMed je dizajnirao ID karticu i razvio metodu sa idejom standardizacije reakcije aglutinacije. Ova metoda zasniva se na upotrebi šest mikrocevnica u kojima se nalaze partikule gela, koje su sverične i zadržavaju aglutinate eritrocita, a slobodne eritrocite propuštaju na dno. Time je olakšano i ujednačeno očitavanje rezultata reakcije. Princip testa je direktna (slana sredina) ili indirektna (antihumanglobulin test) aglutinacija eritrocita, sa specifičnim antitelima na partikulama gela (1,2).

Senzitivnost testa zasniva se na preciznom odmeravanju reaktanata, upotrebi pojačivača reakcije Ag-At u rastvoru niske jonske jačine ili AHG testa (1,2,3).

CILJ

Cilj rada je prikazati stečeno iskustvo osoblja Kabineta za transfuziju GAK "Narodni

front" u određivanju krvnogrupne pripadnosti ABO/Rh tehnikom mikro gel aglutinacije.

MATERIJAL I METOD RADA

Retrospektivnom metodom urađena je analiza podataka smeštenih u protokolu krvnih grupa beba i protokolu izdate krvi i krvnih derivata u periodu od 2004-2007 god.

U radu smo koristili ID-kartice (DiaMed ID gel sistem, Morat Switzerland, „DiaClon ABO/Rh for newborns“). Na kartici se najpre upiše redni broj, ime i prezime majke i broj bebe kao i datum rada. Potom se skloni aluminijska folija sa gornjeg dela kartice.

Iz uzorka sa antikoagulansom se najpre pristupi određivanju krvne grupe metodom na pločici uz pomoć humanih monoklonskih seruma anti-A, anti-B, anti-AB i anti-D.

U sterilisanoj i čistoj epruveti 7 cm x 12 mm nalije se 0,5 ml Diluenta 2 (modifikovani Liss) i

50 µl cele krvi odnosno 25 µl sedimentiranih i opranih eritrocita te blago promeša. Ovako pripremljenu suspenziju uz pomoć



poluautomatske pipete ukapavati u svaku od šest mikrocevčica po 10 μ l. Kartice zatim centrifugirati 10 min u ID-centrifugi. Dok se kartice centrifugiraju uneti u postojeću bazu podataka identifikaciju uzorka. Karticu prebaciti u automatski čitač kartica Banjo, očitati aglutinacije, sačuvati podatke u kompjuteru i odštampati rezultat.

Interpretacija rezultata: rezultat je pozitivan ukoliko aglutinacija bude prisutna od 1+ do 4+ u 1, 2, 3, 4 i 6 mikroepruveti a mora se test ponoviti opranim eritrocitima u fiziološkom rastvoru, ukoliko se aglutinacija očita u 5 mikroepruveti jer je to autokontrola (ctl). Direktni Coombs-ov test (DAT) može biti pozitivan i najčešće otkriva hemoliznu bolest novorođenčeta usled Rhesus ili ABO inkompatibilije. Ređe pozitivan DAT otkriva prisustvo antitela drugih krvnogrupnih sistema.

REZULTATI

Micro Typing System u određivanju krvnogrupne pripadnosti beba u Kabinetu za transfuziju krvi GAK "Narodni front" uveden je 2004 godine.

U periodu od 4 godine ukupno je testirano 14 027 novorođenčadi na ABO/RhD krvnogrupnu pripadnost testom na pločici i u gel metodi. Svoj RhD negativnoj deci rađen je Rh fenotip. Deci kod kojih je DAT pozitivan a majka pripada O krvnoj grupi testiran je serum na prisustvo anti-A1 antitela metodom u indirektnom Coombs-ovom testu (IAT). Nije bilo problema u oglašavanju krvne grupe. Administrativnih grešaka bilo kao i prilikom određivanja krvnogrupne pripadnosti konvencionalnom metodom u epruveti 2%.

Slika1: Distribucija krvnih grupa novorođenčadi 2004-2007.god

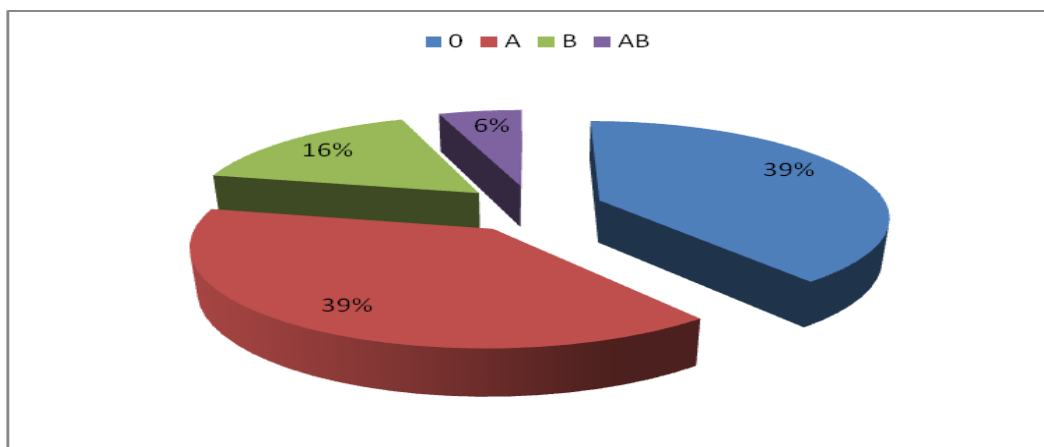
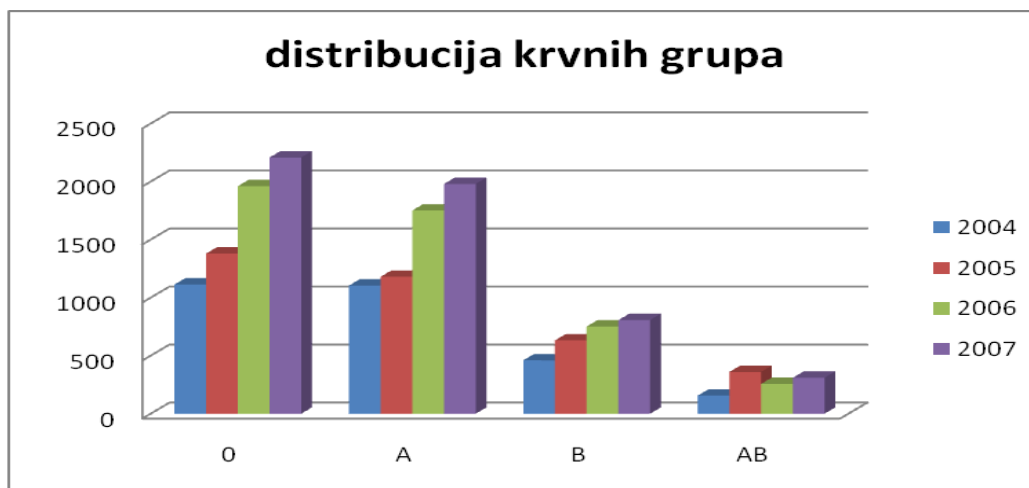


Tabela 1: Distribucija krvnih grupa novorođenčadi 2004-2007 god.

Godina	O	A	B	AB	Fenotip	Pozitivan DAT	Zbir
2004	1113	1104	460	156	618	100	3551
2005	1380	1180	632	360	680	120	4352
2006	1961	1751	752	257	757	114	5592
2007	2208	1980	807	310	825	120	6250

Slika 2: Distribucija krvnih grupa novorođenčadi 2004-2007 god.



DISKUSIJA

Za određivanje krvnogrupnih antigena izbor testa zavisi od karakteristika antigena sa jedne i raspoloživih test reagenasa sa druge strane. Najstarija metoda istorijski ali za sada i najraspreostranjenija je metoda aglutinacije u test epruveti, u fiziološkom rastvoru. Reakcija se odigrava posle mešanja suspenzije eritrocita i test seruma. Za utvrđivanje prisustva ili odsustva određenog antigena koriste se test serumi poznate specifičnosti (1,3).

Dugogodišnja primena ove metode u imunoserologiji eritrocitnih krvnih grupa kao i uporedne analize sa drugim metodama su ukazale na neke njene nedostatke: potreba za relativno velikim uzorkom krvi, problem u radu sa uzorcima krvi novorođenčeta i odojčeta, velika potrošnja test reagenasa, teškoće u otkrivanju slabih antigena i antitela kada su prisutna u maloj koncentraciji, teškoće u otkrivanju mešane populacije eritrocita i problemi u očitavanju rezultata reakcije (4).

Antigeni ABO mogu da se dokažu već od 5-6 nedelje fetalnog života, ali u poređenju sa odraslom osobom, dete na rođenju ima manji broj antigena na eritrocitima iz pupčanika. Razlog za ovu pojavu je nezrelost prekursornih lanaca tipa 2 u ovom životnom dobu. Antigeni ABO dostižu potpunu ekspresiju između druge i četvrte godine života.

Anti-A i anti-B antitela nisu prisutna na rođenju u cirkulaciji novorođenčeta. Ukoliko su prisutna, obično potiču od majke. Endogena

sinteza anti-A i anti-B počinje između 3 i 6 meseca, pa većina dece ove aglutinine ima na kraju prve godine života. Titar ABO izoaglutinina nastavlja sa rastom u ranom detinjstvu i doseže titar odraslih u dobi između 5 i 10 godina života (1,2,3,4).

Prednosti mikroaglutinacione gel tehnike su:

- suspenzije eritrocita su precizno propisane, pipetiranje je poluautomatskim pipetama sa tačno određenim volumenom reagenasa
- za izvođenje testova mikrometodom aglutinacije u gelu potreban je mali uzorak krvi, tako da može biti korišćen i kapilarni uzorak
- istovremeno određivanje ABO/Rh, DAT i autokontrole od jednog transfuzijskog tehničara
- jednostavno izvođenje, lako čitanje rezultata i standardizacija tehnike
- nema kontaminacije test reagenasa
- nemogućnost neutralisanja Coombs-ovog seruma
- precizno centrifugiranje kao bitan činilac sigurnosti
- stabilnost testa očuvana i posle 24 sata
- smanjen rizik infekcije
- fotografija reakcije koja se čuva je sigurnost za pacijenta

Zbog pobrojanih prednosti ovu metodu upotrebljava u rutinskom radu preko 70% evropskih transfuzioloških laboratorija (United Kindom National External Qualitiz Assesment



Sheme for Blood Transfusion Laboratorz Practice –UK NEQAS)(5,6). Transfuziološka praksa većine evropskih zemalja najčešće sledi obrazce preporuka Saveta Evrope, Velike Britanije i Američke asocijacije banaka krvi u određivanju krvnogrupne pripadnosti ABO/Rh novorođenčadi.(4,5,6).

Preporuke Veća Evrope u određivanju ABO/RhD krvne grupe novorođenčadi su:

1. Određivanje ABO antigena uz pomoć dva različita seta monoklonalnih anti-A ili anti-B reagensa
2. Određivanje RhD antigena s dva različita monoklonalna anti-D od kojih je barem jedan reaktivan s DVI+ kategorijom
3. Otkrivanje vezanih antitela (direktni antiglobulinski test-DAT)

Aglutinati u gelu su lako uočljivi i postojani. Očitavanje rezultata je lako i ujednačeno. Pozitivan nalaz je crvena linija na površini gela, a negativan kada je eritrocitno dugme na dnu mikroepruvete. Moguća je gradacija aglutinacije od 1+ do 4+, a potpuno je vidljivo i mešano polje. Mikroepruvete ispunjene gelom, sa specifičnim reagensima, pripremljene za rad čuvaju se na temperaturi od 18°C-25°C, što takođe predstavlja pogodnost (3,6).

ZAKLJUČAK

Određivanje krvnogrupne pripadnosti ABO/Rh tehnikom aglutinacije u mikroepruvetama (kartice) podjednake je sigurnosti kao i konvencionalna tehnika aglutinacije u tečnoj sredini. Ukoliko se procedura poštuje ova metoda se pokazala

superiornijom u dokazivanju eritrocitnih antigena i klinički značajnih antieritrocitnih antitela od konvencionalne metode aglutinacije u tečnoj sredini. Posebno je povećana mogućnost otkrivanja slabih antigena i podgrupa, kao i nižih koncentracija antieritrocitnih antitela. Za izvođenje testova mikrometodom aglutinacije u gelu potreban je mali uzorak krvi, tako da može biti korišćen i kapilarni uzorak. Jednostavnost pri izvođenju, lako očitavanje rezultata, standardizacija u radu, stabilnost serološke reakcije, mogućnost čuvanja kartica i fotografska dokumentacija svakako su prednosti ove metode.

LITERATURA

1. Jovanović- Srzentić S, Veljković D. Imunobiološki i klinički značaj krvnih grupa. Beograd: Intra. Net communication ; 2009.
2. Balint B, ed. Transfuziologija. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 2003.
3. Veljković D. Određivanje antigena i antitela eritrocitnih krvnogrupnih sistema mikrometodom aglutinacije u gelu. Magistarska teza, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, 1992.
4. Silva Ma, ed. Standards for blood banks and transfusion services, 24th ed. Bethesda, MD: AABB, 2006.
5. Brecher ME, ed. Blood transfusion practice. In: Technical Manual 15th ed. Bethesda, MD: AABB Press, 2005: 483-514.
6. Brecher ME, ed. Neonatal and pediatric transfusion practice. In: Technical Manual 15th ed. Bethesda, MD: AABB Press, 2005: 557-77.

**PRIMARY vs. SECONDARY HEART AND LARGE BLOOD VESSEL TUMORS**

Sašo Rafajlovski

Military Medical Academy, Belgrade

Heart tumors are rare cardiac and oncologic diseases. Knowledge of heart tumors has been relatively insufficient so far and it was most often based on the retrograde analyses of accidentally found expansive changes in the heart. It still and most often remains undiagnosed during patient's life because it can, for a long time, give unspecific symptomatology and be unrecognized at routine cardiologic examinations.

Tumors can occur in all parts of the heart and also can metastasize ("move into") all its structures. For this reason basic division of the heart tumors to the primary and secondary ones has been made; namely, to those which have originated in the heart itself and the ones "moved into" it. Primary heart tumors can be benign and malignant, while the secondary ones are malignant.

Knowledge of morphologic characteristics of the heart tumors have been changing with time and accordingly, terms denoting some of them have also been changed. Therefore, the same types of the heart tumors have various names in various time periods and some of them have more synonyms, as well.

These morphologic "nonconformities" and rare incidence of these tumors are the cause of still insufficient consistency in the heart tumor classification.

All this was the great challenge for the author of this book to undertake momentuous work including finding out, study, classification and description of a large number of very rare heart tumors. As an experienced clinician he was mostly focused on revealing possible clinically recognizable manifestations of tumors and consequently, more successful treatment.

In separate chapters presented are general, common characteristics of all heart tumors by groups, from the benign, primary malignant heart tumors, tumors of the pericardium and large blood vessels, secondary tumors and heart tumors in children.

There are many circumstances which are nowadays the reasons of not timely diagnosed and treated heart tumors. Many among non-medical

and even medical experts, when discussing about heart tumors, are suspicious when incidence of the heart tumors is considered.

The first reports on heart tumors come down from the 16th century (Colombo). Senac stated in the 18th century that the heart is too noble organ to be affected by tumor. In the 19th century both primary and secondary tumors were more and more frequently found at autopsies. Probable heart tumor was for the first time observed before death at the beginning of the 20th century, but there was no possibility of description of the changes characteristic for the tumor. The first change qualified as a tumor was observed in thirties of the 20th century (Pollia, Barnes). Goldberg described the first myxoma of the heart and named it after himself in 1954. Afterwards, surgical treatment was the dominant method in the treatment of the heart tumors.

Heart tumors are, as all other tumors, characterized by common clinical properties such as are origin, localization, size, form, consistency, color, relation with its surrounding, local and systemic damage of the body caused by its direct or indirect effect.

Growth of the tumor which can be expansive or infiltrative-destructive is the basic characteristic that differentiates benign from malignant tumors. Their growth is consequence of the tumor cell multiplication frequency so that tumor cell division in the benign tumors is by far less frequent than in the malignant ones.

Mechanism of the heart damage by tumor is various, but the damage caused even by a small one can be destructive and fatal.

Heart tumors can be primary and secondary, benign and malignant.

Secondary tumors are by far more frequent than the primary ones. Benign tumors are always primary and by far more frequent than the primary malignant ones. They make two thirds of the primary tumors.

Benign heart tumors

The most common heart tumor is myxoma which makes more than a half of all primary heart tumors. Taking into consideration that myxoma is operable, it makes almost one fifth of the operated heart tumors in most of the surgical series. As the matter of fact, the first description of the heart tumor given by Colombo in 1559. was correspondent with the myxoma. After having been described for several centuries only at autopsies, Goldberg was the first who, in 1954., diagnosed myxoma while the patient was alive, and two years later Craford performed the first successful operation of the heart myxoma. Already in the following year, Papo performed the first successful operation of the heart myxoma at the Military Medical Academy in Belgrade.

Etiology of myxoma as well as of other tumors is unknown, but all other aspects of histogenesis and morphology have been very well described. Myxoma most commonly grows in atria, by far more commonly in the left one. Its appearance resembles the organized thrombus, and particularly abundant gelatinous acellular tumor matrix suggests it, as well.

Clinical manifestation of myxoma mostly depends on its position, size and rapidity of its growth in the heart, but symptomatology is so atypical that some authors have called it "great masquerader". This term could be, in fact, also used for most of other heart tumors which, by their characteristics, most often do not timely draw clinicians' attention. Myxoma is not frail, but embolization of some adjacent artery caused by a part torn up from it, is quite possible.

Owing to modern technologies diagnosis of myxoma, if suspected, is not difficult. Echocardiography, particularly its newest generation is sovereign and most often sufficient for detection of the heart myxoma, while other additional methods such as are computed tomography and magnetic resonance can be used for better understanding of its relationship with adjacent structures in order to perform, if indicated, safe surgical removal and to eliminate suspicion about existence of some other process similar to the myxomas. Namely, some malignant tumors such as myxosarcoma or metastatic tumors can initially have appearance very similar to myxoma. Sometimes, mural thrombi can hardly be differentiated from myxoma (Figure 1).

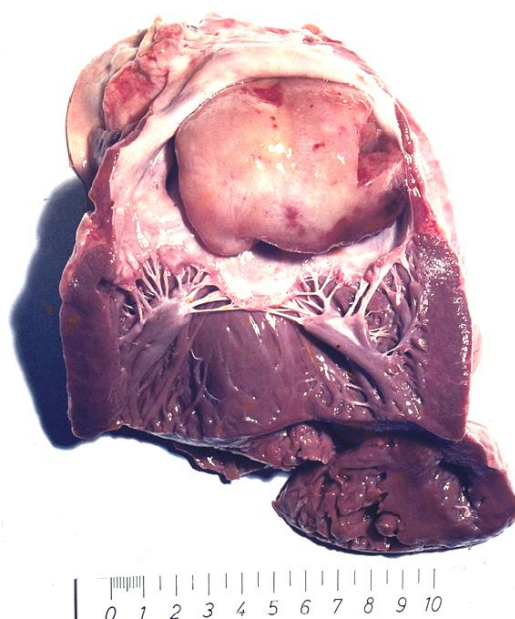


Figure 1. Myxoma of the heart**

**From Academician Vladimir Kanjuh



Treatment of the myxoma is surgical and curability is high if diagnosis is exact.

Other benign heart tumors are considerably less common than myxomas, but their clinical importance can be greater because they can, by their localization and disordered heart function, cause more troubles and even endanger life.

Considering the tissue of their origine, benign heart tumors can be from epithelial, connective, muscular, vascular or nerve tissue, or from the germinative cells.

These tumors can occur in all ages; some of them, such as rhabdomyoma predominantly occur in childhood.

Primary malignant heart tumors

Primary malignant heart tumors are by far less frequent than the benign ones and they belong to the least frequent tumors in the human body. However, each of these tumors has its own specificity including intracardiac localization, morphologic properties, histogenesis, clinical presentation, immunohistochemical characteristics and curability. Prognosis for most of them is very unfavorable so that timely recognition and diagnosis is the only hope with regard to their removal before development of irreversible damages.

According to their histomorphologic properties they can be cancers originating from the epithelial tissue and sarcomas originating from the connective, muscular or nerve tissue. Primary

heart cancers are extremely rare and a great majority of primary malignant tumors of the heart are sarcomas.

Growth of almost one half of the primary heart sarcomas begins in the left atrium, so that initial symptomatology associated with occupation of that space also includes dyspnea and signs of the venous obstruction.

Primary heart sarcomas are malignant tumors consisted of undifferentiated pluripotent mesenchimal cells. They can grow in any part of the heart and from any of its tissues. Differentiation of sarcoma cells can be quite unclear because they mutually differ very much so that about one fifth of them has been still qualified as undifferentiated and unclassified sarcomas.

Echocardiography is a diagnostic procedure of choice for these tumors, as well. But, only cytohistomorphologic diagnosis is reliable both for these and other types of tumors. However, except for this diagnostic method, immunohistochemical procedure is most often necessary taking into account that some sarcomas have relatively specific antigens which bind some chemical tumor markers.

Surgical treatment is a method of choice in cases of these tumors. Palliative effect is, however, obtained only in about 50% of patients with the primary malignant heart tumor. Considering tendency towards dissemination characteristic also for these malignant tumors, primarily systemic therapy such as chemotherapy, could be effective. Yet, chemotherapy is most often as insufficient as in other sarcomas.

**Common and specific characteristics of some primary heart sarcomas (I)**

	Angiosarcoma	Fibrosarcoma	Rhabdomyosarcoma	Malignant fibrous histiocytoma
Incidence	rare, most frequent heart sarcoma	rare, (5% sarcomas)	rare, the second most frequent	rare (about 18% sarcomas)
Age	in all	in all	in all, more often in younger age	in all
Dominant sex	male	no	male	no
Dominant localization	right heart(atrium)	in any part	in any part	left atrium
Macroscopic appearance	large, lobular	graywhitish node ("flash of fishes")	whitish node	lobular polypoid mass
Microscopic appearance	malignant endothelial cells	spindle cells, no order	polymorphic cells	polymorphic cells
Immunohistochemical characteristic	Factor VIII characteristic antigen			positive to vimentin
Differential diagnosis	fibrosarcoma, MF Histiocytoma, undiff.sarcoma	other, non-tumorous diseases	undifferentiated sarcoma, leiomyosarcoma	mixomas, myxosarcoma, leiomyosarcoma
Therapy	surgical or systemic	surgical	palliative	surgical and systemic
Prognosis and average survival	unfavorable, about 7 months	unfavorable, about 10 months	unfavorable, about 4 months	favorable, about 15 months

Common and specific characteristics of some primary heart sarcomas (II)

	Microsarcoma	Liposarcoma	Leiomyosarcoma	Malignant mesenchymoma
Incidence	rare	very rare	very rare	rare
Age	in all	in all	adults	in all, more often in the aged
Dominant sex	no	no	no	females
Dominant localization	left atrium	atria	80% in the left atrium	left atrium
Microscopic appearance	gelatinous, multilobular	various	various	various
Microscopic appearance	cells similar to those of myxoma	malignant lipoblastoma, spotty seal-like appearance	polymorphic cells with many fibrils	polymorphic cells
Immunohistochemical characteristics			positive to desmine	
Differential diagnosis	Myxoma	lipomatous hypertrophy of the atrial septum	fibrosarcoma	
Therapy	surgical	surgical	palliative, surgical	surgical and systemic
Prognosis and average survival	unfavorable, about 9 months	unfavorable	unfavorable, about 7 months	less unfavorable than in other sarcomas



Common and specific characteristics of some primary heart sarcoma (III)

	Osteosarcoma	Kaposi's sarcoma	Unclassified–undifferentiated sarcoma	Lymphoma
Incidence	rare	associated with AIDS	about 20% of sarcomas	rare primary
Age	in all	in all	in all	in all
Dominant sex	male	no	no	no
Dominant localization	left atrium	pericardium	in any region	atria
Macroscopic appearance	various	small solitary or multiple		lobular polypoid mass
Microscopic appearance	osteoclast	spindle cells, no order	polymorphic cells	more often non–Hodgkin's
Immunohistochemical characteristics	positive to vimentin and S–100 protein			
Differential diagnosis	MF histiocytoma, undiff.sarcoma, chondrosarcoma	angiosarcoma	metastatic carcinoma and metastatic malignant mesenchymoma	undifferented, melanomas
Therapy	surgical	surgical	palliative	chemotherapy
Prognosis and average survival	unfavorable, about 1 month	unfavorable	unfavorable, about 5 months	less unfavorable than in other sarcomas

Pericardial tumors

Pericardial tumors have been separately described although they most frequently occur associated with the heart tumors, because

pericardium is only relatively both anatomically and functionally separated from the heart. Our decision to separate these tumors is their primary development or dominant growth in pericardium.

The most frequent primary paricardial tumors	
Benign tumors	Malignant tumors
– benign mesothelioma – mesothelial cysts – mesothelial papilloma – granular cell tumor – fibroma – lipoma – neurofibroma – lymphangioma – lymphangioendothelioma – hemangioma – hamartoma – ectopic bronchogenic cysts – germinative cell tumor–teratoma – thyroid heterotopia and – pericardial thymoma	– malignant mesothelioma – sarcomas – angiosarcoma – fibrosarcoma – Kaposi's sarcoma – malignant hemangioepithelioma – synoviosarcoma – lymphomas – gigantic lymphoid node hyperplasia - granulocytic sarcoma



Pericardium is the most frequently damaged by secondary, metastatic tumors, less frequently by primary benign and malignant tumors, but it can also be damaged by reaction to systemic disorders associated with malignant diseases in other localizations of the body or as a

consequence of the active antineoplastic therapy. All these changes can be concurrently cause of the heart function disorder which is often fatal. The most frequent and the most unfavorable complication is heart tamponade caused by (see the following table)

Characteristics of the most frequent benign pericardial tumors				
	Solitary connective tissue tumor	Mesothelial cyst	Mesothelial papilloma	Pericardial thymoma
Incidence	very rare	relatively frequent	rare	in about 20% of thymomas
Age		adults		adults
Sex	no difference	no difference		none
Size	usually small	various sizes	usually small	usually small
Macroscopically	solitary or multiple cysts	solitary	growth with narrow basis on the pericardium	thymoma by its growth protrudes into the pericardium
Microscopically	pointy cells	cells similar to those of pericardium, lymphoid and smooth muscle cell aggregates	cuboid and epitheloid cells	it can be torn up thymoma growing independently in the pericardium
Differential diagnosis	no similar	mediastinal pseudocysts	reactive mesothelial hyperplasia	
Therapy	surgical	usually not necessary (surgical)	usually not necessary (surgical)	surgical or chemotherapy

Malignant processes in the pericardium can provoke its inflammation manifested as a pericarditis. It is particularly characteristic for mesotheliomas.

Pericardial damage should be considered when pericardial effusion in patients with malignant disease of any localization has been observed, when during therapy they have not previously existing refractory cardiac disorders, in cases of, for example, developed hepatomegalia or of the superior vena cava syndrome.

Diagnostics of the pericardial tumors is complex and malignant cells found in the bioptic material or in pericardial effusion obtained by puncture, are the only confirmation of the tumor.

Regarding their histological properties and origin, pericardial tumors can also be benign and malignant, primary and secondary. Pericardial susceptibility of metastatic tumors is considerable,

so that secondary pericardial tumors are the most frequent in this localization, as well.

Pericardium can be affected by all malignant heart tumors, and vice versa, all malignant tumors affecting the pericardium can expand into the heart.

The most common malignant tumor dominantly or initially affecting pericardium is malignant mesothelioma. Clear cellular atypia and also biologic aggression differentiate it from the benign pericardial mesothelioma. However, malignant mesothelioma is by far more frequent in other parts of the body than in the heart. In pericardium, its growth is very expansive making a helmet around the heart. It more commonly occurs in adults and males, but also in persons who have been in contact with asbestous materials.



Tumors of the large blood vessels

Tumors of the large blood vessels originating from or protruding into the heart are also very rare, they have some similarities with the heart tumors, but they also have characteristic histomorphologic structure. Primarily by their localization, these tumors result in unfavorable clinical manifestations affecting the heart very rapidly.

Most of these primary malignant tumors are, as those in the heart, sarcomas. They may grow both intraluminally or intramurally. Sarcomas of the aorta and pulmonary artery are more often fibroblastic or myofibroblastic infiltrates or of the angiosarcoma type, and in the caval vein they most resemble leiomyosarcomas. Benign tumors of the large blood vessels are even less common and they most often have characteristics of leiomyoma.

Secondary heart tumors

Secondary heart tumors are by far more frequent than the primary ones and they have similar destructive effect upon the heart. Practically, all malignant tumors in human body

can metastasize into the heart. They are more often detected. It is believed that secondary changes in the heart are present in about one fifth of patients with malignant disease.

Clinical presentation of tumor infiltrates is in these as well as in the primary tumors initially atypical, and in the progressive phase, infiltration into the heart is very dramatic.

In this book presented are analyses of considerable number of reports on the secondary heart tumors with special emphasis upon experience of the Military Medical Academy in Belgrade.

In this hospital 12,926 autopsies were carried out within the period 1972. – 2008. Malignant tumors were found out in 3398 (26.3%) cases. Heart tumor was clinically diagnosed during treatment of the primary malignant diseases in only 7 (7.4%) patients. In the rest of cases it was only found at autopsy.

Initial sites of malignant tumors also metastasizing into the heart were various. Metastases in most cases originated from the surrounding malignant tumors. This means that in almost one third of autopsies their primary localization was in the respiratory tract (bronchial and pulmonary carcinoma)

The most frequent sites of origin of malignant tumors metastasizing into the heart presented in analysis of autopsies carried out at the Institute for Pathology and Forensic Medicine of the VMA, Belgrade (Rafajlovski, 2008.)		
Site of origin of malignant tumor metastasizing into the heart	Number of cases (%)	Metastatic localization
Bronchogenic carcinoma	20 (21.2%)	P, M, Ep
Leukemia	10 (10.6%)	En, P, M
Lymphoma	9 (9.6%)	P, Ep, M
Pulmonary adenocarcinoma	8 (8.4%)	Ep, P, M
Melanoma	7 (7.4%)	M
Pancreatic adenocarcinoma	6 (6.4%)	P, M
Breast adenocarcinoma	6 (6.3%)	P, M, Ep
Pleomorphic rhabdomyosarc.	5 (5.3%)	M
Renal carcinoma	3 (3.2%)	M
Thyroid gland carcinoma	3 (3.2%)	V, P, M
M: myocardium; En: Endocardium; Ep: epicardium; P: pericardium; V: valve		

All structures of the were affected by metastases, but they were, by far more common in the myocardium (64 autopsies or 64.9%) and pericardium (29 cases or 31.3%). Most of persons with the secondary heart tumor were males (59 or 62.7%). They were more often in the sixth and seventh decade of life when the tumor was diagnosed (18–81 years of age).

Beside metastases into the heart, all autopsies revealed them in one or more other organs, as well. The primary site was with certainty found out in 87 persons (93.6%). Carcinomas developed metastases into the heart in 86 persons, while in the rest of them (8) metastases were also from remote sarcomas.

Results of analysed series of autopsies carried out at the Institute for Pathology and Forensic Medicine of the MMA within the period 1972.–2008. Comparison with findings of other larger series

(Rafajlovski et al., 2008.)

- period of analysis: 1972.–2008.
- 12,926 autopsies were analyzed
- malignant tumors were found out in 3,398 cases (26.3%)
- metastatic tumor into the heart was found out in 94 persons (2.8%)
- before death, tumor was detected in 7 (7.4%) of these patients
- in other cases, heart disorders, if present, were not suggestive of the tumor
- tumor could be suspected in 5 cases because disorders were not characteristic of the chronic cardiologic disease
- metastases into the heart most often originated from the surrounding malignant tumors
- in about one third of cases tumor originated from the respiratory tract
- lymphomas, leukemias, breast cancers, melanomas and pancreatic tumors were somewhat more frequent
- metastases of pleomorphic rhabdomyosarcoma, as well as of carcinomas of the kidney, thyroid gland, stomach, colon and ovary were less frequently found
- in some individual cases metastases from other sites of origin were found
- myocardium was affected in about two third of cases, while pericardium was predominantly affected in most of other cases
- they were less frequent only in one localization, namely, in the depth of the heart
- males made significant majority of persons with metastases into the heart
- persons with tumor metastases into the heart were most frequently in their sixties or seventies– in more than two thirds of cases metastases were multicentric
- in more than 90% of cases the primary site of metastatic malignant tumor was found out
- in 76 (91.2%) of metastases into the heart were carcinomas, and in 8 (8.8%) of them were sarcomas
- out of 8 cases of metastasizing sarcomas 5 of them (62.5%) were pleomorphic rhabdomyosarcomas

Results of analysed series of autopsies carried out at the Institute for Pathology and Forensic Medicine of the MMA within the period 1972. – 2008.

(Rafajlovski et al., 2008.) (II)

- metastases of pleomorphic rhabdomyosarcoma, carcinoma of the kidney, thyroid gland, stomach, colon and ovary were less frequently found
- in some individual cases metastases from other sites of origine were found
- myocardium was affected in about two thirds of cases, while in most of other cases metastases were predominantly found in the pericardium
- they were less frequent only in one localization, namely in the depth of the heart
- males made significant majority of persons with metastases into the heart
- persons with tumor metastases into the heart were most frequently in their sixties or seventies
- in more than two thirds metastases were multicentric
- primary site of malignant metastatic tumor was found out in more than 90% of cases
- in 76 (91.2%) cases metastases into the heart were carcinomas, while in 8 (8.8%) cases they were sarcomas
- out of 8 cases with metastasizing sarcomas 5 (62.5%) were pleomorphic rhabdomyosarcomas

Heart tumors in children

Heart tumors in children have been separately presented because these tumors, except for general characteristics, have also some specificities such as: histogenesis, growth, clinical manifestation, diagnostic methods and treatment.

While most of primary heart tumors in adults occur in the atria, their incidence in children is "regularly distributed" in the entire heart.

Some heart tumors in children occur, unlike in adults, more often associated with other pathological conditions. Namely, rhabdomyoma



occurs, as a rule, in children having nodular sclerosis.

Numerous tumors occur in the fetal phase causing hemodynamic complication and even fetal death. The most frequent tumor in this phase is rhabdomyoma usually disseminated all over the heart. Fibromas usually occur in the last fetal trimester. Teratomas are usually associated with pericardial effusion as complication.

With regard to the total incidence of benign tumors in childhood half of them are rhabdomyomas, about one forth are fibromas, myxomas make about 10% of these tumors, teratomas are of similar incidence, while other benign tumors such as hemangiomas, lymphangiomas, lipomas, Purkinje's cells tumor, blood cysts and papillary fibroelastomas are less common. Myxomas, by their incidence, are not as characteristic for childhood as for adults. Rhabdomyomas can also spontaneously regress so that, although being the most common ones, they are not the most destructive for the heart of the child. Most of benign tumors occur soon after child birth, which is particularly characteristic of fibromas occurring in more than four fifths of cases in the first year of life.

Primary malignant tumors in children are less common and they make only about 10% of all tumors. The most common are rhabdomyomas and undifferentiated sarcomas. Incidence of angiosarcomas, leiomyosarcomas and fibrosarcomas is less frequent. Treatment of these tumors is, as in adults, most commonly unsuccessful and prognosis is bad.

Secondary metastatic heart tumors are in children less frequent than the primary ones, as well. Difference is only in the fact that some tumors also metastasizing into the heart have various rate of incidence in adults versus that in children. The most common tumors metastasizing into the heart of children are lymphomas, neuroblastomas, Wilms' tumor, soft-tissue

sarcomas, osteosarcomas, hepatoblastomas and leukemias. Curability of the secondary heart tumors depends upon primary tumors sensitivity to some forms of antineoplastic therapy.

Diagnosis and treatment of the heart tumors

Separate chapter contains description of the standard and specific diagnostic procedures. Most of the heart tumors even in the fetal period can be successfully diagnosed by echosonography, that is, by echocardiographic examination.

Treatment of the heart tumors is variously successful in dependence of biologic properties of the tumor and its localization. Benign tumors can be most often effectively treated surgically. Assessment of necessity of this intervention and of optimal time for its performance is very important. Assessment depends upon existing damage of the heart by tumor and its expected growth. Treatment of the malignant heart tumors is by far more complicated and the outcome is more unfavorable. While in cases of benign tumors surgical removal is the method of choice, in the malignant ones it is most often only a palliative measure if operation is possible and indicated, at all. Local and regional radiotherapy and chemotherapy as the systemic one show no effect in most cases because primary malignant tumors are mostly sarcomas resistant to all forms of the treatment, and secondary tumors most often in their terminal phase affect the heart, when their curability is usually uncertain.

All this suggests necessity of the heart tumor prevention within the scope of the general tumor prevention. This is particularly important for groups under risk such as are subjects with genetic disorders and those exposed to carcinogenic factors. There are various levels of prevention, from early tumor detection to healthy way of life.

LITERATURE

1. Abraham DP, Reddy V, Gattusa P: Neoplasma metastatic to the heart: review of 3314 consecutive autopsies. *Am J Cardiovasc Pathol* 1990; 3: 195–98.
2. Adenle AD, Edwards JE. Clinical and pathologic features of metastatic neoplasms of the pericardium. *Chest* 1982; 81: 166–69.
3. Alfaro-Gomez F, Careaga-Reyna G, Valero-Elizondo G, et al. Tumors of the heart. 16 years experience in Hospital de Cardiología, del Centro Medico Nacional Siglo XXI in Mexico City. *Cir* 2003; 71: 179–85.



4. Alzeerah MA, Singh R, Jarrous A. Large B-cell lymphoma of the atria. *Tex heart Inst J* 2003; 30: 74–75.
5. Andersen JA, Hamsen BF.: Primary pericardial mesothelioma. *Dan Med Bull* 1974; 21: 195–200.
6. Anderson DR, Gray MR. Mitral incompetence associated with lipoma infiltrating the mitral valve. *Br Heart J* 1988; 60: 169–71.
7. Ansani L, Percoco G, Zanardi F, Paranzoni P, Gamba G, Antonioli G. Intracardial thyroid heterotopia. *Am Heart J* 1993; 86: 227–35.
8. Antunes MJ, Vanderonck KM, Anrade CM, Rebelo LS. Primary cardiac leiomyosarcomas. *An Thorac Surg* 1991; 51: 999–1001.
9. Arcienegas E, Hakimi M, Farooki ZQ, Truccone NJ, Green EW. Primary cardiac tumors in children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1980; 79: 582–91.
10. Barnes AR, Bauver DC, Snell AM. Primary sarcoma of the heart: Report of a case with E.C.G. and pathologic studies. *Am Heart J*, 1934, 9: 480–85.
11. Bar-Sela G, Arush MW, Reisner S, Lorber A, Haim N. Atrial metastasis detected by two-dimensional echocardiography. *Acta Oncol* 2004; 43(1): 87–90.
12. Bassi D, Lentzner BJ, Mosca RS, Alobeid B. Primary cardiac precursor B lymphoblastic lymphoma in a child: a case report and review of the literature. *Cardiovascular Pathol* 2004; 13: 116–19.
13. Becquemin JP, Lebbe C, Saada F, Avril MF. Sarcoma of the aorta: report of a case and review of the literature. *Ann Vasc Surg* 1988; 2: 225–30
14. Bisel HF, Wroblewski F, LaDue JS. Incidence and clinical manifestation of cardiac metastases. *JAMA* 1953; 153: 712–15.
15. Bruyninck CM, Derksen OS. Leiomyosarcoma of the inferior vena cava. Case report and review of the literature. *J Vasc Surg* 1986; 3: 652–6
16. Burke A, Virmani R. Tumors of the heart and great vessels. *Atlas of tumor pathology*. 3rd series. Fascicle 16, Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1995
17. Burke AP, Rosado-de-Christenson M, Templeton PA, Virmani R. Cardiac fibroma: clinicopathologic correlates and surgical treatment. *J Thor Cardiovasc Surg* 1994; 108: 862–70
18. Burke AP, Virmani R. Cardiac myxomas. A clinicopathologic study. *Am J Surg Pathol* 1993; 100: 671–80
19. Burke AP, Virmani R. Osteosarcoma of the Heart. *Am J Surg Pathol* 1991; 15: 289–95.
20. Burke AP, Virmani R. Sarcomas of the great vessels. A clinicopathologic study. *Cancer* 1993; 71: 1761–73.
21. Cairns P, Butany J, Fulop J, Rakowski H, Hassaram S. Cardiac presentation of non-Hodgkin's lymphoma. *Arch Pathol Lab Med* 1987; 111: 80–83.
22. Chan HS, Sonley MJ, Moes CA, Daneman A, Smith CR, Martin DJ. Primary and secondary tumors of childhood involving the heart, pericardium, and great vessels. A report of 75 cases and review of the literature. *Cancer* 1985; 56: 825–36.
23. Cham WC, Freiman AH, Carstein PHB, Chu FCH. Radiation therapy of cardiac and pericardial metastases. *Radiology* 1975; 114: 701–04.
24. Chou ST, Arkles LB, Gill GD, Pinkus N, Parkin A, Hicks JD. Primary lymphoma of the heart. A case report. *Cancer* 1983; 52: 744–47.
25. Colucci WC, Braunwald E. Primary tumor of heart. In: *Heart Diseases. A Textbook of Cardiovascular Medicine* (Edit.: Braunwald). W.B.Saunders Comp., Fourth Edit, 1992.
26. Condoluci C, Guccione P, Rinlli G, De Simone G. Cardial tumors during fetal life, *Europ Heart J* 1993; 14 (Abstr Suppl) : P441.
27. Cooley DA. Surgical treatment of cardiac neoplasms: 32-years experience. *Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 38: 176–82.
28. Curtsinger CR, Wilson MJ, Yoneda K. Primary cardiac lymphoma. *Cancer* 1989; 64: 521–25.
29. Davies MJ. Tumours of the heart and pericardium. In Pommerance A. Davies MJ: *The Pathology of the Heart*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1975; 413–439.
30. Deenadayalu RP, Tuuri D, Dewell RA, Johnson GF. Intrapericardial teratomas and bronchogenic cyst. Review of literature and report of successful surgery in infant with



- intrapericardial teratoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975; 67: 945–52.
31. Dein JR, First WH, Stinson EB, et al. Primary cardiac neoplasms. Early and late results of surgical treatment in 42 patients. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 93: 502–11
32. Gibbs P, Cebon JS, Calafiore P, Robinson WA. Cardiac metastases from malignant melanoma. *Cancer* 1999; 85(1): 78–84.
33. Gorton ME, Soltandeh H. Mitral valve fibroelastoma. *Ann Thorac Surg* 1989; 47: 605–07
34. Gowda RM, Khan IA. Clinical perspectives of primary cardiac lymphoma. *Angiology* 2003; 54: 599–604.
35. Gowda RM, Khan IA, Nair CK, et al. Cardiac papillary fibroelastoma: a comprehensive analysis of 725 cases. *Am Heart J* 2003; 146: 404–10.
36. Grebenc ML, Rosado de Christenson ML, Burke AP et al. Primary cardiac and pericardial neoplasms: radiologic–pathologic correlation. *Radiographics* 2000; 20: 1073–103.
37. Guarner J, Brynes RK, Chan WC, Birdsong G, Hertzler G. Primary non–Hodgkin's lymphoma of the heart in two patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Pathol Lab Med* 1987; 111: 254–55
38. Hoffmeier A, Schmid C, Deiters S, et al. Neoplastic heart disease– the Muenster experience with 108 patients. *Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 53: 1–8
39. Ilić S, Tatić V, Todorčić M, Vrcelj V. Ektopičko tireoidno tkivo u miokardu desne komore. *Vojnosanit Pregl (Beograd)* 1992; 49 (1): 57–59.
40. Jamali AR, Jamali S, Bhatti A, Majid A, Mehboob G. Malignant fibrous histiocytoma: vascular invasion and metastasis to heart. *J Coll Physicians Surg Pak* 2003; 13(2): 111–13.
41. Johnson MH, Soulen RI. Echocardiography of cardiac metastases. *AJR Am J Roentgenol* 1983; 141: 677–81.
42. Josen AS, Khine M. Primary malignant tumor of the aorta. *J Vasc Surg* 1989; 9: 493–98.
43. Kanjuh V, Šećerov Zečević D, Adžić Čemerlić N, Rafajlovski S, Novaković A. Benign tumors of the heart. *Scripta Medica (Banja Luka)* 2008; vol 39, 1: 1–3
44. Kanjuh V, Tatić V, Seferović PM, Ristić A. Benign and Primary Malignant Tumors of the Pericardium: Pathological Overview, In book Seferović PM, Spodick DH, Maisch B, editors. „Pericardiology. Contemporary answers to continuing challenges“. Belgrade: Science Publishers; 2000; p. 27–39.
45. Kanjuh V, Vučković–Krčmar M. Metastases and other modalities of the secondary malignant invasion of the heart and pericardium. Pathologic morphology and morphologic–clinical correlation. In: Nedeljković SI, Kanjuh VL, Vukotić MR., edition. *Cardiology*. Beograd. 1994; p 761–72 (Serbian).
46. Kanjuh V. Opšta patologija tumora. Izd.: SS Med. fak. I Redakcija Struč. kluba i Struč. čas. stud. med. „Med.podmladak“, Beograd, 1968, str 87.
47. Kanjuh V. The immortality of cancer cell. News letter of the University of Belgrade School of Medicine 2000; 2–3.
48. Kakkar N, Vasishta RK, Sharma Y, Bhasin DK. Intracavitary metastatic non–Hodgkin's lymphoma simulating an atrial myxoma. *Indian J Pathol Microbiol* 2003; 46(1): 60–62.
49. Klatt EC, Heitz DR. Cardiac metastases. *Cancer* 1990, 65(6): 1456–9.
50. Kubota H, Takamoto S, Kotsuka Y, et al. Surgical treatment of malignant tumors of the right heart. *Jpn Heart J* 2002; 43: 263–71.
51. Larsson S, Lepore V, Kennergren C. Atrial Myxomas: result of 25 years' experience and review of the literature. *Surgery* 1989; 105: 695–98
52. Lymburner RM. Tumors of heart; histopathological and clinical study. *Canad. M. A. J.* 1934; 30: 368.
53. Markel ML, Waller BF, Armstrong WF. Cardiac myxoma. A review. *Medicine (Baltimore)* 1987; 66: 114–25.
54. Mingoli A, Feldhause RJ, Cavallaro A, Stips S. Leiomyosarcoma of the inferior vena cava: analysis and search of world literature on 141 patients and report of three new cases. *J Vasc Surg* 1991; 14: 688–99.
55. Miralles A, Bracamonte L, Soncul H, et al. Cardiac tumors: Clinical experience and surgical results in 74 patients. *Ann Thorac Surg* 1991; 52: 886–95.



56. Nadas AS, Ellison RC. Cardiac tumors in infancy. *Am J Cardiol* 1968; 21: 363–6.
57. Prichard RW. Tumors of the heart, review of the subject and report of 150 cases. *AMA Arch Pathol* 1951; 51(1): 98–128.
58. Proctor MS, Tracy GP, Von Koch L. Primary cardiac B-cell lymphoma. *Am Heart J* 1989; 118: 179–81.
59. Rafajlovski S, Orozović V. Amiloidoza srca u bolesnika sa multiplim mijelomom. Analiza bolesnika u kojih je utvrđena amiloidoza u toku evolucije multiplog mijeloma. *Naučni časopis urgentne medicine Halo* 94, Beograd 2003; XIII (26): 7–13.
60. Rafajlovski S, Orozović V. Kardiotoksičnost antraciklina u lečenju bolesnika sa multiplim mijelomom. *Naučni časopis urgentne medicine Halo* 94, Beograd 2003; XIII (26): 35–43.
61. Rafajlovski S, Tatić V, Ilić S, Kanjuh V. Učestalost pojavljivanja metastaza u srcu. *Vojnosanitetski pregled*. 2005; 62 (12): 915–20.
62. Rafajlovski S, Tatić V, Kanjuh V, Ilić S. Učestalost metastaza tumora u srcu. XV Kongres kardiologa Srbije i Crne Gore sa međunarodnim učešćem, Herceg Novi, 25–28.sept.2005. *Kardiologija (Beograd)* 2005; 26 (Supl.1), Zbornik sažetaka. Sažetak P 391, str. 79.
63. Rafajlovski S, Tatić V, Stepić V. Primarni liposarkom perikarda, *Vojnosanitetski pregled* 2001; 58(2): 205–07.
64. Rafajlovski S, Tatić V, Kanjuh V, Gligić B, Obradović S, Gajanin R, Sušević D. Sekundarni tumori u srcu i perikardu: analiza 12.926 obdukovanih slučajeva u periodu od 1972. do 2008. godine u Vojnomedicinskoj akademiji u Beogradu. *Scripta medica (Banja Luka)* 2008; vol 39, 1: 12–25.
65. Reynen K. Frequency of primary tumors of the heart. *Am J Cardiol* 1996; 77: 107
66. Smith C. Tumors of the heart. *Arch Pathol Lab Med* 1986; 110: 371–374.
67. Yeh ET, Tong AT, Lenihan DJ, et al. Cardiovascular complications of cancer therapy: diagnosis, pathogenesis and management. *Circulation* 2004; 109: 3122–31.
68. Zaharia L, Gill PS. Primary cardiac lymphoma. *Am J Clin Oncol* 1991; 14: 142–5.



PRIKAZ I ANALIZA URAĐENIH TESTOVA KOMPATIBILNOSTI KLASIČNOM METODOM I METODOM U MIKRO-GELU TOKOM ŠEST GODINA U KBC "DR DRAGIŠA MIŠOVIĆ-DEDINJE"

B. Mihić-Tomić, Lj. Ilinčić, S. Stojković, V. Đurović
KBC „Dr Dragiša Mišović-Dedinje”, Beograd

SAŽETAK

Cilj: Prikaz i analiziranje urađenih interreakcija sa dve različite metode u toku šest godina, sa posebnim osvrtom na dalje ispitivanje pozitivnih interreakcija u periodu pre i posle uvođenja mikro-gel tehnike.

Materijal i metode: U šestogodišnjem periodu (2002-2007) u KBC "Dr Dragiša Mišović-Dedinje" urađeno je 33 110 interreakcija. U periodu od 2002-2004.g. klasičnom metodom u epruveti urađeno je 15 266 interreakcija, a u periodu od 2005-2007.god. metodom u mikro-gelu firme Dia Med, urađeno je 17 844 interreakcija. Dalje ispitivanje pozitivnih interreakcija u smislu otkrivanja i identifikacije eventualno prisutnih antitela kod pacijenata čiji je serum, odnosno plazma davao pozitivnu interreakciju, u prvom trogodišnjem periodu urađeno je klasičnom metodom u epruveti panel eritrocitima ITK Srbije, a u drugom periodu mikro-gel metodom sa ID Dia Cell I, II i III i panel eritrocitima firme Dia Med Švajcarska.

Rezultati: U periodu od 2002-2004.god. od 15 266 urađenih interreakcija, 241 (1,58%) bilo je pozitivno. Naknadnim ispitivanjem seruma svih pacijenata koji su dali pozitivnu interreakciju, antitela su nađena kod 23 pacijenta. Od tog broja, kod 8 (34,8%) utvrđena je specifičnost prisutnih antitela:

2 anti-Le^a (25%), 2 anti-M (25%), 1 anti-Lan (12,5%), 1 anti-Jk^a (12,5%), 1 anti-Fy^a (12,5%) i 1 anti-K (12,5%). U 15 (65,2%) slučajeva radilo se o: kompletnim alo i auto antitelima 11 (73,4%), hladnim nespecifičnim antitelima 2 (13,3%) kao i inkompletnim alo i auto antitelima 2 (13,3%), čiju specifičnost nije bilo moguće utvrditi raspoloživim panel eritrocitima. U drugom periodu, od 17 844 urađenih interreakcija, 584 (3,27%) bilo je pozitivno. Naknadnim ispitivanjem plazme svih pacijenata koji su dali pozitivnu interreakciju, kod 56 pacijenata utvrđeno je postojanje antitela. Antitela utvrđene specifičnosti bilo je 34 (60,7%). Najviše je bilo iz Rh sistema: 5 anti-E (14,7%), 3 anti-C (8,8%), anti-c 3 (8,8%), anti-e 2 (5,8%), anti-D 1 (2,9%), zatim anti-K 6 (17,6%), anti-M 4 (11,7%), anti-Jk^a 3 (8,8%), anti-Fy^a 2 (5,8%), anti-Jk^b 1 (2,9%), anti-Le^a 1 (2,9%), anti-P1 1 (2,9%), anti-S 1 (2,9%) i anti-Kp^a 1 (2,9%). U 22 (39,3%) slučaja radilo se o: inkompletnim alo i auto antitelima 13 (59,1%), hladnim nespecifičnim antitelima 6 (27,3%), kao i udruženim kompletnim i inkompletnim antitelima 3 (13,6%) neutvrđene specifičnosti.

Zaključak: Uvođenjem osetljive mikro-gel metode u rutinsku praksu, značajno je povećan kvalitet rada u imunohematološkoj laboratoriji, o čemu govore naši prikazani rezultati. Naime, upoređujući dobijene rezultate iz 2 navedena perioda, evidentno je da je broj pozitivnih interreakcija kao i broj otkrivenih specifičnih antitela, znatno veći u periodu u kom smo koristili mikro-gel metodu, nasuprot klasičnoj metodi u epruveti.

UVOD

Pretransfuzijsko imunohematološko ispitivanje ima kritični značaj za sigurnost transfuzijskog lečenja. Osetljivost detekcije imunološke reakcije antigen-antitelo kroz istoriju transfuzijske medicine unapređivana je primenom celog niza potencijatora, monoklonskih antitela i osetljivih mikrometoda.

Primena krvi predstavlja složen transplantacijski proces, pri kome se u organizam primaoca unose brojni aloantigeni, imunoregulatorni molekuli, antiidiotipska antitela, ponekada i živi limfociti (1). Interakcija pojedinih

mononuklearnih ćelija sa imunim sistemom primaoca i kliničke posledice tih reakcija zavise od stepena histokompatibilnosti davaoca i primaoca krvi kao i stanja imunog sistema bolesnika. Zato i pored pozitivnog terapijskog efekta, transfuzije mogu biti udružene sa brojnim neželjenim efektima, zbog čega njihova primena nije bez rizika po zdravlje bolesnika (2). Politransfundovani pacijenti su u riziku od aloimunizacije na antigene eritrocita, što otežava pronalaženje kompatibilnih jedinica krvi. Kod određenog broja ovih bolesnika javljaju se i



poremećaji imunog sistema u vidu pojave autoantitela, paraproteina i formiranja rulo formacija eritrocita, što dovodi do poteškoća u laboratorijskom radu prilikom određivanja krvnih grupa i izvođenja testova kompatibilnosti.

CILJ

Retrospektivno smo ispitivali prednost pretransfuzijskog testiranja metodom u gelu u odnosu na klasične metode ispitivanja u epruvetama.

MATERIJAL I METODE

U šestogodišnjem periodu (2002-2007) u KBC "Dr Dragiša Mišović-Dedinje" urađeno je 33 110 interreakcija. U periodu od 2002-2004.g. klasičnom metodom u epruveti urađeno je 15 266 interreakcija, a u periodu od 2005-2007.god. metodom u mikro-gelu firme Dia Med, urađeno je 17 844 interreakcije. Dalje ispitivanje pozitivnih interreakcija u smislu otkrivanja i identifikacije eventualno prisutnih antitela kod pacijenata čiji je serum, odnosno plazma davao pozitivnu interreakciju, u prvom trogodišnjem periodu urađeno je klasičnom metodom u epruveti panel eritrocitima ITK Srbije, a u drugom periodu mikro-gel metodom sa ID Dia Cell I, II i III i panel eritrocitima firme Dia Med Švajcarska.

REZULTATI

U periodu od 2002-2004.god. od 15 266 urađenih interreakcija, 241 (1,58%) bilo je pozitivno. Naknadnim ispitivanjem seruma svih pacijenata koji su dali pozitivnu interreakciju, antitela su nađena kod 23 pacijenta. Od tog broja, kod 8(34,8%) utvrđena je specifičnost prisutnih antitela: 2 anti-Le^a (25%), 2 anti-M (25%), 1 anti-Lan (12,5%), 1 anti-Jk^a (12,5%), 1 anti-Fy^a (12,5%) i 1 anti-K (12,5%). U 15(65,2%) slučajeva radilo se o: kompletnim alo i auto antitelima 11 (73,4%), hladnim nespecifičnim antitelima 2 (13,3%) kao i inkompletnim alo i auto antitelima 2 (13,3%), čiju specifičnost nije bilo moguće utvrditi raspoloživim panel eritrocitima. U drugom periodu, od 17 844 urađenih interreakcija, 584 (3,27%) bilo je pozitivno. Naknadnim ispitivanjem plazme svih pacijenata koji su dali pozitivnu interreakciju, kod 56 pacijenata utvrđeno je postojanje antitela. Antitela utvrđene specifičnosti bilo je 34 (60,7%).

Najviše je bilo iz Rh sistema: 5 anti-E(14,7%), 3 anti-C(8,8%), anti-c 3(8,8%), anti-e 2(5,8%), anti-D 1(2,9%), zatim anti-K 6(17,6%), anti-M 4(11,7%), anti-Jk^a 3(8,8%), anti-Fy^a 2(5,8%), anti-Jkb 1(2,9%), anti-Le^a 1(2,9%), anti-P1 1(2,9%), anti-S 1(2,9%) i anti-Kp^a 1(2,9%). U 22 (39,3%) slučajeva radilo se o : inkompletnim alo i auto antitelima 13 (59,1%), hladnim nespecifičnim antitelima 6 (27,3%) , kao i udruženim kompletnim i inkompletnim antitelima 3 (13,6%) neutvrđene specifičnosti.

DISKUSIJA

Na osnovu dobijenih rezultata jasno je uočljivo da je identifikovano četiri puta više specifičnih antitela u periodu od 2005-2007 god. mikro-gel metodom, nego klasičnom metodom u epruveti u periodu od 2002-2004 god. Zasluga za ovako visok broj otkrivenih antitela pripada mikro-gel metodi (Dia-Med-ID).

Osnovni princip gel testa je da se umesto u epruveti, reakcija seruma i eritrocita odvija u mikrocevcicama. Šest takvih mikrocevcica su smeštene u plastičnim karticama, što omogućava lako rukovanje, testiranje, očitavanje i odlaganje.

Podaci iz literature nam ukazuju da 0,5% uzoraka daju aglutinaciju samo u gel tehnici a ne rutinskom metodom u epruveti, kada posle 60' inkubacije na 37°C sledi IAT(3). Bromilow i saradnici (4) kažu da u gel IAT postoji povećan odnos serum/eritrociti i ne postoji potreba za pranjem, dok smanjena mogućnost elucije slabo vezanih antitela sa eritrocita smanjuje šansu za dobijanjem lažno pozitivnih i lažno negativnih rezultata. Rumsey(5) zaključuje da je gel test najmanje isto toliko osetljiv kao liss IAT u epruveti, sa boljim odnosom senzitivnosti i specifičnosti, što je u skladu sa našom studijom. Bromilow i saradnici ističu da gel tehnika povećava standardizaciju laboratorijskih tehnika i predstavlja mnogo objektivnije očitavanje hemaglutinacione reakcije. Kompletan test ostaje stabilan unutar gela, dopuštajući ponovo očitavanje i može da bude fotokopiran. Odlaganje plastičnih kartica i njihovo spaljivanje je lako i ne predstavlja problem. Bromilow iznosi da je ID gel sistem jednostavan, osetljiv, brz i inovativan metod za detekciju antigen-antitelo hemaglutinacione reakcije. Leitch i saradnici (6) iznose da su rezultati stabilni što omogućava i proveravanja rezultata kasnije. Cate i saradnici (7) smatraju gel



sistem pogodnim za detekciju i identifikaciju antitela. Kaur i saradnici (8) su mišljenja da DiaMed sistem gel-kartice imaju jednostavnu upotrebu, stabilnost rezultata i povećanu osetljivost. Reakcija je stabilna 3 dana i time omogućava odloženo i objektivno očitavanje od strane iskusnog transfuziološkog osoblja. Odsustvo pranja smanjuje izlaganje krvlju prenosivih patogena na laboratorijsko osoblje. Testiranje metodom u gelu zahteva 15-20 minuta u poređenju sa 60 minuta testiranja (ispitivanja) u epruveti je velika prednost u slučaju hitnih transfuzija krvi.

ZAKLJUČAK

Uvođenjem osetljive mikro-gel metode u rutinsku praksu, značajno je povećan kvalitet rada u imunohematološkoj laboratoriji, o čemu govore naši prikazani rezultati. Naime, upoređujući dobijene rezultate iz 2 navedena perioda, evidentno je da je broj pozitivnih interreakcija kao i broj otkrivenih specifičnih antitela, znatno veći u periodu u kom smo koristili mikro-gel metodu, nasuprot klasičnoj metodi u epruveti.

LITERATURA

1. Reid E.M.Lomas-Francis C. The Blood Group

Antigen, second edition. FactsBook, New York, 2004.

2. Luban LCN. Transfusion Safety :Where are we today .Ann N Y Acad Sci 2005;1054:325-41.
3. Col D Swarup, Brig PS Dhot, Lt Col J Kotwal, Lt Col AK Verma: Comparative Study of Blood Cross Matching Using Conventional Tube and Gel Method. MJAFI 2008; 64:129-130
4. Bromilow IM, Adams KE, Hope J, Eggington JA, Dugid JKM. Evaluation of the ID gel test for antibody screening and identification. Transfusion Medicine 1991; 1: 159-61.
5. Rumsey DH, Ciesielski DJ. New protocols in serological testing: A review of techniques to meet today's challenges. Immunohaematology 2000; 16: 131-7.
6. Letich K, Forrest A, Mitchell R. A preliminary trial of the gel test for blood group serology. Br J Biomed Sci 1993:50-1.
7. Cate John C, Reilly N. Evaluation and implementation of the gel test for indirect antiglobulin testing in a community hospital laboratory. Arch of Pathol and Lab Med 1999;121:693-7.
8. Kaur R, Kakkar N, Dhanoa J. Use of gel-based DiaMed-ID microtyping system for cross matching enhances sensitivity. Indian J Pathol Microbiol 2003;46:617-20.





INTERAKCIJE MEDIJATORA U SEPSI

Maja Šurbatović, Miodrag Jevtić, Nikola Filipović, Sonja Radaković, Maja Marković
Vojnomedicinska akademija, Beograd

Većina medijatora može prouzrokovati oslobađanje drugih (i, bar u nekim slučajevima, samih sebe) tako da je često teško pripisati dati efekat specifičnom medijatoru.

Koliko god izgleda komplikovana kaskada medijatora, ona ustvari previše pojednostavljuje kliničku sliku. Zbog toga što većina ovih medijatora može promptno dovesti do oslobađanja drugih (a ponekad i sebe samih), često je teško pripisati dati efekat specifičnom medijatoru. Dalje, nedavno je otkriveno da mnogi od ovih medijatora imaju različite efekte u kombinaciji od onih koje imaju individualno.

Medijatori u kaskadi sepse interreaguju na različite načine. Neke interreakcije izgleda da pojačavaju odgovor domaćina na infekciju. Interferon-gama i TNF-alfa, na pr. mogu pojačati fagocitnu aktivnost neutrofila i makrofaga. Druge interreakcije izgleda da limitiraju inflamaciju, ponovo uspostavljaju homeostazu, ili oboje. Ciklus u kome TNF-alfa dovodi do promptnog oslobađanja prostaglandina - PGI_2 , a onda PGI_2 suprimira dalju sintezu TNF-alfa, je jedan primer. Drugi je proces kojim IL-8 smanjuje adheriranje neutrofila za endotelijum. Slično, produkti neutrofilne aktivacije i prskanja mogu inaktivisati leukotriene na polju inflamacije. Vazodilatatorni efekti azot-oksida (NO) su ravnoteža za vazokonstriktivni uticaj endotelina-1.

Interreakcije drugih medijatora, međutim, izgleda da raskidaju homeostazu. Na primer, TNF-alfa, IL-1 i faktor aktivacije trombocita - PAF su sposobni da stimulišu oslobađanje jedan drugog - i njihovo sopstveno kontinuirano oslobađanje. Aktivacija T ćelija (posredovana najvećim delom IL-1) prouzrokuje oslobađanje interferona-gama; interferon-gama, za uzvrat, stimulise makrofage da oslobađaju još više IL-1. I TNF-alfa i PAF stimulise arahidonski metabolizam, ali arahidonski derivati mogu onda dovesti do promptnog oslobađanja TNF-alfa i PAF-a.

Dalje, svaki od medijatora sepse može biti proizveden od strane širokog niza različitih ćelija u mnogim različitim delovima tela. I

TNF-alfa i IL-1, na pr. mogu biti oslobođeni od strane makrofaga, limfocita, ćelija prirodnih ubica, astrocita i mikroglijalnih ćelija, Kupferovih ćelija i endotelijalnih ćelija. PAF može biti proizveden od strane makrofaga, neutrofila, eozinofila, endotelijalnih ćelija i trombocita. Kao posledica, broj interreakcija između medijatora može biti blizu broja medijatora dignutog na kvadrat.

Zbog kompleksnosti ove kaskade teško je utvrditi koji efekat može biti pripisan svakom od medijatora. Štaviše, mnogi medijatori imaju sinergističke efekte. IL-1 i TNF-alfa deluju sinergistički u raskidanju pulmonalnog vaskularnog endotela. Pokazano je da endotoksin potencira efekte TNF-alfa.

Što je najvažnije, otkriveno je da dejstva datog medijatora mogu da se razlikuju u zavisnosti od okruženja. Tri faktora su odgovorna za ovaj varijabilitet:

1. *Stanje aktivacije target ćelije.* Interferon-gama, na pr. dovodi do promptne proliferacije mirujućih fibroblasta, ali inhibira proliferaciju kada se fibroblasti brzo dele. PGE_2 stimulise oslobađanje TNF-alfa iz mirujućih monocita, ali on inhibira proizvodnju TNF-alfa onda kada se makrofage aktiviraju.

2. *Prisustvo drugih medijatora u blizini.* Davanje TNF-alfa ne može imitirati efekte endotoksičnog šoka ukoliko PAF nije prisutan. Generisanje superoksidnih anjona od strane neutrofila može biti oslabljeno u prisustvu trombocita, ali ne i u okruženju bez trombocita.

3. *Sposobnost target ćelije da oslobadja druge medijatore.* I TNF-alfa i IL-1 prouzrokuju proliferaciju fibroblasta svaki za sebe, ali njihova kombinacija sinergistički dovodi do oslobađanja PGE_2 , koje, za uzvrat, blokira proliferaciju fibroblasta. Endotelijalne ćelije mogu izgubiti svoju sposobnost da sekreciju NO posle izlaganja endotoksinu; sekrecija takodje može biti izmenjena pod dejstvom stresa i promena u tenziji zida. Površinska ekspresija adhezivnih molekula je specifična po mestu i zavisna od vremena.



Stvaranje i lučenje citokina, u odgovoru organizma na bakterijske produkte, posebno lipopolisaharid gram-negativnih bakterija, je glavni patogenetski mehanizam sepse. Odgovor domaćina na sepsu je u većini slučajeva koristan. Inflamatorna kaskada koju započinje infekcija dovodi do aktivacije regulatornih mehanizama koji kontroliraju intenzitet inflamatornog odgovora na mestu infekcije.

Glavnu ulogu u patogenezi Gram-negativne sepse imaju tumor nekroze faktor-alfa (TNF-alfa), i interleukin-1 (IL-1). Ovi citokini utiču na promene u termoregulaciji, vaskularnoj permeabilnosti i otporu, funkciji srca, funkciji koštane srži i aktivaciji enzima. Takođe stimulišu produkciju drugih citokina (IL-6, IL-8), trombocitnog aktivirajućeg faktora, eikosanoida i aktiviraju sistem komplementa, koagulacije, kinina i td.

Odgovor domaćina na sepsu (glavni medijator tog odgovora je TNF) je u većini slučajeva verovatno koristan. Ova inflamatorna kaskada koju inicira infekcija dovodi do aktivacije regulatornih mehanizama koji kontroliraju intenzitet inflamatornog odgovora. Ovi regulatorni mehanizmi uključuju proteine akutne faze i antiproteaze, ciklooksigenazne produkte, anti-inflamatorne citokine (na pr. IL-4, IL-10, transformišući beta-faktor rasta (TGF-beta), IL-6), kao i specifične anticitokinske supstance, kao što su antagonista IL-1 receptora (IL-1ra) i solubilni citokinski receptori (na pr. solubilni TNF receptori, solubilni IL-1 receptori). Međutim, ovaj proces može izmaći regulatornoj kontroli domaćina i tada postaje štetan po njega.

Neadekvatno visoka ili niska produkcija citokina - Možda je najočitiji način razvoja SIRS-a kod pacijenata koji proizvode ekscesivne količine jednog ili više citokina. Na pr. oslobađanje i TNF-a i IL-6 je povećano kod pacijenata sa cirozom jetre. Kada se takvi pacijenti inficiraju, produkcija citokina se još više povećava. Druge studije su pokazale da monociti

moгу različito odgovoriti na iste stimuluse, u zavisnosti od prethodnog stanja njihove aktivacije. Pod određenim okolnostima, IL-6 može inhibirati oslobađanje ovih drugih citokina. Ovaj nalaz može pomoći da se objasni zašto neki pacijenti ne uspevaju da postignu adekvatno oslobađanje citokina u odgovoru na povredu ili infekciju. Pošto je mreža koja reguliše efekte citokina komplikovana, odsustvo određenog citokina može biti isto tako opasno kao i povećana produkcija drugog citokina. Monociti pacijenata sa određenim hroničnim stanjima (kao što je reumatoidni artritis) mogu da "nauče" da tolerišu cirkulišuće koncentracije citokina, i stoga, može da se desi da ne reaguju sa povećanom dodatnom produkcijom.

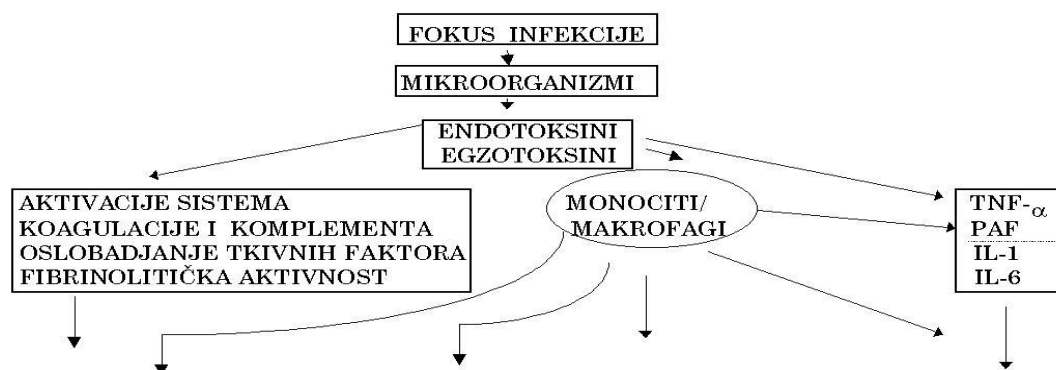
Stimulacija koštane srži - Poznato je da maturacija reguliše proizvodnju citokina od strane monocita. Kod pacijenata sa SIRS-om, ekscesivna sistemska produkcija citokina može stimulisati koštanu srž i dovesti do značajnih promena u tipovima proizvedenih monocita koji proizvode još više citokina.

Insuficijentan odgovor na sistemske citokine - U SIRS-u mnogi još uvek nepoznati mehanizmi sprečavaju organizam da adekvatno reaguje na citokine.

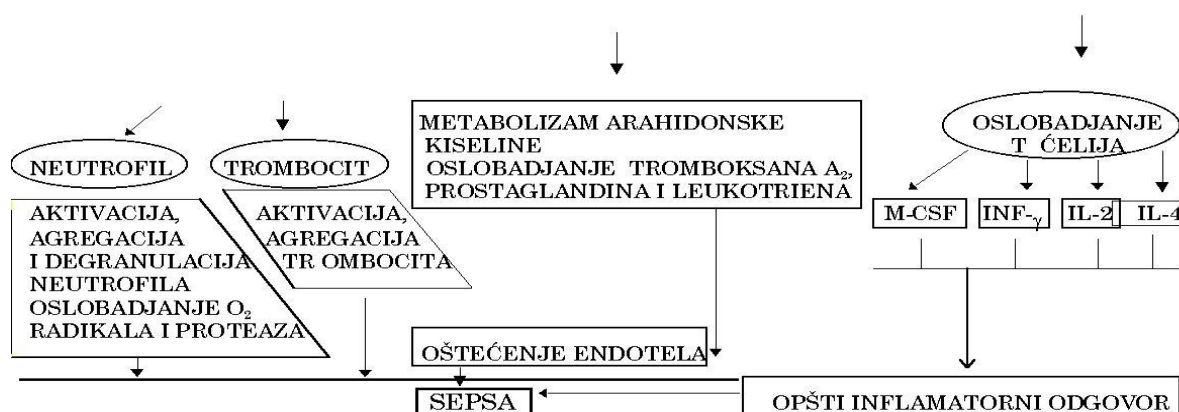
Alteracije u metabolizmu citokina - Čak i normalne koncentracije proizvedenih citokina mogu dovesti do problema ako ovi medijatori nemaju adekvatan metabolizam. Na pr. pacijenti sa cirozom jetre imaju smanjen metabolizam (kao i povećanu produkciju) TNF-a i IL-6. Zato su pacijenti sa bilo kojom formom hepatične insuficijencije pod povećanim rizikom za razvoj SIRS-a.

Međutim, ovaj proces može izmaći kontroli regulatornih mehanizama domaćina i tada sistemski odgovor dovodi do oštećenja tkiva praćenih poremećajima rada vitalnih organa sa čestim smrtnim ishodom. Na slikama 1, 2 i 3 prikazana je kaskada sepse

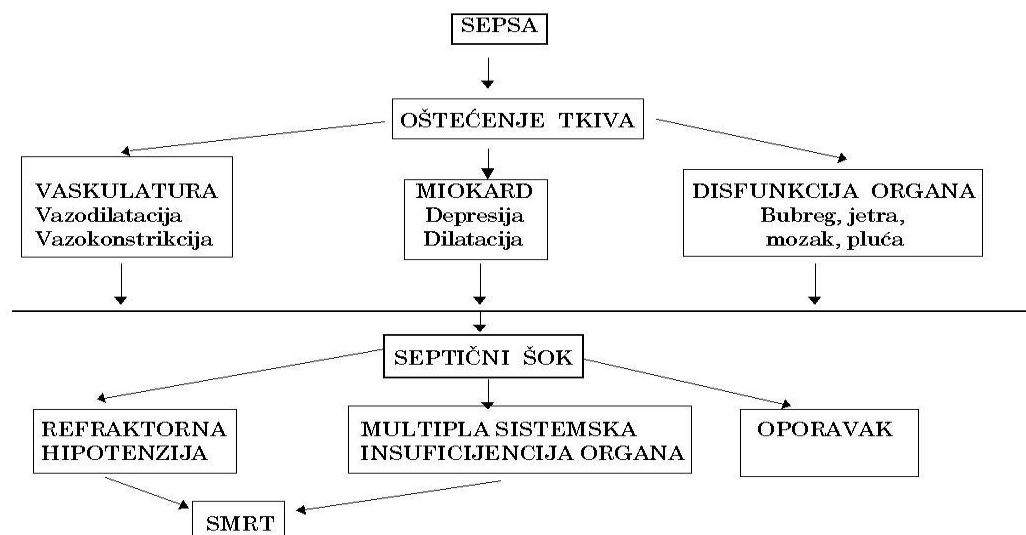
KASKADA SEPSE (I)



KASKADA SEPSE (II)



KASKADA SEPSE (III)



Slike 1, 2 i 3: Kaskada sepsa

LITERATURA

1. Cavaillon JM, Adib-Conquy M. Involvement of pro- and anti-inflammatory cytokines in sepsis. In: Vincent JL, Carlet J, Opal SM, eds. The Sepsis Text. Boston: Kluwer Academic Publishers; 2002. p. 159-95.
2. Natea MG, Van der Meer JW, Kullberg BJ. Sepsis – theory and therapise. New Engl J Med 2003; 348(16): 1600-1.
3. Monneret G, Venet F, Lepape A.: Monocyte anergy: The Chicken or the Egg? In: Nierhaus A, Kreymann K eds, Sepsis, SIRS, Immune Response - Concepts, Diagnostics and Therapy - Update 2005. Pabst Science Publishers Berlin, Miami, 2005:51-5.
4. Ayala A, Lomas JL, Grutkoski PS, Chung CS. Pathological aspects of apoptosis in severe sepsis and shock. Int J Biochem Cell Biol 2003; 35:7-15.
5. Gogos CA, Drosou E, Bassaris HP, Skouletis A. Pro- versus Anti-inflammatory Cytokine Profile in Patients with Severe Sepsis: A Marker for Prognosis and Future Therapeutic Options. J Infect Dis 2000; 181:176-80.



**UPORABA SUPRAGLOTIČNEGA PRIPOMOČKA I-GEL
V AMBULANTNI ANESTEZIJI
USER I-GEL SUPRAGLOTTIC AIRWAY FOR AMBULANCE ANAESTHETICS**

Brigita Erbežnik – Zdravković
Kirurški Sanatorij Rožna Dolina, Ljubljana, Slovenija

SUMMARY

Introduction: The i-gel airway is a new and inovative supraglottic airway management device. It has an integrated gastric channel for the suction of gastric contents and/or to allow the passage of a nasogastric tube to empty the stomach. We started using an i-gel airway in 2008 for the day-care anaesthesia..

Method: The observational study. We evaluated the i-gel in 40 female and 30 male patients, ASA clasification 1-2, age 51 ± 16 . We used the i-gel in patients, who underwent majnor elective abdominal, vascular and upper limb surgeries. Duration of anesthesia ranged from 40 to 60 min. TIVA was used as an anesthetic technique with Propofol and Remifentanyl. I-gel supraglottic device was used to support airway. The patients were discharged 3 – 4 hours post surgery.

Results: All 70 patients had an uneventful recovery. Patients did not complaint of sore throat. During ventilation of the patient the tidal volume was set at 7ml/kg. At the extubation the value of CO₂ was 4.2 ± 0.3 KPa.

Discussion: I-gel airway is made of a gel-like material which on the body temperature adjust it's self to fit individual patient' laryngeal anatomy. It provides thight seal and the ventilation was extremly good.

Conclusion: The i-gel airway is a reliable device for a day-care general anaesthesia.

Key words: I-gel airway, airway management device, nursing care, day-care general anaesthesia

POVZETEK

Uvod: I-gel supraglotični pripomoček je nov in inovativen pripomoček za vzdrževanje proste dihalne poti. Vsebuje tudi gastrični kanal za lažje odstranjevanje slin in eventualno vstavljanje želodčne cevke. V letu 2008 smo začeli uporabljati i-gel supraglotični pripomoček za ambulantno anestezijo.

Materijal i metoda: V študiji smo analizirali 70 bolnikov, 30 bolnikov moškega spola in 40 bolnikov ženskega spola, ASA klasifikacija 1-2, povprečna starost bolnikov je bila 51 ± 16 . Bolniki so imeli manjše abdominalne operacije, operacije ožilja na nogi, manjše operacije v predelu roke in krajše proktološke operacije. Operativni poseg je trajal povprečno 40 ± 10 minut. Za vzdrževanje anestezije smo uporabljali Propofol in Remifentanil v kontinuirani obliki. I-gel supraglotični pripomoček smo uporabljali za vzdrževanje dihalne poti. Bolniki so bili odpuščeni iz bolnišnice 3 ± 1 ure po kirurškem posegu.

Rezultati: Vseh 70 bolnikov se je mirno zbudilo iz anestezije. Bolniki niso tožili za bolečinami v grlu. Ventilacija je bila kontrolirana ter primerna (7 ml/kg tt.) Ob extubaciji je bila vrednost CO₂ $4,2 \pm 0,3$ KPa.

Diskusija: Supraglotični pripomoček i-gel je narejen iz gela, ki se na telesni temperaturi prilagodi obliki bolnikovega larinksa, zelo dobro tesni, ventilacija bolnikov je bila odlična.

Zaključek: Supraglotični pripomoček i-gel je odličen pripomoček za vzdrževanje dihalne poti v ambulantni anesteziji.

Ključne reči: supraglotični pripomoček i-gel, vzdrževanje dihalne poti, zdravstvena nega pri anesteziji, ambulantna anestezija

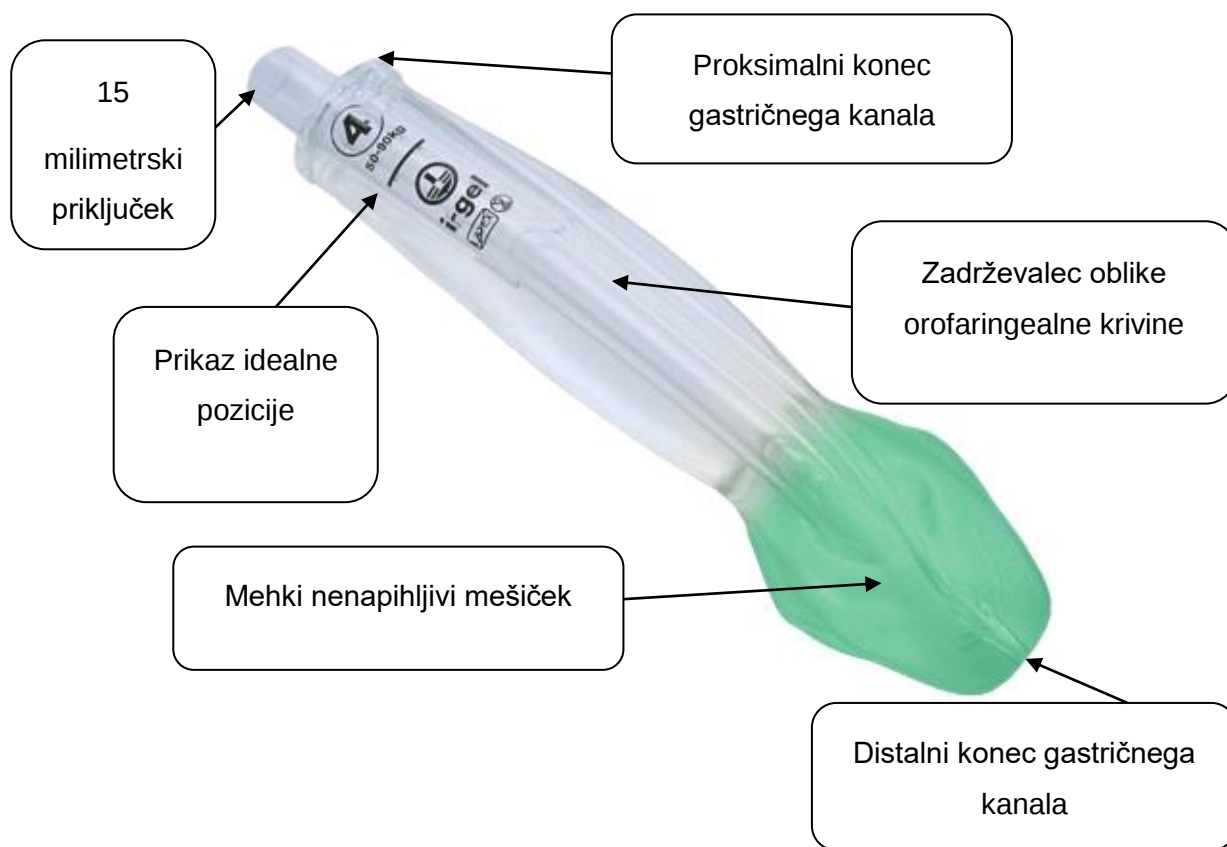
UVOD

Dihalni pripomoček, supraglotični pripomoček je nov in inovativen pripomoček za vzdrževanje dihalne poti, narejen iz mehkega

želatinastega in prozornega termoplastičnega elastomera. Narejen je tako, da s svojo obliko in strukturo ter brez potrebnega napihovanja mešička sledi anatomskim strukturam faringealnih, laringealnih in perilaringealnih predelov, zaradi

česar tudi ne povzroča kompresijskih poškodb. Supraglotični pripomoček i-gel je anatomsko oblikovan pripomoček, pri katerem so dosegli zrcalno sliko opisanih struktur, kjer ne prihaja do večsmernih kompresijskih sil, niti do poškodb okoliških tkiv zaradi premika teh struktur ob vstavljanju pripomočka [1].

Zadrževalec oblike orofaringealne krivine ima razširjen, eliptičen, simetričen in lateralno sproščen prečni prerez. Vsebuje tudi gastrični kanal, s pomočjo katerega lahko po potrebi aspiriramo želodčno vsebino ali uvedemo nazogastrično sondo [1]. Slika 1 prikazuje ključne sestavne dele supraglotičnega pripomočka i-gel [6].



Slika 1: Ključni sestavni deli supraglotičnega pripomočka i-gel [6]

PRIPRAVA IN NAMESTITEV SUPRAGLOTIČNEGA PRIPOMOČKA I-GEL

V letu 2008 smo začeli uporabljati supraglotični pripomoček i-gel tudi za ambulantne anestezije, pri manjših operativnih posegih v abdominalni kirurgiji (hernia inguinalis, supra umbilicalis, umbilicalis, epigastica), v žilni kirurgiji (VSM, VSP) v kirurgiji roke (Contractura Dupuytren manus, manjši tumorji na roki, ganglion dorsi carpi) in pri proktoloških

operacijah (Plica hypertrophica, nodus haemorrhoidales, fistula paraanalis, condylomi).

Za ta pripomoček smo se odločili, ker se enostavno namesti, je prijazen za bolnika, atravmatski in ima možnost aspiracije preko gastričnega kanala.

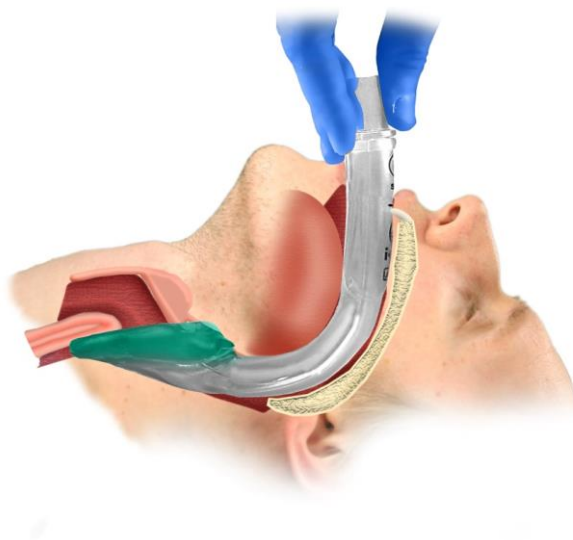
Supraglotični pripomoček i-gel uporabljamo za vzdrževanje dihalne poti. Pred vstavljanjem supraglotičnega pripomočka i-gel nanesemo tanko plast K-Y Jelly vlažilnega gela na zadnjo, bočno in sprednjo stran mešička. Vlažilni gel nanesemo tik pred vstavljanjem pripomočka [1].



Slika 2: Prikaz pravilnega nanosa tanke plasti vlažilnega gela [6].

Pri uporabi pripomočka moramo uporabljati rokavice. Pazljivo rokujemo s pripomočkom, da ga pravilno odložimo nazaj v pladenj, da na pripomočku ni ostankov vlažilnega gela. Izogibamo se dotikanju mešička pripomočka z orokovičenimi rokami. Pred tem smo glavo bolnika namestili v iztegnjeni položaj in vrat upognili (Slika 2).

Glavo bolnika namestimo v iztegnjeni položaj in vrat upognemo (slika 3). Vodilno mehko konico vstavimo v bolnikova usta v smeri proti trdem nebu. Pripomoček potisnemo navzdol trdega neba. Potiskamo neprekinjeno, vendar nežno dokler ne začutimo upora [1].



Slika 3: Pravilni položaj glave in namestitev supraglotičnega pripomočka i-gel [6].



ZDRAVSTVENA NEGA PRI AMBULANTNI ANESTEZIJI Z SUPRAGLOTIČNIM PRIPOMOČKOM I-GEL

Ambulantne operacije so postale del vsakodnevne klinične prakse mnogih bolnic in ambulantnih kirurških centrov po svetu. V Kirurškem Sanatoriju Rožna Dolina bolnike operiramo v splošni anesteziji ali v področni anesteziji. Glede na predvideni potek zdravljenja bolniki lahko zapustijo bolnišnico še isti dan po kirurškem posegu. Na osnovi skupnega splošnega zdravstvenega stanja so to bolniki razvrščeni v ASA klasifikacijo 1-2.

Ambulantni kirurški posegi in s tem povezani anesteziološki postopki prinašajo v obravnavi kirurškega bolnika v večini primerov prednosti tako bolnikom, kot tudi zdravstvenemu sistemu. Bolniki se po posegu še isti dan vrnejo v domačo oskrbo in domače okolje. Z strokovnega stališča se zmanjša možnost bolnišnične okužbe in hospitalizma. S socialnega stališča se skrajša čas ločitve bolnika od svojcev. To je posebno pomembno pri starejših ljudeh (rutinsko življenje, dieta, spanje, terapija). S finančnega stališča je taka oskrba bolnikov cenejša in ne zaseda posteljnega fonda.

V naši ustanovi dobi bolnik pred načrtovanim posegom pisno informacijo o posegu in o potrebnih dodatnih predoperativnih preiskavah, (hemogram, elektroliti, EKG – glede na zdravstveno stanje bolnika). Poleg tega je bolnik pisno in ustno seznanjen s potekom sprejema, bivanja in odpusta v bolnišnici.

Anesteziolog pregleda bolnika ter njegovo dokumentacijo v anesteziološki ambulanti 7-14 dni pred načrtovanim posegom (klinični pregled, anamneza, laboratorijski izvidi, psihična priprava bolnika na vrsto anestezije). Na dan operacije anesteziolog še enkrat pregleda dokumentacijo, vse izvide ter se z bolnikom v pomirjujočem tonu pogovori.

Naloga medicinske sestre (MS) pri anesteziji z supraglotičnim pripomočkom i-gel so sledeče:

- ✓ Priprava monitorja za nadzor vitalnih funkcij (EKG monitor, pulzni oksimeter, aparat za neinvazivno merjenje krvnega tlaka)
- ✓ Priprava anestezijskega aparata
- ✓ Priprava prostora

- ✓ Sprejem bolnika, pregled zdravstveno negovalne dokumentacije, preverjanje identitete bolnika, operacije, pregled predhodne priprave operativnega polja)
- ✓ Vzpostavitev intravenske poti z infuzijo kristaloidov
- ✓ Namestitev bolnika v hrbtni položaj pred uvodom v anestezijo, zaščita bolnika pred poškodbami v sodelovanju z operacijsko medicinsko sestro
- ✓ Aplikacija učinkovin po navodilu anesteziologa
- ✓ Asistenca anesteziologu pri uvajanju in odstranitvi supraglotičnega pripomočka i-gel
- ✓ Spremljanje bolnikovega zdravstvenega stanja pred, med in neposredno po anesteziji (opazovanje bolnika ter njegovih vitalnih znakov preko monitorjev in anestezijskega aparata, izpolnjevanje zdravstveno negovalne dokumentacije pri anesteziji, dodajanje učinkovin po navodilu anesteziologa)
- ✓ Zbujanje in predaja bolnika oddelčni medicinski sestri z bolnikovo dokumentacijo in navodili za zdravstveno nego.

MATERIAL IN METODE

V študiji smo analizirali 70 bolnikov, ki so bili razvrščeni po ASA klasifikaciji 1-2. Povprečna starost bolnikov je bila 51 ± 16 let, 30 bolnikov je bilo moškega spola in 40 bolnikov ženskega spola. Operativni poseg je trajal 40 ± 10 minut. Bolniki so bili uspavani s Propofolom 2-3 mg/kg t.t., in analgezirani z Fentanilom 0,05 mg / Alfentanil 0,5 mg v enkratnem odmerku. Za nadaljevanje analgezije in sedacije smo uporabljali Remifentanil 0,2 µg /kg.t.t./min $\pm 0,05$ µg in Propofol 4mg/kg t.t ± 2 mg/kg t.t. kontinuirano preko infuzijskih črpalk in perfuzorjev. Ventilacija bolnikov je bila kontrolirana (zmes plinov zrak in kisik) s 40 – 50% kisikom. Proti koncu kirurškega posega smo prekinili kontinuirano analgezijo in sedacijo. Ko se je bolnik smiselno odzival na ukaze, smo bolnika prosili, da povsem odpre usta in smo supraglotični pripomoček i-gel varno odstranili.

Pri 69 bolnikih smo supraglotični pripomoček i-gel lahko hitro in pravilno namestili. Ugotovili smo, da je namestitev supraglotičnega pripomočka i-gel hitrejša in enostavnejša v primerjavi z namestitvijo laringealne maske,



katero tudi uporabljamo. Pripomoček smo v enem primeru dvakrat vstavljali.

Pri odstranjevanju pripomočka nismo opazili, da bi bil pripomoček krvav in sama odstranitev pripomočka je bila enostavna.

REZULTATI

Vseh 70 bolnikov se je mirno zbudilo iz anestezije. Bolniki niso tožili za bolečinami v grlu. Kontrolirana ventilacija je bila primerna (7 ml/kg tt.) Ob extubaciji je bila vrednost CO₂ 4,2±0,3 KPa. Bolniki so bili podvrženi kontrolirani ventilaciji s tlakom 15-30 cm H₂O. Med kontrolirano ventilacijo ni bilo opaziti izgube mešanice plinov (zrak+kisik). Zatesnitev z mehkim nenapihljivim mešičkom je bila primerna tako med kontrolirano ventilacijo kot pri spontanem dihanju bolnika.

DISKUSIJA

Supraglotični pripomoček i-gel je nov in inovativen namenjen za vzdrževanje dihalne poti, narejen iz mehkega, želatinastega in prozornega termoplastičnega elastomera, ki se na telesni temperaturi lepo prilega laringealnemu predelu in ustvari zanesljivo perilaringealno zaporo. Mehki nenapihljiv mešiček zagotovi zadostno zamašitev za ventilacijske modele. Je enostaven za nameščanje, med postopkom nameščanja ni potrebno supraglotičnega pripomočka i-gel obračati in ni potrebno vstavljati prstov v bolnikova usta. Poškodba tkiva pri uvajanju supraglotičnega pripomočka i-gel je minimalna. Ker ima čvrsto deblo je stabilen v ustni votlini ob enem je zaščita pred ugrizom. V literaturi ni bil predstavljen pooperativni dihalni problem zaradi uporabe supraglotičnega pripomočka i-gel. Predstavljeno je bilo odvajanje od ventilacije s pomočjo supraglotičnega pripomočka i-gel na koncu anestezije, ko so bolniku pred zbujanjem iz anestezije odstranili trahealni tubus in ga nadomestili s supraglotičnim pripomočkom i-gel

[3]. Gastrični kanal je primeren za uvajanje nazogastrične sonde in aspiracijo želodčne vsebine iz želodca. [2].

ZAKLJUČEK

Supraglotični pripomoček i-gel je odličen za vzdrževanje dihalne poti v ambulantni anesteziji. Namestitev pripomočka je enostavna, primeren je za kontrolirano ventilacijo, kot za spontano dihanje. Ne povzroča poškodb mehkih tkiv med vstavljanjem in s tem je tudi zmanjšanje zapletov pri pooperativnem zdravljenju.

LITERATURA

1. Navodila za uporabo i-gel supraglotičnega pripomočka za vzdrževanje proste dihalne poti za enkratno uporabo, INTERSURGICAL Ltd; Crane House, Molly Millars Lane, Workingham, Berkshire, RG41 2RZ
2. B. Richez, L.Saltel, F. Banchereau, R. Torrielli, A.M. Cros A New Single Use Supraglottic Airway Device with a Noninflatable Cuff and an Esophageal Vent: An Observational Study of the i-Gel; Vol.106, No.4, April 2008
3. Correspondence; Evaluation of the i-gel airway in 300 patients; European Journal of Anesthesiology 2008; 1-2
4. J.J.Gatward, M.J.C. Thomas, J.P. Nolan and T.M. Cook Effect of chest compressions on the time taken to insert airway devices in a manikin; BJA Advance Access published December 24, 2007

VIRI

5. www.i-gel.com The supraglottic airway with a non-inflatable cuff
6. <http://www.i-gel.com/assets/client/docs/userguides/igel%20User%20Guide%20English.pdf>

AIXMED

Beograd, Aleksandra Stambolickog 27, tel: 011/2667 368, fax: 011/3067 774, @: axmed@EUnet.rs

LMA za jednokratnu upotrebu

LMA za višekratnu upotrebu



LMA Supreme™

Prva i jedina LMA za jednokratnu upotrebu sa odvojenim tubusom sa drenužu želuca.



LMA Unique™

PLUS PACK
Idealan izbor za urgente centre i laka hitna pomoć kao sredstvo za reanimaciju kada je intubacija nemoguća.



LMA Fastrach™

Sredstvo izbora za situaciju "nemoguća intubacija - nemoguća ventilacija".



LMA Rescue™

Airway Management System
Jednostavan i ekonomski isplativ komplet sa primenu u hitnim slučajevima sadrži:
LMA Fastrach Single Use™,
LMA Unique™ Plus pack i
LMA Fastrach™ ET Tube Single Use.

LMA™
Better by Design



LMA Classic™

Originalna, opšta upotreba za obezbeđivanje disajnog puta za rutinske anestezije



LMA ProSeal™

Isovršeni oblik opšteg tipa LMA za rutinske anestezije. Dizajnirana da obezbedi gastrični drenužu sa odvojenim tubusom za respiratorni i digestivni trakt, poboljšano zaptivanje.



LMA Fastrach™

Dizajnirana za upotrebu kod predviđenog ili nepredviđenog teškog disajnog puta. Može se koristiti alternativno ili da olakša intubaciju tokom "na slepo"



LMA Flexible™

Flexibilna LMA dizajnirana za upotrebu u hiruriji glave, vrata i izvan dupke



LMA CTrach™

Danas je obezbeđivanje teškog disajnog puta sigurnije, brže i uspešnije nego ikada ranije



SUB-TENON'S BLOCK PERFORMED BY ANAESTHETIC TECHNICIANS – NEW ROLE DEVELOPMENT

Jagdish Prajapati, Nikac Tomanovic
East Kent Hospitals University Trust, Canterbury, UK.

There has been a dramatic change in anaesthetic practice for ophthalmic surgery over the last twenty years. The use of local anaesthesia (LA) has risen sharply and it can be said that LA is the anaesthetic of choice nowadays. Changes in surgical technique (the use of sound waves to destroy the cataract) as well as the introduction of new anaesthetic techniques enabled anaesthetists and more recently technicians to be involved, and even take over performance of local anaesthesia in eye surgery.

For many years the traditional block used for ophthalmic surgery was the retrobulbar block, this involves LA being placed deep within the orbit of the eye, using a long needle. By definition, this was a risky procedure and led to the introduction of peribulbar block as a safe alternative (Hamilton 1995). This new technique involves a shorter needle, the tip of which remains in the peribulbar space, meaning that the optic nerve, as well as ophthalmic artery and vein are protected.

Just as the peribulbar block evolved due to the high risk of complications of the retrobulbar, so the rapid rise in the use of sub-Tenon's anaesthesia has overtaken the use of sharp needle (peribulbar and retrobulbar) blocks.

Sub-Tenon's anaesthesia is a new method of direct infiltration of local anaesthetic into sub-Tenon's space using a blunt cannula. This new technique was introduced because of continuous concerns over the rare but serious complications of sharp needle eye bulb perforation. Sub-Tenon's block avoids blind sharp needle penetration into space of the orbit.

The technique involves instilling some local anaesthetic drops to numb the surface of the eye, followed by the insertion of an eye speculum to hold the eye lids open. A small incision is made through the conjunctiva and Tenon's capsule into the inferonasal quadrant of the eye. A blunt, curved 19 Gauge 25mm sub-Tenon's cannula is advanced and 3-5 ml of the local anaesthetic is delivered posterior to the equator of the globe.

Sub-Tenon's anaesthesia is a simple, easy to teach method. A small volume of local

anaesthetic provides excellent anaesthesia, akinesia and reliable eyelid block.

The joint committee of Royal College of Ophthalmologists and Royal College of Anaesthetists produced guidelines in 1993 that stated that 'an anaesthetist should be present in order to give resuscitation, should it be required, and to arrange for the monitoring of the patients general condition throughout the operation. The anaesthetist would also be responsible for advising where appropriate on whether or not a particular patient would benefit most from local or general anaesthesia, prescribing sedation if thought necessary, giving the local anaesthetic block and providing intravenous access, and supervising the patient's postoperative recovery'.

By 2001 it had been decided to update the joint College guidelines to take into account the considerable experience gained by staff and the changes in the usage of different local anaesthesia techniques. The latest joint College guidelines support the concept that there is no need for an anaesthetist to be present if the surgery is being done under topical or sub-Tenon's block without sedation. Nurses, technicians and others may be trained to administer topical, sub-conjunctival or sub-Tenon's anaesthesia. In some centres, nurses/ODPs (Operating Department Practitioner) have been trained to administer sub-Tenon's blocks, but the administration by these professionals of peribulbar injection is not recommended.

We are proud that Kent & Canterbury University Hospital is amongst the first in the United Kingdom to adopt this method of practice, for anaesthetic technicians to be trained to administer sub-Tenon's anaesthesia. To be successful in this role, individuals require certain personal specifications, namely experience, education, professional maturity and lateral thinking. This inevitably results in a challenging of the traditional barriers between healthcare professionals. In the new extended role, the ODP/theatre practitioner must ensure that ones practice has been formulated such that there has been appropriate training in order to achieve a



level of competence adequate for the area of practice.

A growing number of clinical duties previously performed by doctors are now undertaken by anaesthetic technicians (ODP's). The standard of care expected from practice nurses must be that which is associated with the role and not with the person carrying it out. Thus, in areas of work previously carried out by doctors, the standard of care required must be equivalent to that of a doctor. As soon as one is signed-off for reaching the required level of competence, one is deemed to have the knowledge base required for completing the task. Inexperience is no defence in law, because one should not be signed-off until completely confident to undertake the task and therefore one would be judged alongside an anaesthetist who would normally undertake the role. Employers have a responsibility to ensure that the person in the position is entirely competent and has received the relevant training and, as such, employers may be directly liable if staff are placed in situations in which they are not competent to function.

REFERENCE

1. Desai P., Reidy A., Minassian D.C.: Profile of patients presenting for cataract surgery: National Data Collection., Br. J. Ophthalmol. 1999; 83: 893-896.
2. Eke T., Thompson J.R.: The National Survey of Local Anaesthesia for Ocular Surgery. I. Survey Methodology and Current Practice., Eye 1999a; 13: 189-195
3. Stevens J.D.: A new anaesthesia technique for cataract extraction by one quadrant sub-Tenon's infiltration. Br. J. Ophthalmol. 1992; 76: 670-674.
4. Kumar C.M.: How to do a sub-Tenon's block. CPD Anaesthesia. 2001; 3(2): 56-61.
5. Rubin A.: The role of the anaesthetist in cataract surgery under local anaesthesia. Ophthalmic Anaesthesia News, Issue 12, Aug 2005.
6. Local anaesthesia for intraocular surgery. London: Royal College of Ophthalmologists and Royal College of Anaesthetists 2001.



SUB-TENON'S BLOK ANESTEZIJA IZBORA ZA OPERACIJE PREDNJEG SEGMENTA OKA

Nikac Tomanović, Jagdish Prajapati

Kent & Canterbury Hospital, East Kent Hospitals University NHS Foundation Trust, Canterbury, UK

UVOD

Operacije prednjeg segmenta oka najčešće su operacije u oftalmologiji. Operacije katarakte su najčešće elektivne operacije uopšte u hirurgiji i samo u Velikoj Britaniji 2007 godine urađeno je više od 368 000 operacija (1).

U poslednjih 20-ak god. svedoci smo dramatičnih promena u anesteziološkoj praksi u očnoj hirurgiji u svetu. Udeo lokalne anestezije (LA) je porastao sa 20% 1991. na 75% 1996 i 86% 1997 (2, 3). Danas se praktično sve operacije prednjeg segmenta oka, osim onih gde postoje kontraindikacije, izvode u lokalnoj anesteziji. U isto vreme korišćenje sedacije je drastično smanjeno tako da se izuzetno retko koristi. Do ovih promena je došlo usavršavanjem hirurških i anestezioloških tehnika što je omogućilo da se anesteziolozi prvo uključe a zatim i potpuno preuzmu izvođenje lokalne anestezije u očnoj hirurgiji.

Indikacije i kontraindikacije

Lokalna anestezija je anestezija izbora u očnoj hirurgiji, ukoliko nema kontraindikacija a to su:

1. Pacijent koji odbija LA,
2. Dementan i konfuzan pacijent koji ne može da saradjuje i prati instrukcije,
3. Pacijent sa nekontrolisanim tremorom,
4. Pacijent koji ne može da leži na ravnom (uglavnom teški srčani i plućni bolesnici - na kiseoniku),
5. Mladji pacijenti (traumatska katarakta n.pr.),
6. Pacijenti sa prethodnim alergijskim reakcijama ili komplikacijama LA – veoma retko.

Preoperativna priprema

Pacijenti se pripremaju kao i za opštu anesteziju, što znači da svako prateće obolenje treba da bude pod kontrolom. Na dan operacije izmeri se puls, arterijski pritisak, prekontroliše šećer kod dijabetičara kao i koagulacioni status

pacijenata na antikoagulantnoj terapiji. Premedikacija i sedacija se izuzetno retko koriste.

Tehnike lokalne anestezije

Tehnike lokalne anestezije koje su danas u upotrebi su:

- a) Topikalna
- b) Subkonjunktivalna
- c) Retrobulbarna
- d) Peribulbarna
- e) Sub-Tenon – anestezija izbora

Topikalna i subkonjunktivalna anestezija

Neakinetičke metode lokalne anestezije uvedene su 1988 u USA i Velikoj Britaniji.

Retrobulbarna anestezija

Akinetička metoda plasiranjem igle dužine 38 mm inferotemporalno čime se dobija solidna analgezija i akinezija. Metoda je uglavnom napuštena zbog čestih ozbiljnih komplikacija (retrobulbarni hematoma, oštećenje optičkog živca, perforacija očnog bulbusa)

Peribulbarna anestezija

Peribulbarna tehnika uvedena je 1986 kao sigurnija alternativa retrobulbarnom bloku (8). Blok se zove peribulbarni zato što vrh igle ostaje van mišićnog konusa (u peribulbarnom a ne retrobulbarnom prostoru), ali lokalni anestetik difunduje u retrobulbarni prostor. Komplikacije su mnogo redje i praktično jedina ozbiljnija, ali potencijalno katastrofalna komplikacija je perforacija bulbusa.

Sub -Tenon anestezija

Sub-Tenon anestezija je nova metoda direktnog ubrizgavanja lokalnog anestetika u sub-



Tenon prostor korišćenjem tupe kanile. Tehnika otvaranja subtenonovog prostora poznata je već stotinak godina, dugo je bila zapostavljena, da bi ponovo ušla u kliničku praksu 1992 (9). Uvedena je kao izraz želje da se nađe alternativa retrobulbarnom pa i peribulbarnom bloku kao metodama anestezije vezanim sa retkom, ali teškom komplikacijom, perforacijom bulbusa. Ovo je metoda kojom se izbegava plasiranje oštre igle 'na slepo' u prostor orbite tako da je mogućnost perforacije bulbusa praktično isključena. Sub-Tenon anestezija, iako relativno nova metoda, veoma brzo dobija na popularnosti. 1997 god. svega 7% svih očnih klinika praktikovala je izvođenje ove tehnike, dok se danas sub-Tenon anestezija primenjuje u 51% bolnica (podaci iz 2001 – UKISCRS).

Anatomska razmatranja

Tenonova kapsula (fascija očne jabučice) je relativno čvrsta fibroelastična membrana koja obavlja očnu jabučicu i ekstraokularne mišiće, a pruža se od limbusa kornee do optičkog nerva (10). Svi ekstraokularni mišići pre pripajanja na skleru perforiraju Tenonovu kapsulu. Četiri rektusa se pripajaju neposredno iza ekvatora očne jabučice. Deo Tenonove kapsule ispred ovih pripoja, anteriorni deo, odvojen je od sklere intermuskularnim septumom koji se pruža između ekstraokularnih mišića. Posteriorni deo Tenonove kapsule je tanji i čvrsto priljubljen uz skleru.

Difuzijom lokalnog anestetika, prekidaju se senzitivni impulsi blokadom kratkih cilijarnih nerava na njihovom putu kroz Tenonovu kapsulu do očne jabučice.

Akinezija se postiže direktnom blokadom nervnih vlakana koji inervišu očne mišiće. Refleks treptanja, blokiran je direktnim širenjem lokalnog anestetika prema orbikularnom mišiću, tako da dodatna blokada nervusa facijalisa nije potrebna.

Materijal

1. Očni spekulum (Barraquers)
2. Bezubi forceps (Moorfields)
3. Makazice zatupljenog vrha (Westcott – spring)
4. Sub-Tenon kanila (19 G)
5. Špric 5ml

6. Topikalni anestetik (0.4% Benoksinat ili 1% Ametokain)
7. Lokalni anestetik (2% Lignokain i 0.5% Bupivakain 50:50)
8. Hyaluronidaza (15-150 IU/ml)
9. 5% Jodni rastvor

Metoda

- Procedura se izvodi pod sterilnim uslovima.
- Topikalna anestezija se aplikuje na inferonazalni deo konjunktive.
- Oko se očisti sa nekoliko kapi 5% vodenog rastvora joda.
- Očni spekulum se nežno plasira da drži očne kapke razmaknute.
- Konjunktiva i Tenonova kapsula se čvrsto povuku nagore forcepsom na oko 5 mm od limbusa kornee inferonazalno.
- Makazicama se napravi mali prorez na konjunktivi i Tenonovoj kapsuli.
- Zatvorenim makazicama se tupo preparira i proširi postojeći otvor tako da se napravi mali tunel u subtenon prostoru.
- Gledajući kroz otvor, belilo sklere bi trebalo da je vidljivo.
- Zakrivljena, tupa, subtenon kanila spojena sa špricom od 5 ml napunjenim mešavinom lokalnog anestetika ubaci se u otvoreni subtenon prostor. Iglom se napreduje dok se ne naidje na otpor, pri nailasku na posteriorni deo Tenonove kapsule koji je čvrsto priljubljen uz skleru.
- Lokalni anestetik se polako ubrizgava i hidrodisekcijom se lokalni anestetik širi u ostala tri kvadranta vidljivog dela očne jabučice kao i posteriorno i u očne kapke.
- Inferonazalni kvadrant je izabran da se ne bi interferiralo sa hirurškim operativnim poljem.
- Koristi se volumen od 3-5 ml lokalnog anestetika.
- Anestezija nastupa u roku od 1-2 min.

Tehnika izvođenja sub-Tenon bloka je relativno jednostavna i brza, lako se savladava i pruža, uglavnom, odličnu anesteziju i akineziju. Izbegavanjem korišćenja oštre igle rizik od perforacije ocnog bulbusa, akcidentalne injekcije u subarahnoidalni prostor ili intravaskularnog



ubrizgavanja lokalnog anestetika je praktično eliminisan.

Oftalmološka i anesteziološka asocijacija Velike Britanije (Royal College of Ophthalmologists, Royal College of Anaesthetists) publikovale su 2001 godine zajedničku brošuru preporuka u kojoj se zaključuje da dobro obučeni medicinski tehničari mogu samostalno da izvode sub-Tenon blok ukoliko u bolnici postoji dežurni anesteziolog. Postoji generalna tendencija u Velikoj Britaniji da neke hirurške i anesteziološke procedure postanu delokrug rada obučenog višeg medicinskog osoblja.

Neželjeni efekti

Prave komplikacije subtenon anestezije nisu opisane.

Neželjeni efekti su:

- Subkonjunktivalno krvarenje koje se opisuje i kao 'neizbežno' a može se umanjiti pažljivim sečenjem ,odnosno izbegavanjem vidljivih krvnih sudova.
- Subkonjunktivalna injekcija - hemoza koja se takodje veoma često javlja, posledica je anteriornog ubrizgavanja lokalnog anestetika i brzo se resorbuje pogotovu ako se koristi hyaluronidaza i aplikuje pritisak na očnu jabučicu.

ZAKLJUČAK

Katarakte su najčešće elektivne operacije u hirurgiji. Anestezija i hirurgija se izvodi u ambulantnim uslovima - pacijenti se primaju, operišu i otpuštaju iz bolnice u roku od nekoliko sati.

Obzirom da su u pitanju stariji pacijenti, ovom jednostavnom i efikasnom organizacijom minimalno se remeti njihov ustaljeni ritam. Značajno se smanjuje mogućnost komplikacija vezanih za dugotrajno ležanje u bolničkim uslovima.

Dobro obučeni medicinski tehničari mogu da izvode samostalno sub-Tenon blok.

Sve ovo doprinosi ogromnoj uštedi za zdravstvenu službu.

LITERATURA

1. Desai P., Reidy A., Minassian D.C.: Profile of patients presenting for cataract surgery: National Data Collection., Br. J. Ophthalmol. 1999; 83: 893-896.
2. Hodgkins P.R. et. al.: Current practice of cataract extraction and anaesthesia. Br. J. Ophthalmol. 1992; 76: 323-326.
3. Eke T., Thompson J.R.: The National Survey of Local Anaesthesia for Ocular Surgery. I. Survey Methodology and Current Practice., Eye 1999a; 13: 189-195.
4. Dutton J.J.: Clinical and Surgical Orbital Anatomy, Philadelphia, W.B. Saunders, 1994.
5. Donaxas M.T., Anderson R.L.: Clinical Orbital Anatomy, Baltimore, M.D., Williams and Wilkins., 1984, p 232.
6. Koorneef L., Grizzard W.S.: Ophthalmic Anesthesia, in Reinecke RD(ed): Ophthalmology Annual, New York, N.Y., Raven Press, 1989, 265-294.
7. Hamilton R.C.: Regional Anaesthesia of the Eye, Curr. Opin. Anaesthesiol. 3: 740-744, 1990.
8. Davis D.B., Mandel D.M.: Posterior Peribulbar Anaesthesia: An alternative to retrobulbar anaesthesia. Journal of Cataract & Refractive Surgery, 1986 ; 12: 182-4.
9. Stevens J.D.: A new anaesthesia technique for cataract extraction by one quadrant sub-Tenon's infiltration. Br. J. Ophthalmol. 1992; 76: 670-674.
10. Kumar C.M.: How to do a sub-Tenon's block. CPD Anaesthesia. 2001; 3(2): 56-61.

**SUB-TENON'S ANAESTHESIA – NEW ROLE FOR ANAESTHETIC TECHNICIAN**

Nikac Tomanovic, Jagdish Prajapati

Kent & Canterbury Hospital, East Kent Hospitals University NHS Foundation Trust
Canterbury, Kent, United Kingdom

Anaesthetic practice in cataract surgery and those involved in the provision of this service have experienced major changes in the last ten years, including the pressure to perform an increased number of procedures as day cases. Some of these changes will be discussed, along with the legal, ethical and professional implications of seeking to extend one's role through acquiring their competency of using a Sub-tenon's injection technique to anaesthetise the eye prior to surgery (Studholme, 2008).

Role expansion of the ODP/ anaesthetic technician within the theatre environment has now been well established. A growing number of clinical duties previously performed by doctors such as intravenous cannulation and Sub-Tenon's injection are now undertaken by enhancing the role of ODPs and technicians. This raises the issue of accountability and causes concern for those considering or embarking upon a new role. As a health care professional one has a duty of care not to cause foreseeable harm to others whether patients or colleagues, and the individual is personally accountable for his/her acts or omissions. However the degree to which one may be held accountable depends on current knowledge base or experience (Younger, 2008). As soon as one is signed off for completing a competency, one is deemed to have the knowledge base required for completing the task, inexperience is no defence in law, because one should not be signed off until completely confident to undertake the task and therefore one would be judged alongside anaesthetist who normally undertake the role.

Theatre perioperative practitioners and ODPs are not exempt from accountability because they are acting on the instructions of anaesthetists or surgeons and should be encouraged to challenge decisions and requests if those instructions seem improper. Each practitioner must strive to achieve and maintain high standards of care and must be able to justify any actions or emissions in the course of professional practise (Hughes, 2002).

The role of the anaesthetist in cataract surgery carried out under local anaesthesia is often questioned, up to 1990 most ophthalmic procedures were performed under general anaesthesia, and local anaesthesia was used only for those cases where the anaesthetist deemed the patient unfit for general anaesthetic (Rubin, 2005). These cases were put at the end of list so the anaesthetist could be relieved to attend other pressing matters. It was apparent that by 1990 the majority of cataract surgery in the United States Of America (U.S.A) and other countries was being performed under local anaesthetic (LA), and it was suggested that we in the United Kingdom (U.K) might consider following their example, as 80% of the patients were 70 years of age or over and 57% had pre-existing medical problems, LA seemed to be practical answer (Rubin, 2005).

In the ophthalmic unit at a Kent & Canterbury University Hospital 2130 cataracts were performed in 2008 of which 2000(94%) were performed under local anaesthetics using peribulbar, Sub-Tenon's and topical anaesthesia. This widespread use of LA and changes in surgical technique of minimal invasion and use of sound waves to destroy the cataract resulted in modifications of block techniques. The rapid rise in the use of topical and Sub-Tenon's anaesthesia have overtaken the use of sharp needle peribulbar blocks. Local anaesthetic is currently the preferred method of anaesthesia for cataract surgery in the UK (Royal college of Anaesthetists and Royal College of Ophthalmologists, 2001). The latest joint College guidelines support the concept that there is no need for an anaesthetist to be present if the surgery is being performed under topical or Sub-Tenon's anaesthesia without sedation. However it remains an essential recommendation that all theatre practitioners have regular Basic Life Support, and there should be one person with Advanced Life support or Immediate Life Support qualification which the student's unit does have. The latest cataract guidelines of the Royal College of Ophthalmologists (RCO) state;



“Nurses, technicians and others may be trained to administer topical, or sub- conjunctival or Sub-Tenon’s anaesthesia. In some centres, nurses/ODPs have been trained to administer Sub-Tenon’s blocks, but the administration by these professionals of peribulbar injection is not recommended” (Rubin, 2005. p.10).

To use this form of anaesthesia within a dedicated unit such as the Ophthalmology Unit at Kent & Canterbury Hospital will be keen to reduce their budgets, as the RCO and Royal College Of Anaesthetists(RCA)state that if a peribulbar technique is to be used, there should be an anaesthetist present but not for Sub-Tenon’s block (Studhome, (2008). The number of anaesthetists skilled in administering peribulbar anaesthesia is diminishing as the effectiveness of the block was dependant of that skill. LA using peribulbar blocks, Sub-Tenon’s and topical anaesthetic are all techniques currently in use at the student’s ophthalmic suite. Peribulbar block is performed following topical LA, and with the patient looking straight ahead, the LA is injected inferotemporally using a 16mm 25g needle. The tip of the needle remains in the peribulbar space, so the optic nerve is protected. Following aspiration, to ensure that the needle is not within a blood vessel, 5 to 10mls of LA is injected. Light pressure is applied to the eye, and muscle movements can be tested after 5 minutes Peribulbar anaesthesia should be administered when an anaesthetist is present because of possible systemic complications. LA anaesthesia using Sub-Tenon’s technique where a speculum is inserted to hold the eye lids open after instilling some LA drops into the pocket of the lower eyelid to numb the surface of the eye, the conjunctiva and Tenon’s capsule are incised. A blunt, curved 19g 25mm Sub-Tenon’s cannula is advanced into the inferonasal quadrant of the eye and 3 to 5mls of the LA is delivered posterior to the equator of the globe. The Sub-Tenon’s technique can be used without an anaesthetist being present. Topical anaesthesia is where in conjunction with intracameral anaesthesia local anaesthetic is given as part of the procedure of cataract surgery in the front chamber of the eye, again after instilling local anaesthetic drops, numbing the surface of the eye (Studholme, 2008).

Expanded or extended roles came about at the same time that hours of junior doctors were

reduced by a new deal, under the European Working Time Directive in 1991, which made it possible for practitioners to take on tasks generally understood to be medical. Examples of these in the operating theatres are catheterisation, cannulation, intubation, draping and prepping, camera holding, retraction of organ or tissue or manipulation of joints, a competency based system applies to all the roles. ODPs and theatre practitioners working closely with anaesthetists have and will continue to see new, improved and safe techniques being evolved on a variety of clinical practises for example measuring stroke volume through an arterial line. To achieve success in the role development in the role of Sub-Tenon’s injections or any other roles, there are certain person specifications such as experience, education, professional maturity and to think outside the box. This inevitably results in a challenging of the traditional barriers between healthcare professionals including consultant surgeons (Davis 2006).

In an environment of continous changes and new practices within the National Health Service, one can be easily questioned about ones extended role by the service user. For example in the ophthalmology unit in our hospital the service user would expect a Sub Tenon’s injection prior to cataract surgery to be administered by a doctor. In the new extended role, the ODP/anaesthetic technician must ensure that one’s practice has been formulated so there has been appropriate training and competences completed relevant to the area of practice.

There is also a general assumption by the service users of the unit, who are mainly between the ages of 50 and 90 that when one is dressed in theatre scrub suits that one is a medical practitioner and they will trust in all that is said or done to them. Clarification needs to be made when communicating with these patients, that one is a member of a team that delivers a holistic service in which, ODPs/theatre practitioners have been fully trained in administering Sub-Tenon’s injection. As a registered health care professional one has a responsibility for making sure that one promotes and protects the best interests of service users (HPC: 1, 2008). It is in the plan for others within the department to also gain the extended role of sub-tenon’s injection practitioners to enhance the service offered by the unit and the trust.



In conclusion then the new role of the Sub-Tenon's injection practitioner has met with enthusiasm from the clinical director and several other consultant anaesthetists as it is one area of responsibility they can safely relinquish unless there is a general anaesthetic involved.

Those seeking to extend their roles should ensure as part of their duty of care that they are working within the parameters of their job description, which will need to be amended to include additional roles/competencies such as Sub-Tenon's injections. If one works outside one's job description and one is not deemed competent to perform Sub-Tenon's injections, this will fall outside of employer's accountability and vicarious liability (Younger, 2008). Hence an employer is responsible for one's actions and will in almost in all instances, accept responsibility for compensating an injured patient, should negligence be proved.

REFERENCE LIST

1. Cox C, (2006), "Am I covered?" RCN Magazine, autumn, pp18-19.
2. Davis J, (2006), "setting up the role of the emergency surgical nurse practitioner", Journal of Perioperative Practice, October, vol 16, no 3, pp144-147.
3. Fullbrook S, (2005) "The duty of care an update", British Journal of Perioperative Practice, vol 15, No2, pp78-83.
4. Health Profession Council, (July 2008), Standards of Conduct, Performance and Ethics. London.
5. Hughes S, (2002), "Law and professional practice 2", British Journal of Perioperative Practice, vol 12, No 3, pp 94-101.
6. Modi N. Shaw S. Allman K. Simcock P, (2008) "Local anaesthetic during cataract surgery", Journal of Perioperative Practice, vol18, No 1, pp28-33.
7. Nursing and midwifery Council. (2008), The code : standards of Conduct, performance and ethics, London.
8. Rubin A, (2005), "The role of the anaesthetist in cataract surgery under local anaesthesia", Ophthalmic Anaesthesia News, Issue 12, pp 9-11.
9. Studholme S, (2008) "A comparison of methods of local anaesthesia used for cataract extraction", Journal of Perioperative practice, vol 18, No 1, pp 17-20.
10. Younger J, (2008) "Accountability and new ways of working", The Clinical Services Journal" October, pp17-19.



POSTINTUBACIONI GRANULOM LARINKSA

Milan Vasić, Petar Vasiljević, Dušanka Milošević, Sandra Stojanović,
Vladimir Šaranović, Mirjana Petrović-Lazić
Kliničko Bolnički Centar Zvezdara, ORL klinika, Beograd

SAŽETAK

Kontaktni granulom je benigni izraštaj glasnice koji se obično nalazi u posteriornom glotisu tj u predelu procesusa vokalisa aritenoidne hrskavice. Entitet je prvi opisao Jackson, 1928 godine. Kontaktni granulom nastaje kao rezultat reparativnih procesa ulceracije. Klinički pregled je dovoljan za dijagnozu ali treba biti oprezan i diferencijalnodijagnostički isključiti karcinom. Premaligne ili maligne lezije nisu zabeležene u granulomu. Po etiološkim faktorima deli se na: kontakti granulom (hiperfunkcionalni), granulom uzrokovan gastroezofagealnim refluksom (hiperacidni), post-intubacioni granulom. Granulom kome nije mogla da se odredi etiologija definiše se kao idiopatski.

Na ORL klinici KBC "Zvezdara" u periodu od aprila 2002 do jula 2007 god. je lečeno 27 pacijenata. Pacijenti su lečeni etiološki uz poštovanje principa multikauzalnosti. Konzervativnom terapijom je lečeno osamnaest pacijenata a kod devet (33%) je urađena operacija. Operisana su tri pacijenta sa postintubacionim granulomom, dva bolesnika sa kancerofobijom kao i 4 bolesnika kod kojih je konzervativna terapija bila neuspešna. Recidive bolesti smo imali kod 2/18 bolesnika (11%) koji su lečeni konzervativno i kod 1/9 (11%) operisanog pacijenta.

Hiruška terapija znatno smanjuje vreme potrebno za uspostavljanje kvalitetnog glasa što može biti od velikog značaja kod glasovnih profesionalaca, a uz primenu dodatne konzervativne terapije znatno se smanjuje broj recidiva oboljenja. Ovo se posebno odnosi na postintubacione granulome.

Ključne reči: larinks, granulom, endotrahealna intubacija

ABSTRACT

Contact granuloma is benign vocal chord lesion, usually found in posterior glottis, in the region of arythenoid cartilage's processus vocalis. This entity was first reported by Jackson in 1928. Granuloma follows vocal contact ulcers and its reparative processes. Clinical examination is sufficient for the diagnose. Carcinoma should be taken into consideration in differential diagnostics. Premalignant and malignant lesions have not been found in granulomas. Etiological system offers a classification of granulomas as hyperfunctional, hyperacidic, postintubational. Vocal granulomas etiologically not clarified are being considered as idiopathic.

In ENT Clinic, Clinical Center "Zvezdara", 27 patients were treated from April 2002. to July 2007.. Patients were treated etiologically with multicausal orientation. Conservative therapy only was applied in 18 patients, while 9 (33%) were treated surgically. Surgeries were performed on 3 patients with postintubational granuloma, 2 with cancerophobia and 4

with conservative therapy failure. Recidives occurred with 2/18 patients (11%) conservatively treated and 1/9 (11%) surgically treated.

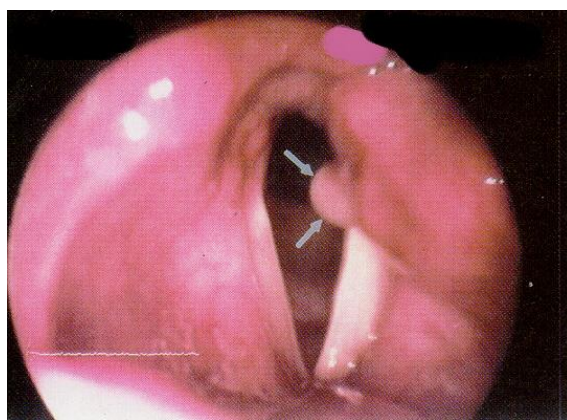
Surgical treatment significantly reduced the time needed for quality vocal reeducation. This could be of high importance for vocal professionals, and with adequate additional conservative therapy number of recidives is being reduced. This is specially applicable in cases of postintubational granulomas.

Key words: larynx, granuloma, endotracheal intubation

UVOD

Kontaktni granulom je benigni izraštaj glasnice koji se obično nalazi u posteriornom glotisu tj u predelu procesusa vokalisa aritenoidne hrskavice. Entitet je prvi opisao Jackson, 1928 godine¹ kao ulceraciju posteriornog dela glasnice, jedne ili obe; i promenu je nazvao kontaktni ulcer. Jakson & Jackson 1935² opisuju mehanizam nastanka ove lezije sistemom "čekić i nakovanj" kada jedan vokalni procesus udara u drugi tokom

agesivne fonacije. Vokalni granulom nastaje kao rezultat reparativnih procesa ulceracije. Zbog povrede mukoperihonrijuma vokalnog procesusa aritenoidne hrskavice najčešće nastaje ulceracije. U fazi ozdravljenja razvija se na periferiji ulceracije granulaciono tkivo od fibroblasta, miofibroblasta, leukocita i kolagena, kao i novoformiranih malih krvnih sudova. Ukoliko iz nekog razloga, na primer zbog lokalne inflamacije, ne dođe do rezolucije granulacionog tkiva nastaje granulom. (Slika 1)



Slika 1: Granulom laringsa

U upotrebi su brojni nazivi za ovu promenu a svaki od ovih naziva ima svoje objašnjenje i opravdanje (Tabela 1).

Većina autora ulcer i granulom glasnice smatra za dve faze istog procesa mada i danas neki autori smatraju da se radi o dva različita entiteta.³⁻⁶

Dijagnostifikuje se kao izraslina u predelu vokalnog procesusa, blede sive do tamno crvene boje, veličine 2 do 15 mm, sesilni, polipoidni ili ulcerisan. Klinički nalaz je obično dovoljan za dijagnozu.

Tabela 1: Nazivi koji se koriste za kontaktni granulom

Contact ulcer
Contact ulcer of the larynx
Contact granuloma
Contact ulcer granuloma
Arytenoid granuloma
Vocal process granuloma
Laryngeal granuloma
Idiopathic vocal process granuloma
Pyogenic granuloma consistent with contact ulcer
Ulcerogranuloma
Vocal cord granuloma
Vocal fold granuloma
Peptic granuloma
Peptic ulcers of the larynx
Contact pachydermia
Posterior hypertrophic pachydermia

Diferencijalno dijagnostički dolaze u obzir retke specifične lezije posteriornog glotisa kao i planocelularni karcinom (Tabela 2)

Tabela 2: Diferencijalna dijagnoza kontaktnog granuloma.

Tuberculosis
Histoplasmosis
Coccidioidomycosis
Blastomycosis
Wegenerova granulomatoza
Scleroma (rhinoscleroma)
Syphilis
Lepra
Crohn-ova bolest
Carcinoma planocellulare (Squamous cell carcinoma)

Simptomi povezani sa granulomom su blagi i nespecifični. Najčešće se pominje blaga disfonija i vokalni zamor. Promene kvaliteta glasa nisu stalan znak jer mali granulomi ne remete okluziju membranoznog dela glasnica. Takođe se javlja osećaj stanog tela u grlu sa potrebom za

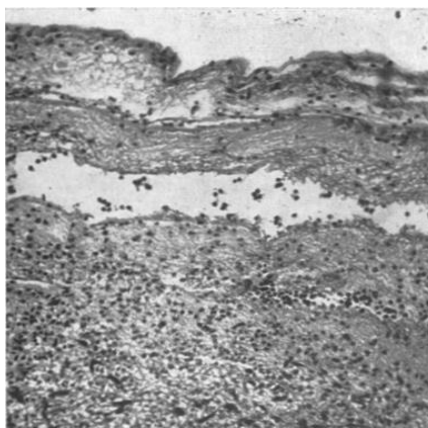
nakašljavanjem ili bol koji može da zrači u ipsilateralno uvo. Retki su veliki granulomi koji daju opstrukciju disanih puteva. McFerran i saradnici 1994⁴ godine daju ovakvu prisutnost simptoma (Tabela 3

Tabela 3: Simptomi kod 34 pacijenta sa granulomom.

Promuklost (91%)
Osećaj stranog tela ili neprijatnost (47%)
Dyspnea (18%)
Kašalj(12%)
Hemoptysis (6%)

Histološki sastoji se od nespecifičnog granulacionog tkiva i sa karakteristikama piogenog granuloma. Granulacije pokriva skvamozni epitel obično hiperplastični ali može

biti normalan epitel kao i epitel sa ulceracijama (Slika 2). Premaligne ili maligne lezije nisu zabeležene u granulomu⁷.



Slika 2: Epitel sa ulceracijama



Etiološki uzroci lezije sluznice vokalnog procesusa mogu biti mehanički i inflamatorni. Od mehaničkih uzroka najznačajniji su već opisani mehanizam čekića i nakovnja i trauma pri intubaciji a od inflamatornih refluks želudačne kiseline. Drugi inflamatorni faktori kao infekcija i

alergija pojavljuju se kao predisponirajući faktori koji uz već pomenute "maior" faktore indirektno učestvuju u nastanku granuloma glasnice.

Terapija se zasniva pre svega na lečenju osnovnog etiloškog faktora kao i pridodatih potencirajućih uzroka. (Tabela 4)

Tabela 4: Lečenje granuloma glasnice.

Vokalna terapija
Lečenje gastroezofagealnog refluksa
Hirurgije
Antibiotici
Kortikosteroidi
Zračna terapija
Botulinski toksin

Po etiologiji granulomi se dele na

1. Granulom uzrokovan vokalnom traumom (hiperfunktionalni)
2. Granulom uzrokovan gastroezofagealnim refluksom (hiperacidni)
3. Post-intubacioni granulom

Dok neki autori nastoje da sve granulome kalsifikuju unutar jedne od ove tri grupe, drugi smatraju da izvesnom broju granuloma ne može da se odredi etiološki uzrok i takve klasifikuju u idiopatske granulome^{4,8}.

Kod granuloma uvek treba misliti na dodatne faktore koji uz pomenute osnovne doprinose razvoju granuloma. Tako na primer nazogastična cev kod intubiranih pacijenata kompromituje gornji i donji ezofagealni sfinkter čime gastroezofagealni sadržaj lako dolazi u kontakt sa posteriornim glotisom.

Ova multikauzalnost u mnogome otežava terapiju granuloma i doprinosi njihovom recidivu

MATERIJAL I METODI

U radu su prikazani pacijenti koji su lečeni na ORL klinici KBC Zvezdara u periodu od aprila 2002 do jula 2007 god. Dijagnoza je postavljena standardnim ORL pregledom i videostroboskopskim pregledom a kod operisanih pacijenata potvrđena i patohistološki. U dijagnozi i praćenju korišćen je stroboskop EndoStrob DH Xion Medical sa optikom od 70°. Snimci su beleženi i analizirani na PC-u marke MCI na softveru Divas v1.0, firme Xion Medical.

Granulomi su klasifikovani prema ranije opisanoj podeli na hiperfunktionalni, hiperacidni, post-intubacioni i idiopatski.

Pacijenti su lečeni poštujući principe multikauzalnosti.

Svi pacijenti su podvrgnuti vokalnoj terapiji jer smatramo da se kod svih pacijenata zbog nepotpune okluzije glotis vremenom ravija hiperkinezija. Takođe, vokalna terapija se primenjuje i radi eliminisanja loših vokalnih navika.

Kod pacijenata sa anamnestičkim podacima ili postavljenom dijagnozom gastroezofagealnog refluksa ordinirani su omeprazol 20 mg ujutru i uveče ili ranitidin 150 mg takođe dva puta dnevno. Tim pacijentima dati su i saveti o higijensko-dijetetskom režimu.

Antirefluksna terapija primenjena je i kod svih pacijenata gde nisu mogli biti definisani etiloški uzroci odnosno koji imaju takozvani idiopatski glanulom.

Operativnom zahvatu su podvrgnuti pacijenti kod kojih konzervativna terapija nije dala poboljšanje kao i neki koji su insistirali na operaciji. Konzervativna terapija je nastavljena i postoperativno najmanje dva meseca.

Bolesnici su operisani "cold steel" u laringomikroskopskoj tehnici. Intraoperativno kod svakog bolesnika je u predeo operisanog vokalnog procesusa instiliran je metilprednizolon radi smanjenja inflamatorne reakcije. Postoperativno primenjen je protokol o vokalnim aktivnostima koji koristimo i kod operacije drugih benignih izraslina na glasilima: od njih je

zahtevana vokalna pošteta sa minimalnim vokalnim naporom, po mogućstvu i potpunim ćutanjem u toku dve nedelje i sa ograničenim vokalnim aktivnostima u narednjih mesec dana. Rad sa govornim terapeutom nastavljen je dve nedelje nakon operacije. Kontrola pacijenata obavljana je u toku terapije u mesečnim a po sanaciji procesa u tromesečnim intervalima.

Analiza glasa vršena je kompjuterskom analizom akustične structure vokalna pomoću programa Computer Speech Lab firme Kay Elemetrics. Od parametara, za potrebe ovog rada razmatrani su: parametri perturbacije frekvencije (apsolutni džiter- Jita i procentualni džiter- Jitt); parametri perturbacije amplitude (apsolutni šimer- ShdB i procentualni šimer- Shim) i parametri šuma (odnos šuma i harmonica tj. Noise-to-Harmonic Ratio- NHR). Ispitivanje glasa je vršeno snimanjem vokala "A" i njegovom analizom u realnom vremenu. Snimanje je urađeno prvi put po postavljenoj dijagnozi a pre započete terapije, drugo snimanje glasa je vršeno mesec dana nakon započete terapije a dalja snimanja su obavljanja mesečno do normalizacije glasa. Kod pacijenata koji su podvrgnuti operativnom zahvatu snimanje glasa je urađena i pre same operacije. Kao kontrolna grupa uzeta je grupa od 20 zdravih studenata stomatološkog fakulteta.

U analitičkoj statistici za procenu značnanosti razlike je korišćen t- test.

REZULTATI

U pomenutom petogodišnjem periodu na našoj klinici je lečeno 27 pacijenata sa dijagnozom kontaktnog granuloma larinksa. Među njima bilo je 22 muškarca i 5 žena starosti 25 do 52 godine. Prosek starosti iznosio je 39 godina.

Od ukupnog broja 7 granuloma je klasifikovano kao hiperkinetski, 8 kao hiperacidni, 3 granuloma su bili postintubacionog porekla a kod 9 (33%) nije mogao da se definiše etiološki faktor.

Jedan granulom je bio obostrano na vokalnim procesusima ostalih 26 je bilo jednostrano i to 16 na desnom a 10 na levom aritenoidu.

Osamnaest pacijenata je lečeno isključivo konzervativnom terapijom a kod devet (33%) je urađena operacija. Operisana su sva tri pacijenta sa postintubacionim granulomom dva bolesnika sa kancerofobijom kao i 4 bolesnika kod kojih je konzervativna terapija bila neuspešna. Bolesnici su praćeni u periodu od 2 do 4 godine. Recidive bolesti smo imali kod 2 bolesnika (11%) koji su lećeni konzervativno i kod jednog (11%) operisanog pacijenta.

Od tri pacijenta sa postintubacionim granulomom dva su bile žene a jedan muškarac. Dva granuloma su bila jednostrana a jedan bilateralan. Granulom je konstatovan posle 7 odnosno 11 meseci od operacije dok je jedna pacijentkinja imala nekoliko operativnih zahvata u periodu od dve godine pre pregleda a poslednja operacija je bila 6 meseci pre postavljanja dijagnoze. Kod dva od tri pacijenta pored vokalne primenjena je i terapija inhibitorima protonske pumpe i to mesec dana pre i dva meseca postoperativno. Recidiva granuloma nije bilo u periodu do 3 godine nakon operacije.

Analiza vokala pre terapije pokazuje sledeće vrednosti (Tabela 5). Analiza je vršena pre započete konzervativne terapije u grupi pacijenata koji su lećeni isključivo konzervativnom terapijom a pre operacije u grupi operisanih bolesnika.

Tabela 5: Vrednosti vokala "A" pre započete terapije

parametar	kontrolna grupa ($\bar{x}$)	operisani ($\bar{x}$)	konzervativno lećeni ($\bar{x}$)
Jita	19,792	208,000	194,057
Jitt	0,508	1,647	2,457
ShdB	0,166	0,825	0,807
Shim	1,888	9,483	7,056
NHR	0,111	0,153	0,212

Između grupe pacijenata lećenih konzervativnom terapijom i grupe operisanih pacijenata nije bilo statistički značajne razlike za sve posmatrane parametre ($p > 0,05$) što ukazuje na

homogenost te dve grupe. S druge strane razlika između sveke od ovih grupa u odnosu na kontrolnu grupu pokazuje visoku statističku



značajnost ($p < 0,01$) za sve parametar osim NHR gde nema statistički značajne razlike ($p > 0,05$).

Kod operisanih bolesnika, mesec dana nakon operacije, na prvom kontrolnom snimanju

glasa vrednosti analiziranih parametara se statistički ne razlikuju značajno od normalnih vrednosti ($p > 0,05$ za sve parametre) (Tabela 6).

Tabela 6: Vrednosti vokala "A" kod operisanih pacijenata nakon mesec dana od operacije

parametar	kontrolna grupa ($\bar{x}$)	operisani ($\bar{x}$)	p
Jita	19,792	17,492	$>0,05$
Jitt	0,508	0,214	$>0,05$
ShdB	0,166	0,259	$>0,05$
Shim	1,888	3,008	$>0,05$
NHR	0,111	0,101	$>0,05$

Kod grupe lečene konzervativnom terapijom rezultati posle mesec dana ostaju u vrednostima statističke značajnosti u poređenju sa kontrolnim grupom. Vrednosti parametara kod te grupe nisu više statistički značajne pri merenju 4 meseca nakon započete konzervativne terapije (Tabela 7).

Tabela 7: Vrednosti vokala "A" kod konzervativno lečenih pacijenata

parametar	kontrolna grupa($\bar{x}$)	posle 1 meseca		posle 4 meseca	
		p		$\bar{x}$	p
Jita	19,792	125,744	$<0,01$	21,658	$>0,05$
Jitt	0,508	2,234	$<0,01$	0,609	$>0,05$
ShdB	0,166	0,448	$<0,05$	0,233	$>0,05$
Shim	1,888	5,087	$<0,05$	2,580	$>0,05$
NHR	0,111	0,179	$>0,05$	0,123	$>0,05$

DISKUSIJA

Prvu orotrahealnu intubaciju izveo je 1878 britanski hirurg William McEwen. U klinicku praksu uveo je Elsberb 1910 godine a značajno unapređenje donose za vreme Prvog Svetskog Rata Magill i Macintosh⁹. Prvi izveštaj o postintubacionom granulomu objavio je Clausen 1932 godine¹⁰. New and Devine objavljuju 1949 godine svojih 9 slucajeva postintubacionog granuloma pa se ukupan broj to tada objavljenih slucajeva penje na 18¹¹. Godine 1969 uradjena je autopsijska studija na 99 prethodno intubiranih pacijenata¹². Tada je ustanovljena veza lezije sluznice posteriornog glotisa sa duzinom trajanja intubacije. Vec kod pacijenata koji su intubirani manje od 1 sat nadjena je povreda bazalne membrane u predelu vokalnog procesusa aritenoida. Ova regija je jako podložna povredama zbog tankog, fragilnog mukoperihondriuma koji se nalazi preko slabo vaskularizovanog

kartilaginoznog vokalnog procesusa¹³. Dužina trajanja intubacije tj kontaktna tubusa sa aritenoidnom hrskavicom u diketnoj je proporciji sa učestalošću nastanka granuloma, pa se kontakti granulom najčešće sreće kod pacijenta koji su bili višednevno intubirani na intenzivnoj nezi; ali nisu retki slucajevi nastanka ni posle uobičajnih hiruških procedura^{14,15} pa čak ni posle kratkotrajnih operacija kao što je laringomiktroskopsija¹⁶. Incidenca granuloma prema literaturnim podacima kreće se od 1: 800 do 1: 20 000 intubacija¹⁷.

Santos i saradnici 1994 god, kod pacijenata intubiranih od 1 do 9 dana našli su eritem u 94% a ulceraciju u 74%, granulom je nađen u 44% pacijenata. Granulom se najčešće razvija četiri nedelje po intubaciji a rezolucija granuloma nastaje 8 do 14 nedelja nakon intubacije¹⁸. Ova studija ukazuje da je postintubaioni granulom znatno češći nego što se to misli ali kako najveći broj njih spontano

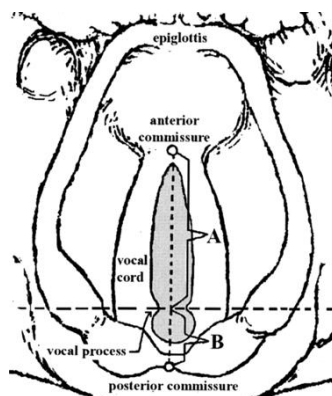
zaceľjuje bez ovakve studije oni prolaze neprepoznati.

Dodatni faktori koji utiĉu na pojavu granuloma su veliĉina tubusa, preegzistirajuće infekcije gornjih respiratornih puteva, slepa, traumatska intubacija kao i pokreti larinksa u toku anestezije kada zbog nedovoljno inhibiranog laringealnog refleksa aritenoid udara u tubus. Ellis i saradnici¹⁹ su ispitivani nalaz na larinksu nakon intubacije a u vezi sa preintubacionim nalazom larinksa i našli su da su postintubaione promene deleko izraćenije kod pacijenata koji su imali patološki nalaz u larinksu pre intubacije. Tako su od 44 pacijenta sa abnormalnim preintubacionim nalazom našli normalan nalaz na vokalnim procesusima samo kod dva pacijenta sa ĉak kod 19 njih (43%) našli izraćeno granulaciono tkivo. Za razliku kod pacijenata koji su preoperativno imali normalan nalaz u larinksu (20 pacijenta) normalan nalaz na vokalnim procesusima su našli kod 6 pacijenta a granulaciono tkivo kod 3(15%) pacijenta.

Insulin zavisni dijabetes kod dugotrajno intubiranih pacijenata pre svega u odeljenjima intenzivne nege, znaĉajno povećava rizik od nastajanja postintubacionih komplikacija a izmedju ostalog i laringealnog granuloma^{20,21}. Neki autori navode da je granulom ĉešći na desnom aritenoidu zbog povrede mukoze nastale od strane desnorukih anesteziologa²².

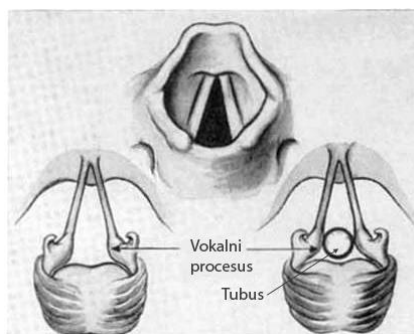
Postintubacioni granulomi se uglavnom opisuju kod odraslih. To se može objasniti rastresitim vezivom subglotisa kod dece kao i oblikom larinksa i njegovim visokim položajem što sve uslovaljava dejstvo mehaniĉkih sila niže prema subglotisu. Retki su pojedinaćni sluĉajevi granuloma kod dece i neonatusa opisani u literaturi. Međutim oni prouzrokuju ozbiljne komplikacije jer zbog malih dijametara disajnih puteva lako dolazi do obstrukcije^{22,23,24}.

Ova vrsta granuloma je znatno ĉešća kod žena (75% - 90%), nego kod muškaraca. Ovo najverovatnije nastaje zbog manjih proporcija glotisa kod žena (Slika3)²⁵.



Slika 3: Granulom glotisa kod žena

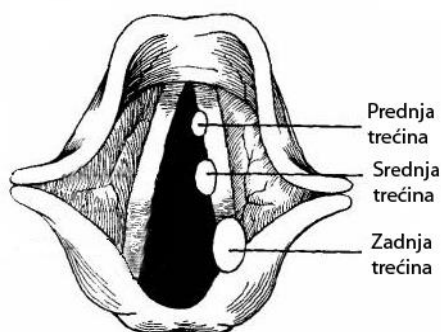
I ovaj oblik granuloma je najĉešći na aritenoidnom procesusu zbog položaja tubusa u toku anestezije (Slika 4)



Slika 4: Granulom na aritenoidnom procesusu

Granulom može da se formira i u drugim delovima glasnice (Slika 5). Ako se u anesteziji koristi veći i čvršći tubus on ima tendencu da zauzme tačku najmanjeg otpora a to je srednja

trećina glasnice, sa razvojem granuloma u tom delu. Specifičan položaj glave kod nekih vidova hirurģije može da uslovi pojačan pritisak i pojavu granuloma u prednjoj trećini glasnice²⁶



Slika 5: Delovi glasnica gde je još moćuće formiranje granulom

Kada je hiruško lećenje u pitanju statovi autora se bitno razlikuju od agresivnog hiruškog pristupa²⁷ do potpunog uzdržavanja od hirurģije^{28,29}.

Naši rezultati ukazuju da se na oba načina može postići dobar kvalitet glasa ali se uz primenu hirurģije to vreme znatno skraćuje. Tako kod grupe operisanih pacijenta glas dobrih vokalnih karakteristika se postiže za mesec dana dok je kod pacijenata lećenih samo konzervativnom terapijom to vreme 4 meseca.

Ono što kompromituje hirušku terapiju kao terapiju izbora su opšti problemi vezani za hirušku intervenciju u opštoj anesteziji, mogućnost povrede laringealnih struktura tokom intervencije i pre svega česti recidivi oboljenja nakon hiruške terapije.

Osim neposrednje terapije granuloma prevencija predstavlja bitan faktor kada je ovo oboljenje u pitanju.

Kada je postintubacioni granuloma u pitanju njihov se broj može smanjiti izbegavanjem dugotrajne orotrahealne intubacije, korišćenjem tubusa manjeg dijametra i upotrebom antirefluksnih lekova kod intubiranih pacijenata. Kao kritične pacijente treba smatrati one sa sistemskim oboljenjima kao sto su dehidracija, malnutricija, dijabetes mellitus, anemija, oboljenja jetre kao i pacijente sa već postojećim mehaničkim ili hemiskim povredama larinksa³⁰.

Druge sugestije za smanjenje rizika povrede uključuju korišćenje mišićnih relaksanata kod intubiranih pacijenata, korišćenje metoda direktne vizuelizacija za plasiranje endotrachealnog

tubusa, korišćenje netoksičnih lubrikanata, stabilizaciju glave i vrata radi minimalizovanja pokreta tubusa u toku operacije i ekstubaciju pre uspostavljanja laringelnih refleksa.

ZAKLJUČAK

Terapija kontaktnog granuloma podrazumeva uklanjanje iritacije posteriornog glotisa. Trauma vokalnog procesusa i hemijska iritacija posteriornog glotisa su najčešći faktori koji doprinose razvoju i održavanju granuloma. Lećenje refluksne bolesti, korišćenje vokalne terapije i odgovarajućih tehnika intubacije su glavni postupci u terapiji i prevenciji.

Kortikosteroidi i antibiotici mogu biti od koristi ali nema ubedljivih dokaza o njihovoj efikasnosti. Kao nova tehnika upotreba botulinskog toksina obećava ali još uvek nema dugotrajnijih kliničkih iskustava. Hiruška ekscizija je potrebna u refrakternim slučajevima kao i zbog isključenja mogućnosti karcinoma.

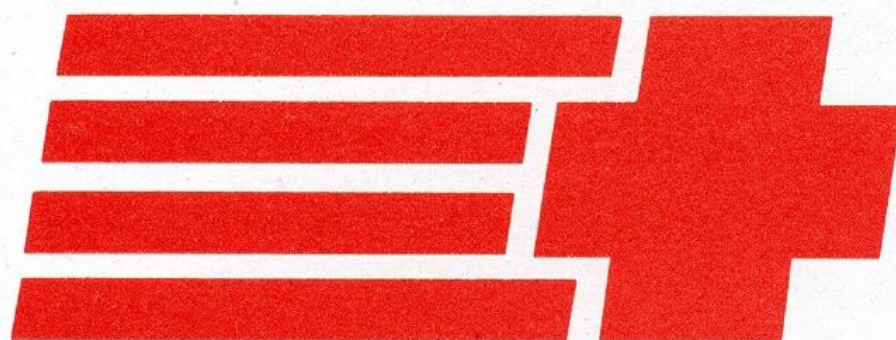
Smatramo da hiruška terapija znatno smanjuje vreme potrebno za uspostavljanje kvalitetnog glasa što može biti od velikog značaja kod glasovnih profesionalaca, a uz primenu dodatne konzervativne terapije znatno se smanjuje broj recidiva oboljenja.

Ovo se posebno odnosi na postintubacione granulome, kod kojih je inače mali broj recidiva i kod njih u slučaju perzistiranja granuloma ne treba dugo odlagati hirušku eksciziju.



LITERATURA

1. Jackson C. Contact ulcer of the larynx. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1928; 37:228-30
2. Jackson C, Jackson CL. Contact ulcer of the larynx. *Arch Otolaryngol* 1935;22:1-15.
3. Ylitalo R, Lindestad P. A retrospective study of contact granuloma. *Laryngoscope* 1999;109:433-436.
4. McFerran DJ, Abdullah V, Gallimore AP, Pringle MB, Croft CB. Vocal process granulomata. *J Laryngol Otol* 1994;108:216-220.
5. McIlwain JC. Clinical aspects of the posterior glottis: a review. *J Otolaryngol* 1991;20(2):74-87.
6. Benjamin B, Croxson G. Vocal cord granulomas. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1985;94:538-41.
7. Boštjan L, Nina G, Ulrika K, Janez F. Laryngeal granuloma: characteristics of the covering epithelium. *J Laryngol Otol* 2000;114:264-267.
8. Svensson G, Schalen L, Rex S. Pathogenesis of idiopathic contact granuloma of the larynx: results of a prospective clinical study. *Acta Otolaryngol (Stockholm)* 1988; 449:123-125.
9. Elsberg CA. Clinical experiences with intratracheal insufflation (Meltzer) with remarks upon the value of the method for thoracic surgery. *Ann Surg* 1910;52:23-29.
10. Clausen RJ. Unusual sequelae of tracheal intubation. *Proc, R Soc Med (Anesthetic Section)* 1932;25:1507.
11. New GB, Devine KD. Contact ulcer granuloma. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1949;58:548-558.
12. Donnelly WH. Histopathology of endotracheal intubation. *Arch Pathol* 1969;88:511-520.
13. Bishop MJ, Weymuller EA, Fink BR. Laryngeal effects of prolonged intubation, [review]. *Anesth Analg* 1984;63(3):335-342.
14. Kaneda N, Goto R, Ishijima S, Kawakami S, Park K, Shima Y. Laryngeal granuloma caused by short-term endotracheal intubation. *Anesthesiology* 1999;90(5):1482-1483.
15. Donna SL, Roy RC, David S, Michael R, Jun WX. Laryngeal injuries after short – versus long-term intubation. *J Voice* 1998;12(3):360-365.
16. Lucian S, Blake S, Ryan B, Colby L. Granuloma of the membranous vocal fold: An unusual complication of microlaryngoscopic surgery. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2007;116(5):358-362.
17. Balestrieri F, Watson CB. Intubation granuloma. *Otolaryngol Clin North Am* 1982;15:567-579.
18. Santos PM, Afrassabi A, Weymuller EA. Risk factors associated with prolonged intubation and laryngeal injury. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1994;111:453-459.
19. Steven FE, Alan CP, David GH, Jack JJ. Videolaryngoscopic evaluation of laryngeal intubation injury: Incidence and predictive factors. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1996;114:729-731.
20. Volpi D, Lin PT, Kuriloff DB, Kimmelman CP. Risk factors for intubation injury of the larynx. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1987; 96:684-686.
21. Ziad ED, Jack BW, Todd EC. Early diagnosis and treatment of laryngeal injuries from prolonged intubation in adults. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;120:25-29.
22. Nina LS, David JM, Anthony EM. Obstructing laryngeal granuloma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;121:164.
23. Kelly SM, April MM, Tunkel DE. Obstructing laryngeal granuloma after brief endotracheal intubation in neonates. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1996;102:138-140.
24. Desmond WLL, Victor A, Charles AH. Intubation granuloma in a neonate. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;120:447-448.
25. Pontes P, De Biase N, Kyrillos L, Pontes A. Importance of glottis configuration in the development of posterior laryngeal granuloma. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001;110:765-769.
26. William SH, John SL. Postintubation granulomas of the larynx. *Cancer* 1956;9:1244-1247
27. Shigeru H, Ichiro T, Hisayoshi K, Juichi I. Fiberoptic laryngeal surgery for vocal process granuloma. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2002;111:789-793.
28. Emami AJ, Murray M, Linda R, Douglas B. Treatment of laryngeal contact ulcer and granulomas: a 12-year retrospective analysis. *J Voice* 1999;13(4):612-617
29. Roh HJ, Goh EK, Chon KM, Wang SG. Topical inhalant steroid (budesonide, Pulmicort® nasal) therapy in intubation granuloma. *J Laryngol Otol* 1999;113:427-432
30. Bruce B, Lauren DH. Laryngeal complications of endotracheal intubation. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2008;117(9)Suppl 200:1-20.



Београд 94



SRČANI UDAR I „POMOĆNI“ VITALNI PARAMETRI

Branko M. Vujković¹, Miroslav Popović¹, Tomislav Tomić¹, Marija Vujković², Maja Čanak²Dom zdravlja Šabac, ¹ Služba hitne medicinske pomoći,² Služba opšte medicine

SAŽETAK

Uvod: Koronarna bolest srca (KB), odnosno Akutni Koronarni Sindrom (AKS), kao njena akutna komplikacija, glavni je uzrok smrti u celom svetu. Prema podacima iz SAD-a, svake minute od KB umire jedan čovek, a čak 47% bolesnika s koronarnim incidentom umire u toku prve godine. Nekada stanje pacijenta može biti kritično, iako nema znakova poremećaja „glavnih“ vitalnih parametara – disanja, svesti i pulsa. Tada na vitalnu ugroženost pacijenta mogu da ukažu izvesni pomoćni parametri, koji se zbog svoje očigledne važnosti mogu nazvati i „pomoćnim vitalnim parametrima“. To su, pre svega, **bledilo i adinamija** pacijenta, koji dobijaju na značajnosti ako se održavaju u vremenu.

Cilj rada: Cilj našeg rada je da prikazemo značaj celokupnog sagledavanja kliničke slike AKS-a, i pored odsustva „očiglednih“ parametara za njegovu dijagnozu

Materijal i metod: Korišten je protokol ambulantnog rada lekara SHMP Šabac, a na prikazu slučaja je prikazan značaj opservacije pacijenta i pored „prvog utiska“ o njegovom stanju, kao i značaj „pomoćnih vitalnih“ parametara.

Diskusija: Očigledna je pojava da su sve češće situacije da Srčani Udar u svojoj kapricioznosti može da nadmudri i najiskusnije kliničare, kao i lekare koji se pridržavaju najmodernijih algoritama. Svakako da jedna od ideja vodilja mora biti celokupan utisak o stanju pacijenta, gde ne treba zanemariti vrlo bitne pokazatelje mogućeg letalnog ishoda, a to su pomoćni vitalni parametri – bledilo i adinamija.

Zaključak: Umesto zaključka navešćemo nekoliko (od 11) zapovesti urgentne medicine:

1. Tipične bolesti se nikad ne prikazuju tipično, a atipične bolesti se neće nikad prikazati, osim ako ne sumnjaš na njih.
2. Ozbiljna bolest je prisutna, dok se ne dokaže suprotno

Cljučne reči: koronarni sindrom, pomoćni vitalni parametri, dijagnoza

UVOD

Koronarna bolest srca (KB), odnosno Akutni Koronarni Sindrom (AKS), kao njena akutna komplikacija, glavni je uzrok smrti u celom svetu. Prema podacima iz SAD-a, svake minute od KB umire jedan čovek, a čak 47% bolesnika s koronarnim incidentom umire u toku prve godine. Ishod KB, i AKS, tj. Srčanog Udara (*Infarctus Myocardii*) kao po život najugrožavajućeg njegovog oblika, uglavnom zavisi od rano postavljene dijagnoze, koja omogućava delotvornu medikamentnu i/ili intervencijsku terapiju, i praktično *restitutio ad integrum*. Ključno je prepoznati kliničku sliku, i serijski analizirati EKG zapise, nakon čega treba postaviti radnu dijagnozu, i ne čekati laboratorijske testove, koji su našim Hitnim Medicinskim Pomoćima (HMP) uglavnom nedostupni. Problem predstavlja Srčani Udar bez promena u EKG-u, kod koga ni anamnestički

podaci o bolu u grudima nisu ubedljivi, a *Status Praesens* na osnovu pregleda, pre svega vitalnih parametara, takođe ne budi sumnju u jedno od najurgentnijih stanja u medicini. Neke osobe nemaju ni tzv. Faktore Rizika koji bi skrenuli diferencijalno dijagnostičku mogućnost ka AKS. Kako kod njih postaviti pravu dijagnozu, a da ne bude kasno?

Nekada stanje pacijenta može biti kritično, iako nema znakova poremećaja „glavnih“ vitalnih parametara – disanja, svesti i pulsa. Tada na vitalnu ugroženost pacijenta mogu da ukažu izvesni pomoćni parametri, koji se zbog svoje očigledne važnosti mogu nazvati i „pomoćnim vitalnim parametrima“. To su, pre svega, **bledilo i adinamija** pacijenta, koji dobijaju na značajnosti ako se održavaju u vremenu.

Bledilo može biti znak hiperaktivnosti simpatikusa, i sreće se kod niza najurgentnijih



stanja, počev od „očigledno“ urgentnih, pa do „prikrivenih“ urgentnih stanja.

Adinamija (malaksalost, klonulost) obuhvata motornu, verbalnu, respiratornu, i emotivnu adinamiju.

CILJ RADA

Cilj našeg rada je da prikazemo značaj celokupnog sagledavanja kliničke slike AKS-a, i pored odsustva „očiglednih“ parametara za njegovu dijagnozu.

MATERIJAL I METOD

Korišten je protokol ambulantnog rada lekara SHMP Šabac, a na prikazu slučaja je prikazan značaj opservacije pacijenta i pored „prvog utiska“ o njegovom stanju, kao i značaj „pomoćnih vitalnih“ parametara.

PRIKAZ SLUČAJA

U ambulantu SHMP, negde oko 10.00h dolazi muškarac, 48 godina starosti želeći da se pregleda.

ANAMNEZA: Žalio se da je nešto *malaksao* zbog nerviranja, da želi da izmeri pritisak i da dobije nešto za smirenje, iako se ne leči, zbog jake *nervoze* koju oseća. Dao je podatak da mu sve to traje *od juče*. Inače negirao je da bilo ko u porodici ima bilo kakvih zdravstvenih problema, baba i deda su mu umrli od starosti, a roditelji imaju samo „malo“ problema sa „nervozom“, i pritiskom. On je nepušač, a i laboratorijske analize su mu „dobre“. Nekada se aktivno bavio sportom, a sada je fizički radnik.

Na osnovu anamneze lekar je stekao utisak da se radi o jednoj od najčešćih „neurgentnih“ dijagnoza koje sreće u SHMP, o anxiolo-depresivnom poremećaju.

STATUS: Pacijent svestan, orijentisan, *bradipsihičan*, *bledje prebojene hladnije kože*, eupnoičan, odaje utisak lakšeg bolesnika. TA = 190/110, Cor = RR, tonovi jasni, SF=100/min, šumovi se ne čuju. Ostatak fizikalnog nalaza bez osobitosti.

EKG: SR, SF = 100/min, bez promena finalnog segmenta

INICIJALNA TH: Lasix amp. I + Bensedin amp. I i.m., Zorkaptil tbl. a 25 mg s.l.

Pacijent je želeo da se po dobijenoj terapiji vrati na posao, ali uz objašnjenje da mu je pritisak dosta visok, ipak ostaje na opservaciji.

OPSERVACIJA (10.30h): Žali se da ga „peku“ dlanovi, i da je i dalje malaksao. Mokrio je jednom. Fizikalni nalaz na srcu i plućima i dalje uredan, TA = 150/100, ali je već sada upadljivo izrazito *bledilo* i *usporenost prilikom odgovora na postavljena pitanja*. Zbog tog bledila, i psihičke adinamije (a i nove tegobe – „pečenje dlanova“), odlučili smo se da mu ponovimo EKG: SR, SF = 90/min, *elevacija ST segmenta i T Talasa*, (*po tipu Parde-a*), *veća od 2 mm u inferolateralnim odvodima*.

PONOVNA TH: 1. Andol 300mg p.o., 2. NTG s.l., 3. i.v. linija, 4. Klometol amp.+Trodon a 100mg i.v. 5. O2 5l/min.

Pacijent je transportovan na kardiološkoj stolici do Koronarne Jedinice internog odeljenja OB Šabac.

DISKUSIJA

Očigledna je pojava da su sve češće situacije da Srčani Udar u svojoj kapricioznosti može da nadmudri i najiskusnije kliničare, kao i lekare koji se pridržavaju najmodernijih algoritama. Sve su ređe situacije kada se on može opisati knjiški; neki autori navode da je to u poslednje vreme samo nekih 30 % svih S.U, a da je incidenca takozvanog „nemog“ infarkta miokarda, pogotovo dijafragmalne lokalizacije, kod, na „prvi pogled“, zdravih ljudi, sve veća. Američki autori navode da je čak 7 % pacijenata preminulih usled AKS, bilo pregledano u urgentnim centrima (čak i enzimi), i otpušteno kući. Mnogi pacijenti nemaju ni pozitivnu anamnezu za AKS. Šta učiniti u tim situacijama, a ne biti odgovoran u sudsko-moralnom smislu?

Svakako da jedna od ideja vodilja mora biti celokupan utisak o stanju pacijenta, gde ne treba zanemariti vrlo bitne pokazatelje mogućeg letalnog ishoda, a to su pomoćni vitalni parametri – *bledilo i adinamija*.

ZAKLJUČAK

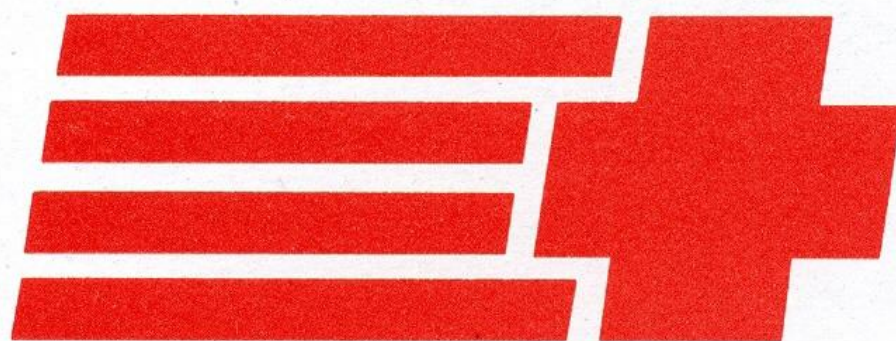
Umesto zaključka navešćemo nekoliko (od 11) zapovesti urgentne medicine:



3. Tipične bolesti se nikad ne prikazuju tipično, a atipične bolesti se neće nikad prikazati, osim ako ne sumnjaš na njih.
4. Ozbiljna bolest je prisutna, dok se ne dokaže suprotno.
5. Kad si u nedoumici, hospitalizuj pacijenta.
6. Ako razmišljaš da učiniš pacijentu neki test - učini ga. Kasnije te noći kada budeš odlazio kući kajaćeš se što ga nisi učinio. To zbilja nije vredno brige.

LITERATURA

1. Savić JĐ. Kako napisati, objaviti i vrednovati naučno delo u biomedicini. Beograd: Kultura; 1996.
2. Ristić ID. Urgentna edicina kroz primere iz prakse. Beograd: beležja; 2003.
3. Radna grupa za kardiovaskularne bolesti Miodrag Ostojić i saradnici: Preporuke u preventivnom, dijagnostičkom, i terapijskom pristupu sa bolom u grudima u Bol u grudima Nacionalni vodič kliničke prakse – Nacionalni komitet za izradu Vodiča kliničke prakse, Radna grupa za kardiovaskularne bolesti. Beograd, 2002. str. 12 – 48.
4. Spužić I, Popović O, Popović M, i saradnici. Harisonovi Osnovi Interne Medicine, Džepni Priručnik. Beograd: Ateneum; 1998. str. 365 - 75.
5. Miličić D. Pristup bolesniku s akutnim koronarnim sindromom. MEDICUS 2003; vol 12, No.1: 51-63.



Београд 94



KUTNI MOŽDANI UDAR

Jovica Mičić, Branko Vujković
Dom zdravlja Šabac, Služba hitne medicinska pomoći

SAŽETAK

Akutni moždani udar (AMU) urgentno stanje u medicine o kojem postoji konsenzus o što hitnijem tretmanu. Patofiziološki sastoji se u prekidu funkcionisanja grupa moždanih ćelija a posledica su poremećenog krvotoka usled začepjenja krvnog suda ili usled njihovog prskanja i izliva krvi u moždano tkivo. Treći je uzrok smrtnosti i u zemljama razvijenog sveta posle srčanih i malignih oboljenja.

Cilj rada se sastojao u analizi učestalosti i prepoznavanju AMU po polu, starosti i u zavisnosti od simptomatologije u polugodišnjem period u SHMP DZ Šabac.

UVOD

Moždani udar je prestanak funkcionisanja određenih grupa moždanih ćelija koji nastaje usled nedostatka hranljivih materija i kiseonika. Posledica su poremećenog krvotoka usled začepjenja krvnih sudova ili njihovog prskanja i izliva krvi u moždano tkivo ili moždanu ovojnicu. Kako moždane ćelije ne poseduju rezervne hranljive materije dolazi do njihovog propadanja, što se klinički manifestuje poremećajem funkcija za čije su izvršenje one odgovorne.

Ovo se manifestuje u vidu oduzetosti pojedinih delova tela, poremećajima govora, ispadima pojedinih vrsta osećaja, smetnjama u koordinaciji hodanja, raznim psihičkim ispadima i poremećajima svesti.

Faktori rizika za CV bolesti: životno doba, hereditet, hipertenzija, neke hiperlipidemije, šećerna bolest, pušenje, gojaznost, fizička neaktivnost, stresovi.

Za grubu prehospitalnu neurološku procenu kod sumnje na AMU koristi se SINSINATI skala koju je dalo američko udruženje za moždani udar 2003.god. Upozoravajući simptomi koji treba da podstaknu sumnju na moždani udar:

1. iznenadna slabost ili trnjenje lica, ruke, noge jedne strane tela
2. iznenadna konfuznost, teškoća govora ili razumevanja
3. iznenadna slabost vida jednog ili oba oka

4. iznenadna teškoća hoda, nestabilnost, gubitak ravnoteže
5. iznenadna teška glavobolja bez poznatog uzroka

CILJ

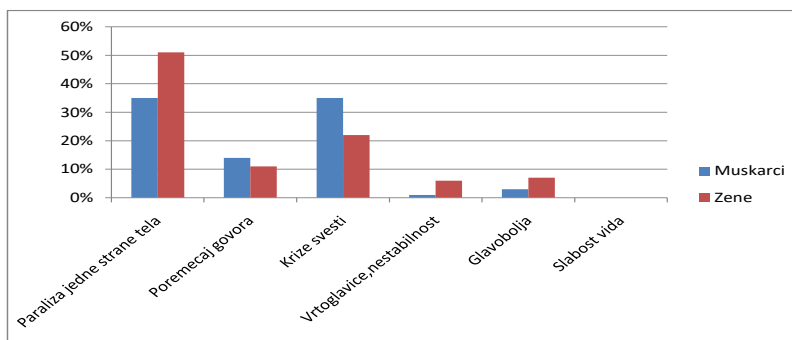
Cilj rada je da se analizira prepoznavanje kao i učestalost AMU po polu, starosti i u zavisnosti od simptoma.

METOD RADA

Korišćena je deskriptivno analitička metoda analize simptoma moždanog udara registrovanih od strane dispečera i potvrda na terenu u vremenskom period od pola godine korišćenjem protokola za prijem terena kao i protokola u kojima se beleže tereni.

REZULTATI

U navedenom period bilo je 88 poziva sumnjivih na moždani udar. U 69% sumnja je potvrđena na terenu. 26% su primljeni kao prvi stepen hitnosti. Najčešći simptomi koji su ukazivali na pojavu AMU bili su: paraliza jedne strane tela 57%, poremećaj govora 11%, krize svesti 26%, vrtoglavice i nestabilnost 6%, iznenadna jaka glavobolja 4 %, slabost vida 0%.



Grafikon 1: Rezultati istraživanja

NAPOMENA rizik da dobiju AMU je veći kod muškaraca ali je rizik od smrti od AMU veći kod žena.

DISKUSIJA

Identifikacija upozoravajućih znakova za AMU je veoma važna iz razloga što fibrinolitička terapija može biti sprovedena samo u okviru vremenski senzitivnog TROČASOVNOG terapijskog prozora od nastanka AMU.

Idealno bi bilo uraditi CT tokom 25 min. od prijema u NJ. Tokom prvih nekoliko sati od AMU CT snimak glave NE množe pokazati ishemiju mozga. CT nalazom se isključuje hemoragija pa je bolesnik kandidat za fibrinolizu. U suprotnom se konsultuje neurohirurg. Uočen je visok procenat bolesnika kod kojih je dobro postavljena sumnja na AMU prilikom prijema poziva. Simptomi koji su u najvećem procentu ukazivali na AMU bili su slabost jedne polovine tela i gubitak svesti a interesantno je da nije bilo bolesnika sa simptomatologijom u vidu slabosti vida. Uzrast od 60 do 80 god. Kod oba pola je bio najzastupljeniji. Vreme koje je potrebno ekipi da zbrine bolesnike sa AMU i pored konsenzusa o što hitnijem tretmanu "svaki minut je važan" šaroliko je i iznosilo je od nekoliko minuta do nekoliko desetina, u proseku 15 min. što je uslovljeno mnogim faktorima od dostupnosti i blizine bolesnika, raspoloživosti ekipa itd.

Tereni tipa "ne može da govori" neretko su završavali na internom odeljenju a ne na neurologiji što se objašnjava nedovoljnom vičnošću sagovornika da objasne prirodu tegoba.

Zapažen je jedan broj terena "koga zmija ujede i guštera se plaši" pa su preuveličavane tegobe i nije se pravila diferencijacija šta je staro a šta novo pa se kod bolesnika sa ICV razmišljalo o REICV.

ZAKLJUČAK

U zbrinjavanju bolesnika sa AMU značajna je zdravstvena prosvećenost stanovništva i spremnost pozivaoca da sarađuje sa osobljem na prijemu poziva, što bolja opremljenost ekipa HMP, urgentnih prijema kao i osnivanje jedinica za moždani udar.

LITERATUR

1. ABC časopis urgentne medicine, Srpsko lekarsko društvo, Vol.VI sveska
2. Prevencija CV bolesti - Nacionalni vodič za lekare u primarnoj zdravstvenoj zaštiti, Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, 2005

**HIPOGLIKEMIJA I HIPERGLIKEMIJA –TERENSKA ISKUSTVA SHMP ŠABAC**

Jelena Obrovac

Dom zdravlja Šabac, Služba hitne medicinske pomoći

UVOD

Diabetes mellitus je grupa metaboličkih bolesti koje se karakterišu hiperglikemijom nastalom zbog defekta u sekreciji insulina ili zbog defekta u njegovom dejstvu ili usled postojanja oba ova poremećaja. Nastaje sadejstvom i kompleksnim interakcijama različitih faktora a pre svega genetskih faktora, faktora spoljašnje sredine i samog načina života. Hiperglikemija koja karakteriše dijabetes je posledica ili smanjene potrošnje glikoze i / ili njene povećane produkcije. U dijabetesu je poremećen i metabolizam masti i proteina. Klasični simptomi jasne hiperglikemije su poliurija, polidipsija, gubitak u težini čak i uz polifagiju, osećaj lakog zamaranja, kao i sklonost ka infekcijama. SZO prepoznaje tri osnovna oblika bolesti : tip 1, tip 2 i gestacioni dijabetes.

Tip 1 diabetes ranije poznat kao insulin zavisni ili juvenilni diabetes mellitus, karakteriše apsolutni nedostatak insulina. Simptomi su najčešće poliurija, polidipsija, polifagija, gubitak težine, poremećaj vida, malaksalost i razvoj acidoze i kome. Obično se javljaju iznenada.

Tip 2 diabetes ranije insulin nezavisni ili adultni diabetes mellitus, karakteriše relativni nedostatak insulina i prisustvo insulinske rezistencije u perifernim tkivima tj neadekvatno korišćenje insulina u perifernim tkivima. Ovaj tip čini 90% pacijenata sa diabetes mellitusom u svetu i rezultat je gojaznosti i fizičke neaktivnosti u velikom broju slučajeva. Simptomi slični onima kao kod tipa 1, samo se sporije razvijaju zbog čega se kasni sa dijagnostikovanjem, kada se već pojave komplikacije bolesti.

Gestacioni diabetes je hiperglikemija koja se prvi put dijagnostikuje tokom trudnoće. Dijagnoza se češće postavlja prenatalnim skriningom nego zbog simptoma.

Diabetes mellitus daje mnoge komplikacije : akutne i hronične. Akutne su : hipoglikemija, dijabetesna ketoacidoza (DKA) i neketotična hiperosmolarna koma (HHS). Hronične komplikacije uključuju kardiovaskularne bolesti, cerebrovaskularne

bolesti, hroničnu bubrežnu insuficijenciju, oštećenje retine, oštećenje nerava i mikrovaskularna oštećenja sa posledičnom erektilnom disfunkcijom, sporim zarastanjem rana, naročito na nogama koja vodi do gangrene sa potrebom za amputacijom kao vodeći razlog netraumatske amputacije kod odraslih.

Prehospitalno, u radu HMP najčešće akutne komplikacije su hipoglikemija i hiperglikemija,

CILJ RADA

Cilj rada je da ukaže na to da akutna komplikacija dijabetesa na terenu uz dobro znanje, opremu i dodatnu dijagnostiku mogu da se prepoznaju i u velikom stepenu se pacijent stabilizuje pre upućivanja na hospitalno lečenje (hiperglikemija) dok se hipoglikemija u najvećem broju slučajeva reši u kući pacijenta.

METOD RADA

Korišćena je retrospektivna analiza podataka iz lekarskih izveštaja sa terena tokom 2008. godine.

REZULTATI

U toku 2008. godine, od 6386 lekarskih poziva na terenu, 234 (3,66%) je bilo kod pacijenata sa dijabetesom, od čega kod 189 (2,96%) zbog akutnih komplikacija bolesti. Zbog hipoglikemije se javilo 108 (57,14%) , 81 (42,86%) zbog hiperglikemije.

Za hipoglikemijsku grupu (108 pacijenata) najveći broj poziva je primljen kao prvi (57 poziva) i drugi (41 poziv) red hitnosti, a manje kao treći red hitnosti (10 poziva). U hipoglikemijskoj grupi bilo je 45 muškaraca (41,67%) i 63 žene (58,33%). Po vrednostima glikemije, 21 pacijent je sa vrednostima 3,0—3,9 mmol/l , 40 pacijenata sa vrednostima 2,0—2,9 mmol/l , 39 pacijenata sa glikemijom 1,0—1,9



mmol/l i 8 pacijenata sa vrednostima glikemije manjim od 1 mmol/l. Od ukupno 108 pacijenata, 14 ima tip 1 dijabetesa, a 94 tip 2 dijabetesa. Što se tiče terapije, u najvećem broju slučajeva primili su hipertoni rastvor 50% glikoze, 88 pacijenata (81%), od kojih je 8 dobilo pored ovog hipertoničnog rastvora i rastvor 10% ili 5% glikoze. 6 pacijenata (6%) je dobilo 10% ili 5% rastvor glikoze, a 14 pacijenata (13%) glikozu per os. Na hospitalno lečenje ili konsultaciju endokrinologa je upućen 21 pacijent (19,44%), a prehospitalno je zbrinuto 87 pacijenata (80,56%) ove grupe.

U grupi sa hiperglikemijom, najveći broj poziva je trećeg reda hitnosti (53 poziva), a manji sa nejednakom zastupljenošću prvog (20 poziva) i drugog (8 poziva) reda hitnosti. Ukupno je bio 81 pacijent, a od toga 32 muškarca (39,5%) i 49 žena (60,5%). Bilo je 44 pacijenta sa vrednostima glikemije 10,0—14,9 mmol/l, 23 pacijenta sa vrednostima 15,0—19,9 mmol/l, 7 pacijenata sa vrednostima 20,0—24,9 mmol/l i 7 pacijenata sa vrednostima glikemije preko 25,0 mmol/l. Od 81 pacijenta, 3 su imali tip 1 dijabetesa (1 sa ketoacidozom), 66 pacijenata tip 2 dijabetesa (5 sa ketoacidozom), a kod 12 pacijenata je dijagnoza hiperglikemije sa ketoacidozom. U ovoj grupi 54 pacijenta nisu dobili terapiju. Infuzione slane rastvora kristaloida primilo je 19 pacijenata, a 8 pacijenata je dobilo drugu terapiju (analgetike, spazmolitike, antiemetike, H₂ blokatore i dr). 53 pacijenta (65%) je upućeno na

hospitalno lečenje ili konsultaciju endokrinologa, od kojih je 12 sa dijagnozom ketoacidoze (15%). Prehospitalno je zbrinuto 28 pacijenata (35%). Pacijenti upućeni u bolnicu imali su visoke vrednosti glikemije.

ZAKLJUČAK

Od akutnih komplikacija dijabetesa melitusa, dominira hipoglikemija. Hipoglikemija je nešto češća kod žena. Prijavljuje se najčešće kao prvi red hitnosti. U terapiji dominira hipertoni rastvor 50% glikoze, a najveći broj poziva se završava na terenu. Hiperglikemija se najčešće prijavljuje kao treći red hitnosti. Nešto je češća kod žena. Uglavnom se upućuje u bolnicu, bez terapije.

LITERATURA

1. Radna grupa za dijabetes Nebojša Lalić, Diabetes mellitus, Nacionalni komitet za Izradu vodiča kliničke prakse, Beograd, 2002.
2. Manojlović D., Interna medicina, Zavod za udzbenike i nastavna sredstva, Beograd, 2000.
3. Vučović D., Urgentna medicina, Obeležja, Beograd, 2002.
4. Harrison's Principles of Internal Medicine, 2005.
5. ABC časopis urgentne medicine, Srpsko lekarsko društvo, 2007.



ANAFILAKSA NA FIZIČKI NAPOR : IMA LI RAZLIKE?

Branko M. Vujković¹, Miroslav Popović¹, Tomislav Tomić¹, Marija Vujković², Maja Čanak²Dom zdravlja Šabac - ¹ Služba hitne medicinske pomoći,² Služba opšte medicine

SAŽETAK

Savremeni način života, industrijalizacija sredine u kojoj živimo i radimo, dovode do pojave sve većeg broja novih faktora morbiditeta, koji za mnoge ne predstavljaju rizik, ali za "odabrane" osobe predstavljaju značajan uzrok oboljevanja, i poremećaja kvaliteta života. Antigeni koji za većinu nisu štetni, usled neadekvatne reakcije imunskog odgovora, dovode do oštećenja organa, a u zavisnosti od tipa alergijske reakcije i do fatalnog ishoda. Po život opasan anafilaktički odgovor nastaje kod senzibilisanih ljudi unutar nekoliko minuta nakon izlaganja specifičnom Ag. Postoji širok spektar prezentacija i nijedan simptom i znak nije patognomoničan! Bolesnika sa kliničkom slikom anafilaktičke reakcije treba lečiti momentalno i intenzivno, bez obzira koji je mehanizam doveo do oslobađanja medijatora anafilaksijske reakcije. Vrlo je zanimljiv fenomen anafilakse na zamor koji su prvi opisali Sheffer i Austen. Svakako da triger alergijske reakcije ovde nije poznat, mada se pretpostavlja da postoji uska povezanost sa unosom određene vrste hrane pre vežbanja. Rizik predstavlja prethodna istorija alergijskih oboljenja bilo kog tipa, tj. tzv. atopijska konstitucija pacijenta. Atopičarima Resuscitacioni Savet Velike Britanije savetuje da pored sebe uvek imaju auto-injektore sa 300 ili 150 mikrograma adrenalina. Iz svega ovoga sledi zaključak, da je za efikasnu terapiju anafilakse, a naročito njenog najtežeg oblika - anafilaktičkog šoka, neophodno angažovanje celokupne zajednice. A iz aspekta urgentne medicine uvek treba imati na umu – NIJE BITAN UZROK ANAFILAKSE, BITAN JE ADRENALIN!

Ključne reči: anafilaksa, zamor, adrenalini

UVOD

Savremeni način života, industrijalizacija sredine u kojoj živimo i radimo, dovode do pojave sve većeg broja novih faktora morbiditeta, koji za mnoge ne predstavljaju rizik, ali za "odabrane" osobe predstavljaju značajan uzrok oboljevanja, i poremećaja kvaliteta života. Antigeni koji za većinu nisu štetni, usled neadekvatne reakcije imunskog odgovora, dovode do oštećenja organa, a u zavisnosti od tipa alergijske reakcije i do fatalnog ishoda [1, 2, 3]. Postoji više mehanizama imunskog oštećenja tkiva, tj. reakcija preosetljivosti:

1. **I tipa** - anafilaktičke reakcije ili reakcije rane hipersenzibilnosti
2. **II tipa** – citotoksične reakcije
3. **III tipa** – imunokompleksne reakcije
4. **IV tipa** – reakcije poznog tipa

Svakako da su, sa aspekta urgentne medicine, najznačajnije reakcije I tipa preosetljivosti, zato što svojom fudroajantnošću, i nepredvidljivim tokom, mogu dovesti do stanja

opasnog po život, pa i do same smrti. Ag se vezuje za već stvorena

At iz klase IgE, koja oblažu površinu mast-ćelija, ili bazofila iz kojih se oslobađaju medijatori alergijske inflamacije: histamin, prostaglandini, leukotrijeni, tromboksan, bradikinin i drugi [1, 4].

Medijatori stvaraju kontrakciju glatke muskulature, povećavaju propustljivost krvnih sudova i započinju lokalnu zapaljenjsku reakciju. Po ovom tipu se odvija:

- a. ANAFILAKTIČKI ŠOK
- b. BRONHOSPAZAM
- c. ALERGIJSKI RINITIS
- d. AKUTNI ANGIOEDEM
- e. URTIKARIJA

Najurgentniji i najteži podtip reakcije I tipa je **SISTEMSKA ANAFILAKSA** (*Anaphylaxa systemica*) poznata i pod imenom **ANAFILAKTIČKI ŠOK** (*Shock anaphylacticus*). To je normovolemijski, vazogeni (distributivni) šok koji dovodi do cirkulatornog kolapsa, odigrava se munjevito, a ako se ne reaguje pravovremeno, dovodi i do smrtnog ishoda. Smrtnost je u 1987. god. SAD iznosila preko 3000 slučajeva, od toga najčešće na penicilin (oko



800 slučajeva), jedna kontrastna sredstva (oko 750 slučajeva), i sredstva za anesteziju (oko 720 slučajeva) [5]. Anafilaktička reakcija se može odvijati i po tipu PSEUDOALERGIJSKE, kada se mehanizam degranulacije mastocita i bazofila ne odigrava po prvom tipu reakcije preosetljivosti, tj. nema učesća specifičnih T i B limfocita. Po život opasan anafilaktički odgovor nastaje kod senzibilisanih ljudi unutar nekoliko minuta nakon izlaganja specifičnom Ag, i manifestuje se:

- a. RESPIRATORNIM DISTRESOM
- b. Posle kojeg često sledi VASKULARNI KOLAPS
- c. Ili se manifestuje ŠOKOM bez respiratornih poteškoća
- d. I DRUGIM KARAKTERISTIKAMA anafilaktičke reakcije u zavisnosti od rasporeda mast ćelija i bazofila

Lokacija i koncentracija mast ćelija determiniše koji će organ biti ciljni. **Tipično 2 ili više sistema je uključeno u reakciju.** Što se anafilaksa ranije javi posle izlaganja alergenima to je veća verovatnoća da će biti ozbiljnija i teža klinička slika. **Postoji širok spektar prezentacija i nijedan simptom i znak nije patognomoničan!** Konfuzija nastaje zato što sistemske alergijske reakcije mogu biti BLAGE, UMERENE I TEŠKE. Na primer, generalizovana urtikarija, angioedem i rinitis neće biti opisane kao anafilaksa, ako respiratorni distres i hipotenzija, koji su potencijalno životno ugrožavajući, nisu prisutni. Anafilaksa se najčešće javi u prvih 20-30 min. Ako se javi posle nekoliko sati, do 24h, to je ODLOŽENA, a ako se javi, pa se simptomi uspešno povuku posle Th., pa se ponovo ispolji u narednih 24h to je BIFAZNA anafilaksa [6]. RESPIRATORNI SISTEM može biti zahvaćen od nosne sluzokože do bronhiola, što se manifestuje širokom lepezom simptoma i znakova, od bezazlenih kao što je *zapušenost nosa*, pa do životno ugrožavajućih kao što su *stridor* usled edema larinksa, *dispnea*, *vizing* ili *apnea* usled spazma i edema donjih disajnih puteva sa povećanom produkcijom mukusa itd. Dejstvo na KARDIOVASKULARNI SISTEM se zasniva na, apsolutnoj ili relativnoj, hipovolemiji zbog generalizovane vazodilatacije i povećane kapilarne permeabilnosti i sledstvene srčane disfunkcije, što se klinički ogleda nastankom *hipotenzije*, *palpitacija* i *tahikardije*, *aritmije*, *slabosti*, *gubitka svesti*, *konvulzija* itd. Ostali sistemi usled dejstva medijatora alergijske

reakcije učestvuju u simptomatologiji sa svom šarolikosću tegoba; KOŽA od *svraba*, *eritema*, do *generalizovane urtikarije* i *angioedema*; GASTROINTESTINALNI (zbog kontrakcija glatke muskulature) od *disfagije*, *grčevitog bola u trbuhu*, *mučnine*, *vomitusa*, do *dijareje*; GENITOURINARNI od *bola u karlici* do *inkontinencije* itd.

Na osnovu kliničke slike sistemske anafilakse ne može se odrediti tip reakcije, tj. da li je alergijska ili pseudoalergijska. U terapijskom pristupu to i nije najvažnije. **Bolesnika sa kliničkom slikom anafilaktičke reakcije treba lečiti momentalno i intenzivno, bez obzira koji je mehanizam doveo do oslobađanja medijatora anafilaksijske reakcije.** Pravovremenim prepoznavanjem i lečenjem može se sprečiti smrtni ishod. Odmah treba primeniti:

1. mere resuscitacije po algoritmima A, B, C...
2. kiseonik 5-10 l/min. Kod pacijenata sa HOBP, manje koncentracije 1-2 l/min.
3. ukloniti ili smanjiti dejstvo antigena.
4. otvoriti venski put radi parenteralne terapije.
5. lekovi [5]:

Adrenalin "at first" - lek izbora, koji se može primeniti

Intramuskularno

Th.D. Od 0,01 mg/kg do max. 0.3-0,5 mg (1:1000 u 1ml ima 1mg).

Intravenski

Th.D. Od 0,1-0,5 mg tokom 5 min.

(1:1000 u 1 ml ili 1:10000 u 10 ml ili 1:5000 u 5 ml rastvarača npr. Aqua)

U kardiorespiratornom arestu brza progresija ka većim Th.D. Uobičajena sekvenca je 1-3 mg (3min.), 3-5 mg (3min.), a zatim infuzija 4-10 mcg/min.

Intravenska infuzija

1 mg adrenalina u 250 ml rastvora (4 mcg/ml) brzinom od 1-4-10 mcg/ min. 1ml = 20 kapi = 4mcg.

Endotrehalno

2,5 puta veća doza od intravenske.

- u slučajevima kad nisu od efekta i.v. infuzije i adrenalin probati sa **dopaminom**.
- **intravensko davanje infuzionih rastvora**. Da bi se poboljšala cirkulacija i smanjio hematokrit koji se naglo povećao zbog prelaska plazme, rano davanje koloida je u prednosti nad kristaloidima, ali ako nema njih, kao zamena mogu poslužiti kristaloidi, pogotovu u kombinaciji sa



adrenalinom u vidu kontinuirane infuzije, uz monitoring vitalnih funkcija.

- **Antihistaminici** nisu sredstvo prvog izbora, ali se u lečenju šoka koji duže traje ipak daju H1 antagonisti (Synopen 1 - 2 ampule i.m., ili sporo i.v. itd) radi pokušaja stabilizovanja cirkulacije, kao i H2 antagonisti (Ranitidin), radi prevencije ulkusa.
- **Aminofilin** se daje ako se bronhospazam održava i to u dozi 3 -6 mg/kg polako i.v. tokom 20min.
- **Kortikosteroidi** se takodje ne primenjuju kao lekovi izbora, ali se daju radi stabilizacije ćelijskih lizozoma i membrane u produženom šoku, kao i kod bronhospazma, i to kao infuzija rastvora velikih doza 20-30mg/kg Metilprednizolona (ili zamene) polako i.v. ili i.m. Efekti su odloženi i do 4-6h.

Nakon primenjenih mera, pacijenta treba opservirati pažljivo do 24h. Mnogi pacijenti ne reaguju odmah na Th., a simptomi mogu da se ponovo jave kod nekih (do 20%) u toku 1 - 8h uprkos asimptomatskog perioda.

PRIKAZ SLUČAJA

Pacijent muškog pola, 20 god., je ušao u ordinaciju u pratnji majke i oca.

ANAMNEZA: Žalio se na naglo nastalu *zapušenost nosa, svrab po telu, malaksalost*. Dao je podatak da mu se sve to desilo pre pet do deset minuta na stadionu gde je nekih sat vremena igrao fudbal. Majka je dala podatak da je N. N: alergičan na NSAIL, banane, lubenicu, polen, itd., ali i da hranu i lekove na koje je alergičan nije unosio.

STATUS: Zbog izrazite *disfonije* pacijenta, i heteroanmnestičkih podataka o *atopijskoj konstituciji* pacijenta, odmah smo prešli na palpaciju radijalnog pulsa, koji je bio ubrzan, niske amplitude, tzv. "končast puls", a u toku same palpacije pacijent gubi svest i prestaje da diše. Palpacija karotidnog pulsa je pokazala da srčana radnja postoji, ali da je znatno ubrzana. Tenzija izmerena živinim manometrom je pokazala vrednosti 70 / ?. Disajni šum je bio difuzno oslabljen do nečujnosti, tzv. „sindrom nemih pluća”. Postavljena je radna dijagnoza anafilakse na fizički napor. Brzom akcijom ekipe HMP pacijent dobija Synopen amp. + Urbason a 40 mg amp., i Adrenalin 1 : 1000 amp., i to sve i.m. zbog izrazitog kolapsa perifernih vena, a

postavljamo ga i u Trendeleburgov položaj. Posle dobijene amp Adrenalina, pacijent postaje svestan, lako dezorijentisan, lako dispnoičan, sa sada već znatno poboljšanim disanjem, i tada uspešno uspevamo da mu plasiramo i.v. braunilu putem koje mu je ordinirano 500 ml Sol. NaCl 0,9 % + Urbason a 40 mg per infusiam. Uradjen je i EKG koji je pokazao SR, SF 100/min, bez promena ST segmenta i T talasa. Zbog prolongirane hipotenzije (80 mmHg/? u sedećem položaju) pacijent je prebačen na Interno odeljenje radi dalje opservacije, gde mu je u th dodato još 500 ml Sol Ringeri + amp Omeprol. Tokom opservacije dolazi do daljeg poboljšanja stanja, i normalizacije vitalnih parametara. Pacijent je otpušten sa odeljenja posle opservacije od oko 6h., i dat je savet o obaveznom upućivanju na dalje alergološko ispitivanje.

DISKUSIJA

Vrlo je zanimljiv fenomen anafilakse na zamor koji su prvi opisali Sheffer i Austen [6,7,8]. Svakako da triger alergijske reakcije ovde nije poznat, mada se pretpostavlja da postoji uska povezanost sa unosom određene vrste hrane pre vežbanja [8,9]. Neke studije su pokazale povezanost unosa kikirikija, oraha, brašna, pirinča itd. , do pet sati pre fizičke aktivnosti, sa razvojem anfilakse na fizički napor [8]. Rizik predstavlja prethodna istorija alergijskih oboljenja bilo kog tipa, tj. tzv. *atopijska konstitucija* pacijenta. Za sam inicijalni tretman u suštini nije ni bitno koji tip anfilakse se odvija pred nama, bitno je pre svega osloniti se na kliničku sliku alergijske reakcije, i što pre dati **Adrenalin i.m.**

Atopičarima Resuscitacioni Savet Velike Britanije savetuje da pored sebe uvek imaju auto-injektore sa 300 ili 150 mikrograma adrenalina. Adrenalin i.v. treba dati u razblaženju bar 1:10 000, i to samo kod izrazitog šoka koji ne reaguje na primenu i.m. th i životno je ugrožavajući, kao i kod alergijske reakcije na anestetik tokom opšte anestezije [1,3].

Danas, kada smo "preplavljeni" alergenima, a naročito u uslovima u kojima još uvek funkcionišu naše ekipe urgentne medicine, edukacija atopičara i nabavka auto-injektora Adrenalina, je čini se najbolji način za borbu protiv anafilaktičke reakcije.

Definitivno, i stav većine evropskih resuscitacionih saveta je da se ne treba plašiti



Adrenalina, da treba obučiti širu populaciju za primenu auto-injektora, a lekarima osvežavati znanja iz terapije urgentnih stanja (*to je pored moralne i njihova zakonska obaveza!*).

ZAKLJUČAK

Iz svega ovoga sledi zaključak, da je za efikasnu terapiju anafilakse, a naročito njenog najtežeg oblika - anafilaktičkog šoka, neophodno angažovanje celokupne zajednice. A iz aspekta urgentne medicine uvek treba imati na umu – **NIJE BITAN UZROK ANAFILAKSE, BITAN JE ADRENALIN!**

LITERATURA

1. Project Team of the Resuscitation Council (UK). Update on the emergency medical treatment of anaphylactic reactions for first medical responders and for community nurses. *Resuscitation* 2001; 48: 241-3.
2. Fisher M. Treatment of acute anaphylaxis. *Br Med J* 1995;311:731-3.
3. Project Team of the Resuscitation Council (UK). The Emergency Medical Treatment of anaphylactic reactions for first Medical responders and for Community Nurses. Resuscitation Council (UK) Revised January 2002.
<http://www.resus.org.uk/pages/reaction.htm>
4. Brown AFT. Therapeutic controversies in the management of acute anaphylaxis. *J Accid Emerg Med* 1998; 15:89-95.
5. Popović M, Tadić P. Anafilaktična reakcija kao uzrok kardiorespiratornog aresta – prikaz slučaja uspešne KPC reanimacije. Zbornik radova, 5. međunarodni kongres o prehospitalnim hitnim stanjima. Poreč: 2006. str. 116 – 120.
6. McLean-Tooke APC, Bethune CA, Fay AC et al. Adrenaline in the treatment of anaphylaxis: what is the evidence? *BMJ* 2003; 327:1332-5.
7. Luke M, Webb MD, Phil Lieberman MD. Anaphylaxis: a review of 601 cases. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology* 2006; vol. 97, no. 1, pp. 39 – 43.
8. Marie-Therese Guinépain MD, Corinne Eloit MD, Michele Raffard MD, Marie-Jose Brunet-Moret MD, Regine Rassemont, Jerome Laurent MD. Exercise-Induced Anaphylaxis: Useful Screening of Food Sensitization. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology* 1996; vol. 77, no. 6, pp. 491 – 6.
9. Anne M Ditto MD, Kathleen E Harris, Jane Krasnick MD, Mark A Miller MD, Roy Patterson MD. Idiopathic Anaphylaxis: a Series of 335 Cases. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology* 1996; vol. 77, no. 4, pp. 285 – 291.
10. Savić JD. Kako napisati, objaviti i vrednovati naučno delo u biomedicini. Beograd: Kultura; 1996.