

**Главен и одговорен уредник**  
**Editor in Chief**

Гоце Спасовски

**Заменик уредници**  
**Deputy editors**

Мирјана Кочова, Нели Башеска

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

Милена Петровска-**Микробиологија**, Гордана Адамова-**Гинекологија**, Кочо Чакаларовски-**Интерна медицина**, Кирил Лозанче, Марија Ралева-**Психијатрија**, Ненад Јоксимовиќ-**Гастроентерохепатологија**, Чедо Димитровски, Марина Давчева Чакар-**Оториноларингологија**, Спасе Јовковски, Снежана Стојковска-**Инфективно**, Горан Кондов-**Хирургија**, Зоран Спировски

**Интернационален Редакциски одбор/ International Editorial Board**

Bernardus Ganter – **UK**, Daniel Rukavina – **Croatia**, Pavel Poredos – **Slovenia**, Vladimir Ovcharov – **Bulgaria**, Stefan Tofovic – **USA**, Jovan Hadzi-Djokic – **Serbia**, Ljubisa Markovic – **UK**, Veselin Borisov – **Bulgaria**

**Издавачки совет / Editorial Council**

**Претседател / President**

Стојмир Петров

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

**Секретар на Редакцијата / Secretary of the Editorial Office**

В. Митревска

**Јазичен редактор на македонски јазик / Proof-reader for Macedonian**

С. Тофоска Јанеска

**Лектор за англиски јазик / Proof-reader for English**

Л. Даневска

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

1000 Скопје, Даме Груев 3, Градски сид блок 2

тел.02/3162 577; 02/3239-804

[www.mld.org.mk](http://www.mld.org.mk) / [mld@unet.com.mk](mailto:mld@unet.com.mk)

Жиро сметка / Current Account

300000000211884 - Комерцијална банка Скопје

Печати: Југореклам - Скопје

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

## Содржина / Contents

### I. Editorial comments

<b>IMMUNE CELLS AND CYTOKINES AT THE MATERNAL-FETAL INTERFACE</b> <b>ИМУНИТЕ КЛЕТКИ И ЦИТОКИНИТЕ ВО ФЕТАЛНО-МАЈЧИНИОТ ИНТЕРФЕЈС</b> Dominovic Marin and Rukavina Daniel.....	73
--	----

<b>DIABETES IN CHILDHOOD - CURRENT AVENUES OF RESEARCH</b> <b>ДИЈАБЕТЕС ВО ДЕТСТВОТО-АКТУЕЛНОСТИ ВО ИСТРАЖУВАЊАТА</b> Mirjana Kosova.....	79
---	----

### II. Ревизијални трудови / Reviews

<b>БУБРЕЖНА ЗАМЕСТИТЕЛНА ТЕРАПИЈА ВО УСЛОВИ НА КРИЗА</b> <b>RENAL REPLACEMENT THERAPY IN CRISIS CONDITION</b> Дејанов Петар, Дејанова Бети, Ончевски Ангел, Масин-Спасовска Јелка, Стојчева-Танева Оливера и Спасовски Гоце.....	86
---	----

### III. Изворни трудови / Original Articles

<b>EVALUATION OF VITEK-2 YEAST SUSCEPTIBILITY TEST FOR ANTIFUNGAL</b> <b>SUSCEPTIBILITY TESTING OF <i>CANDIDA</i> SPECIES TO FLUCONAZOLE</b> <b>ЕВАЛУАЦИЈА НА ВИТЕК-2 ТЕСТ ЗА КВАСНИЦИ ЗА ИСПИТУВАЊЕ НА</b> <b>АНТИФУНГАЛНАТА ОСЕТЛИВОСТ НА <i>CANDIDA</i> СПЕЦИЕС НА ФЛУКОНАЗОЛ</b> Мирчевска Гордана, Пановски Никола, Петровска Милена, Трајковска-Докиќ Елена, Зафирова-Ивановска Бети, Зафировиќ Зорица и Миленковиќ Звонко.....	96
--	----

<b>СЕНЗИТИВНОСТ И СПЕЦИФИЧНОСТ НА ANTI-CYCLIC CITRULLINATE PEPTIDE</b> <b>АНТИТЕЛАТА И IGM-РЕВМАТОИДНИОТ ФАКТОР ВО СЕРОЛОШКАТА</b> <b>ДИЈАГНОЗА НА РЕВМАТОИДНИОТ АРТРИТИС</b> <b>SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF ANTI-CYCLIC CITRULLINATE PEPTIDE</b> <b>ANTIBODY AND IGM RHEUMATOID FACTOR IN SEROLOGIC DIAGNOSIS OF</b> <b>RHEUMATOID ARTHRITIS</b> Велкоска-Накова Б. Валентина, Марина А. Нада и Крстевска Л. Бранка.....	102
--	-----

<b>АНАЛИЗА НА РАДИОЛОШКИОТ ИСХОД НА ФРАКТУРИТЕ НА ДИСТАЛНИОТ</b> <b>КРАЈ НА РАДИУСОТ</b> <b>ANALYSIS OF RADIOGRAPHIC OUTCOME OF DISTAL RADIUS FRACTURES</b> Касапинова Катерина и Камилоски Виктор.....	106
--	-----

<b>СОЗДАВАЊЕ НА СЕРОМ ПО ИЗВРШЕНА АБДОМИНАЛНА</b> <b>ДЕРМОЛИПЕКТОМИЈА - НАШЕ ИСКУСТВО</b> <b>SEROMA COMPLICATION AFTER ABDOMINAL DERMOLIPECTOMY – OUR</b> <b>EXPIRENCE</b> Стевковска Маре, Андоновска Добрила, Атанасова Емилија, Обочки Елизабета, Ѓорчева Мира, Томова Елисавета и Марцикиќ Грета.....	113
--	-----

### IV. Прикази на случаи / Case Reports

<b>ПЕРИОПЕРАТИВЕН ТРЕТМАН НА ВИСОКОРИЗИЧЕН ПОСТАР ПАЦИЕНТ СО</b> <b>СКРШЕНИЦА НА КОЛК: ПРИКАЗ НА СЛУЧАЈ</b> <b>PERIOPERATIVE TREATMENT OF HIGH RISK ELDERLY PATIENT WITH HIP</b> <b>FRACTURE: A CASE REPORT</b> Темелковска Стевановска Марина, Ачковски Петар, Талеска Гордана и Костов Христијан.....	119
--	-----

### V. Varia

<b>18-ТИ КОНГРЕС НА ЛЕКАРИТЕ НА РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА</b> Проф. д-р Јован Тофоски.....	123
--	-----

**СПАСУВАЈКИ ГИ ДЕЦАТА ГРАДИМЕ ПОУБАВА ИДНИНА**

**5-ти конгрес на педијатрите на Македонија со интернационално учество**

Д-р сци. Александар Сајковски..... 125

**ПРВ МАКЕДОНСКИ КОНГРЕС НА ПАТОЛОЗИ СО МЕЃУНАРОДНО УЧЕСТВО**

Проф. д-р Нели Башеска, Проф. д-р Весна Јаневска, Проф. д-р Гордана

Петрушевска..... 127

**V. Ератум**

**МАКЕДОНСКИ РЕНАЛЕН РЕГИСТАР: 2002-2008**

**MACEDONIAN RENAL REGISTRY: 2002-2008**

Проф. д-р Стојчева-Танева Оливера..... 129



## IMMUNE CELLS AND CYTOKINES AT THE MATERNAL-FETAL INTERFACE

### ИМУНИТЕ КЛЕТКИ И ЦИТОКИНИТЕ ВО ФЕТАЛНО-МАЈЧИНИОТ ИНТЕРФЕЈС

Dominovic Marin and Rukavina Daniel

Department of Physiology and Immunology, Medical Faculty, University of Rijeka, Rijeka, Croatia

#### Abstract

During the pregnancy implanted semi-allogenic embryo is protected from the maternal immune response. To maintain this benefit and for successful outcome of normal pregnancy it is crucial to achieve fine balance between proinflammatory (Th1) and the anti-inflammatory (Th2) cytokines. Immune responses in the uterus are determined mainly via antigen-presenting cells (APCs).

The vast majority of immunocompetent cells at the fetal-maternal interface are natural killer (NK) cells, T cells ( $\gamma\delta$  mostly) and macrophages. NK cells and activated T cells can induce apoptosis in target cells. One of the mechanisms of inducing apoptosis is granule exocytosis, containing granulysin and perforin, present in the granules of human NK cells and activated cytotoxic T cells.

**Key words:** pregnancy, balance Th1/Th2, T lymphocytes, NK cells, granulysin, perforin

#### Апстракт

За време на бременоста имплантираниот полу-алогенски ембрион е заштитен од имуниот одговор на мајката. За да се одржи овој бенефит и заради успешен исход на нормалната бременост, многу е важно да се постигне добра рамнотежа меѓу проинфламаторните (Th1) и антиинфламаторните (Th2) цитокини. Имуниот одговор во утерусот главно се одредува преку антиген-презентирачките клетки (АПСЦ). Огромното мноштво имунокомпетентни клетки во фетално-мајчиниот интерфејс се природните клетки (НК) убијци, Т-клетките (главно  $\gamma\delta$ ) и макрофагите. НК-клетките и активираниите Т-клетки може да предизвикаат апоптоза во целните ткива. Еден од механизмите за поттикнување апоптоза е екзоцитозата на гранулите, вклучувајќи ги гранулизинот и перфориноот, присутни во гранулите на човечките/хуманите НК-клетки и активираниите цитотоксични Т-клетки.

**Клучни зборови:** бременост, рамнотежа, Т-

лимфоцити, НК клетки, гранулизин, перфорин

#### Introduction

Uterus is considered as immunologically privileged site for implanted semi-allogenic embryo. This was described for the first time in 1953. by Peter Medawar in his pioneer work: "Some immunological and endocrine problems raised by evolution of viviparity in vertebrates". Medawar proposed three hypotheses as explanation for tolerance of semi-allogenic embryo: physical separation of fetal and maternal tissue, immunological immaturity of the fetus and immunological tolerance of the maternal immune system [1]. In order for implantation to be successful it is essential to establish sensitive cytokine and hormonal balance and specific tissue transformation, therefore uterine mucosa is heavily infiltrated by maternal immunocompetent cells [2,3]. The vast majority of immunocompetent cells at the fetal-maternal interface are natural killer (NK) cells, T cells ( $\gamma\delta$  mostly) and macrophages. Decidual leukocytes are comprised of maximum 80% of NK cells, around 10% of T cells and 20% of macrophages [3-6]. Leukocytes in human decidua are predominantly located around glands (73%), while the rest are around blood vessels (17%) and between the stromal cells [7-10].

#### Th1/Th2 balance and the delicate role of APCs

During the pregnancy implanted semi-allogenic embryo is protected from the maternal immune response [11]. To achieve this benefit and for successful outcome of normal pregnancy it is crucial to achieve fine balance between proinflammatory (Th1) and the anti-inflammatory (Th2) cytokines.

During the peri-implantation period Th1 cytokine production is predominant, after that period during the whole process Th2 cytokines will become predominant. Th1 cytokines (IL-2, TNF- $\alpha$ , IL-12, IFN- $\gamma$ ) have been shown to raise the abortion rate, while Th2 cytokines (IL-3, IL-4, IL-10) seem to be pregnancy protective [12-14]. However this view on this subject is too simple. For instance, Th2-type cytokines IL-4 and IL-10 are not indispensable for maternal-fetal tolerance [15]. In so called "classical" view of Th1/Th2 balance at maternal-fetal interface the abortion rates correlates with NK activation [3].

However T cell- and NK cell- depleted mice have a smaller placenta, placental growth defects and defective uterine arteries transformation. To avoid these kinds of defects, IFN- $\gamma$ , IL-15 and IL-12 and IL-18 are indispensable [3,16]. Obviously NK cells and Th1 cytokine pathway are not exclusively "destructive", or like Gerard Chaouat would say: "NK cells are not bad guys".

In addition IL-18 is pro-inflammatory cytokine which has great influence on NK cells and CD8-positive T cells by up-regulating cytolytic molecule perforin and death receptor Fas molecules on their surface [17,18]. Some authors consider that Th1/Th2 concept should be broadened with M1/M2 concept, in which decidual macrophages under given conditions and upon activation express pro-inflammatory or anti-inflammatory cytokines with their standard effects at the maternal-fetal interface [19].

There are some new ideas of broadening the Th1/Th2 paradigm with new elements: Th3, regulatory Tr1. Th3 cells regulate Th1 cell rejection by producing immunosuppressive transforming growth factor (TGF) - $\beta$ , while Tr1 cells produce IL-10 [20].

Immune responses in the uterus are determined mainly via antigen-presenting cells (APCs) [21]. The most potent APCs are dendritic cells (DCs), also referred as "professional" APCs, involved in the initiation and maintaining of effective immune responses, humoral- or cell-mediated [22,23]. DCs of the pregnant human uterine mucosa are important for primary immune responses and may also be important for the induction of immunological tolerance and regulation of some types of T cell-mediated immune responses [21]. DCs influence trophoblast cells and uterine immune cells (macrophages, NK cells and lymphocytes) by cytokines, which contribute to implantation of the embryo, development of the placenta and survival of the fetus [12].

Therefore DCs can produce cytokines and stimulate "naive" T cells. If DCs produce anti-inflammatory cytokines like IL-10 under stimulation from trophoblasts, NK cells or macrophages, they will induce Th2 pathway which will promote the induction of tolerance at the maternal -fetal interface [21]. This type of DCs are derived from the lymphoid lineage and their phenotype is CD11-negative, CD13-negative, CD33-negative, and CD123-positive [24]. In the state of producing pro-inflammatory cytokines like IL-12 under the presence of TNF-producing macrophages or CD40L, they will stimulate T cells and shift balance to the Th1 pathway [21]. This subset of DCs originated from myeloid lineage and their markers are CD11, CD13 and CD33. Their action will result in the apoptosis of trophoblast cells [24]. Also the maturity of DCs is important factor for promoting immunity or tolerance. Therefore immature DCs (CD83-negative) are efficient in antigen uptake and presentation, while mature DCs (CD83-positive) have high capacity to proliferate "naive" T cells [25].

### *The role of T cells*

As already mentioned, the products of Th1 response are pro-inflammatory cytokines; IL-2, IL-12, TNF, IFN- $\gamma$ . They are crucial part of cell-mediated immunity. Their influence on cytotoxic T cells and NK cells is tremendous. Human CD4-positive T cells can be classified by their pattern of cytokine production. Type 1 CD4-positive T cells, also known as Th1, produce IL-2, TNF- $\beta$  and IFN- $\gamma$ . They are the main effectors of phagocyte-mediated host defense. This kind of defense is active against intracellular parasites [26]. Another subset of CD4-positive T cells is known as type 2 or Th2. Their products are IL-4, IL-5, IL-13, IL-10 and they are effectors of phagocyte-independent host defense. IL-4 stimulates IgE and IgG1 antibody production and influence on development of LIF- (leukemia inhibitory factor) producing T cells. IL-5 promotes growth and differentiation of eosinophils, while IL-13 and IL-10 together with IL-4 inhibit some macrophages and Th1 T cell functions [26].

Another key T cell subset, crucial for maternal tolerance to the fetus and immunoregulation are CD4-positive CD25<sup>bright</sup> regulatory T cells (T regs). They produce IL-10 and TGF- $\beta$  and modulate APCs. Their markers of expression are CD25, transcription factor forkheadbox protein-3 (Foxp3) and cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4 (CTLA-4), although these markers are not specific enough because activated T cells express the same markers. In pregnancy the level of decidual CD4-positive CD25<sup>bright</sup> is increased, even to three times the level in peripheral blood [20,27].

Rejection of fetal allograft is promoted by the direct contact of trophoblast with macrophages, DCs and T cells. This mechanism starts with recognition of paternal MHC antigens by DCs or macrophages, although some T cells recognize allograft directly. Afterwards effector T cells are activated and start to produce cytokines. For the process of allograft rejection, CD4-positive and CD8-positive T cells are essential [26,28].

For the induction and maintenance of allograft tolerance the key is the proper production of Th2 cytokines. During the tolerance, the expression of IL-4 and IL-10 is increased, while the expression of IL-2 and IFN- $\gamma$  is decreased. So the success of pregnancy in human, in the simplistic way, is in the proper production of IL-4, IL-10 and M-CSF (macrophage colony stimulating factor). Defect of production of these cytokines at the maternal-fetal interface, together with defect of LIF (leukemia inhibitory factor) could be found in unexplained recurrent abortion, but there is no decreased production in peripheral blood. Possible "bad guys" for this decrement of production could be the molecules expressed or produced by trophoblast or progesterone [26]. Interestingly there is no increased production of IFN- $\gamma$  in unexplained recurrent abortion as could have been expected [26,29].

### **The two-way game of NK cells**

Another cells of interest at the maternal-fetal interface are NK cells. They as well have effector and immunoregulatory function and they are distinct from the peripheral NK cells in around 200 markers [15]. In the human peripheral blood exists two major subsets of NK cells: CD56<sup>low (dim)</sup> CD16<sup>high</sup> cells which are cytotoxic NK cells and CD56<sup>high (bright)</sup> CD16<sup>low</sup> which have immunoregulatory properties [25]. Decidualization of human endometrium is directly associated with massive recruitment of CD56<sup>bright</sup> CD16-negative NK cells [30].

Uterine NK cells accumulate as single cells or aggregates around endometrial glands and vessels. Robert Fauve termed an interesting phenomenon-immunorepulsion. At the place of the future decidua basalis, in the stage of adhesion, the number of uterine NK cells is growing while local T cells and macrophages are going away from that site [15].

Proliferation of uterine NK cells is under control of estrogen and progesterone and their function is to influence on mucosal vascularization by encirclement of the spiral arteries and production of angiogenic factors-VEGF (vascular endothelial growth factor), PGF (placental growth factor) and angiopoietin 2, as well as regulation of trophoblast invasion [25]. Extravillous trophoblast cells express non-classical class I MHC molecules (HLA-G, HLA-E) and polymorphic classical class I molecule (HLA-C) on their surface. These molecules' functions are to regulate cytotoxic potential of decidual NK cells via their inhibitory receptors (ILT 2, CD94, KIRs) [17,30-32]. Le Bouteiller *et al.* even claim that uterine NK cells may not regulate the extravillous trophoblast invasion [33]. Another interesting idea of NK cell function was brought by Laskarin *et al.*, that NK cells can be activated to perform their cytotoxic activities against Th1-oriented T cells or DCs in perforin-, FasL- or TRAIL-mediated manner [34]. Functions of NK cells are regulated by activating and inhibitory receptors that specifically interact with MHC class I molecules. Usually NK cells are continuously inhibited by inhibitory killer Ig like receptors (inhibitory KIRs), inhibitory signals constantly override activating signals. But when proper self MHC is absent, the inhibition is over and the cell starts with lysis. Ligation of proper MHC I molecule could also induce the secretion of cytokines. At this point we must recall the delicate role of DCs [3]. Thus NK cell activation is activating signal override stimulated by the set of ligands expressed by target cells [35]. Cytokines IL-12, IL-15 and IL-18 are responsible for NK cell activation. IL-18 alone is a Th2 promoting cytokine, while in the presence of IL-12 and IL-15 becomes Th1 like cytokine and acts like stimulating factor for production of IFN- $\gamma$  by Th1 cells [36]. IL-21 also has similar role of inducing the proliferation and cytotoxicity of NK cells [37]. Interestingly NK cells in vitro are not cytotoxic, while upon stimulation with IL-2 they become active against tropho-

blast cells-lymphokine-activated killing (LAK) [17,30]. Thus in the moment of the NKG2D receptor activation on the NK cell, its signal is predominant over inhibitory signal, NK cell is activated and starts the destruction of the target cell. NKG2D ligands are mostly expressed on the surface of the tumor cells [35].

### **Cytolytic and apoptotic molecules**

NK cells and activated T cells can induce apoptosis in target cells. One of the mechanisms of inducing apoptosis is granule exocytosis, containing granulysin and perforin, present in the granules of human NK cells and activated cytotoxic T cells [38-41].

Granulysin is a cytolytic molecule highly expressed in human NK cells and activated, not resting cytolytic T cells, as well as in activated CD4-positive and CD8-positive T cells as well as human NKT cells. NK cells release granulysin very early, while activated T cells 3-5 days upon activation [42]. Granulysin is a member of saponin-like protein family. Its function is to induce apoptosis in target cells, included microbes and tumors [40,43]. Granulysin is often stored in cytolytic granules of NK and T-cells together with perforin and granzymes [40]. There are two forms of granulysin; 15 kDa precursor and active form of 9 kDa. Active form is stable form, while 15 kDa precursor is less stable and has shorter half life [40]. The mechanism of inducing apoptosis starts with binding to negatively charged phospholipids of target cells, while granulysin is positively charged [44]. Binding by forming clusters causes membrane disruption of target cell and generates ceramide via activation of sphingomyelinase in slow way or ion fluxes in the rapid way of inducing apoptosis. These processes result in mitochondrial damage and release of cytochrome C and apoptosis inducing factor (AIF). The next step is caspases releasing and activation of endonucleases which finally results in chromosome breakdown [40,44-46].

Granulysin is chemoattractant for monocytes, NK cells, CD4-positive and CD8-positive, memory, but not naive T cells and for mature monocyte-derived DCs [40]. Both granulysin isoforms induce functional and phenotypical maturation of monocyte-derived DCs [47]. Recent findings by Tewary *et al.* suggest the role of granulysin as alarmin and it is said to be the first lymphocyte-derived protein capable of APCs recruitment [47].

Granulysin is often coendocytosed with perforin in order helping to neutralize intracellular pathogens [30]. To this data no specific granulysin receptor has been found [43]. Progression of cancer is associated with significantly decreased granulysin level in peripheral NK cells and decrease in number of NK cells, while the level of perforin is not changed in comparison to healthy control [48]. Another important factor for inducing apoptosis is perforin. Perforin is calcium-dependent pore forming protein with function to deliver granzymes and granulysin into the target cell. Simplified way to describe a function

of perforin is a formation a membrane pore (5-20 nm) through which granzymes pass into the target cell [39]. Yet even a definition and sizes of pores is questionable. Some authors quote that size of the pores is 16 nm [49]. It is still unclear does perforin create well-defined pores of fixed size or does create pores of varying sizes depending on its concentration [39]. There is an interesting issue about perforin storage inside cytotoxic cell and mechanisms which protect the cell from its own protein. When synthesized, perforin most probably binds to calreticulin, an inhibitor which binds free calcium. In that state perforin is inactive [50]. Acidic pH (5,1-5,4) of cytolytic granules where perforin is stored makes perforin inactive but maintains its stability. Finally to become active perforin needs cysteine protease [39].

Perforin-induced apoptosis is very peculiar process. Perforin uses target cell "wound healing response". Sublytic perforin makes pores in membrane and delivers granzymes (family of serine proteases) to target cell. The rise of cytolytic calcium activates target cell's defensive mechanism in which intracellular vesicles donate their membrane to save the cell. Finally the membrane is restored but the granzymes are already inside the target cell. These granzymes induce a slow process of apoptosis—a controlled death of the cell by inducing fragmentation of DNA [39,43]. Together with perforin are stored at least three types of granzymes-A, B and H [51]. In humans are also expressed granzymes K and M. Granzymes induce apoptosis via caspase-dependent or caspase-independent pathways [31]. It seems that perforin is *conditio sine qua non* for the release of granzyme B [51]. Other way for perforin to perform is to cause osmotic instability that will eventually end in cell lysis by necrosis. The advantage of apoptosis is that cells which died in this controlled way are much more rapidly recognized by macrophages and removed [43]—a nature's clever way of getting rid of harmful things.

Granzymes are a lethal weapon of NK cells and cytotoxic T lymphocytes and in early pregnancy decidua is highly expressed in NK cells.

At maternal-fetal interface granzymes have several functions. First is to protect fetus and mother from pathogens like viruses and bacteria [40]. Next function is the protection from semiallograft trophoblast cells in the case of its hyperactivation. This tumoricidal activity leads to spontaneous pregnancy termination due to induction of apoptosis of extravillous trophoblast. Recently discovered, granzymes have potential to recruit APCs and promote antigen-specific immune responses [47].

The number of granzyme-positive NK cells is significantly higher during spontaneous abortions compared to normal pregnancy, while the number of granzyme-B- and perforin-positive cells did not change [52]. During spontaneous abortion expression of granzymes was found in the nuclei of the extravillous trophoblast cells and the apoptosis of extravillous trophoblast correlates with the granzyme transfer from CD56<sup>bright</sup> NK cells [52].

Granzymes are also found in the endothelial cells of uterine spiral arteries and may have influence on its differentiation [53].

Perforin content in decidua is higher than in any other tissue. Number of 95% of all decidual CD56<sup>bright</sup> cells expressing perforin is really amazing [54]. Similar to perforin, granzymes are significantly more expressed in decidual lymphocytes compared to peripheral blood lymphocytes and over 85% of decidual CD56-positive cells express granzymes [42]. It is thought to be that progesterone controls the granzyme expression in decidua [30]. In the population of decidual lymphocytes progesterone down-regulates perforin expression, directly or via PIBF [30]. IL-15 up-regulates perforin expression on the protein and mRNA level and it is considered to be its main regulator [17]. IL-15 expression is also under up-regulating role of IL-10 [55].

NK cells as well can kill pathogens via tumor necrosis factor death receptor family members-Fas/FasL cytolytic pathway, which results in classical caspase-dependent apoptosis [56]. Apoptosis can be achieved either by intrinsic or extrinsic pathway. Fas receptor is expressed in many different cells, including T and B cells. In the down-regulation phase of the immune system ligation of FasL to its Fas receptor on the activated T cells results in their apoptotic death [57]. The tumor-suppressor gene p53 plays a pivotal role in Fas/Fas L-mediated cell death. Loss or change in p53's activity leads to cancer [43]. FasL is stored in intracellular granules of T and NK cells. Upon the activation of these cells, FasL can be exocytosed [17,43]. Th1 cytokines (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) promote Fas expression on trophoblast, while Th2 cytokines (IL-6, IL-10) promotes the resistance of trophoblast cells to Fas-mediated apoptosis by the inhibition of caspase-8 via FLICE-like inhibitory protein (FLIP) [17,30].

Expression of FasL is most probably protective mechanism against lytic action of decidual immune cells. It is interesting that FasL in the human placental cytotrophoblast does not activate apoptosis. Reason of this anomaly is unclear as well as exact role of Fas/FasL system during the pregnancy [43].

## Conclusion

Interactions on fetal-maternal interface are yet to be fully clarified because of its complex nature. All immunocompetent cells at the fetal-maternal interface interact with each other, thus it is hard to elucidate the complex network among them. The molecule of granzyme is good example of complexity and specificity of the maternal-fetal interface. Granzyme in NK cells was considered for a long time as cytolytic molecule only, however its alarmin role was shown and important role in activating antigen-specific immunity.

It is essential to implement these and future findings to treat various disorders during pregnancy. This is just a short view on the immune relations at the fetal-mater-



nal interface. The big science journey is in front of scientists all around the world. The challenge is still great and remains ever since Medawar's pioneer days.

**Acknowledgement:** This work was financed by Croatian Ministry of Science, grant No. 0620402-0376 to Dr. D. Rukavina.

**Conflict of interest statement.** None declared.

## References

1. Medawar PB. Some immunological and endocrine problems raised by evolution of viviparity in vertebrates. *Symp Soc Exp Biol* 1953; 7:320-38.
2. Veljkovic Vujaklija D, Mulac-Jericevic B, Laskarin G, et al. Immunoregulation by cytolytic pathways, mucins and progesterone at fetal-maternal interface. *Advances in Neuroimmune Biology* 1 2011; 1-10 DOI 10.3233/NIB-2011-018.
3. Chaouat G. Implantation: An introduction to the course. In: D. Rukavina, G. Chaouat, editors. Embryo implantation: from basics to clinics" Proceedings of the First EMBIC Summer School, handbook. University of Rijeka, Rijeka. 2006; 11-20.
4. Rukavina D, Rubesa G, Gudelj L, Podack ER. Human decidua lymphocytes: phenotype, perforin expression and function. *Reg Immunol* 1994; 6: 320-5.
5. Haller H, Tedesco F, Rukavina D, et al. Decidual -trophoblast interactions: decidual lymphoid cell populations in basal and parietal decidua. *Reprod Immunol* 1995; 28: 165-71.
6. Moffet-King A. Natural killer cells and pregnancy. *Nat Rev Immunol* 2002; 2(9): 656-63.
7. Mincheva-Nilsson L, Baranov V, Mo-Wai Yeung M, et al. Immunomorphologic studies of human decidua-associated lymphoid cells in normal early pregnancy. *J Immunol* 1994; 152: 2020-5.
8. Mincheva-Nilsson L, Hammarstrom S, Hammarstrom M. Human decidua leukocytes from early pregnancy contain high number of  $\gamma\delta$  cells and show elective down-regulation of aloreactivity. *J Immunol* 1992; 149: 2203-11.
9. Lanier LL. Unusual lymphocytes -  $\gamma\delta$  T cells and NK cells. *Immunologist* 1995; 3: 182-8.
10. Heyborne KD, Cranfill RL, Carding SR, et al. Characterization of  $\gamma\delta$  T lymphocytes at the materno-fetal interface. *J Immunol* 1992; 149: 2872-8.
11. Juretic K, Strbo N, Bogovic Crncic T, et al. An insight into the dendritic cells at the maternal-fetal interface. *AJRI* 2004; 52:350-5.
12. Blois SM, Kammerer U, Alba Soto C, et al. Dendritic cells: Key to fetal tolerance? *Biology of Reproduction* 2007; 77:590-8.
13. Raghupathy R, Makhseed M, Azizieh F, et al. Cytokine production by maternal lymphocytes during normal human pregnancy and unexplained recurrent spontaneous abortion. *Hum Reprod* 2000; 15:713-8.
14. Rukavina D, Vince G. Roles of cytokines and immune cells at the interface - a workshop report, Placenta 2000; 21 Suppl A: 97-8.
15. Chaouat G, Zourbas S, Ostojic S, et al. A brief review of recent data on some cytokine expressions at the materno-foetal interface which might challenge the classical Th1/ Th2 dichotomy. *J Reprod Immunol* 2002; 53: 241-56.
16. Croy BA, Esadeg S, Chantakru S, et al. Updates on pathway regulating the activation of uterine Natural Killer cells, their interactions with decidual spiral arteries and homing of their precursors to the uterus. *J Reprod Immunol* 2003; 59(2): 175-91.
17. Bogovic Crncic T, Laskarin G, Juretic K, et al. Perforin and Fas/ FasL cytolytic pathways at the maternal-fetal interface. *Am J Reprod Immunol* 2005; 54: 241-8.
18. Laskarin G, Strbo N, Bogovic Crncic T, et al. Physiological role of IL-15 and IL-18 at the maternal-fetal interface. *Chem Immunol Allergy* 2005; 54: 241-8.
19. Sedlmayr P. Concepts of feto-maternal tolerance. In: D. Rukavina, G. Chaouat, editors. Embryo implantation: from basics to clinics" Proceedings of the First EMBIC Summer School, handbook. University of Rijeka, Rijeka. 2006; 147-53.
20. Saito S, Shiozaki A, Sasaki Y, et al. Regulatory T cells and regulatory natural killer (NK) cells can play important roles in feto-maternal tolerance. *Semin Immunopathol* 2007; 29(2): 115-22.
21. Laskarin G, Kammerer U, Rukavina D, Thomson AW. Antigen-presenting cells and materno-fetal tolerance: An emerging role for dendritic cells. *AJRI* 2007; 58:255-67.
22. Rissoan MC, Soumelis V, Kadowaki N, et al. Reciprocal control of T-helper cell and dendritic cells differentiation. *Science* 1999; 283:1183-6.
23. Kuntz-Crow MK, Kunkel HG. Human dendritic cells: major stimulators of the autologous and allogeneic mixed leukocyte reactions. *Clin Exp Immunol* 1982; 49:338-46.
24. Miyazaki S, Tsuda H, Sakai M, et al. Predominance of Th-2 promoting dendritic cells in early human pregnancy decidua. *J Leukoc Biol* 2003; 74(4): 514-22.
25. Lutz M, Schuler G. Immature, semi-immature and fully mature dendritic cells: which signals induce tolerance or immunity? *Trends in Immunol* 2002; 23: 445-9.
26. Piccini M-P. Role of T cells in pregnancy. In: D. Rukavina, G. Chaouat, editors. Embryo implantation: from basics to clinics" Proceedings of the First EMBIC Summer School, handbook. University of Rijeka, Rijeka. 2006; 113-7.
27. Tilburgs T, Claas FHJ, Scherjon SA. Elsevier trophoblast research award lecture: Unique properties of decidual T cells and their role in immuno regulation during human pregnancy. *Placenta* 2010; 31 Suppl: S 82-6.
28. Strom TB, Roy-Chaudhury P, Manfro R, et al. The Th1/ Th2 paradigm and allograft response. *Curr Opin Immunol* 1996; 8: 688-93.
29. Piccini M-P, Beloni L, Livi C, et al. Defective production of both leukemia inhibitory factor and type 2 T-helper cytokines by decidual T cells in unexplained recurrent abortions. *Nat Med* 1998; 4: 1020-4.
30. Veljkovic Vujaklija D, Sucic S, Gulic T, et al. Cell death mechanisms at the maternal-fetal interface: Insight into the role of granulysin. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 180-272.
31. Chavez-Galan L, Arenas-Del Angel MC et al. Cell death mechanisms induced by cytotoxic lymphocytes. *Cell Mol Immunol* 2009; 6(1): 15-25.
32. Laskarin G, Redzovic A, Medancic SS, Rukavina D. Regulation of NK cell function by mucins via antigen-presenting cells. *Med Hypotheses* 2010; 75: 541-3.
33. Le Boutellier P, Piccinni M-P. Human NK cells in pregnant uterus: Why there? *Am J Reprod Immunol* 2008 May; 59(5): 401-6.
34. Laskarin G, Redzovic A, Rubesa Z, et al. Decidual natural killer cell tuning by autologous dendritic cells. *Am J Reprod Immunol* 2008; 59(5): 433-45.
35. Santoni A, Gismondi A. NK cells, recognition, migration and functions. In: D. Rukavina, G. Chaouat, editors. Embryo implantation: from basics to clinics" Proceedings of the First EMBIC Summer School, handbook. University of Rijeka, Rijeka. 2006; 83-93.
36. Ledee N, Dubanchet S, Lombroso R, et al. Uterine receptivity and cytokines in human. In: D. Rukavina, G. Chaouat, editors. Embryo implantation: from basics to clinics" Proceedings of the First EMBIC Summer School, handbook. University of Rijeka, Rijeka. 2006; 21-9.
37. Smyth MJ, Cretney E, Kelly JM, et al. Activation of NK cell cytotoxicity. *Mol Immunol* 2005; 42(4): 501-10.
38. Krensky AM, Clayberger C. Granulysin. A novel host defence molecule. *AJRI* 2005; 5: 1789-92.
39. Pipkin ME, Lieberman J. Delivering the kiss of death: progression on understanding how perforin works. *Curr Opin Immunol* 2007; 19: 301-9.
40. Clayberger C, Krensky AM. Granulysin. *Curr Opin Immunol* 2003; 15: 560-5.
41. Obata-Onai A, Hashimoto S, Onai N, et al. Comprehensive gene expression analysis of human NK cells and CD8(+) T lymphocytes. *Int Immunol* 2002; 14:1085-98.
42. Veljkovic DV, Gulic T, Sucic S, et al. First trimester pregnancy decidua natural killer cells contain and spontaneously release high quantities of granulysin. *Am J Reprod Immunol* 2011; 66: 363-72.
43. Srsen Medancic S, Juretic Frankovic K, Veljkovic D, et al. Cytolytic and apoptotic signaling pathways at the maternal-fetal interface. In: D. Rukavina, G. Chaouat, editors. Embryo implantation: from basics to clinics" Proceedings of the First EMBIC Summer School, handbook. University of Rijeka, Rijeka. 2006; 119-30.
44. Kaspar AA, Okada S, Kumar J, et al. A distinct pathway of cell-mediated apoptosis initiated by granulysin. *J Immunol* 2001; 16: 350-6.
45. Okada S, Li Q, Within JC, et al. Intracellular mediators of granulysin-induced cell death. *J Immunol* 2003; 171: 2556-62.
46. Clayberger C. Cytolytic molecules in rejection. *Curr Opin Org Transplan* 2009; 14:30-3.

47. Tewary P, Yang D, de la Rosa G, *et al.* Granulysin activates antigen-presenting cells through TLR4 and acts as immune alarmin. *Blood* 2010; 116: 3465-74.
48. Kishi A, Takamori Y, Ogawa K, *et al.* Differential expression of granulysin and perforin by NK cells in cancer patients and correlation of impaired granulysin expression with progression of cancer. *Cancer Immunol immunother* 2002; 50: 604-14.
49. Lowin B, Peitsch MC, Tshopp J. Perforin and granzymes: crucial effector molecules in cytotoxic T lymphocyte and natural killer cell - mediated cytotoxicity. *Curr Top Microbiol Immunol* 1995; 198: 1-24.
50. Dupuis M, Schaerer E, Krause KH, Tschopp J. The calcium binding protein calreticulin is a major constituent of lytic granules in cytotoxic T lymphocytes. *J Exp Med* 1993; 177: 1-7.
51. Motyka B, Korbitt G, Pinkoski MJ, *et al.* Mannose 6-phosphate /insulin-like growth factor II receptor is a death receptor for granzyme B during cytotoxic T cell induced apoptosis. *Cell* 2000; 103: 491-500.
52. Nakashima A, Shiozaki A, Myojo S, *et al.* Granulysin produced by uterine natural killer cells induces apoptosis of extravillous trophoblasts in spontaneous abortion. *Am J Pathol* 2008; Vol. 173: No.3: 653-64.
53. Langer N, Beach D, Lindenbau ES. Novel hyperactive mitogen to endothelial cells: human decidual NKG5. *Am J Reprod Immunol* 1999; 42(5): 263-72.
54. Rukavina D, Rubesa G, Gudelj L, *et al.* Characteristics of perforin expressing lymphocytes within the first trimester decidua of human pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1995; 33: 394-404.
55. Rukavina D, Podack ER. Abundant perforin expression at the maternal-fetal interface: Guarding the semiallogenic transplant?. *Immunol Today* 2000; 21(4): 160-3.
56. Nagata S, Golstein P. The Fas death factor. *Science* 1995; 267: 1449-56.
57. Peter ME, Legembre P, Barnhart BC. Does CD95 have tumor promoting activities? *Biochim Biophys Acta* 2005; 1755(1): 25-36.

Editorial comment

## DIABETES IN CHILDHOOD - CURRENT AVENUES OF RESEARCH

### ДИЈАБЕТЕС ВО ДЕТСТВОТО - АКТУЕЛНОСТИ ВО ИСТРАЖУВАЊАТА

Mirjana Kocova

University Pediatric Clinic, Division of Endocrinology and Genetics Faculty of Medicine, University "Sts. Cyril and Methodius" of Skopje, Republic of Macedonia

#### Abstract

Significant changes in the diagnosis, management, classification, and molecular understanding of diabetes in children have occurred during the last two decades. New insights into genetic and epigenetic components contributing to diabetes as well as the new immunological insights have substantially changed our knowledge about diabetes. Detection of gene mutations leading to diabetes changed the classification and therapeutic approach. Immunological research provided insight into the pathogenesis of the disease. New standards for the metabolic control have been introduced. Therapy based on insulin pumps usage accompanied by continuous glucose monitoring traces new path towards closing the loop and imitating the islet cell function. Quality of life is incorporated as a standard of satisfactory treatment. This review will address some of these break-through achievements in childhood diabetology including the Macedonian experience.

**Key words:** diabetes, childhood, insulin pumps, continuous glucose monitoring

#### Апстракт

Во текот на последниве две децении се случија значајни промени во дијагностиката, контролата, класификацијата и молекуларните познавања на дијабетот во детската возраст. Новите сознанија за генетските и епигенетските компоненти кои придонесуваат за појавата на дијабет како и новите имунолошки сознанија значајно го изменија нашето познавање на дијабетот. Откривањето на генските мутации кои водат кон дијабет ја измени класификацијата и терапискиот приод кон болеста. Имунолошките истражувања дадоа увид во патогенезата на болеста. Воведени се нови стандарди за метаболичка контрола. Од друга страна, терапијата преку инсулински пумпи придружена со континуиран мони-

торинг на гликемијата ја трасира патеката кон "затворање на кругот", односно имитирање на функцијата на  $\beta$  клетките на панкреасот. Квалитетот на животот на пациентите со дијабет стана стандард за задоволителна контрола. Овој ревијален труд ќе се осврне на некои од овие иновативни достигнувања во детската дијабетологија, вклучувајќи го и македонското искуство во овој домен.

**Клучни зборови:** Diabet, detstvo, insulinski pumpi, kontinuiran glukozen monitoring

#### Introduction

Type 1 diabetes is the third most prevalent severe chronic disease of childhood after asthma and mental retardation, affecting 0.5-1% of the general population during the life-span and 10-20 million people globally. In the United States alone, an estimated 123.000 children and 1.4 million adults have type 1 diabetes. Annually, at least 60.000 children are diagnosed worldwide, including 12.000 in the United States [1].

Diabetes is a chronic hyperglycemia that causes many other metabolic disorders in children. It can appear in newborns (neonatal diabetes), through infancy and preschool age, reaching peak incidence during puberty. The incidence of the disease ranges between 9/100.000 in Eastern European countries and 60/100.000 in Finland. In Macedonia, the incidence of diabetes is among the lowest in Caucasians and the 25-year survey showed an overall incidence of 4.58/100.000 [2-4]. Many studies analyzed the differences in incidence; however, only the average yearly temperatures and infections are confirmed as contributing factors. Our previous study comparing Macedonian and Finish children showed slight genetic differences of the HLA haplotype distribution [5]. Classical autoimmune type 1 diabetes is still the most common form of the disease in childhood. However, it has been elucidated that diabetes has "many faces" in the young age. Major advances have been reached in the genetic delineation of different forms of diabetes, especially in the youngest age. The heterogeneity of the presentation, age, and variety of treatments in different forms of the disease are under clinical and laboratory investigation.

Recent advance in the therapy including insulin analogues and insulin pumps has decreased and postponed significantly the complications of diabetes, and has improved the quality of life. Insulin analogues as well as the new technical devices improve acceptance of intensive treatment even in the youngest children and in the most problematic families.

This review will shed light on the contemporary knowledge and research in the field of diabetes in childhood, including some data from our research in the Republic of Macedonia.

### Incidence

Diabetes has significant variation in incidence in the world (Figure 1) [2-7]. Our participation in the EURODIAB study confirmed the low incidence of diabetes in Macedonia compared to the other countries [3,8]. This study also confirmed the high incidence in Nordic countries with by far the highest incidence in Finland. Further analysis showed the association of GDP with the incidence [9]. In all countries incidence has increased twofold during the last 20 years and is leveling off thereafter. The

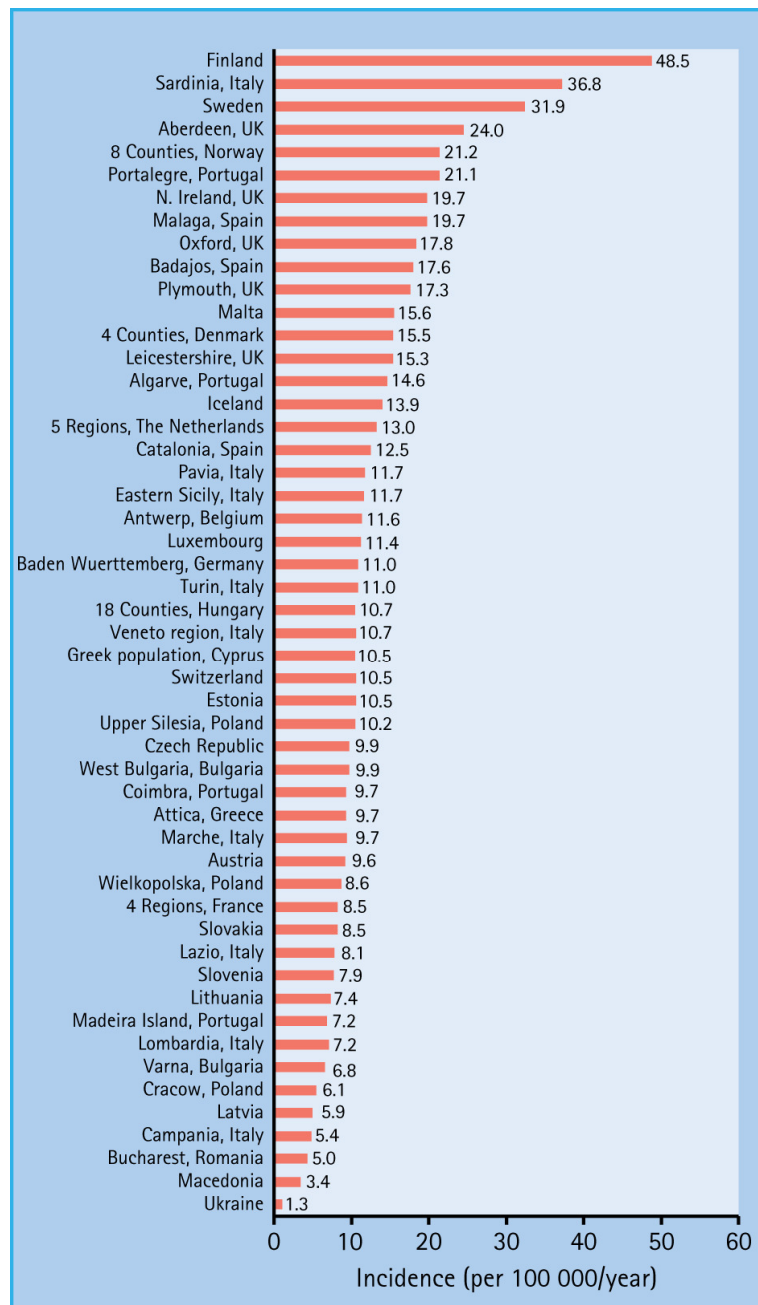


Fig. 1. Incidence of diabetes type 1 in children <14 years of age, EURODIAB study

only age group where the incidence is still rising is the youngest: 0-4 years. A similar trend has been confirmed in Macedonia [4]. Despite the large amount of research

conducted on incidence of diabetes, there are no firm data to explain the reason for the variable incidence.

## Genetics and immunology

It is well-known that the type 1 diabetes, the most common form in childhood, is caused by the genetic susceptibility caused by the alleles located in the DRII and DQB region of the HLA histocompatibility system. There are susceptible and protective haplotypes conferring susceptibility or resistance to type 1 diabetes. Similarly as in other studies, our study confirmed that among the disease associated haplotypes the most common was HLA-(DR3)-DQA1\*05-DQB1\*02, but several DRB1\*04-DQB1\*0302 haplotypes were also increased among patients. DRB1\*0402 was the most common DR4 allele among them. The high frequency of protective (DR11/12)-DQA1\*05-DQB1\*0301 and (DR14)-DQB1\*0503 haplotypes as well as of neutral (DR1/10)-DQB1\*0501 and (DR16)-DQB1\*0502 haplotypes were characteristic for the Macedonian population [11]. However, although a relatively low frequency of predisposing and a high frequency of protective haplotypes was detected, the haplotype frequency distribution did not markedly differ from that reported from other Eastern Mediterranean populations and these differences cannot be the sole explanation for the low disease incidence in Macedonia [5].

Destruction of the  $\beta$  cells is a result of the immunological reaction involving autoantibodies against islet cells engaging host T and B lymphocyte populations [12-16]. Immunological response to the anti-islet antibodies (islet cells anticytoplasmic antibodies-ICA, antiglutamic acid decarboxylase-GAD65, insulin antibodies-IAA, and the protein tyrosine phosphatase-related IA-2 molecule (IA-2A) showed different percentages of positivity and number of antibodies among the Macedonian and Finish population. Although the total percentage of antibodies in newly diagnosed children is not significantly different (97.9% versus 94.9%), significant difference exists between subgroups IAA (48.5% versus 37.7%) and IA-A2 (85.9% versus 68.0%) respectively (unpublished data). However, even this difference cannot solve the problem of more than a 10-fold difference in the diabetes incidence between Macedonia and Finland, for e.g. the lowest and the highest DM1 incidence in the Caucasian population.

Many different agents have been blamed as triggers of the autoimmune process (cow milk given early in infancy, certain infections, etc.) [17]. However, more research is necessary to elucidate the possibilities to prevent or disrupt the autoimmune process.

## Classification

It has become clear that diabetes in children is not a homogenous disease. Most of the pediatric diabetologists have wondered over years about the different response of diabetic children to insulin therapy, different severity of the disease, different stability and proneness to ketoacidosis and different outcome despite the similar

metabolic control. Genetics of the diabetes in childhood is a major research field over the last 20 years.

## Neonatal diabetes

Major genetic breakthrough has occurred in the neonatal diabetes. Neonatal diabetes appears within the first 6 months after birth, most frequently within the first 2 months of life. It is a severe disease, usually presents with ketoacidosis, and the treatment with insulin is very difficult. Molecular analysis performed by Haterrslay A. and his group has confirmed strong association with Kir 6.2 mutation responsible for the malfunction of the potassium channel of the  $\beta$  cell [18]. This dominant mutation causes depolarization of the  $\beta$  cell membrane and impossibility for the insulin to exit the cell and travel to the bloodstream. A heterozygous child will have the disease. The newborn produces insulin; however, it can not function. Therapy with insulin corrects the hypoinulinemia, although fine control is almost impossible. Sulfonylurea causes opening of the potassium channel, reverts the process, and the insulinemia normalizes, as well as the glycemic control. This was the first tablet therapy in childhood diabetes, and several studies confirmed that regulation using tablets is better (not mentioning the convenience) compared with the application of insulin [18]. We have tried the sulfonylurea therapy in one of our patients with neonatal diabetes and it improved immediately. This patient is unique since he carries the Kir 6.2 (V59M variant) mutation causing mental delay, but probably due to the early treatment he is perfectly normal at the age of 4 years.

Several other mutations located at the short arm of the chromosome 6 induce transient diabetes in the newborn. It might disappear during childhood and appear again later. This form is still extensively studied [19]. For the insulin production, the normal function of the insulin gene located on chromosome 11p15.5, is necessary. The first study of children with insulin gene deletions was published in 2008 including one of our patients conferring diabetes at the age of 6 months. This form of diabetes appears early, during the first year of life; immunologically it is GAD negative, and it is treated with insulin [20].

## MODY

Maturity onset diabetes of the young is characteristic monogenic form of diabetes that affects approximately 5% of all cases of diabetes. Six forms of MODY (MODY 1 to MODY 6) appear in young non-obese individuals and are caused by a dominantly inherited loss of function mutations in one of six defined genes (Table 1). Genetic testing for these mutations is available, and different appropriate treatments could be applied. These patients are negative for antibodies, diabetes is dominantly transferred from generation to generation, and

usually a parent of a diabetic child has diabetes. However, clinical diagnosis of MODY is sometimes difficult. It often remains undetected for years since the classical symptoms of diabetes develop very gradually. MODY is usually detected as increased fasting hyperglycemia, and it rarely causes ketosis. Evolution leads to progressive failure of the islet cell function and usual compli-

cations of diabetes thereafter. MODY 1, 3 and 4 respond very well to oral sulfonylurea. MODY 2 (glucokinase deficiency) usually does not require treatment with medications; changes in lifestyle and exercise might prevent complications. If patients are overweight, weight loss might improve hyperglycemia. However, many MODY children are still treated only with insulin [21].

**Table 1.** Gene mutations causing different types of maturity onset diabetes in the young (MODY).

<b>MODY subtype</b>	<b>Affected gene</b>	<b>Affected protein</b>	<b>Prevalence in the US and Europe</b>
MODY1	HNF4A	Hepatocyte nuclear factor 1	Uncommon
MODY2	GCK	Glucokinase	Common
MODY3	TCF1	Hepatic nuclear factor 1 $\beta$	Most common
MODY4	IPF1	Insulin promotor factor 1	Uncommon
MODY5	TCF2	Hepatic nuclear factor 1 $\beta$	Uncommon
MODY6	NEUROD1	Neurogeni differentiation factor	Very rare

### *Type 2 diabetes*

Type 2 diabetes mostly appears as a complication of childhood obesity. Ketoacidosis at the onset is rare (only 5%). No typical symptoms of diabetes are present, but the family history reveals high incidence of type 2 diabetes in the family. Glycosuria and hyperglycemia are usually detected when the work-up of obesity is performed. Acanthosis nigricans is frequently present. This form of diabetes appears most frequently in families with poor lifestyle and lower socioeconomic level, who consume energy-rich food, and do not exercise. Most of the newly diagnosed children are in the pubertal age group. Modern sedentary style with hours spent in front of the TV set or computers contributes significantly to the increasing number of type 2 diabetes in children of certain countries. The black population in the USA is specifically affected by this form of diabetes due to the level of obesity. About 0.4% of all US 12-19 year-olds (NHANES III study) have type 2 diabetes, 1.4% of 12-19 year-old Navajo Native Americans and 5.1% of 15-19 year-old Pima Native Americans [22]. On the other hand, in Japan, where type 1 diabetes is very rare, type 2 diabetes has increased two-fold among teenagers in a 20-year period. The problem is also frequent in Asia and there is a rising prevalence [23]. In the Hispanic society in America, in some states, the type 2 diabetes affects 45% of the population. The risk of complications of type 2 diabetes in children is extremely high. Some studies revealed that 36% of Pima Indian children with type 2 diabetes had incipient retinopathy at diagnosis, and 22% of Japanese children with type 2 diabetes had microalbuminuria at diagnosis [24]. Treatment of type 2 diabetes in children includes change of the lifestyle (diet and exercise), metformin as an insulin sensitizer, and insulin if the normoglycemia cannot be achieved.

### *Syndromic diabetes*

Several rare syndromes are accompanied by diabetes such as Alstrom syndrome, Wolfram syndrome, Prader-Willi syndrome etc [25].

### *Diagnostic approach*

Hyperglycemia as a milestone for the diagnosis of diabetes is not sufficient to design precise and effective treatment in a child with diabetes. Assessment of antibodies at the onset might help to separate ICA negative patients. These patients can belong to the group of monogenic diabetes. Diabetes that appears during the first 6 months of life should be a subject of molecular analysis. Excluding MODY sometimes is not easy, since the family history is not always present, and the molecular analysis, when available, is still expensive. Due to some newer recommendations for the specific therapy in different types of MODY, it is advisable to perform this analysis [26].

### *Therapy*

Significant advances in the treatment and avoiding complications of childhood diabetes have been achieved during the last decades not only by using new insulin analogues and insulin pumps, but also by changing the philosophical approach towards the targets of metabolic control [27-30].

International Hvidovre Study Group, where Macedonia is a member, confirmed that the lower targets for glycated hemoglobin are settled from the onset of the disease, better metabolic control will be achieved later on [31]. The major "mistake" in the previous years was that it was considered impossible to reach HbA1c of 7% in a young child or adolescent without a risk of hypoglycemia. Considerable experience has confirmed that achi-

eving the low HbA1c targets is possible even in the most difficult to manage groups and that the rate of hypoglycemia actually decreases with the low target. Adequate metabolic control can be achieved only by tailoring the treatment according to individual patients food habits, physical activity, and daily routine [32,33].

Insulin analogues have improved glycemic control, and they are applied in even earlier ages, starting at the age of 2 years. Basal dose of long-acting analogue combined with short-acting analogue boluses before meals maintains glycemia in an acceptable range even in young children or adolescents [28- 30,34].

### ***Insulin pumps***

Insulin pumps have further improved the glycemic control in many children with diabetes. They have many advantages, especially in the youngest age group and in brittle adolescent diabetes. Wealthy countries can afford applying insulin pumps to all children with diabetes, even in the newly diagnosed. On the other hand, some others are still cautious and use pumps in only strict indications such as: 1. Youngest age group where diabetes is better controlled with a pump, 2. Frequent hypoglycemia, especially during the night, 3. Unstable diabetes despite frequent doses and measurements. In general, the advantages of insulin pumps are as follows: 1. Basal bolus is delivered during the 24 hours according to the needs of the particular patient, which is not possible with the standard intensive therapy; 2. The insulin set is applied twice a week avoiding daily injections; 3. Boluses are delivered without needle in accordance with the food intake (counting carbohydrates), enabling optimal glycemic control and offering possibility for "free" diet and party snacks. In children with many snacks during a day it is of utmost importance; 4. Therapy could be reprogrammed during sick days or holidays, improving the metabolic control [30].

However, for some children there are disadvantages: 1. Extensive education is needed, which is not always well accepted, especially in adolescents; 2. Pump is carried all the time, through the day and night; 3. Some girls do not like carrying the pump especially during summer when it is visible during their holidays at the beach. 4. Need of multiple blood glucose measurements even when the continuous measuring is applied; 5. Price is still high, thus the children living in economically challenged countries are disadvantaged; 6. Burden to the health system, since the insulin pumps need a special maintenance team with frequent contacts and consultations that increase the health costs tremendously.

Recent achievements in the technical development of pumps provide many advantages, such as alarms to alert about overnight hypoglycemia, connection to a wireless continuous measurement, electronic transfer of the data to the physician's office etc. The most recent advance is a large investment for "closing the loop", i.e.

the 24-hour measurement and the insulin delivery are integrated and function independently as an artificial pancreas (when glycemia starts rising, the system delivers calculated amount of insulin without interference of the patient).

However, many problems with this system still remain to be elucidated and solved [35].

### ***Prevention and cure***

Several approaches have been used in the past in order to prevent the  $\beta$  cell destruction by autoimmune process. Immunosuppression and immunomodulation using cyclosporin, avoiding use of cow's milk in infants and pregnant women, or insulin prophylaxis in individuals with high risk of type 1 diabetes have been explored [36-39].

At this time there is no way to prevent type 1 diabetes and all preventive therapies are investigative. Risk for type 1 diabetes can be detected during the stage of ICA positivity; however, the evolution of diabetes will continue, and the therapy will not be changed [40].

There is ongoing research aiming to develop other approaches that might, in time, even be curative. The basis for nearly all experimental measures for prevention and treatment of type 1 diabetes is stabilization of  $\beta$  cells. Feeding children with hydrolisates of human milk in order to avoid autoimmunity did not give expected results [38,39]. Anti GAD immunization is still under investigation. Han *et al.* investigated whether adeno-associated virus (AAV) gene delivery of multiple immunodominant epitopes expressing GAD<sub>500-585</sub> could induce potent immune tolerance and persistently suppress autoimmune diabetes in NOD mice. These data indicate that transferring autoantigen peptide GAD<sub>500-585</sub> can induce immunological tolerance through active suppression of effector T cells and prevent type 1 diabetes in NOD mice [41]. Immune intervention study group continues immune intervention research in the early stage of the disease [42,43].

Islet cells transplantation has been tried in children, however, no spectacular results have been achieved, and insulin therapy continues.

Investigation of the stem cells therapy is still in a very early experimental stage [44].

Despite many disappointments, it is still believed that combination of immune intervention, protection of the beta cells, and stimulation of regeneration may lead to a milder disease or even a cure in the future, and prevention is no longer unrealistic. On the other hand, technical achievements will provide successful therapy that will be much easier to apply for the child and the family and will provide life without microvascular complications.

### ***Quality of life***

The misperception that giving intensive therapy worsens significantly the quality of life of the child and

the family has changed. Quality of life in children is a milestone for a good metabolic control and vice versa. It is considered as a new target of treatment of childhood type 1 diabetes. Hvidoere International Study Group has conducted several studies confirming that better control by using more intensive treatments leads to optimal glycemic control, and hence it improves the quality of life, the health perception as well as decreases worries for the patients and their parents. This also includes patients from the Republic of Macedonia [45]. After revealing these results we have changed our approach towards children with diabetes, we have lowered the target for optimal control, and intensified the therapy even in the youngest age group. The effects of these changes during the last 5 years are now under analysis.

### Research

Many study groups have been involved in the research of different aspects of diabetes (epidemiology, immunology, therapy, prevention). Through joint efforts and increased number of patients for studies, a large database has been collected, providing precise conclusions. We participated in EURODIAB study group and Hvidoere study group. The Hvidoere Study Group on childhood diabetes consists of pediatric diabetologists and endocrinologists from 17 different countries from Europe, Asia, USA and Australia. The strength of this group is the variety of countries from all continents. Studies so far have confirmed that despite application of consistent consensus guidelines and similarities of the diabetology teams, the glycemic control of children is still different in different centers. Several important findings and conclusions of this group are: 1. The target for glycemic control should be set low from the onset of the disease; 2. The quality of life is better in the well-controlled children; 3. Philosophical approach of the whole team is important for the achieved control; 4. Family routine influences the metabolic control [12-14,26, 31-33,45].

### Conclusion

Diabetes in children is in the focus of clinical and basic research. Significant advance has been made in the classification of different forms of the disease. Genetic analysis has separated several new entities with implications on therapy. In general, better metabolic control and clinical outcomes have been achieved, and new avenues of research are opened.

The replacement of  $\beta$  cells, preservation of the residual  $\beta$  cell function, and investigation of additional treatment options, raise hope for a cure and prevention of childhood diabetes in the future.

*Conflict of interest statement.* None declared.

### References

1. Rewers M, Klingensmith G. Prevention of type 1 diabetes. *Diabetes Spectrum* 1997; 10 (4): 282-92.
2. Soltesz G. Worldwide childhood type 1 diabetes epidemiology. *Diabetes* 2010; 59(9): 2281.
3. Kocova M, Trucco M, Konstantinova M, Dorman JS. A cold spot for IDDM incidence in Europe. Macedonia. *Diabetes Care* 1993; 16(9): 1236-40.
4. Kocova M, Sukarova-Angelovska E, Angelkova N, Kojic Lj. Cold spot for diabetes incidence in Europe 25 years follow up. *Pediatr Diabetes* 2010; 11(Suppl 14): 1-120.
5. Ilonen J, Kocova M, Lipponen K, et al. HLA-DR-DQ haplotypes and type 1 diabetes in Macedonia. *Hum Immunol* 2009; 70(6): 461-3.
6. Bruno G, Maule M, Merletti F, et al. RIDI Study Group. Age-period-cohort analysis of 1990-2003 incidence time trends of childhood diabetes in Italy: the RIDI study. *Diabetes Technol Ther* 2010; 12 Suppl 1: S67-71.
7. Karvonen M, Viik-Kajander M, et al. for Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. Incidence of Childhood Type 1 Diabetes Worldwide. *Diabetes Care* 2000; 23:1516-1526.
8. Soltesz G, Patterson CC, Dahlquist G; EURODIAB Study Group. Worldwide childhood type 1 diabetes incidence--what can we learn from epidemiology? *Pediatr Diabetes* 2007; 8 Suppl 6: 6-14.
9. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyurus E, et al. EURODIAB Study Group. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. *Lancet* 2009; 13: 373 (9680): 2027-33.
10. Bizzarri C, Patera PI, Arnaldi C, et al. Immunotherapy Diabetes (IMDIAB) Group. Incidence of type 1 diabetes has doubled in Rome and the Lazio region in the 0- to 14-year age-group: a 6-year prospective study (2004-2009). *Diabetes Care* 2010; 33(11): e140. *Transl Res* 2010; 156(3): 169-79.
11. Kocova M, Blagoevska M, Konstantinova M, et al. HLA class II molecular typing in an European Slavic population with a low incidence of insulin-dependent diabetes mellitus. *Tissue Antigens* 1995; 45: 216-9.
12. Mortensen H, Swift P, Holl RW, et al. Multinational study in children and adolescents with newly diagnosed Type 1 diabetes: Association of age ketoacidosis, HLA Status and autoantibodies on residual beta-cell function and glycemic control 12 months after diagnosis. Hvidoere Study Group on Childhood Diabetes. *Pediatr Diabetes* 2010; 11: 218-26.
13. Kaas A, Pflieger C, Hansen L, et al., on behalf of the Hvidoere Study Group on Childhood Diabetes. Association of adiponectin, interleukin (Il)-1ra, inducible protein 10, Il6 and number of islet autoantibodies with progression patterns of type 1 diabetes the first year after diagnosis. *Clin Exp Immunol* 2010; 161: 444-52.
14. Porksen S, Bjerke-Laborie L, Nielsen L, et al. Disease progression and search for monogenic diabetes among children with new onset type 1 diabetes negative for ICA, GAD and IA2 antibodies. *BMC Endocr Disord* 2010; 23: 10(1): 16-26.
15. Lipton RB, Kocova M, LaPorte RE, et al. Autoimmunity and genetics contribute to the risk of insulin-dependent diabetes mellitus in families: islet cell antibodies and HLA DQ heterodimers. *Am J Epidemiol* 1992; 136(5): 503-12.
16. Rewers M, Bugawan TL, Norris JM, et al. Newborn screening for HLA markers associated with IDDM: Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *Diabetologia* 1996; 39: 807-12.
17. Norris JM, Beaty B, Klingensmith G, et al. Lack of association between early exposure to cow's milk protein and beta-cell autoimmunity: Diabetes Autoimmunity Study in the Young. *JAMA* 1996; 276: 609-14.
18. Edghill EL, Flanagan SE, Patch AM, et al. Neonatal diabetes International Collaborative Group, Hattersley AT, Ellard S. Insulin mutation screening in 1044 patients with diabetes: mutations in the INS gene are common cause of neonatal diabetes but a rare cause of diabetes diagnosed in childhood. *Diabetes* 2008; 57(4): 1034-42.
19. Aguilar-Bryan L, Bryan J. Neonatal Diabetes Mellitus. *Endocr Rev* 2008; 29(3): 265-91.
20. Stoy J, Edghill EL, Flanagan SE, et al. for the Neonatal Diabetes International Group. Insulin gene mutations as a cause of permanent neonatal diabetes. *PNAS* 2007; 104(38): 15040-4.



21. Fajans SS, Bell GI, Polonsky KS. Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *N Engl J Med* 2001; 345: 971-80.
22. Fagot-Campagna A. Emergence of type 2 diabetes mellitus in children: epidemiological evidence. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000; 13 Suppl 6: 1395-402.
23. Cockram CS. Diabetes mellitus: perspective from the Asia-Pacific region. *Diabetes Res Clin Pract* 2000; 50 Suppl 2: S3-7.
24. Libman I, Arslanian S. Type 2 diabetes in childhood: the American perspective. *Horm Res* 2003; 59 Suppl 1: 69-76.
25. Kocova M, Sukarova-Angelovska E, Kacarska R, et al. The unique combination of Dermatological and Ocular Phenotype in Alstrom Syndrome: Severe Presentation, Early onset and Two Novel ALMS1 Mutations. *Br J Dermatol* 2011; 164(4): 878-80.
26. Porksen S, Nielsen L, Kaas A, Kocova M, et al., Hvidoere Study Group on Childhood Diabetes. Meal-Stimulated Glucagon Release Is Associated with Postprandial Blood Glucose Level and Does Not Interfere with Glycemic Control in Children and Adolescents with New-Onset Type 1 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metabol (JCEM)* nedostasuva godina 92(8): 2910-6.
27. Michael W, Steffes MD, PHD1, Shalamar Sibley, et al. PHD3  $\beta$ -Cell Function and the Development of Diabetes-Related Complications in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care* 2003; 26(3): 832-6.
28. Mortensen H, Kocova M, Teng LY, et al. Biphasic insulin aspart vs human insulin in adolescents with type 1 diabetes on multiple daily insulin injections. *Pediatr Diabetes* 2006; 7: 4-10.
29. Garg S, Ampudia-Blasco FJ, Pfohl M. Rapid-acting insulin analogues in Basal-bolus regimens in type 1 diabetes mellitus. *Endocr Pract* 2010; 16(3): 486-505.
30. Fuld K, Conrad B, Buckingham B, Wilson DM. Insulin pumps in young children. *Diabetes Technol Ther* 2010; 12 Suppl 1: S67-71.
31. Swift PGF, Skinner TC, deBeaufort CE, et al. for the Hidoere Study Group on Childhood Diabetes Target setting in Intensive Insulin Management is Associated with Metabolic Control: the Hvidoere Scildhood Diabetes Study Group Centre Differences Study 2005. *Pediatr Diabetes* 2010; 11: 271-8.
32. Hoey H. Psychosocial factors are associated with metabolic control in adolescents: research from the Hvidoere Study Group on Childhood Diabetes. *Pediatr Diabetes* 2009; 10 Suppl 13: 9-14.
33. Aman J, Skinner TC, de Beaufort CE, et al. Hvidoere Study group on Childhood Diabetes. Association between physical activity, sedentary behavior, and glycemic control in a large cohort of adolescents with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes* 2009; 10(4): 234-9.
34. Holl RW, Swift PG, Mortensen HB, et al. Insulin injection regimens and metabolic control in an international survey of adolescents with type 1 diabetes over 3 years: results from the Hvidoere study group. *Eur J Pediatr* 2003; 162(1): 22-9.
35. Wilinska ME, Budiman ES, Taub MB, et al. Overnight closed-loop insulin delivery with model predictive control: assessment of hypoglycemia and hyperglycemia risk using simulation studies. *J Diabetes Sci Technol* 2009; 3(5): 1109-20.
36. Lipton R, LaPorte RE, Becker DJ, et al. Cyclosporin therapy for prevention and cure of IDDM: epidemiological perspective of benefits and risks. *Diabetes Care* 1990; 13: 776-84.
37. Mahon JL, Dupre J, Stiller CR, Donner AP. Immunosuppression in IDDM: rationale, risks, benefits, and strategies. *Diabetes Care* 1990; 13: 806-8.
38. Akerblom HK, Savilahti E, Saukkonen TT, et al. The case for elimination of cow's milk in early pregnancy in the prevention of type 1 diabetes: the Finnish experience. *Diabetes Metab Rev* 1993; 9: 269-78.
39. Akerblom HK, Krischer J, Virtanen SM, et al. The Trial to Reduce IDDM in the Genetically at Risk (TRIGR) study: recruitment, intervention and follow-up. *Diabetologia* 2011; 54(3): 627-33.
40. Keller RJ, Eisenbarth GS, Jackson RA. Insulin prophylaxis in individuals at high risk of type 1 diabetes. *Lancet* 1993; 341: 927-8.
41. Han G, Li Y, Jwang J, et al. Active Tolerance Induction and Prevention of Autoimmune Diabetes by Immunogene Therapy Using Recombinant Adenoassociated Virus Expressing Glutamic Acid Decarboxylase 65 Peptide GAD<sub>500-585</sub>. *J Immunol* 2005; 174: 4516-24.
42. Ludvigsson J. Linköping Diabetes Immune Intervention study group. Immune intervention in children with type 1 diabetes. *Curr Diab Rep* 2010; 10(5): 370-9.
43. Dirlwanger M, Hauschild M, Phan-Hug F, Schwitzgebel VM. Current and future care for diabetes in children: from insulin to immunotherapy. *Rev Med Suisse* 2011; 7(283): 430-6.
44. Wagner RT, Lewis J, Cooney A, Chan L. Stem cell approaches for the treatment of type 1 diabetes mellitus. *Endocrinol Nutr* 2009; 56 Suppl 4: 53-5.
45. Hoey H, Aanstoot HJ, Chiarelli F, et al. Good metabolic control is associated with better quality of life in 2,101 adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24(11): 1923-8.

Ревизијален систематски труд

## БУБРЕЖНА ЗАМЕСТИТЕЛНА ТЕРАПИЈА ВО УСЛОВИ НА КРИЗА

### RENAL REPLACEMENT THERAPY IN CRISIS CONDITION

Дејанов Петар<sup>1</sup>, Дејанова Бети<sup>2</sup>, Ончевски Ангел<sup>1</sup>, Масин-Спасовска Јелка<sup>1</sup>, Стојчева-Танева Оливера<sup>1</sup> и Спасовски Гоце<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ЈЗУ Универзитетска клиника за нефрологија, <sup>2</sup>Институт за физиологија, Медицински факултет, Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Скопје, Република Македонија

#### Апстракт

Организацијата на лекувањето на бубрежните болни со бубрежна заместителна терапија (БЗТ) претставува предизвик за развиените земји како и за земјите во развој. Цел на овој ревијален труд е да се направи анализа на веќе објавените резултати од искуствата во повеќе земји. Притоа, користени се податоците од повеќе медицински списанија како и извештаи од Светската здравствена организација.

Увидено е дека постои зависност на БЗТ од бруто националниот приход, но и дека трансплантацијата (Т) е најзастапена во развиените земји. Во периодот на општествено-економска транзиција во земјите на централна и источна Европа се забележани значајни промени во организацијата на здравствениот систем и во организацијата на БЗТ. Забележан е пораст на центрите за БЗТ и тоа, за хемодијализа (ХД) за 2 пати, а за перитонеална дијализа (ПД) за 4 пати. Од друга страна пак, особено во Балтичките земји, за лекување на бубрежните болни видлив е порастот на центрите на Т. Овој приоритет за Т е карактеристичен и за други земји како што се Чешка, Словенија, Хрватска, итн. При споредување на успехот од БЗТ, утврдено е дека инфекциите се почести кај пациентите на ХД, а подолго преживување е карактеристично за пациентите на ПД. Во Македонија, најзастапен облик на БЗТ е ХД, а артерио-венските фистули се највообичаен облик на васкуларен пристап. Според анализата на објавените резултати при општествено-економски транзиции, економска криза, природни катастрофи и други кризни состојби, БЗТ претставува сериозна тема на која треба да се посвети особено внимание во здравствениот систем. Разбирливо е дека нејзин приоритет е Т, ПД и домашната ХД со што би се намалила стапка-

та на морбидитет и морталитет кај бубрежните болни со видна економска оправданост.

**Клучни зборови:** бубрежна заместителна терапија, хемодијализа, перитонеална дијализа, трансплантација, кризни состојби

---

#### Abstract

Renal replacement therapy (RRT) management in renal disease patients is a challenge for developed countries as well as for developing countries. The aim of the study was to analyse the already published results based on experiences from many countries. The data derived from many medical journals and reports of the World Health Organization were used. There is GDP influence on RRT, and transplantation (T) is most common in developed countries. In the period of socioeconomic transition, significant changes in the health system management as well as in RRT for Central and East European countries have been noticed. There has been an increased number of RRT units, a twofold increase for hemodialysis units (HD) and fourfold for peritoneal dialysis (PD). On the other hand, an increased number of T-units for renal disease patients has been noticed in the Baltic countries. This priority for T is also characteristic for other countries, including Czech Republic, Slovenia, Croatia, etc. By comparing the RRT outcome, it has been found that infections are more frequent in HD, and longer survival in PD. The most used type of RRT in Macedonia is HD, and arterio-venous fistula is the most frequent type of vascular access. According to the published data, during social economy transition, economy crisis, natural disasters and other crisis conditions, RRT is a serious item, which has to be particularly addressed within the health system. Its priority is T, PD and home HD in order to decrease morbidity and mortality in renal disease patients with obvious finance efficiency.

**Key words:** renal replacement therapy, hemodialysis, peritoneal dialysis, transplantation, crisis condition

---

## Вовед

Бубрежната заместителна терапија (БЗТ) ја сочинуваат хемодијализата (ХД) и нејзините модалитети, перитонеалната дијализа (ПД) и трансплантацијата (Т) како најдобар модалитет според сите светски стандардни и препораки.

Бројот на пациенти на дијализа во светот секојдневно расте. Во 1990 година имало 426.000, а во 2010 година 2.500.000 болни на дијализа, од кои 80% се од високо развиените земји како САД, Европа, Јапонија, Австралија и Нов Зеланд. Во неразвиените земји, мал процент од бубрежните болни се опфатени со некој вид на БЗТ. Во Јужна Африка со дијализно лекување се опфатени околу 50% од бубрежните болни, а само 10% во Индија и Пакистан [1,2]. Во почетокот на деведесеттите години во источноевропските земји, болните над 60-годишна возраст и тие со дијабет не биле вклучувани на хроничен дијализен програм [3,4].

Сè поголемата потреба за БЗТ се должи на постојаниот пораст на болни со дијабет, хипертензија и зголемениот животен век. Во САД, болните со дијабет и хипертензија претставуваат 75% од болните со терминална бубрежна слабост (ТБС). Денес, околу 50.000.000 болни се со хипертензија, 28.000.000 болни со дијабет, а 26.000.000 имаат хронична бубрежна слабост [2]. Од вкупниот бруто национален приход (БНП) за здравствена заштита во САД се одвојува 14% [5]. За БЗТ во САД за 2010 година се потрошени над 29 милијарди долари. Се предвидува дека во светот во 2030 година ќе има 366.000.000 болни со дијабет [5]. Во Мексико бројот на болните на дијализа пораснал од 23.000 во 2000 година на 70.000 во 2010 година [6]. Трансплантацијата и понатаму е метод кој нуди најдобри резултати, бидејќи болните со трансплантиран бубрег имаат подобар квалитет на живот, поголема работоспособност и поголема економска оправданост од болните на дијализа [2].

Се предвидува дека инциденцата на хипертензијата и дијабетот ќе расте и во наредните декади. Лекувањето со БЗТ е мошне скапо, така што здравствениот систем во развиените земји, а уште повеќе во земјите во развој се соочува со економски тешкотии [7].

Последните случувања на природни катастрофи со поплавите во Австралија, земјотресите, цунамито и радијацијата во Јапонија, економската криза во европските земји како Грција, Португалија и Ирска се предизвик за здравствениот систем и со намалени материјални средства, односно и при нарушена инфраструктура да ги згрижува и да ги лекува бубрежните болни. Има земји кои во одредени ситуации успеа-

ле да овозможат соодветно лекување за овој тип болни. Денес, успешни се примерите за организација на Т во Велика Британија, Чешка [4], балтичките земји [8], Коста Рика [2] или организација на ПД во балтичките земји [8], Полска [9], Чешка [6], Мексико [6]. Но, постојат и држави кои не успеале да ја организираат БЗТ во услови на економска и општествена транзиција како што се Романија [10] и Албанија [11].

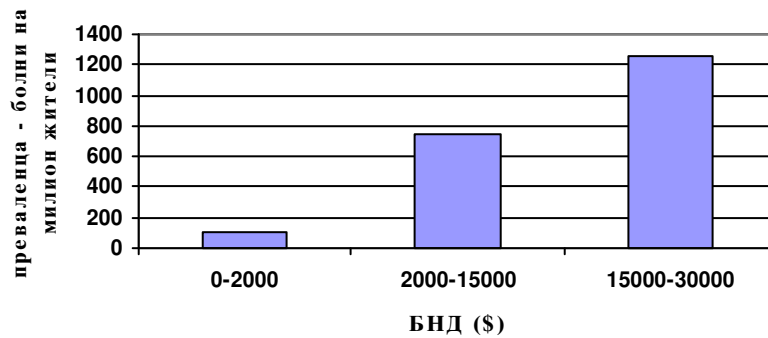
Цел на овој ревијален труд е да се прикажат резултатите од анализата за организацијата при лекување на бубрежните болни со БЗТ во развиените земји, во земјите во развој како и во кризни состојби.

## Материјал и методи

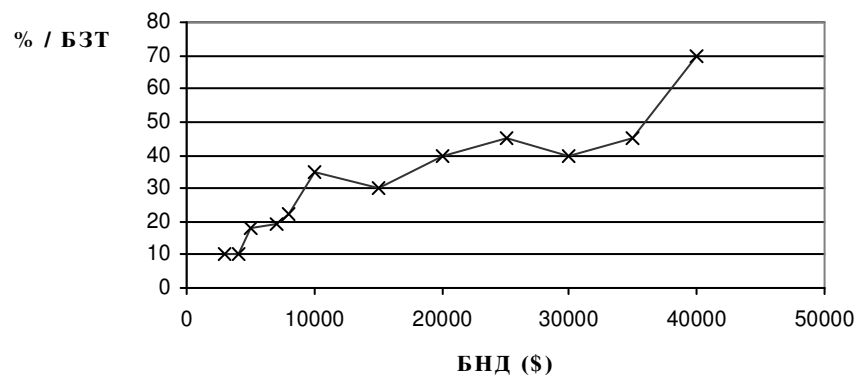
Користени се податоци од објавените трудови на Medline, како и од извештаите на Светската здравствена организација од ова област. Анализирани се трудови пред сè од реномирани нефролошки списанија како *Nephrology*, *Dialysis and Transplantation* 1997, 1998 и 2004, *Kidney International* 2002, *International Journal of Artificial Organs* 2002, *Transplant Proceedings* 2004, *Hemodialysis International* 2004, *New England Journal of Medicine* 2006, *Peritoneal Dialysis International* 2007, *Dialysis and Transplantation* 2010, *Therapeutic Apheresis and Dialysis* 2010, *Bosnian Journal of Basic Medicine Science* 2010, како и извештајот во билтенот на Светската здравствена организација од 2008 година. Покрај податоците за развиените земји, земјите во развој и земјите во општествено-економска транзиција, прикажани се и податоците за БЗТ во Република Македонија, и тоа податоци за васкуларни пристапи до 2002 година и за болните на дијализа до 2010 година.

## Резултати

На сликата 1 е прикажана директната зависност на бруто националниот приход и преваленцијата на болните на БЗТ на 1 милион жители, каде се забележува дека во земјите со понизок БНП, преваленцата на БЗТ е значително ниска (20 болни /1 милион жители). Со порастот на БНП, преваленцата расте до 1750 болни /1 милион жители [2]. На слика 2 е прикажана зависноста на БНП и процентот на трансплантирани болни од вкупниот број на болни на БЗТ. Притоа може да се забележи дека трансплантацијата е процентуално најзастапена во земјите со висок БНП. Но постојат и земји, како што се балтичките земји, Куба, Коста Рика во кои и покрај понискиот БНП процентот на трансплантирани болни е од 50-80% [2].



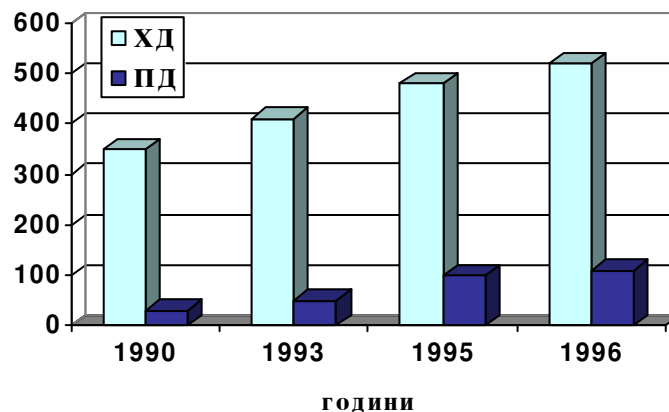
Сл. 1. Преваленца на болни на БЗТ во зависност од БНП (Bulletin of the WHO 2008)



Сл. 2. Процент на трансплантации од БЗТ во зависност од БНП (Bulletin of the WHO 2008)

Во земјите на централна и источна Европа, во периодот на транзиција на општествено-економскиот систем во деведесеттите години доаѓа до сериозни промени и во организацијата на здравствениот систем, т.е. до негово прилагодување во новите услови. На слика 3 е прикажан порас-

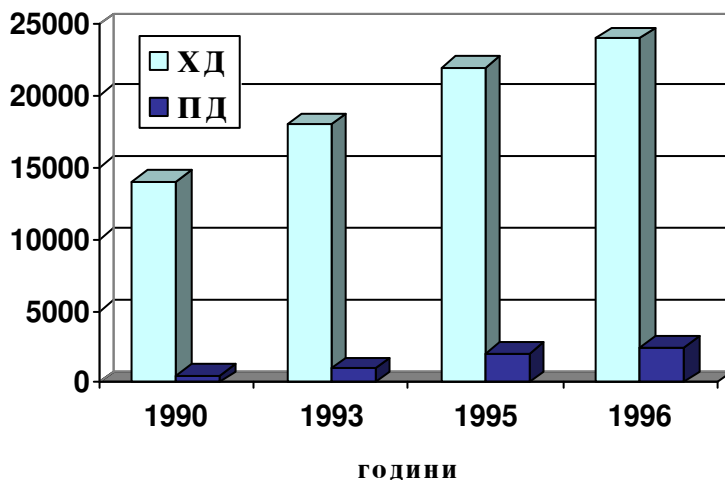
тот на бројот на центри за ХД и за ПД во периодот од 1990 до 1996 година, каде што може да се забележи дека бројот на центри за ХД се зголемил речиси за два пати, а бројот на центри за ПД за четири пати [9].



Сл. 3. Центри за ХД И за ПД во централна и источна Европа во периодот од 1990 до 1996 година (Nephrol Dial Transplant 1998)

Слично со прастот на бројот на центрите за БЗТ расте и бројот на пациенти на ХД и на ПД како

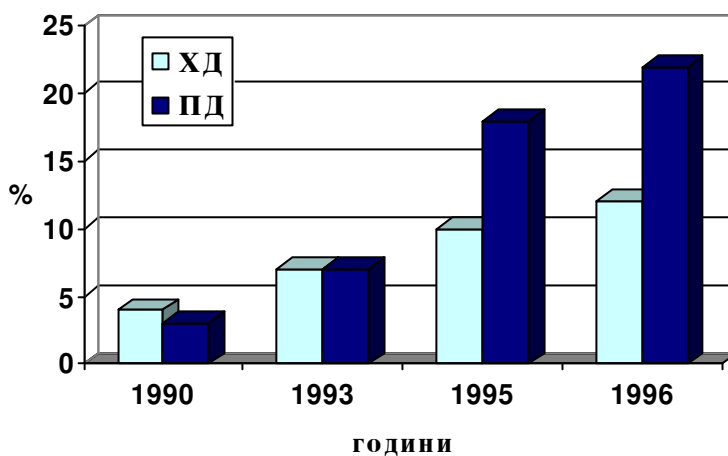
одраз на подобрата здравствена грижа и можностите на здравствениот систем - слика 4 [9].



Сл. 4. Порастот на бројот на пациенти на ХД и на ПД во периодот од 1990 до 1996 година (Nephrol Dial Transplant 1998)

Порастот на болните со дијабетична нефропатија лекувани со ХД и ПД во периодот од 1990 до 1996 година е прикажан на слика 5. Притоа се забележува дека порастот на процентот на бол-

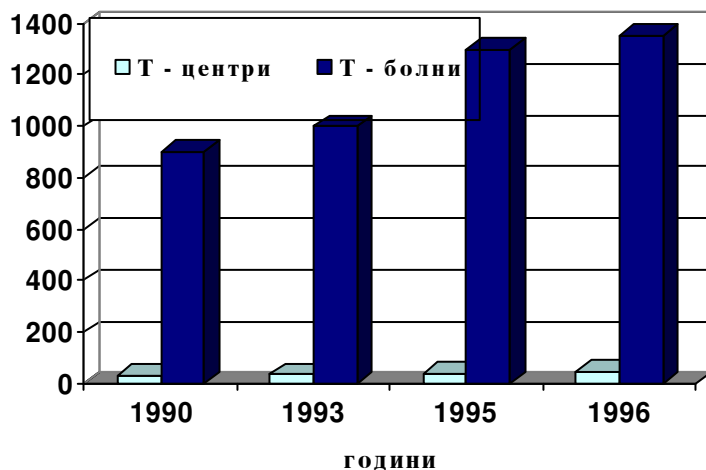
ните лекувани со ПД е од 2% на 22%, додека процентот на третирани болни со ХД не расте со истата динамика во овој период од 6 години [9].



Сл. 5. Лекување на болни со дијабетична нефропатија - значителен пораст на лекувани со ПД и умерен пораст на лекувани со ХД (Nephrol Dial Transplant 1998)

Набргу е увидено дека најдобриот тип на лекување со БЗТ е трансплантацијата, па така, паралелно со развојот и порастот на бројот на пациенти со другите типови на БЗТ расте и бројот на трансплантирани болни - слика 6 [9]. Сепак, како најмаркантен пример за организација на БЗТ во услови на транзиција се земаат

податоците добиени од Балтичките земји што се прикажани на табела 1. Видлива е намерата на овие земји да го решаваат лекувањето на бубрежните болни првенствено со трансплантација, потоа со ПД и на крајот со ХД, како најскап метод [8].



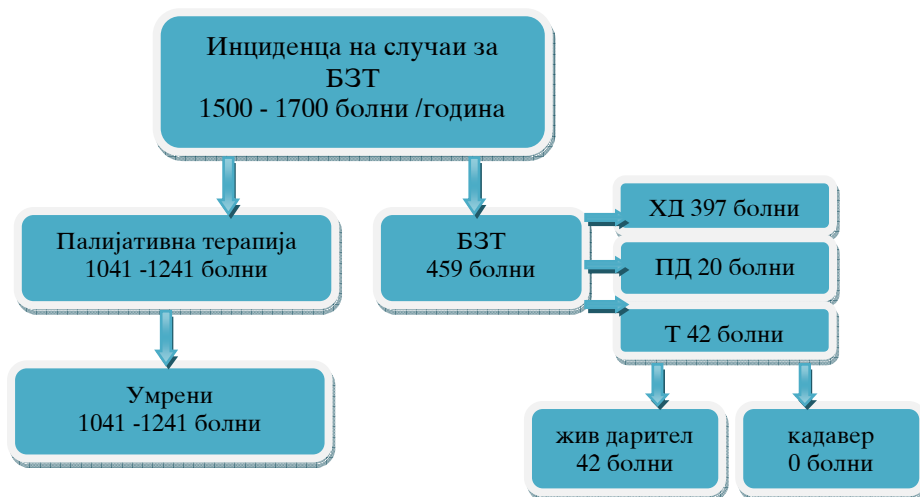
Сл. 6. Пораст на бројот на трансплантирани болни (Nephrol Dial Transplant 1998)

Табела 1. Организација на БЗТ во Балтичките земји (Nephrol Dial Transplant 1998)

Население	Пациенти на БЗТ			Број на пациенти				
	На еден милион	вкупно	центри	ХД	ХД	ПД	Т	
Естонија	1.5	151	227	5	24	40	57	130
Латвија	2.5	115	289	10	53	135	23	131
Литванија	3.7	175	633	16	115	335	16	282
						18%	25%	57%
						46%	8%	46%
						53%	2%	45%

На слика 7 е отсликана состојбата со организацијата на БЗТ во Романија каде што може да се забележи дека здравствениот систем во оваа земја во почетокот на деведесетите години можел да прифати приближно 1/4 од бубрежно бол-

ните на дијализа, а 3/4 биле само палијативно третирани. Од вкупно 459 болни на БЗТ, 42 биле трансплантирани, а 20 биле лекувани со ПД [10].



Сл. 7. БЗТ во Романија (Nephrol Dial Transplant 1997)

Резултатите од организацијата на БЗТ во Чешка, во периодот на транзиција и нивната споредба со резултатите на западноевропските земји се прикажани во табелата 2. Според тоа, во Чеш

ка, Италија, Франција, Германија, Англија, Словенија, Хрватска и балтичките земји, трансплантацијата е приоритет во лекувањето на бубрежните болни [4].

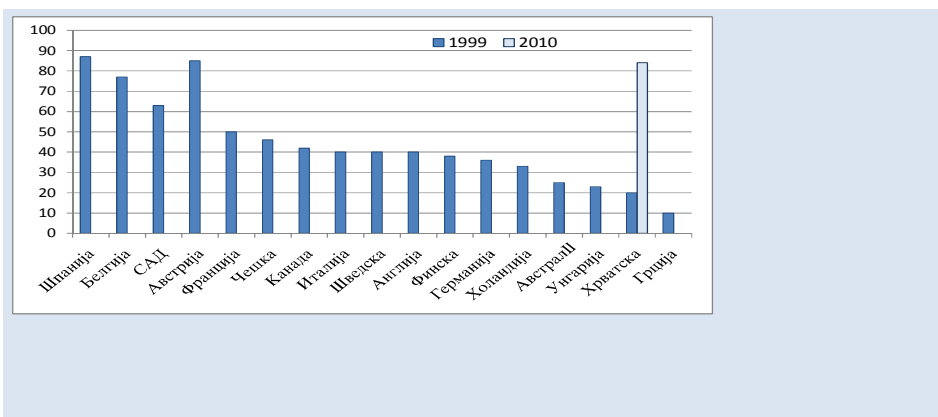
**Табела 2.** Преваленца на болни на 1 милион жители (Perit Dial Int 2007)

	1995				2004			
	Вкупно	ХД	ПД	Т	Вкупно	ХД	ПД	Т
Австрија	583	290	31	262	857	407	33	416
Италија	774	537	82	155	1099	718	98	282
Англија	476	128	101	247	645	277	87	280
Франција	580	346	41	193	944	502	46	395
Германија	761	536	40	185	997	705	34	258
Бугарија	НП*	252	4	НП*	339	320	19	НП*
Хрватска		НП*			807	595	58	153
Чешка	437	294	15	127	757	407	33	316
Полска	125	105	83	11	321	293	27	НП*

\* , НП - нема податоци

На слика 8 се забележува бројот на трансплантации во светот на 1 милион жители во 1999 година. Во тој период, најмал број трансплантации се забележани во Хрватска и во Грција

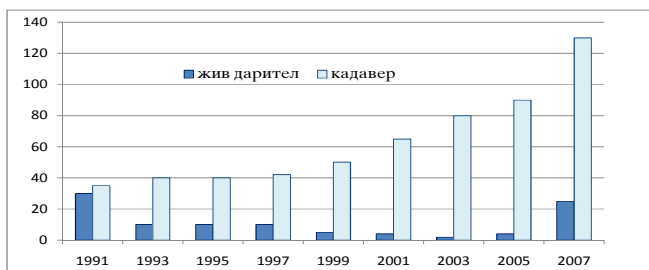
[12,13]. Понатаму, на сликата 8 е претставен и порастот на трансплантации во Хрватска на 1 милион жители во 2010 година [14].



**Сл. 8.** Број на трансплантации во светот во 1999 и 2010 година (NDT 2001; VJ 2010; Newsletter transplant 2011)

Исто така, се забележува голем пораст на кадарични трансплантации наспроти тие од жив да-

рител во Хрватска во периодот од 1991 до 2007, слика 9 [12].



**Сл. 9.** Број на трансплантации на 1 милион жители во Хрватска од жив дарител и од кадавер (Banta Journal 2010)

На табела 3 е даден преглед на трансплантацијата во европските и во балканските земји. Покрај постојано високиот процент на трансплантации во земјите како што се Франција и Италија, може да се забележи пораст на трансплантацијата и во Чешка, Словенија, Хрватска и во

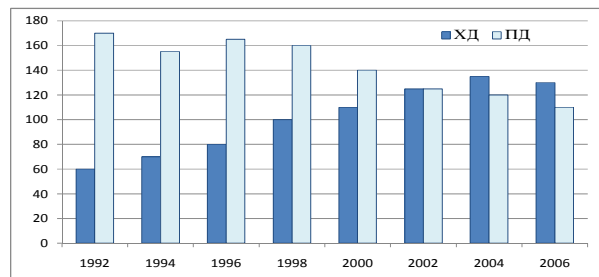
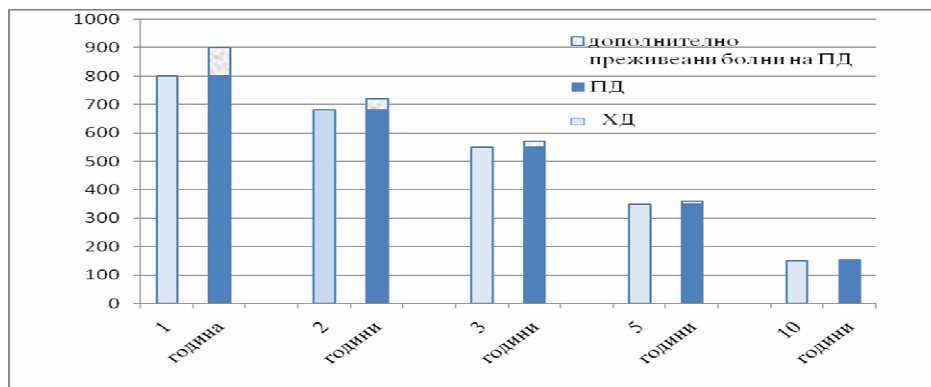
балтичките земји. Се истакнува развојот на трансплантацијата во Босна и Херцеговина и во Црна Гора. Во Македонија, во 2008 година биле направени само 13 трансплантации на бубрези и тоа сите од жив дарител [15,16].

**Табела 3.** Трансплантации во земјите на Европа и на Балканот од 2008 (NDT plus 2008, *Мак Мед Преглед* 2010)

	Вкупно	Жив дарител	Кадавер	Непознат
Франција	2464	195	2269	0
Италија	1530	124	1406	0
Полска	810	23	787	0
Чешка	334	29	305	0
Хрватска	157	16	116	25
Естонија	57	3	54	0
Словенија	52	0	52	0
Босна и Херцеговина	26	16	9	1
Црна Гора	16	12	4	0
Македонија	13	13	0	0

Кога станува збор за употреба на домашна дијализа, водечки земји во светот се Австралија и Нов Зеланд со просек од 12.9%, со подобро преживување а поефтина цена на лекувањето [17]. Очекувано, во однос на компликациите и

економиката за третманот на болните со ХД, во 2006 година за 38% е поголема појавата на инфекции кај болните на ХД во споредба со оние кај пациентите на ПД (слика 10) [18]. Но, исто така и преживувањето на болните на ПД

**Сл. 10.** Појавата на инфекции кај болните на ХД во споредба со ПД (USRDS Annual data report 2007)**Сл. 11.** Преживување на болните на ХД и ПД (USRDS Annual data report 2007)

е подолго во однос на болните на ХД што е прикажано на слика 11 [18].

Податоците за БЗТ во Македонија, 2007 година се прикажани на табела 4. Се забележува дека преовладува бројот на болни на ХД, за разлика од бројот на болни на ПД и трансплантирани, кој е занемарлив [19].

Понатаму, состојбата со васкуларните пристапи за ХД во РМ е прикажана на табела 5. Арте-

**Табела 4.** Број на болни на БЗТ во Македонија 2007 (Bosn J Basic Med Sci 2010)

Облик на БЗТ	Број на пациенти според облик на БЗТ	Застапеност на пациенти според облик на БЗТ
ХД	1564	88.6%
ПД	25	1.6%
Т	180	10.2%
Вкупно:	1769	



риовенските фистули (АВФ) се доминантна форма на васкуларен пристап (90.5%), а значително е помал процентот на артериовенски графтови (АВГ) (1.6%), додека на тунелизирани катетери (ТК) изнесува (7.9%) [20].

**Табела 5.** Состојба за васкуларни пристапи за ХД во Македонија 1999 (Int J Artif Org 2002)

Васкуларен пристап	Број на болни	Процентуална застапеност
АВФ	3114	90.5%
ТК	270	7.9%
АВ графт	56	1.6%
Вкупно:	3440	

## Дискусија

Организацијата на БЗТ сè повеќе се усложнува. Бројот на болни постојано расте, како на пример во Мексико (за 3 пати во периодот од 2000 до 2010 година) [6]. Всушност, светот се соочува со епидемија на болни со дијабет и хипертензија, болести кои генерираат 75% од болните на дијализа во САД (1,5). Од друга страна, материјалните ресурси стануваат сè поограничени и тешко дека во иднина ќе бидат доволни за растечкиот број на болни. За БЗТ во 2010 во САД биле потрошени близу 30 милијарди долари. Затоа американското општество многу сериозно ја разбира потребата од здравствена реформа [21]. Во случаи на големи природни катастрофи-земјотреси: Кобе 1995 година, Измир 1999 година, Тајван 1999, североисточна Јапонија 2011, мала е можноста за одржливост на здравствениот систем за организација на лекување на болните на БЗТ. Се појавува недостиг на вода и струја, а центрите за дијализа и патиштата се оштетени. Нема можност за снабдување со медицинска опрема, а и самиот медицински персонал е потенцијална жртва на катастрофата. Расте и бројот на болни со акутна бубрежна слабост кои треба да се лекуваат. При земјотресите, се проценува дека со акутна бубрежна слабост во Тајван имало 2-5%, во Кобе 7.5%, во Мармара 12%, а во Мексико 24.7% [22]. Во услови на транзиција како што е ситуацијата во централна и југоисточна Европа, во деведесетите години кога голем број на земји го заменија своето општествено-економско уредување, доаѓа и до големи промени во организацијата на здравствениот систем [3]. Во Полска расте бројот на центрите за ХД и ПД, како и вкупниот број болни згрижени со методите на БЗТ. Бројот на болни на 1 милион жители од 114 во 1996 година пораснал на 212 во 2000 година, т.е. речиси двојно се зголемил, што укажува на зголемената потреба и можност на здравствениот систем да се справи со порастот на бол-

ни што имаат потреба од БЗТ [3]. Слично е и во балтичките земји, на пр. Естонија каде од вкупниот број на болни (227) со потреба од БЗТ, 130 болни биле трансплантирани (57%), 57 болни биле вклучени на ПД (25%), а само 45 болни биле лекувани со најскапиот облик на БЗТ, т.е. хемодијализа (18%) [8]. Во Чешка, во периодот на транзиција, трансплантацијата била приоритет во споредба со ХД и ПД. Последниве години, Чешка е меѓу водечките земји во Европа по бројот на трансплантирани болни, како и по преживувањето на трансплантираните графтови [4]. Трансплантацијата како најоптимална форма на БЗТ последниве години е во постојан подем во Хрватска и во Словенија, што не е случај и во Македонија, иако сите припаѓале на заеднички здравствен систем. Особено импресионира порастот на трансплантирани болни во Хрватска од 2007 година, кога земјата влегува во системот на Еуротрансплант. Ако се споредат слабите резултати во Хрватска од 1999, кога имало десетина трансплантации на милион жители, 9 години потоа се прават близу шеесет трансплантации на 1 милион жители. Во тој период Хрватска се издигнува од дното на табелата на самиот врв, со приближни вредности за трансплантацијата со западноевропските земји. Последните години се забележува развој на трансплантацијата во Црна Гора со вкупен годишен број од 16 трансплантации и во Босна и Херцеговина со 28 трансплантации (кадаверични и од жив дарител) во 2008 година. Во истиот период во Македонија се направени само 13 трансплантации, сите од жив дарител [16]. За разлика од овие земји, здравствениот систем во Романија во периодот на транзиција не успеал соодветно да ги згрижи болните на БЗТ. Од вкупно 1500 до 1700 болни со потреба од БЗТ, таа е реализирана само кај 459 болни. На ХД биле вклучени 395 болни, на ПД 20, а 42 болни биле трансплантирани. Останатите не биле во можност да се лекуваат. Логично е да се постави прашањето по кој критериум е правена селекција за лекување кај болните? Веројатно е дека во БЗТ во транзицискиот период во Романија биле можни криминално-корумптивни релации. Секако дека постои можност корупцијата и другите криминални дела да растат во такви услови [10]. По незадоволителните резултати во лекувањето на болните на БЗТ на почетокот на деведесетите години, во периодот од 1995 - 2003 во Романија се преземаат мерки за подобро згрижување на бубрежно болните. Во тој период е зголемен бројот на болни на ПД за импресивни 600%, ХД се зголемила за 33%, но трансплантацијата не е развиена како и во други земји од централна и источна Европа [23]. Долги години се сметаше дека ХД е посоодветен

метод на БЗТ во споредба со ПД. Последниве години споредбените резултати го покажуваат токму спротивното. Може да се забележи дека процентот на инфекции поврзани со употреба на катетери за ХД е поголем за 38% од процентот за перитонитис кај болните на ПД (*Baxter*). Болните на ХД во светот сè помалку може да се водат на АВФ, а сè повеќе се на централно-венски катетери (ЦВК), додека ПД е поусовршен метод. Во САД дури 25% од болните со ТБС не биле информирани за можноста и предноста на ПД. Така, во 2005 година болен на ХД го чини здравствениот систем 69.758 \$, а за ПД 50.487 \$. Според направената симулација при двојно зголемување на процентот на болните на ПД се увидело дека заштедата би изнесувала 300 милиони \$ годишно [5]. Во Хонг Конг последниве години ПД е метод на прв избор за БЗТ, така што 80% од пациентите се на ПД, а 20% на ХД. Цената на чинење за тие на ПД е 13.000 \$, а на болните на ХД изнесува 30.000 \$. Преживувањето кај болните на ПД е 75% за 8 години [5]. Искуствата од Хонг Конг укажуваат дека во добро организиран здравствен систем ПД може да биде модалитет на БЗТ, со многу добро преживување, а во исто време економски поприфатлив од ХД. Преживувањето на болните на ПД е подобро од тие на ХД [18]. Затоа би требало ПД да се фаворизира од здравствените работници и од здравствениот систем. Покрај трансплантацијата, за која се потребни помалку средства, а која им овозможува поквалитетен животот на болните, така и ПД со пониската цена на чинење и можноста на болниот да се лекува во домашни услови, го прават овој метод посоодветен за земјите во развој, особено во услови на економска криза или природни катастрофи. Во Јапонија има близу 300.000 болни кои се лекуваат со ХД, а со ПД се лекуваат само 3,3% [24]. Доколку поголем процент на болни се опфатени на ПД, полесно би можеле да бидат згрижени: потребниот материјал се доставува еднаш месечно, можат сами да ја изведуват дијализата, немаат потреба од посета на болнички установи три пати неделно како болните на ХД, а истовремено помалку го чинат и здравствениот систем. Последниве години во САД се одвиваат значајни реформи во здравството, особено во економскиот сегмент. Експертите кои се занимаваат со делот на БЗТ подолго време укажуваат дека ПД треба да биде над сегашните 8% и дека треба да се зголеми процентот на домашна хемодијализа од 8 на 30% [5,18]. Исто така се прават напори за сè поголем број на АВФ, а во исто време и напори да се намали процентот на ТК и АВГ [21]. Сите овие мерки би ги намалиле трошоците за дијализа, кои за 2010

година се приближно 30 милијарди \$ [5]. Во услови на тешка економска криза како во Грција, Португалија, Ирска, ќе биде сè поголем проблем да се одржи нивото и стандардите на БЗТ. Веројатно дека во овие земји ќе се побара преиспитување на здравствената и економска политика во лекувањето на бубрежните болни. Бидејќи лекувањето е скапо, а бројот на болни е во постојан пораст, ресурсите ќе се мора да се намалуваат во наредните години. Така, за да се надмине оваа состојба, во овие земји би требало да се даде приоритет на трансплантацијата, ПД и домашната ХД. Во Македонија, БЗТ се спроведува веќе 40 години, а главна форма на БЗТ е ХД која е воедно и најскапа. Преживувањето на болните на ХД во Македонија е слично како и во другите Европски земји (59% за 5 години) [19]. Употребата на АВФ кај болните на ХД е 90.5%, а на ТК 7.9% [20]. Македонија покажува солидни резултати во однос на употребата на ТК во споредба со европските земји и САД, каде процентот на ТК е помеѓу 20% и 30% [25]. Катетрите го зголемуваат морбидитетот, морталитетот, бројот на хоспитализации и цената на ХД, па затоа е поприфатлива помалата употреба на ТК. Кај нас е мал процентот на трансплатирани болни и затоа потребно е итно да се зголеми бројот на трансплантации од жив дарител и да се организира ефикасна кадаверична трансплантација. Секако дека здравствените авторитети би морале да помогнат во компонирањето на неопходната организациска мрежа и инфраструктура за да се овозможат услови за поголемо искористување на овие форми на БЗТ [26]. Со тоа, очекувано е да се постигне подобар квалитет на животот, помал морбидитет и морталитет, како и намалување на средствата потребни за лекување.

### Заклучок

Од изнесените резултати за БЗТ во развиените земји и во земјите во развој може да се заклучи следново. Според анализата на објавените резултати при општествено-економски транзиции, економска криза, природни катастрофи и други кризни состојби, БЗТ претставува сериозен елемент на кој треба да му се посвети посебно внимание во здравствениот систем. Тенденцијата во развиените земји за поголема експлоатација на ПД во однос на ХД е предизвик и за нашиот здравствен систем. Затоа, приоритет во БЗТ е Т, ПД и домашната ХД со што ќе се овозможи намалување на стапката на морбидитет и на морталитет, подобар квалитет на живот на бубрежните болни како и поголема економска оправданост при лекувањето.

Конфликт на интереси. Не е деклариран.

## Литература

1. Barsoum BS. Chronic kidney disease in the developing world. *N Engl J Med* 2006; 354: 997-999.
2. White SL, Chadban SJ, Jan S *et al.* How can we achieve global equity in provision of renal replacement therapy. *Bulletin of the WHO* 2008; 86: 229-237.
3. Rutkowski B, Puka J, Lao M *et al.* Renal replacement in an era of socioeconomic changes - report from the Pilosh registry. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12(6): 1105-8.
4. Opatna S, Serna F. Development of peritoneal dialysis and renal replacement therapy in the Czech Republic since the postcommunist transition. *Perit Dial Int* 2007; 27(2): 196-202.
5. Burkart J. The future of peritoneal dialysis: PD in 2010 and beyond. *D&T* 2010; 39(8): 349-53.
6. Cueto-Manzano AM, Rojas-Campos E. Status of renal replacement therapy and peritoneal dialysis in Mexico. *Perit Dial Int* 2007; 27(2): 142-8.
7. Correa-Rotter R. The cost barrier to renal replacement therapy and peritoneal dialysis in the developing world. *Perit Dial Int* 2001; 21(3): S314-S317.
8. Petersons A, Ritz E. Nephrology in the Baltic countries. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2779-80.
9. Rutkowski B, Ciocalteu A, Djukanovic L *et al.* Evolution of renal replacement therapy in central and eastern Europe seven years after political and economical liberation. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 860-4.
10. Ursea N, Mircescu G, Constantinovici N, Verzan C. Nephrology and renal replacement therapy in Romania. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 684-90.
11. Zucchelli P. Report on a fact-finding mission on nephrology in Albania. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 259-60.
12. Nikolina Basic-Jukic and Petar Kes. Renal Transplantation in Croatia: A Personal View. *BANTAO Journal* 2010; 8(2): 51-53. ([http://www.bantao.org/8\\_2/8\\_2\\_1.pdf](http://www.bantao.org/8_2/8_2_1.pdf)).
13. Boletis J. Renal transplantation in Greece. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16 Suppl 6: 137-9.
14. Council of Europe. International figures on donation and transplantation-2010. Newsletter transplant 2011; 16(1): 35.
15. Stel VS, van de Luitgaarden MW, Wanner C, *et al.* The 2008 ERA-EDTA Registry Annual Report-a precis. *NDT Plus*. 2011; 4(1): 1-13.
16. Стојчева-Танева О. Македонски ренален регистар. *Мак Мед Преџлед* 2010; 64(2): 95-34. Ератум во: *Мак Мед Преџлед* 2011; 65(2): 129.
17. Agar JW, Hawley CM, Kerr PG. Home Hemodialysis in Australia and New Zealand: How and Why it has been Successful. *Semin Dial*. 2011; 24(6): 658-63.
18. USRDS Annual data report 2007. ([www.usrds.org/adr\\_2007.htm](http://www.usrds.org/adr_2007.htm))
19. Stojceva-Taneva O. Epidemiology of renal replacement therapy in Macedonia. *Bosn J Basic Med Sci* 2010; supp 1: 23-8.
20. Oncevski A, Dejanov P, Gerasimovska V. Approach to vascular access for hemodialysis: experiences from the Republic of Macedonia. *Int J Artif Org* 2002; 25(5): 354-64.
21. <http://www.worldkidneyday.org/page/the-cost-of-disease-1>
22. Sever M, Ereğ E, Vanholder R. Renal replacement therapies in the aftermath of the catastrophic Marmara earthquake. *Kidney Int* 2002; 62: 2264-71.
23. Mircescu G. Renal replacement therapy in Romania-transition still continue. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19(12): 2971-80.
24. Nakai S. Overview of regular dialysis treatment in Japan. *Therapeutic Apheresis and Dialysis* 2010; 14(6): 505-40.
25. Besarab A, Brouwer D. Improving arteriovenous fistula construction: fistula first initiative. *Hemodialysis Int* 2004; 8: 199-206.
26. Spasovski G. Can we decrease organ trafficking in the Balkans. *Clin Transplant* 2011 Mar; doi: 10.1111/j.1399-0012.2011.01430.

Original article

## EVALUATION OF VITEK-2 YEAST SUSCEPTIBILITY TEST FOR ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY TESTING OF *CANDIDA* SPECIES TO FLUCONAZOLE

### ЕВАЛУАЦИЈА НА ВИТЕК-2 ТЕСТ ЗА КВАСНИЦИ ЗА ИСПИТУВАЊЕ НА АНТИФУНГАЛНАТА ОСЕТЛИВОСТ НА *CANDIDA* SPECIES НА ФЛУКОНАЗОЛ

Mircevska Gordana<sup>1</sup>, Panovski Nikola<sup>1</sup>, Petrovska Milena<sup>1</sup>, Trajkovska-Dokic Elena<sup>1</sup>, Zafirova-Ivanovska Beti<sup>2</sup>, Zafirovic Zorica<sup>3</sup> i Milenkovic Zvonko<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Institute of Microbiology and Parasitology, <sup>2</sup>Institute of Epidemiology i Biostatistics, <sup>3</sup>University Department of Dermatovenerology, <sup>4</sup>University Department of Infective Diseases, Medical Faculty, University of Skopje, Republic of Macedonia

#### Abstract

**Introduction.** Over the last decades, a progressive increase in the incidence of serious fungal infections associated with high morbidity and mortality has been registered. *Candida* species remains responsible for majority of the cases, with *C.albicans* being the most frequent etiological agent. Increasing participation of non-*albicans* *Candida* species, known to be less susceptible to antifungal agents has also been registered. Reference broth microdilution method is still a gold standard for antifungal susceptibility testing of *Candida* species, but from recently commercially available methods, like VITEK-2 method, have been developed. The aim of the study was to evaluate the new VITEK-2 cards (AST-YS01) for antifungal susceptibility testing of yeasts and to compare these results with those obtained by the CLSI M27-A2 microdilution reference method.

**Methods.** Fifty isolates of *Candida* species, and 2 quality (ATCC) control strains, were tested for their susceptibility profile to fluconazole using the reference broth microdilution method and the automated VITEK-2 method.

**Results.** Most isolates of *Candida* species were susceptible to fluconazole: the MIC values determined by the VITEK-2 and CLSI methods were in the range  $\leq 1.0$ - $>32.0$   $\mu\text{g/ml}$  and  $0.25$ - $\geq 64.0$   $\mu\text{g/ml}$ , respectively. There was excellent overall agreement between both methods (100%), but small discrepancies were observed within some species.

**Conclusion.** The VITEK-2 system can be considered as a reliable and valid tool for antifungal susceptibility testing of yeasts, and a more rapid and easier alternative for microbiology laboratories than reference methods.

**Key words:** *Candida* species, antifungal drug, CLSI, VITEK-2

#### Апстракт

**Вовед.** Во текот на изминатите неколку декади се регистрира прогресивен пораст на инциденцијата на сериозните габични инфекции кои се асоцирани со значаен морбидитет и морталитет. Најчесто одговорни квасници за овие инфекции сè уште се квасниците од родот *Candida*, при што најчести етиолошки агенси се *C.albicans*. Сè почесто како причинители на инфекции се регистрираат и non-*albicans* *Candida* species, за кои е познато дека се помалку осетливи на антифунгални средства. Референтниот бујон-микродилуциски метод сè уште претставува златен стандард за тестирање на антифунгалната осетливост на *Candida* species, но од неодамна се достапни и комерцијални методи за тестирање, како VITEK-2 системот. Целта на студијата е да се испита новата VITEK-2 картичка (AST-YS01) за тестирање на профилот на осетливост на квасниците и добиените резултати да се споредат со оние кои се добиваат со референтниот бујон-микродилуциски метод (M27-A2).

**Методи.** Профилот на осетливост на антифунгални средства беше одреден на 50 изолати на *Candida* species, и два соја за контрола на квалитетот, кои беа тестирани на флуконазол со референтниот метод и со автоматизираниот VITEK-2 систем.

**Резултати.** Повеќето изолати на *Candida* species беа осетливи на флуконазол: МИК вредностите одредени со VITEK-2 и референтниот метод беа во ранг  $\leq 1.0$ - $>32.0$   $\mu\text{g/ml}$  односно  $0.25$ - $\geq 64.0$   $\mu\text{g/ml}$ . Иако беа регистрирани мали несогласувања кај некои специеси, сепак постоеше одлична целосна согласност меѓу двата метода (100%).

**Заклучок.** VITEK-2 системот може да се смета за сигурен и валиден метод за тестирање на антифунгалната осетливост на *Candida* species во микробиолошките лаборатории, како и побрза и полесна алтернатива од референтниот метод.

**Клучни зборови:** *Candida* species, антифунгално средство, CLSI, VITEK-2

## Introduction

The incidence of fungal infections has increased greatly over the past three decades, mainly due to the rise of the AIDS epidemic, an increasingly aged population, higher numbers of immunocompromised patients, and the widespread use of indwelling medical devices [1]. A recent study of the epidemiology of sepsis in the United States found that the annual number of cases caused by fungal organisms increased by 207% between 1979 and 2000 [2]. Although the spectrum of fungi causing infections has increased, *Candida* spp. still remains the most common cause of invasive fungal infections in hospitalized patients and the third most common cause of nosocomial bloodstream infections in the United States [3]. In studies for candidemia in Europe, 49-53% of candidemia cases have been caused by *C.albicans*, followed by *C. parapsilosis* (11-21%), *C. glabrata* (10-12%), *C. tropicalis* (6-11%), *C.krusei* (1-9%) and other species (1-10%) [4-6]. Infections with *Candida* spp. range from mucocutaneous to life-threatening invasive diseases. The increased incidence of candidiasis has resulted in a significant increase in morbidity and mortality rates among at-risk patients and has contributed to increased health care costs [7]. The increased incidence and severity of invasive *Candida* infections worldwide, more frequent isolation of *Candida* spp. with unpredictable susceptibility profile and the life-threatening nature of invasive fungal infections, has led to an increased interest for development of methodology for antifungal susceptibility testing (AFST) [8]. AFST has become increasingly common in clinical practice in recent years. This is a result of improved performance of different antifungal susceptibility testing methods as well as the introduction of some new antifungal agents with different mechanisms of action, such as triazoles and echinocandins [9,10]. In general, it is considered that the outcome of invasive fungal infections, especially candidemia, is improved by prompt initiation of appropriate antifungal treatment. Treatment of invasive *Candida* infections is currently based on the IDSA guidelines, which have been updated recently, but knowledge of the epidemiology and susceptibility profile of local fungal isolates to antifungal agents can also guide clinicians in choosing the appropriate antifungal therapy, which is very important for long-term treatment, especially in patients with underlying diseases [10]. AFST reference methods for yeasts have been available since 1997 from the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI; formerly NCCLS, the National Committee for Clinical Laboratory Standards) and, more recently, from the Subcommittee on antifungal susceptibility testing of the European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

However, both of these reference methods are time-consuming, difficult to perform in routine practice and require well-trained personnel [11-13]. These methods have led to the development of several automated or semi-automated commercial systems in order to provide simple, flexible, and affordable alternative antifungal susceptibility testing methods for practical use in the microbiology laboratory [14]. Many microbiologists now prefer to use commercial systems which have particular advantages, such as ease of performance, low cost, more rapid results. Recently, *bioMérieux* has expanded its role in this area with a yeast susceptibility test that determines the growth of *Candida* species spectrophotometrically using the VITEK-2 system [15-17]. In the recently published studies, the VITEK-2 system has demonstrated a high level of reproducibility and an excellent categorical agreement with the CLSI microdilution reference procedure (>95%) for fluconazole [16], as well as for amphotericin B, flucytosine and voriconazole [17]. The VITEK-2 system enabled determination of the MIC endpoints after 9.1 to 27.1 h of incubation (mean, 12 to 14 h) [16,17]. The aim of this study was to evaluate the VITEK-2 system for antifungal susceptibility testing of yeasts and to compare results obtained by this method with the CLSI reference procedure. In the case of the reference CLSI method, agreement was calculated for reading time of 48 hours of incubation. To investigate the reliability of the new AST-YS01 VITEK-2 cards, the susceptibility profile of fungal isolates to fluconazole as determined by the VITEK-2 system, were compared with those obtained with the reference CLSI (M27-A2) broth microdilution method.

## Material and methods

### *Clinical isolates*

Fifty fungal isolates out of the total of 150 previously examined isolates of *Candida* species with the automated VITEK-2 method, were used for comparison between the reference CLSI (M27-A2) broth microdilution method and the VITEK-2 method. All these isolates were obtained from different clinical specimens (blood culture, wound swab, bronchoalveolar lavage, tracheal aspirate, sputum, urine and genital swab) from outpatients and critically ill patients hospitalized in different clinical settings, such as intensive care units (ICUs) and surgical departments from different university clinics. Each isolate was from unique infectious episode from individual patients. The isolates were identified by conventional microbiological procedures, including morphology of colonies on chromogenic CALB agar and biochemical analysis with the VITEK-2 system (*bioMérieux*, France). Prior to antifungal susceptibility testing, each isolate was subcultured on CALB agar twice, to ensure viability, purity and optimal growth characteristics of the strains. All isolates were previously stored at room temperature in sterile

saline solution. Quality control strains *C. krusei* (ATCC 6258) and *C. parapsilosis* (ATCC 22019), from the American Type Culture Collection (ATCC), were used for quality control of the methods [11,12].

### Antifungal agents and reference method panels

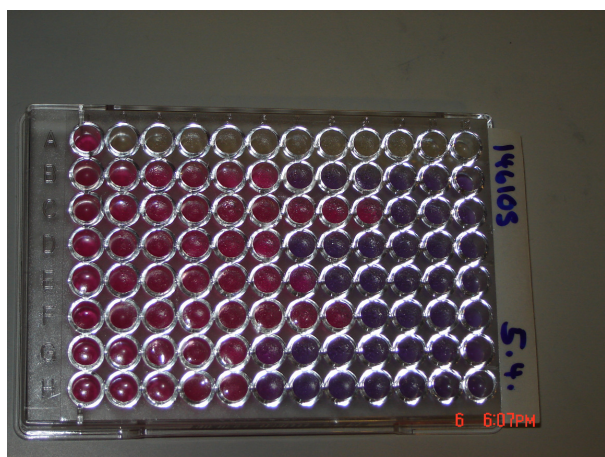
Fluconazole was obtained as standard powder from Pfizer Pharmaceuticals. Broth microdilution panels were prepared according to the CLSI M27-A2 method (24) and were stored at  $-70^{\circ}\text{C}$  until testing. The concentration for fluconazole ranges tested was 0.12-64  $\mu\text{g/ml}$ .

### Inoculum suspension

After overnight growth on chromogenic CALB agar at  $37^{\circ}\text{C}$ , each isolate was suspended in 5 ml of sterile distilled water. The turbidity was adjusted to McFarland standard of 0.5 with sterile distilled water. This suspension (approximately  $1 \times 10^6$  to  $5 \times 10^6$  CFU/ml) was used for the broth microdilution method, after appropriate dilution according to the standardized protocol [11]. Inoculum suspensions for the AST-YS01 VITEK-2 cards were obtained from the same overnight cultures, with the turbidity being adjusted to 1.8-2.2 McFarland standard using the *bioMérieux* Densicheck instrument, according to the manufacturer's recommendations.

### Antifungal susceptibility testing

For the reference broth microdilution CLSI method, the inoculum suspension was serially diluted to  $0.5 \times 10^3$ - $0.25 \times 10^3$  CFU/ml with RPMI 1640 medium. Reference panel plates were inoculated with 100  $\mu\text{L}$  of yeast inoculum and incubated at  $37^{\circ}\text{C}$  (Figure 1).



**Fig. 1.** Panel plates for CLSI reference broth microdilution method

An initial visual reading was made after 24 h of incubation period, with the lowest concentration inhibiting visible growth being recorded as the MIC value for the tested antifungal agent. Following 48 hours of incuba-

tion, the panels were analyzed and MIC was determined visually. MIC for fluconazole was determined as the lowest concentration resulting in 50% decrease in turbidity in comparison with the control growth. Susceptibility testing with the VITEK-2 system was performed according to the manufacturer's instructions. The standardized suspension was placed in a VITEK-2 cassette along with a sterile polystyrene test tube and an AST-YS01 VITEK-2 card containing 2-fold serial dilutions of fluconazole (range, 1-64  $\mu\text{g/ml}$ ). Following loading of the cassette, dilution of the fungal suspensions and card filling were automatically performed by the VITEK-2 system (Figure 2). Quality control strains were included in each working session.



**Fig. 2.** VITEK-2 automated system and AST-YS01 VITEK-2 card

### Analysis of results

In accordance with the M27-A2 document, the results from the 48 hours reading were used. Results were analyzed on the basis of the interpretive breakpoints for fluconazole (sensitive (S)  $\leq 8$   $\mu\text{g/ml}$ ; susceptible dose-dependent (S-DD) 16-32  $\mu\text{g/ml}$ ; resistant (R)  $\geq 64$   $\mu\text{g/ml}$ ) [11,16]. The reproducibility of the results obtained by the reference and VITEK-2 methods was calculated to determine the percentages of essential agreement between MIC values. The MIC values were considered to be in essential agreement between the two methods when they were within  $\pm 2$  2-fold dilutions. Total agreement was assigned where both methods classified the susceptibilities of the isolates within the same interpretive categories (S, S-DD or R). Discrepancies between methods were considered very major if an isolate classified as R



by the reference method was categorized as S by the commercial method. Discrepancies were considered major if an isolate classified as S by the reference method was classified as R by the commercial technique. Minor discrepancies were considered to have occurred when a susceptible isolate was classified as intermediate or susceptible-dose dependent (S-DD), when a resistant fungus was grouped with intermediate or S-DD isolates, when intermediate or S-DD strains were considered susceptible, or when intermediate or S-DD isolates were classified as resistant organisms. Regarding the overall agreement between the VITEK-2 system and the reference procedure, it should be noted that very major discrepancies were uncommon.

## Results

Species distribution of all previously examined 150 isolates of *Candida* species in our study was as follows: *C. albicans* (N=60), *C. glabrata* (N=23), *C. tropicalis* (N=22), *C. parapsilosis* (N=16), *C. krusei* (N=7), *C. kefyr* (N=7), *C. lusitaniae* (N=5), *C. guilliermondii* (N=5), *C. dubliniensis* (N=4) and *C. rugosa* (N=1) (Table 1).

**Table 1.** Species distribution of different isolates of *Candida* species

Species	No of isolates	%
<i>C. albicans</i>	60	40
<i>Non-albicans Candida spp.</i>	90	60
<i>C. glabrata</i>	23	15.32
<i>C. tropicalis</i>	22	14.67
<i>C. parapsilosis</i>	16	10.67
<i>C. krusei</i>	7	4.67
<i>C. kefyr</i>	7	4.67
<i>C. lusitaniae</i>	5	3.33
<i>C. guilliermondii</i>	5	3.33
<i>C. dubliniensis</i>	4	2.67
<i>C. rugosa</i>	1	0.67
<b>Total</b>	<b>150</b>	<b>100</b>

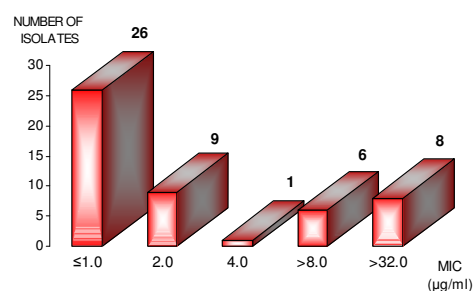
Of the total of 150 isolates of *Candida* species (60 strains of *C. albicans* and 90 strains of non-*C. albicans* species) investigated with the VITEK-2 system, 88.7% (133/150) isolates were susceptible to fluconazole, with most of the strains being inhibited with MIC in the range  $\leq 0.125$ -2.0  $\mu\text{g/ml}$ , although strains with higher MICs ( $>32.0$   $\mu\text{g/ml}$ ) were also registered. Six of the 150 isolates (4%) were susceptible dose-dependent, and resistance to fluconazole was registered in 7.3% (11/150) of isolates. The range of MICs of fluconazole against different isolates of all examined *Candida* species with VITEK-2 method is shown in table 2.

Table 3 shows the MICs of fluconazole against 50 previously selected *Candida* species, determined with automated VITEK-2 method and CLSI reference method. The

**Table 2.** Distribution of MICs of fluconazole in different *Candida* spp. with automated VITEK-2 method

Species (No=150)	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) min. – max.
<i>C. albicans</i> (60)	$\leq 0.125$ – $>32.0$
<i>Non-albicans Candida spp.</i> (90)	$\leq 1.0$ – $>32.0$
<i>C. parapsilosis</i> (16)	$\leq 1.0$ – 2.0
<i>C. guilliermondii</i> (5)	2.0 – 8.0
<i>C. glabrata</i> (23)	$\leq 1.0$ – $>32.0$
<i>C. krusei</i> (7)	16.0 – $>32.0$
<i>C. dubliniensis</i> (4)	$\leq 1.0$
<i>C. kefyr</i> (7)	$\leq 1.0$ – 2.0
<i>C. tropicalis</i> (22)	$\leq 1.0$ – 8.0
<i>C. lusitaniae</i> (5)	$\leq 1.0$ – $>32.0$
<i>C. rugosa</i> (1)	8.0

Fifty isolates of *Candida* species were additionally selected from the total of the previously examined 150 isolates according to their origin and susceptibility profile. MICs of fluconazole against the selected 50 isolates of *Candida* species with the automated VITEK-2 method were distributed in the range  $\leq 1.0$ - $>32.0$   $\mu\text{g/ml}$ . In more than half of the isolates, 26(52%), MICs of 1.0 or lower MICs were registered (Figure 3).



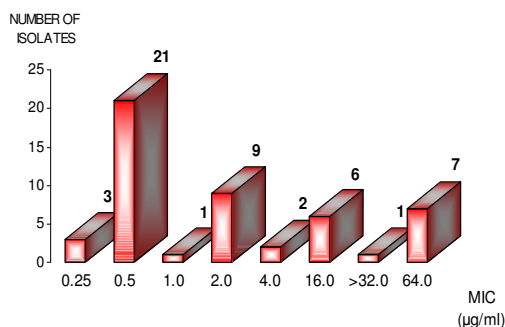
**Fig. 3.** Frequency of fluconazole MICs against *Candida* species with automated VITEK-2 method

difference in MICs between *C. albicans* and non-*albicans Candida* species with the automated VITEK-2 method was statistically significant, for level of significance  $p < 0.05$ . This difference is a result of a significantly higher number of isolates from the group of non-*albicans Candida* species, for which higher MICs of fluconazole for inhibition of their growth are necessary. Picture 4 shows the MICs of fluconazole against *Candida* spp., determined with the reference CLSI broth microdilution method. The range of MICs of fluconazole was between 0.25 and  $\geq 64.0$   $\mu\text{g/ml}$ . MIC=0.5  $\mu\text{g/ml}$  was the most frequent MIC which was proved to inhibit most of the isolates of *Candida* species 21(42%) with the CLSI reference method (Picture 4).

The yeasts from the non-*albicans Candida* group were inhibited in their growth with significantly higher MICs of fluconazole in comparison to strains of *C. albicans* ( $p < 0.01$ ) (Table 3).

**Table 3.** Distribution of MICs of fluconazole in selected strains of *Candida* spp. with CLSI reference method and automated VITEK-2 method

AFST method Species (No=50)	VITEK-2 MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) min – max	CLSI MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) min – max
<i>C.albicans</i> (20)	$\leq 1.0 - > 32.0$	$0.5 - \geq 64.0$
<b>Non-albicans <i>Candida</i> (30)</b>	<b><math>2.0 - &gt; 32.0</math></b>	<b><math>0.25 - 64.0</math></b>
<i>C.parapsilosis</i> (9)	$\leq 1.0 - 2.0$	$0.25 - 2.0$
<i>C.guilliermondii</i> (2)	$2.0 - 8.0$	$4.0 - 16.0$
<i>C.glabrata</i> (3)	$> 8 - > 32.0$	$16 - 64$
<i>C.krusei</i> (4)	$> 32.0$	$64.0$
<i>C.dubliniensis</i> (2)	$\leq 1.0$	$0.25$
<i>C.kefyr</i> (1)	$2.0$	$2.0$
<i>C.tropicalis</i> (6)	$\leq 1.0 - > 8$	$0.5 - 16.0$
<i>C.lusitaniae</i> (2)	$1.0 - > 32.0$	$0.5 - 64.0$
<i>C.rugosa</i> (1)	$8.0$	$16.0$
	Mann -Whitney U=176.5 Z= -2.44 p=0.014	Mann-Whitney U=159.0 Z=-2.78 p=0.0054

**Fig. 4.** Frequency of MIC of fluconazole in *Candida* species with CLSI reference method

## Discussion

The treatment of systemic fungal infections has undergone many changes in the past few years as new antifungal agents have been introduced. Therefore, it should be clear that identification of fungal isolates to species level and antifungal susceptibility testing are increasingly important, especially for critically ill patients and isolates from primarily sterile specimens [9]. The emergence of resistant strains to antifungal agents worldwide has led to variations in the treatment guidelines between different countries [10]. Also the knowledge of the MIC values of various antifungal agents for every isolate can be significant in the management of a particular case of fungal infection, especially in immunocompromised patients. The primary aim of this study was to investigate the reliability of the new AST-YS01 VITEK-2 cards in determination of MICs of fungal isolates to fluconazole and to compare with those obtained by the reference CLSI (M27-A2) broth microdilution method. MIC values for *Candida* isolates were obtained after 14 to 18h of incubation, with an average time of reading of 15 hours, as shown in the studies of Pfaller *et al.* [16,17]. The suscep-

tibility profile of all examined isolates to fluconazole was similar to susceptibility profile of *Candida* species in other European and US studies [15-20]. Results of our study have shown relatively high efficacy of fluconazole against many isolates of *Candida* species, especially against isolates of *C. parapsilosis* (100%), *C. albicans* (96.7%) and *C. tropicalis* (91%). Decreased susceptibility to fluconazole was registered in isolates of *C. glabrata*, *C. guilliermondii* and *C. kefyr*. Since *C. krusei* is inherently resistant to fluconazole, their MICs should not be interpreted according to the breakpoint values established by CLSI. In 2 isolates of *C. tropicalis* higher MIC values were recorded (S-DD strains), and similar data were obtained in the study of Pfaller *et al.*, where *C. Tropicalis* had shown intermediate susceptibility to fluconazole [21]. The MICs of the two quality control strains were within the range of expected values [11] and showed reproducibility by both methods. Small discrepancies in MICs to fluconazole of examined isolates with VITEK-2 method in comparison with the CLSI reference method were noticed. When discrepancies were noticed (in 10 isolates), MICs of fluconazole with the reference method were 1 dilution higher in comparison with the VITEK-2 method for 2 isolates of *C. Guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, 1 isolate of *C lusitaniae* and *C. rugosa*, and with 1 dilution lower in comparison with the VITEK-2 method for 1 isolate each of *C. dubliniensis* and *C. parapsilosis*. Overall, lower MIC values were obtained with VITEK-2 cards than by the CLSI method at 48 h. Although in our study small discrepancies in MIC were detected, the overall agreement between CLSI reference and VITEK-2 system was 100% for all clinically relevant species studied, because all results were in the same susceptibility category. Sometimes, there is a possibility to obtain discordant data for *C.krusei*, and these may be avoided with use of the VITEK-2 expert software, which takes into account



the innate resistance of this species and corrects the low MIC results for fluconazole accordingly. The results obtained with this fully automated system generally correlated very well with those of the CLSI reference method. The VITEK-2 system has the advantage of being a fully automated methodology that determines the yeast growth spectrophotometrically and allows both identification and MIC determination of yeasts simultaneously. Moreover, the spectrophotometric reading of results eliminates the subjectivity of the visual MIC determination that is required in other methods for susceptibility testing. This method is easy to perform, and no complex handling in the laboratory is necessary. It has the advantage of being more rapid than and an easier alternative to the reference procedure developed by CLSI. The yeast susceptibility test, coupled with the rapid and accurate yeast identification capabilities already available on the VITEK-2 system, would allow clinical laboratories to perform both yeast identification and antifungal susceptibility testing using a fully automated and completely standardized format.

## Conclusion

Comparison of data for antifungal susceptibility testing of clinically relevant *Candida* species to fluconazole obtained with the automated VITEK-2 method and CLSI reference method showed overall agreement of 100% for all clinically relevant species studied, because all results were in the same susceptibility category. VITEK-2 system is the first commercially available system with automated approach, which provides optimal standardisation of all steps during susceptibility testing of yeasts to antifungal agents. In conclusion, the VITEK-2 system is a reliable and practical technique to determine antifungal susceptibility testing of relevant yeasts, and it can be clinically useful for determination of susceptibility profile of *Candida* spp. The introduction of VITEK-2 system in microbiology laboratories is an important step toward optimisation of antifungal treatment of different forms of candidiasis in our patients.

*Conflict of interest statement.* None declared.

## References

- Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. *J Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 133-63.
- Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003; 348: 1546-1554.
- Fridkin, SK. The changing face of fungal infections in health care setting. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 1455-1460.
- Marchetti O, Bille J, Fluckinger U *et al.* Fungal Infection Network of Switzerland. Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: secular trends, 1991–2000. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 311-320.
- Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H *et al.* ECMM Working Group on Candidaemia. Epidemiology of candidaemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23: 317-322.
- Arendrup MC, Fuursted K, Gahrn-Hansen B *et al.* Seminal surveillance of fungemia in Denmark: notably high rates of fungemia and number of isolates with reduced azole susceptibility. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 4434-4440.
- Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH. Delaying the empiric treatment of *Candida* bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 3640-3645.
- Farina C, Manso E, Sanna S, *et al.* Management of antifungal susceptibility testing in Italy: comparative results of 2 nationwide surveys (1999 and 2004) in 102 Italian hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 57: 225-227.
- Johnson EM. Issues in antifungal susceptibility testing. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61 (Suppl. 1): i13-i18.
- Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, *et al.* Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 503-535.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard, 3rd ed. CLSI M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Espinel-Ingroff A, Canton E, Peman J, *et al.* Comparison of 24-hour and 48-hour voriconazole MICs as determined by the Clinical and Laboratory Standards Institute broth microdilution method (M27-A3 document) in three laboratories: results obtained with 2,162 clinical isolates of *Candida* spp. and other yeasts. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 2766-2771.
- Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the ESCMID EUCAST. EUCAST definitive document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14:398-405.
- Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Mellado E, Rodriguez-Tudela JL. Correlation between the procedure for antifungal susceptibility testing for *Candida* spp. of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and four commercial techniques. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 486-492.
- Bourgeois N, Dehandschoewerker L, Bertout S, *et al.* Antifungal susceptibility of 205 *Candida* spp. isolated primarily during invasive candidiasis and comparison of the Vitek 2 system with the CLSI broth microdilution and Etest methods. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 154-161.
- Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW, Rinaldi MG. Multicenter comparison of the VITEK 2 yeast susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing fluconazole against *Candida* spp. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 796-802.
- Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW, Rinaldi MG. Multicenter comparison of the VITEK 2 antifungal susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing amphotericin B, flucytosine, and voriconazole against *Candida* spp. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 3522-3528.
- Posteraro B, Martucci R, La Sorda M, *et al.* Reliability of the Vitek 2 yeast susceptibility test for detection of in vitro resistance to fluconazole and voriconazole in clinical isolates of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 1927-1930.
- Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Alastruey-Izquierdo A, *et al.* Comparison of the Vitek 2 Antifungal Susceptibility System with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Broth Microdilution Reference Methods and with the Sensititre Yeast One and Etest Techniques for In Vitro Detection of Antifungal Resistance in Yeast Isolates. *J Clin Microbiol* 2010; 48(5): 1782-1786.
- Meurman O, Koskensalo A, Rantakokko-Jalava K. Evaluation of Vitek 2 for identification of yeasts in the clinical laboratory. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 591-593.
- Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, *et al.* and the Global Antifungal Surveillance Group Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-Year analysis of susceptibilities of *Candida* species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. *J Clin Microbiol* 2010; 48(4): 1366-1377.

Оригинален труд

## СЕНЗИТИВНОСТ И СПЕЦИФИЧНОСТ НА ANTI-CYCLIC CITRULLINATE PEPTIDE АНТИТЕЛАТА И IGM-РЕВМАТОИДНИОТ ФАКТОР ВО СЕРОЛОШКАТА ДИЈАГНОЗА НА РЕВМАТОИДНИОТ АРТРИТИС

### SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF ANTI-CYCLIC CITRULLINATE PEPTIDE ANTIBODY AND IGM RHEUMATOID FACTOR IN SEROLOGIC DIAGNOSIS OF RHEUMATOID ARTHRITIS

Велкоска-Накова Б. Валентина<sup>1</sup>, Марина А. Нада<sup>2</sup> и Крстевска Л. Бранка<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Факлутет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“, Штип, <sup>2</sup>ЈЗУ Универзитетска ревматолошка клиника, <sup>3</sup>Клиника за ендокринологија, дијабетес и метаболички нарушувања, Медицински факултет, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“, Скопје, Република Македонија

#### Апстракт

**Вовед.** Anti-cyclic citrullinate peptide (анти-ЦЦП) антителата во последните години се користат како високо специфични и сензитивни маркери во дијагностиката на ревматоидниот артритис (РА). Цел на студијата беше да ја одредиме сензитивноста и специфичноста на анти-ЦЦП антителата и IgM-ревматоидниот фактор (РФ) кај пациенти со РА и нивната асоцијација со активноста на болеста и присутните зглобни ерозии.

**Методи.** Ретроспективно беа анализирани 60 пациенти со РА и 40 пациенти кои немаат РА (со друго ревматоидно заболување), а се јавиле на Клиниката за ревматологија во Скопје поради зглобна болка во првите 6 месеци од 2009 година. Испитувани беа следните параметри: возраст, пол, должина на болеста, утринска вкочанетост, фамилијарна историја, седиментација, хематокрит, број на леукоцити, тромбоцити, CRP, IgM РФ, анти-ЦЦП, ДАС 28 и зглобни ерозии.

**Резултати.** Сензитивноста и специфичноста на анти-ЦЦП антителата за дијагноза на РА, базирана на критериумите на Американската ревматолошка асоцијација беше 66,7% и 95%, соодветно. Истите за IgM РФ беа 71,2% и 82,5%, соодветно. Не постоеше сигнификантна разлика помеѓу анти-ЦЦП(+) и анти-ЦЦП(-), како и РФ(+) и РФ(-) пациенти со РА за испитуваните параметри. Постоеше сигнификантна корелација помеѓу анти-ЦЦП антителата и IgM -РФ ( $r=0,51$ ,  $p<0,001$ ) кај пациентите со РА.

**Заклучок.** Анти-ЦЦП антителата во споредба со РФ се посепцифични за дијагноза на РА и нивното одредување може да биде корисно за серолошката дијагноза на РА. Не постои разлика во

активноста на болеста помеѓу анти-ЦЦП(+) и анти-ЦЦП(-) и/или РФ(+) и РФ(-) пациенти со РА.

**Клучни зборови:** ревматоиден артритис, анти-ЦЦП антитела, ревматоиден фактор, активност на болест, зглобни ерозии

#### Abstract

**Introduction.** In recent years, anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies have been used as highly specific and sensitive markers in diagnosis of rheumatoid arthritis (RA). The aim of the study was to determine sensitivity and specificity of anti-CCP antibodies and IgM rheumatoid factor in patients with RA and their association with serological markers of disease activity.

**Methods.** We retrospectively analyzed 60 patients with RA and 40 without RA (with other rheumatoid disease) who had attended the Rheumatology Clinic because of joint pain in the first six months of 2009. The following parameters were studied: age, sex, disease duration, morning stiffness, familiar history, erythrocyte sedimentation rate, haematocrit, number of leucocytes and thrombocytes, CRP, IgM RF, anti-CCP, DAS (disease activity score) 28, and joint erosion.

**Results.** Sensitivity and specificity of anti-CCP antibodies for rheumatoid arthritis diagnosis, based on American Rheumatoid Association were 66.7% and 95%, respectively. Sensitivity and specificity for IgM RF were 71.2% and 82.5%, respectively. There was no significant difference between anti-CCP(+) and anti-CCP(-) as well as between RF(+) and RF(-) groups for the analyzed parameters. There was a significant correlation between anti-CCP and IgM RF ( $r=0.51$ ,  $p<0.001$ ) in patients with RA.

**Conclusion.** Anti-CCP antibodies are more specific than IgM RF for diagnosing RA, and may be useful in serologic diagnosis of RA. There was no difference in disease activity between anti-CCP(+) and anti-CCP(-) and/or RF(+) and RF(-) patients with RA.

**Кореспонденција и рејриши до:** Валентина Велкоска Накова, Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“, 2000, Штип, Р.Македонија; E-mail: valentina.velkovska@ugd.edu.mk; valentina.velkoska@yahoo.com

**Key words:** rheumatoid arthritis, anti-CCP antibodies, rheumatoid factor, disease activity joint erosion

## Вовед

Ревматоидниот артритис (РА) е често автоимунно заболување од кое заболува околу 1% од светската популација. РА предизвикува хроничен синовитис, болка, зглобна деструкција, функционална нестабилност, но и зголемена коморбидност и морталитет [1].

Околу една третина од пациентите со перзистентен артритис не ги задоволуваат класификациските критериумите за РА, што ја отежнува дијагнозата во раните стадиуми на болеста. Поради големата варијабилност и непредвидливиот курс на болеста, моменталните терапевски стратегии диктираат агресивна терапија уште во раниот почеток на болеста. Затоа, за почеток се потребни дијагностички тестови со висока специфичност и оптимална терапија [2]. Серолошката поддршка на дијагнозата за РА, главно се базира на присуството на ревматоиден фактор (РФ) [3]. Освен за поставување на дијагноза тој се користи и како маркер за активноста на болеста [4]. РФ има просечна сензитивност, но ниска специфичност бидејќи е присутен и кај други ревматски болести, инфекции, но и кај здравата возрасна популација. Во последните години anti-cyclic citrullinate peptide (анти-ЦЦП) антителата се покажаа како надежни во раното дијагностицирање на РА. Нивната сензитивност кај различни популации се движи помеѓу 64% и 74%, а специфичноста меѓу 90% и 99% [2].

Активноста и прогнозата на РА зависат од повеќе фактори: пол, возраст, професија, должина на болеста, број на заболени зглобови, реактанти на акутна фаза, рана појава на зглобни ерозии, генотип и вонзглобни манифестации. Притоа, широко се употребуваат ерозиите на шаки забележани при рендгенографија. Но, потребно е да се идентификуваат маркери кои ја предвидуваат агресивноста на РА и пред појавата на ерозиите [5]. Во литературата е опишана корелација на РФ и анти-ЦЦП со зглобната деструкција [6]. Способноста за идентификување на пациентите кои ќе имаат прогресивна болест е неопходна поради придобивките што тие можат да ги имаат од раниот третман. Оваа студија ретроспективно ја истражува сензитивноста и специфичноста на РФ и анти-ЦЦП кај РА и нивната поврзаност со активноста на болеста и рендгенолошкиот наод.

## Материјал и методи

### Пациенти

Ретроспективно беа анализирани 100 пациенти кои поради зглобна болка се јавиле на Клиниката за ревматологија во Скопје во периодот од јануари 2009 до јули 2009 година. Според дијагнозата заснована на критериумите на Американската ревматолошка асоцијација од 1987 година, пациентите беа поделени во две групи: со дијагностициран РА (РА пациенти)-вкупно 60 пациенти и со друга ревматска болест (не-РА пациенти)-вкупно 40 пациенти. Последната група ја сочинуваа пациенти со: артроза (21), анкилозантен спондилитис (2), реактивен артритис (4), системски еритемски лупус (3), склеродерма (3), системски васкулитис (2), фибромијалгија (3) и миозитис (2). Анализирани беа следните параметри: возраст, пол, должина на болеста, утринска вкочанетост, фамилијарна историја, седиментација, хематокрит, број на леукоцити, тромбоцити, ЦРП, IgM РФ, анти-ЦЦП, ДАС 28 и зглобни ерозии.

### Лабораториски анализи

Седиментацијата беше одредувана според стандардната Westergren метода. CRP и IgM РФ беа тествирани со стандарден метод користејќи латекс-аглутинација. CRP се сметаше за позитивен ако беше  $>6,0$  mg/l, а IgM РФ  $>12$  IE/ml. За анти-ЦЦП беше користен методот ЕЛИСА, работена со комплетите Imtec-CCP-antibody од фирмата Human (Berlin, Germany) и истите се сметаа за позитивни доколку титарот е  $>25$  IE/ml.

ДАС (скор на активноста на болеста) 28 го одредуваа со DAS 28 calculator со три варијабли според Alfons and Michiel. Зглобните ерозии се регистриаа на рендгенографија на двете шаки.

Пациентите беа анализирани по нивна поделба според присуство или отсуство на РФ и анти-ЦЦП. Анализа на РФ(+) и РФ(-) и одделно анализа на анти-ЦЦП(+) и анти-ЦЦП(-).

### Статистичка анализа

Податоците беа обработени со програмата Statistica за Windows, верзија 5,0. Сензитивноста и специфичноста беше пресметана за РФ и за анти-ЦЦП. За споредба на клиничките карактеристики помеѓу РА групите: РФ(+) и РФ(-), анти-ЦЦП(+) и анти-ЦЦП(-) беше користен Студентов t-тест за независни примероци, додека  $\chi^2$  беше користен за квалитативните варијабли. За утврдување на поврзаноста помеѓу РФ и анти-ЦЦП со параметрите за активност на болеста беше користе-

на корелацијата за рангирање според Spearman. Вредност на  $p < 0,05$  е земена за статистички значајна.

**Табела 1.** Демографски, клинички и лабораториски наоди на анализираниите пациенти

варијабли	РА пациенти	не-РА пациенти	p
возраст (медијана $\pm$ СД)	57,2 $\pm$ 10,7 години	56,6 $\pm$ 12,8	НС
должина на болест (медијана)	54 месеци	36 месеци	НС
мажи:жени	1:7,4	1:5	НС
утринска вкочанетост	33/42 (78,6%)	14/18 (77,8%)	НС
РФ позитивен	42/59 (71,2%)	7/40 (17,5%)	<0,01
анти-ЦЦП позитивен	32/48 (66,6%)	6/40 (15%)	<0,01
седиментација (просек $\pm$ СД)	57,8 $\pm$ 31,3	40,2 $\pm$ 27,4	<0,05
хеματοкрит (просек $\pm$ СД)	0,36 $\pm$ 0,04	0,36 $\pm$ 0,05	НС
леукоцити (просек $\pm$ СД)	8,06 $\pm$ 3,2	7,9 $\pm$ 3,4	НС
тромбоцити (просек $\pm$ СД)	287,3 $\pm$ 95,6	296,3 $\pm$ 96,7	НС
CRP	40/60 (66,7%)	16/40 (40%)	НС

НС-не сигнификантно

## Резултати

Демографските, клиничките и лабораториските наоди на пациентите вклучени во студијата се прикажани во табела 1.

Само кај 48 пациенти од РА-групата постоеше податок за анти-ЦЦП антители. Така, анти-ЦЦП антителата беа позитивни кај 32 пациенти (66,6%), додека кај 16 пациенти беа негативни. Кај не-РА групата анти-ЦЦП беа позитивни само кај 2 пациенти (5%). Четириесет и двајца пациенти од 60 пациенти (70%) со РА имаа позитивен РФ, а 18 (30%) беа серонегативни. Кај не-РА групата РФ

беа позитивен кај 7 (17,5%) од 40 пациенти. Студијата откри сензитивност од 66,7% и специфичност од 95% за анти-ЦЦП. Истите за РФ изнесуваа 71,2% и 82,5%, соодветно.

Анализата на испитуваните параметри помеѓу анти-ЦЦП(+) и анти-ЦЦП(-) групите, како и РФ(+) и РФ(-) групите со РА не покажаа статистички значајна разлика ( $p > 0,05$ ) (Табела 2). Не постоеше статистички значајна разлика ниту во застапеноста на зглобните ерозии. Единствено пациентите од анти-ЦЦП(-) групата со РА почесто имаа позитивна фамилијарна анамнеза.

**Табела 2.** Компарација на клиничките карактеристики според присуството на анти-ЦЦП и РФ кај РА-групата

варијабли	РФ(+)	РФ(-)	p <sub>рф</sub>	анти-ЦЦП(+)	анти-ЦЦП (-)	p <sub>анти-ЦЦП</sub>
возраст	56,4 $\pm$ 10,5	59,3 $\pm$ 11,4	НС	53,79,5	61,2 $\pm$ 10,8	<0,05
долж на болест	36(2-180)	60(1-360)	НС	24(1-360)	72(2-240)	НС
фам. историја	16,7%	36,8%	НС	9,3%	39,2%	<0,05
утро вкочанетост	80,9%	77,7%	НС	81,25%	75%	НС
седиментација	56,4 $\pm$ 30,9	60,2 $\pm$ 33,7	НС	53,9 $\pm$ 33,6	62 $\pm$ 28,6	НС
хеματοкрит	0,37 $\pm$ 0,04	0,36 $\pm$ 0,04	НС	0,36 $\pm$ 0,03	0,37 $\pm$ 0,05	НС
леукоцити	8,2 $\pm$ 3,7	7,4 $\pm$ 1,9	НС	8,0 $\pm$ 3,2	7,8 $\pm$ 3,4	НС
тромбоцити	295,4 $\pm$ 103	164,5 $\pm$ 74	НС	293,4 $\pm$ 98,8	281,3 $\pm$ 93,7	НС
CRP	51,2 $\pm$ 51,5	37,6 $\pm$ 36,5	НС	45,1 $\pm$ 46,9	44,7 $\pm$ 33,8	НС
РФ	-	-	-	90,6%	46,4%	<0,05
анти-ЦЦП	70,7%	16,6%	<0,05	-	-	-
зглобни ерозии	52,4%	55,5%	НС	56,2%	50%	НС
ДАС 28	6,55	6,57	НС	6,51	6,57	НС

Корелацијата на РФ или анти-ЦЦП со серолошките параметри за активноста на болеста (седиментација, ЦРП, ДАС 28) не се покажаа како статистички значајни. Сигнификантна корелација постоеше помеѓу РФ и анти-ЦЦП ( $r=0,5$ ,  $p < 0,001$ ) (Табела 3, Слика 1).

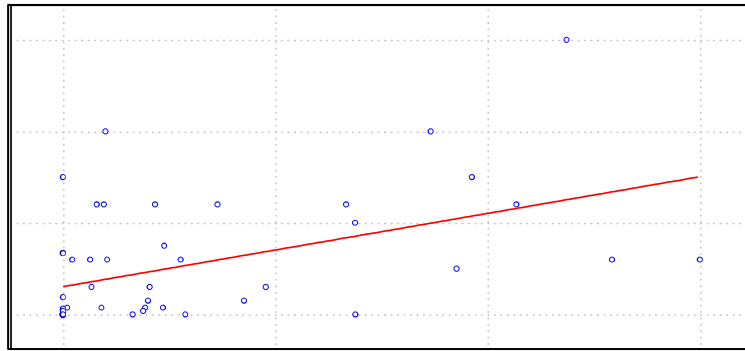
## Дискусија

Откривме сензитивност на анти-ЦЦП близу до

онаа на IgM -РФ, но со многу поголема специфичност. Bissaro *et al.* [7] открил 41% сензитивност и

**Табела 3.** Корелација помеѓу РФ и анти-ЦЦП со останатите параметри за активност на болеста

	РФ	анти-ЦЦП
седиментација	p=0,99	p=0,27
CRP	p=0,33	p=0,83
ДАС 28	p=0,47	p=0,8
РФ	-	r=0,5 p<0,001
анти-ЦЦП	r=0,5 p<0,001	-



Сл. 1. Корелација помеѓу анти-ЦЦП и IgM РФ

97% специфичност во дијагностицирањето на РА во споредба со пациенти со друга ревматска болест. Дијагностичката специфичност на анти-ЦЦП во оваа студија е слична на претходни студии [7,8], но сензитивноста е поголема. Малата застапеност на анти-ЦЦП антителата во не-РА групата укажува дека поверојатно е дека пациентите со зглобна болка и позитивни анти-ЦЦП имаат РА отколку некоја друга ревматска болест.

Застапеноста на анти-ЦЦП помеѓу серонегативните РА-болни во студијата е 16,6% што е во согласност со наодот на Serdaroflu *et al.* [3] (14,3%). Според овој процент, не може да се смета дека анти-ЦЦП антителата се подобар дијагностички маркер од РФ во дијагнозата на РА.

Претходни студии пронашле дека РФ и анти-ЦЦП антителата се асоцирани со зглобни ерозии [9,10]. Оваа студија не го потврди истото, што е пак во согласност со други студии [4,11]. Причината, веројатно, е во малата група на анализирани пациенти.

Kastbom *et al.* [12] покажале дека анти-ЦЦП се добар предиктор за активноста на болеста, дури подобар од РФ. Но, ние не најдовме сигнификантна разлика во испитуваните параметри помеѓу анти-ЦЦП(+) и анти-ЦЦП(-), како и РФ(+) и РФ(-) групите на пациенти. Не најдовме корелација помеѓу анти-ЦЦП или РФ со серолошките маркери на активност на болеста (седиментација, CRP, ДАС 28). Пронајдовме статистички значајна, умерено позитивна, корелација помеѓу анти-ЦЦП и РФ. Сепак ДАС 28 беше висок и во двете групи што веројатно се должи на тоа што сите вклучени пациенти се јавиле во терциерна здравствена установа.

### Заклучок

Анти-ЦЦП антителата во споредба со РФ се специфични за дијагноза на РА и нивното одредување може да биде корисно за серолошката

дијагноза на РА. Не постои разлика во активноста на болеста помеѓу анти-ЦЦП(+) и анти-ЦЦП(-) и/или РФ(+) и РФ(-) пациенти со РА.

Конфликт на интереси. Не е декларирани.

### Литература

1. Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, *et al.* Meta-analysis: Diagnostic Accuracy of Anti-Cyclic Citrullinated Peptide Antibody and Rheumatoid Factor for Rheumatoid Arthritis. *Ann Intern Med* 2007; 146: 797-808.
2. Fathi NA, Ezz-Eldin AM, Eman Mosad, *et al.* Diagnostic performance and predictive value of rheumatoid factor, anti-cyclic-citrullinated peptide antibodies and HLA-DRB1 locus. *International Archives of Medicine* 2008; 1: 20.
3. Serdaroflu M, ÇakBrbay H, Defer O, *et al.* The association of anti-CCP antibodies with disease activity in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2008; 28: 965-970.
4. Gupta R, Thabah MM, Aneja R, *et al.* Usefulness of anti-CCP antibodies in rheumatic diseases in Indian patients. *Indian J Med Sci* 2009; 63: 92-100.
5. Shankar S, Grover R, Handa R. Role of anti cyclic citrullinated peptide antibodies in erosive disease in patients with rheumatoid arthritis. *Indian J Med Res* 2006; 124: 689-696.
6. Shovman O, Gilburd B, Zandman-Goddard G, *et al.* The diagnostic utility of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, matrix metalloproteinase-3, rheumatoid factor, erythrocyte sedimentation rate, and C-reactive protein in patients with erosive and non-erosive rheumatoid arthritis. *Clinical & Developmental Immunology* 2005; 12(3): 197-202.
7. Bizzaro N, Mazzanti G, Tonutti E, *et al.* Diagnostic accuracy of the anti-cyclic citrullinated peptide antibody assay for rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 2001; 47: 1089-1093.
8. Suzuki K, Sawada T, Murakami A, *et al.* High diagnostic performance of ELISA detection of antibodies to citrullinated antigens in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheum* 2003; 43: 155-163.
9. Kroot EJ, de Jong BA, van Leeuwen MA, *et al.* The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1831-1835.
10. Vencovsky J, Machacek S, Sedova L, *et al.* Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 427-430.
11. Goldbach-Mansky R, Lee J, McCoy A, *et al.* Rheumatoid arthritis associated autoantibodies in patients with synovitis of recent onset. *Arthritis Res* 2000; 2: 236-243.
12. Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, Skogh T. Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1085-1089.

Оригинален труд

## АНАЛИЗА НА РАДИОЛОШКИОТ НАОД НА ФРАКТУРИТЕ НА ДИСТАЛНИОТ КРАЈ НА РАДИУСОТ

### ANALYSIS OF RADIOGRAPHIC OUTCOME OF DISTAL RADIUS FRACTURES

Касапинова Катерина и Камилоски Виктор

ЈЗУ Универзитетска клиника по хируршки болести "Св.Наум Охридски" - Скопје, Република Македонија

#### Апстракт

**Вовед.** Недоволно студии го испитуваат соодносот на рендгенографскиот наод при онеспособеноста од перспектива на пациентите. Целта на студијата е да се анализира корелацијата меѓу радиолошките параметри на фрактурите на дисталниот радиус со исходот изразен преку резултатите од евалуацијата на рачниот зглоб од страна на пациентот, како и со објективните параметри на функцијата на рачниот зглоб (опсег на движење и сила на стисок).

**Методи.** Според дизајнот, ова е проспективна рандомизирана студија на 64 пациенти со фрактура на дисталниот крај на радиусот. За евалуација на онеспособеноста е користен прашалникот "Процена на рачниот зглоб од страна на пациентот" (PRWE). За радиографска проценка се мерени радијалната должина, радијалниот агол и дорзалниот агол, а потоа се бодувани по методот на Лидстром модифициран од Сармиенто. Објективните клинички параметри оценувани во ова студија се силата на стисок и опсегот на движења во рачниот зглоб. За да се истражи меѓусебната поврзаност на овие три мерки на исходот е користена Спирман-овата корелација на рангови.

**Резултати.** Не постои статистички значајна корелација на радиолошкиот исход со болката и онеспособеноста според PRWE, како ни со силата на стисок и опсегот на движења во повредениот рачен зглоб.

**Заклучок.** Зараснувањето на фрактурата и рехабилитирањето на пациентот со здобиена фрактура на дисталниот радиус не смее да се следи само со рендгенографско иследување. Мора да се направи и евалуација на онеспособеноста на пациентот.

**Клучни зборови:** фрактура на дисталниот ради-

ус, онеспособеност, дорзален агол, радијално скратување

#### Abstract

**Introduction.** There are not enough studies that evaluate the correlation between the radiological outcome and the disability rated by the patients. The aim of this study was to analyze the correlation between radiological parameters of distal radius fractures and the results of the patient-rated outcome, as well as the objective parameters of the wrist function (range of motion and grip strength)

**Methods.** This was a prospective randomized study of 64 patients with a distal radius fracture. To evaluate the disability, Patient-rated wrist evaluation (PRWE) questionnaire was used. For radiographic assessment radial length, radial angle and dorsal angle were measured and graded according to Lidstrom method modified by Sarmiento. The objective clinical parameters evaluated in this study were grip strength and range of movements. In order to determine the association between these three outcome parameters, a statistical correlation with Spearman's rang correlation was performed.

**Results.** The results of this study showed no significant correlation between the radiological outcome and the PRWE pain and disability, as well as the grip strength and the range of motion in the injured wrist.

**Conclusion.** Post-fracture follow-up and rehabilitation in patients with distal radius fracture should not rely exclusively on radiographic evaluation. Patient-rated evaluation of the disability should be mandatory.

**Keywords:** distal radius fracture, disability, dorsal angle, radial shortening

#### Вовед

Рендгенографските параметри (радијална должина, радијален агол, дорзален агол, улнарна варијанса) се најчесто користени објективни анатомски параметри за проценка на исходот на фракту-

рите на дисталниот радиус (ФДР). Тие вообичаено се базираат на квантитативни мерења на стандардни рендгенографи на рачниот зглоб во два правци. Можат да се измерат во секоја фаза од следењето на пациентите со ФДР и одделно да се анализираат, а потоа со нивна споредба да се проценат како тие се менуваат во текот на зараснувањето. Губењето на радијалната должина по ФДР е асоцирано со алтерација на трансферот на силите низ рачниот зглоб, болка во дисталниот радио-улнарен зглоб (ДРУЗ), ограничена ротација и зголемен ризик за развој на радиокарпална артроза [1]. Според Rogue, секое радијално скратување поголемо од 2мм предизвикува зголемување на притисокот и контактната површина на fossa lunatum [2]; кај 2.5мм радијално скратување има зголемено улнарно оптоварување од 20 на 40% [3]; 4.5 мм се причина за болка во рачниот зглоб [4]; кај повеќе од 6мм има улнарно засегање на трикветрум [5]. Според Camelot, прифатливо е радијално скратување до 3мм [6], а според Kelly кај постари лица и до 5мм [7].

При дорзална ангулација на дисталниот радиус, медиокарпалниот зглоб компензира со флексија што може да причинува болан синовитис или DISI нестабилност на рачјето. При 10М дорзална ангулација има болна супинација, кај 20М има ограничена ротација и нестабилност на DRUJ [4] и редистрибуција на силите од радиопалмарно кон дорзоулнарно [2]. Short опишал при 30М дорзална ангулација зголемено улнарно оптоварување и до 50% [8]. Според McQueen [9] и Gliatis [10] дорзалниот агол е највалидниот рендгенски предиктор на функционалниот исход.

Кај радијален агол од 15М има поместување на контактната површина од скафоидната кон лунатната фоса, а кај 10М има драматична промена во дистрибуцијата на силите [2].

Во случај кога не може да се постигне анатомска репозиција кај фрактурите на дисталниот радиус, било заради комплексноста на фрактурата или можностите на хирургот и расположивата опрема, што е она што е прифатливо (т.е. што е задоволителна репозиција)? Според Fernandez, најниските вредности на радиографските параметри кои не предизвикуваат симптоматски малунион се: дорзален агол не-поголем од 10М, радијално скратување не-поголемо од 2мм, радијален агол не-помал од 15М, конгруентен сигмоиден засек, интраартикуларен step-off не-поголем од 1-2 мм, отсуство на карпална сублуксација [11].

Последната декада вниманието при испитувањето на исходот на ФДР е насочено кон процена на онеспособеноста на пациентите и квалитетот на животот проценет од перспектива на пациентот преку соодветни прашалници. Претходно објаву-

ваните студии го испитувале соодносот на рендгенографскиот исход со објективниот исход (сила на стисок, опсег на движења, спретност) и објавиле постоење на нивна корелација. Но, нема доволно студии кои го испитуваат соодносот на рендгенографскиот исход со онеспособеноста од перспектива на пациентите. Испитувањето на овој сооднос треба да овозможи да се дадат нови критериуми за тоа што е задоволителна репозиција на ФДР.

Цели на ова студија се:

- Да се истражи поврзаноста на радиолошките параметри на фрактурата на дисталниот радиус (радијална должина, радијален агол и палмарен агол) со исходот изразен со резултатите од евалуацијата на рачниот зглоб од страна на пациентот.
- Да се анализира корелацијата меѓу исходот на фрактурите на дисталниот радиус изразен со радиолошките параметри на дисталниот радиус со објективните параметри на функцијата на рачниот зглоб (опсег на движење и сила на стисок).

## Материјал и методи

### 1. Пациенти

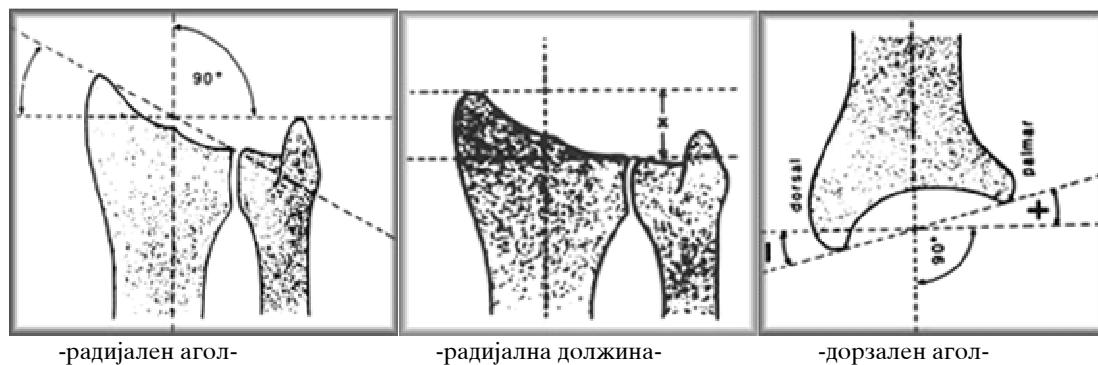
Оваа клиничка студија според дизајнот е проспективна рандомизирана студија на 64 пациенти со здобиена фрактура на дисталниот крај на радиусот. Критериум за вклучување е акутна фрактура на дисталниот радиус кај пациенти на возраст над 16 години, независно од видот на применетиот третман. Критериуми за исклучување се: фрактури кај пациенти со недовршена фузија на епифизите, додатна повреда во предел на рачниот зглоб, отворени фрактури, билатерална фрактура, повторени повреди во предел на рачниот зглоб. Пациентите се иследувани во три наврати: прв пат на 7-14 дена од повредата (баселине); втор пат на три месеци од повредата; и трет пат на шест месеци од повредата.

## 2. Инструменти за процена на исходот

### 1. Процена на онеспособеноста

За процена на онеспособеноста е користен прашалникот Patient-rated wrist evaluation-PRWE (Проценка на рачниот зглоб од страна на пациентот) [12] кој е составен од 15 прашања во две целини: БОЛКА (5) и ФУНКЦИЈА која пак од своја страна е составена од две потскали: специфични (6 прашања) и вообичаени активности (4 прашања). Во секое прашање пациентот ја бодира сво-

јата тешкотија во изминатата седмица на скала од 11 точки (0-10). Вкупниот резултат може да биде од 0 до 100, при што повисоките бодови означуваат поголема болка и онеспособеност [12]. За резултатот за секое прашање, за секоја од трите потскали одделно, како и за вкупниот резултат постои и дескриптивна градација и тоа: (0) нема; (1-2) минимална; (3-4) блага; (5-6) средна; (7-8) тешка и (9-10) многу тешка болка или онеспособеност.



Сл. 1. Мерење на радиографските параметри

(мм) и радијален агол (степени) на антеропостериорната слика, како и дорзален агол (степени) на профилната слика (Слика 1).

Резултатите од мерењата на радиографиите се бодуваат и се оценуваат според бодовниот систем Stewart со кој се добива оценка одличен (0), добар (1-3), задоволителен (4-6) или лош (7-12) [13].

Типот на фрактурата се одредува според АО класификацијата за фрактурите на долгите коски [14], и тоа по групи како тип А, Б или Ц.

### 3. Испишување на физичкии карактеристики на рачниот зглоб

Објективни клинички параметри кои се иследувани се:

#### а. Сила на стисок

Со помош на рачен динамометар, се мери билатерално, на секоја страна по три мерења од кои се изведува просечна вредност (според стандардизирана процедура-Mathiewetz [15]). Силата на стисокот се изразува како процент на вредноста на засегнатата страна од здравата страна (коригирано со факторот 1,07 за недоминантна страна).

#### б. Ойсеџ на движења во рачниот зглоб

Се испитуваат дорзална екстензија и палмарна флексија, пронација и супинација, радијална и улнарна девијација. Се мерат активни движења со

## 2. Радиографска процена

Користени се стандардни радиографии на рачниот зглоб во два правци, веднаш по повредата, на 7-14 дена од повредата (baseline), на третиот и на шестиот месец по повредата, како и во еден наврат на здравиот рачен зглоб. Се мерат следните параметри: радијална должина

гониометар. Способноста за изведување на движењата се бодува на скала со максимални 30 бода [16].

## 3. Статистичка анализа

Добиените податоци статистички се обработени со SPSS Statistics 18 (2009) for Windows од SPSS Inc. Користени се следните постапки [17]: анализа на структурата на статистичките серии (средна вредност, стандардна девијација, минимални и максимални вредности); статистичка корелација за дескрипција на асоцијацијата на параметрите со Спирман-овата корелација на рангови. За статистички значаен се смета  $p < 0,05$ .

## Резултати

Карактеристиките на испитуваната група од 64 пациенти збирно се прикажани во Табела 1.

### 1. Резултати од PRWE -прашалнико

Во Табела 2 се дадени просечните оценки со стандардната девијација за целата испитувана група за секое одделно прашање од PRWE-прашалникот, како и за секоја од трите потскали и за вкупниот резултат.

Вкупниот резултат од ПРВЕ-прашалникот се менува од просечна тешка болка и онеспособеност на почетокот (просечно бодови 64.5), преку блага на третиот месец (24.9), до минимална болка и онеспособеност по 6 месеци (10.2) (Табела 2).



**Табела 1.** Карактеристики на испитуваната група од 64 пациенти со фрактура на дисталниот крај на радиусот

Карактеристики на испитуваната група	
Возраст	просек 55.5 години, (опсег 17-80), СД 14.54
Пол	жени 43 (67.2%) мажи 21 (32.8%)
Повредена страна	десна 27 (42.2%) лева 37 (57.8%)
	десна 63 (98.4%) лева 1 (1.6%)
Доминантна страна	доминантна повредена 26 (40.6%)
	недоминантна повредена 38 (59.4%)
	1. пад на рамно 47 (73.4%)
	2. пад од висина 15 (23.4%)
Механизам на повреда	3. удар 1 (1.6%)
	4. пригмечување 1 (1.6%)
	5. прекумерно истегање 0 (0%)
Тип на фрактура (АО класификација)	екстраартикуларна А - 27 (42.2%)
	делумно артикуларна Б - 2 (3.1%)
	комплетно артикуларна Ц - 35 (54.7%)
	1. имобилизација 14 (21.9%)
	2. затвор.репозиц. + имобилизација 33 (51.6%)
	3. затв.репоз.+надв.фикс. + К-игли 9 (14%)
	4. затвр.репоз.+К-игли + имобилиз. 2(3.1%)
	5. отвор.репоз.+внатр.фикс.со плочка 4 (6.2%)
	6. отв.реп.+надв.фикс. + внатр.фикс. 2 (3.1%)
Физикална терапија	да 42 (65.6%) не 22 (34.4%)

СД = стандардна девијација

**Табела 2.** Просечен резултат со стандардна девијација за трите потскали и вкупен резултат од PRWE од трите временски периоди

Прашање	Baseline		3 месеци		6 месеци	
	ПРОСЕК	СД	ПРОСЕК	СД	ПРОСЕК	СД
Болка (50)	20.8	7.59	10.5	6.14	6.5	5.58
Специфични активности(60)	54.6	8.66	18.3	14.53	5.3	6.42
Вообичаени активности(40)	32.7	6.13	10.4	8.60	2.1	3.15
Вкупен резултат (100)	64.5	11.85	24.9	15.33	10.2	8.62

ПРОСЕК = просечна вредност, СД = стандардна девијација

## 2. Радиолошки резултати

Просечните вредности за секој од радиолошките параметри низ фазите на иследувањето се претставени во табела 3. Од измерените вредности за радиографските параметри за секоја од фазите на следење потоа се пресметува бројот на вкупни бодови и се дава оценка според бодовниот систем Stewart (СС). Вкупните добиени резултати

од оценувањето по СС се дадени во Табела 4, претставени преку бројот на пациенти.

Од иницијалните рендгенографии е утврдено дека просечно, вредноста на бодовите по СС е 4.17 (просечна оценка задоволителен), по интервенцијата baseline просечната вредност е 0.97 (просечна оценка добар), на третиот месец е 1.91 (просечна оценка добар), а на шестиот месец просечните бодови се 2.05 (просечна оценка добар).

**Табела 3.** Просечни вредности на измерените радиографски параметри за целата група испитаници во тек на 6 месеци

	здрава			иницијална			baseline			3 месец			6 месец		
	Р	р	д	Р	р	Д	Р	р	д	Р	р	д	Р	р	д
ПРОСЕК	12.86	26.03	-7.92	9.59	19.86	14.08	11.42	22.86	-2.2	10.47	21.27	1.58	10.34	21.05	2.19
СД	1.34	2.95	5.69	3.01	6.2	13.24	2.1	4.63	8.54	2.71	5.16	9.91	2.86	5.4	10.25

Р-радијална должина (во милиметри), р-радијален агол (во степени), д-дорзален агол (во степени), ПРОСЕК = просечна вредност, СД = стандардна девијација

**Табела 4.** Резултатите по Stewart бодовниот систем за пациентите од испитуваната серија во тек на 6 месеци

	СС иницијална	СС baseline	СС 3 месец	СС 6 месец
личен	4	33	25	24
добар	20	27	27	25
задоволителен	28	3	7	9
лош	12	1	5	6

СС = Stewart- rezultat (Stewart score)

### 3. Резултати од мерењето на објективните физички карактеристики на рачниот зглоб

#### а. Сила на стисок

Просечната вредност на силата на стисок на повредената рака три месеци по повредата е 62,8% од силата на здравата страна, додека по шест месеци се постигнати 81,6%.

#### б. Опсег на движења во рачниот зглоб

Вредностите на измерените движења во повредениот рачен зглоб како нивни просечни вредности изразени во степени на третиот и шестиот месец, а потоа бодувани се прикажани во Табела 5. На три месеци по повредата опсегот на движење просечно е оценет со 21,8 бодови, а на шест месеци од повредата со 23,7 бодови.

**Табела 5.** Вредности на одделните измерени движења во повредениот рачен зглоб на третиот и шестиот месец по повредата, изразени во бодови

	3 месец							6 месец						
	ЕК	ФЛ	УД	РД	ПР	СУП	ВК	ЕК	ФЛ	УД	РД	ПР	СУП	ВК
ПРОСЕК	4.5	3.8	2.9	1.8	4.9	3.8	21.8	5.2	4.2	2.9	2	5	4.4	23.7
СД	0.99	0.67	0.31	0.43	0.32	0.97	2.42	0.7	0.58	0.31	0.13	0.13	0.79	1.7

ПРОСЕК = просечна вредност, СД = стандардна девијација, ЕК=дорзална екстензија, ФЛ=палмарна флексија, УД=улнарна девијација, РД=радијална девијација, ПР=пронација, СУП=супинација, ВК=вкупно бодови

### 4. Корелациона анализа

#### 4.1. Корелација (Spearman-ова) на радиолошкиот исход со PRWE-резултатот за болка и онеспособеност

НЕМА статистички значајна корелација на:

- 3 месеци: Stewart score бодовите(СС) со PRWE вкупен резултат, PRWE болка, PRWE специфични активности, PRWE вообичаени активности;
- 6 месеци: Stewart score бодовите(СС) со PRWE вкупен резултат, PRWE болка, PRWE специфични активности, PRWE вообичаени активности;
- 6 месеци: крајното радијално скратување со PRWE вкупен резултат, PRWE болка, PRWE специфични активности, PRWE вообичаени активности;
- 6 месеци: крајната дорзална ангулација со PRWE вкупен резултат, PRWE болка, PRWE специфични активности, PRWE вообичаени активности;
- PRWE-вкупен резултат на 6 месеци со иницијалното радијално скратување, иницијалното губење на радијалниот агол, иницијалниот дорзален агол, иницијалниот СС;
- PRWE-вкупен резултат на 6 месеци со радијалното скратување по интервенцијата, губењето на радијалниот агол по интервенцијата, на дорзалниот агол по интервенцијата, СС по интервенцијата;

#### 4.2. Корелација (Spearman-ова) на радиолошкиите параметри со објективните карактеристики на рачниот зглоб

НЕМА статистички значајна корелација на:

- 6 месеци: % на сила на стисок со радијалното скратување;
- 6 месеци: % на сила на стисок со дорзалниот агол;
- 3 месеци: % на сила на стисок со СС бодовите;
- 3 месеци: бодови за опсегот на движење со СС бодовите;
- 6 месеци: % на сила на стисок со СС бодовите;
- 6 месеци: бодови за опсегот на движење со СС бодовите.

#### 4.3. Корелација на типот на фрактурирањето според АО класификацијата со PRWE резултатот за болка и онеспособеност

НЕМА статистички значајна корелација на типот на фрактурата со PRWE вкупен резултат, PRWE болка, PRWE специфични активности, PRWE вообичаени активности, ниту на третиот, ниту на шестиот месец.

### Дискусија

Дали е потребно секогаш да се инсистира на пос-

тигнување на анатомска репозиција кај фрактуриите на дисталниот радиус? Теоретски, одговорот е да, бидејќи се очекува анатомската реконструкција на архитектурата на радиокарпалниот, радиоулнарниот зглоб и на лигаментарната поддршка да бидат предуслов за ресторација на нормалната кинематика на рачниот зглоб. Практично, ова е возможно да се постигне со современите методи на лекување кај екстраартикуларните нестабилни фрактури и кај интраартикуларните фрактури кои немаат повеќе од 4-5 покрупни фрагменти. Но, затоа пак, постигнувањето на оваа цел е многу тешко, а често и невозможно при масивни дизрупции на радиокарпалниот зглоб како кај коминутивните фрактури. Дополнителна хондрална лезија, лигаментарен раскин и нарушување на ДРУЗ како при високо-енергетските повреди, негативно влијаат на крајниот исход. Кај ваквите фрактури треба да се тежнее да се постигне најдоброто можно порамнување на зглобот без карпална сублуксација со помош на лигаментотакса (затворена репозиција и надворешна фиксација).

Следните студии извршиле субјективна евалуација на болката и онеспособеноста кај пациентите со фрактура на дисталниот крај на радиусот со примена на прашалници за самоевалуација. Според Jupiter [18] нема корелација на бодовите од Stewart score-системот со PRWE-резултатот кај лица над 60 години. Anzarut [19] објавил дека ако вредноста на палмарниот агол е од 20 до -10 степени нема разлика во резултатот на SF-12 и DASH. Во студијата на Kamezis [20] нема корелација на рендгенските параметри со PRWE-функционалните скали. Ниту во студијата на Камилоски [21] нема корелација на Stewart score со PRWE кај пациентите лекувани со надворешна фиксација. Зараснување во лоша анатомска позиција (malunion) е често, особено кај фрактуриите на дисталниот радиус лекувани со затворена репозиција и имобилизација [22]. Се верува дека неуспехот да се реконструира анатомијата на дисталниот радиус резултира со перзистентна болка, ограничени движења во рачниот зглоб и подлактицата, слабост и онеспособеност заради неправилна функција на радиокарпалниот и ДРУЗ. Во последните години има тенденција за се почеста примена на отворени хируршки техники за лекување на ФДР, посебно кај младата популација, и тоа поради загриженоста дека неуспехот да се постигне анатомска репозиција може да биде причина за подоцнежн развој на симптоматски остеоартритис. За да ја испитаат оваа поврзаност Forward и сор. во 2008 направиле ретроспективна студија на 106 пациенти со malunion, кои биле помлади од 40 години при здобивањето на ФДР [23]. Иако постоеле јасни радиолошки знаци за

посттравматски артритис по интраартикуларна фрактура кај 68% од пациентите, сепак резултатот за онеспособеноста со DASH-прашалникот не отстапувал од тој на општата популација (значи не бил симптоматски остеоартритисот), а мерењето на движењата и силата на стисок отстапувало за помалку од 10%. На ниту еден пациент не му била потребна корективна процедура. Затоа авторите заклучиле дека неправилна репозиција на фрактуриите на дисталниот радиус, гледано долгорочно, не мора да резултира со симптоматски артритис и тоа мора да се земе предвид при поставувањето на индикации за третман кај пациентите, било примарен, било корективен. Слични резултати објавил и Goldfarb во 2006 година [24], кој ја испитувал функцијата и онеспособеноста на пациентите по 15 години и заклучил дека и покрај утврдената артроза пациентите сепак задржале високо ниво на функција. Young во 2003 година објавил студија [25] за иследувањето на пациентите со ФДР по седум години и заклучил дека и покрај постоењето на радиографски malunion кај 50%, севкупната функција, опсегот на движење и активностите од секојдневното живеење не биле засегнати.

Од објавеното во овие студии, како и од резултатите на овој труд кој не наоѓа статистички значајна корелација на радиографскиот исход со исходот од аспект на пациентот т.е. неговата онеспособеност, мора да се извлече заклучок дека зараснувањето на фрактурата и рехабилитирањето на пациентот со здобиена фрактура на дисталниот радиус не смее да се следи само со рендгенографско иследување. Мора да се направи и самоевалуација на онеспособеноста на пациентот. Само кај пациентите кај кои освен радиографски malunion постои и лош резултат за болка и функција според PRWE и незадоволство на пациентот од квалитетот на животот е потребна промена на терапевтскиот пристап и евентуална корективна операција.

### Заклучок

Не постои статистички значајна корелација на радиолошкиот исход на ФДР со болката и онеспособеноста според PRWE, како ни со силата на стисок и опсегот на движења во повредениот рачен зглоб. Не постои статистички значајна корелација меѓу тежината на иницијалната коскена лезија (претставена со АО класификацијата, иницијалното радијално скратување и дорзален агол), болката и онеспособеноста според PRWE.

Рехабилитацијата на пациентите по повредата и процената на исходот на ФДР не смеат да се засноваат само на следење на рендгенографските

параметри, туку и на процена на онеспособеноста. Само така ќе се обезбеди сеопфатен третман на пациентите со фрактура на дисталниот крај на радиусот.

*Конфликт на интереси.* Не е деклариран.

## Литература

1. Crisco JJ, Moore DC, Marai GE *et al.* Effects of distal radius malunion on distal radioulnar joint mechanics--an in vivo study. *J Orthop Res* 2007; 25: 547-55.
2. Pogue DJ, Viegas SF, Patterson RM *et al.* Effects of distal radius fracture malunion on wrist joint mechanics. *The Journal of Hand Surgery* 1990; 15: 721-727.
3. Palmer AK, Werner FW. Biomechanics of the distal radioulnar joint. *Clin Orthop Relat Res* 1984; 187: 26-35.
4. Jenkins NH, Mintowt-Czyz WJ. Mal-union and dysfunction in Colles' fracture. *The Journal of Hand Surgery* 1988; 13B: 291-293.
5. Fernandez DL. Correction of post-traumatic wrist deformity in adults by osteotomy, bone-grafting, and internal fixation. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 1982; 64A: 1164-1178.
6. Camelot C, Ramare S, Lemoine J, Saillant G. Orthopedic treatment of fractures of the lower extremity of the radius by the Judet technique. Anatomic results in function of the type of lesion: apropos of 280 cases. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* 1998; 84: 124-135.
7. Kelly AJ, Warwick D, Crichlow TP, Bannister GC. Is manipulation of moderately displaced Colles' fracture worthwhile? A prospective randomized trial. *Injury* 1997; 28: 283-287.
8. Short WH, Palmer AK, Werner FW, Murphy DJ. A biomechanical study of distal radial fractures. *The Journal of Hand Surgery* 1987; 12A: 529-534.
9. McQueen M, Caspers J. Colles fracture: does the anatomical result affect the final function? *The Journal of Bone and Joint Surgery* 1988; 70B: 649-651.
10. Gliatis JD, Plessas SJ, Davis TR. Outcome of distal radial fractures in young adults. *The Journal of Hand Surgery* 2000; 25B: 535-543.
11. Fernandez DL. Should anatomic reduction be pursued in distal radial fractures? *The Journal of Hand Surgery* 2000; 25B: 523-527.
12. MacDermid JC, Roth JH, Richards RS. Pain and disability reported in the year following a distal radius fracture: A cohort study. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2003; 4: 24.
13. Stewart HD, Innes AR, Burke FB. Factor affecting the outcome of Colles' fracture: an anatomical and functional study. *Injury* 1985; 5: 289-295.
14. Muller ME, Nazarian S, Koch P *et al.* The Comprehensive Classification of Fractures of Long Bones. Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag, 1991.
15. Mathiowetz V, Weber K, Volland G, Kashman N. Reliability and validity of grip and pinch strength evaluations. *The Journal of Hand Surgery* 1984; 9: 222-226.
16. MacDermid JC, Richards RS, Donner A *et al.* Responsiveness of the Short Form-36, Disability of the arm, shoulder and hand questionnaire, Patient-rated wrist evaluation, and Physical Impairment Measurements in evaluating recovery after a distal radius fracture. *The Journal of Hand Surgery* 2000; 25A: 330-340.
17. Petrie A. Statistics in orthopaedic papers. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 2006; 88B: 1121-1136.
18. Jupiter JB, Ring D, Weitzel PP. Surgical treatment of redisplaced fractures of the distal radius in patients older than 60 years. *The Journal of Hand Surgery* 2002; 27A: 714-723.
19. Anzarut A, Johnson JA, Rowe BH *et al.* Radiologic and patient-reported functional outcomes in an elderly cohort with conservatively treated distal radius fractures. *The Journal of Hand Surgery* 2004; 29A: 1121-1127.
20. Karnezis IA, Panagiotopoulos E, Tyllianakis M *et al.* Correlation between radiological parameters and patient-rated wrist dysfunction following fractures of the distal radius. *Injury* 2005; 36: 1435-1439.
21. Kamiloski V, Vuckov S, Kasapinova K. External fixation in patients with age over 65 years with distal radius fracture. *Contributions XXVII 2. Section of biological and medical sciences. Macedonian academy of sciences and arts* 2006: 189-199.
22. Jupiter JB, Fernandez DL. Complications following distal radial fractures. *Instr Course Lect* 2002; 51: 203-219.
23. Forward DP, Davis TR, Sithole JS. Do young patients with malunited fractures of the distal radius inevitably develop symptomatic posttraumatic osteoarthritis? *The Journal of Bone and Joint Surgery* 2008; 90B: 629-637.
24. Goldfarb CA, Rudzki JR, Catalano LW *et al.* Fifteen-year outcome of displaced intra-articular fractures of the distal radius. *The Journal of Hand Surgery* 2006; 31A: 633-639.
25. Young CF, Nanu AM, Checketts RG. Seven-year outcome following Colles' type distal radial fracture. A comparison of two treatment methods. *The Journal of Hand Surgery* 2003; 28B: 422-426.

Оригинален труд

## СОЗДАВАЊЕ НА СЕРОМ ПО ИЗВРШЕНА АБДОМИНАЛНА ДЕРМОЛИПЕКТОМИЈА - НАШЕ ИСКУСТВО

### SEROMA COMPLICATION AFTER ABDOMINAL DERMOLIPECTOMY – OUR EXPERIENCE

Стевковска Маре<sup>1</sup>, Андоновска Добрил<sup>1</sup>а, Атанасова Емилија<sup>1</sup>, Обочки Елизабета<sup>1</sup>, Ѓорчева Мира<sup>1</sup>, Томова Елисавета<sup>2</sup> и Марцикиќ Грета<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ЈЗУ Универзитетска Клиника по хируршки болести "Св. Наум Охридски", Скопје, Република Македонија, <sup>2</sup>"Свети Лазар" Гинеколошко-акушерска болница, Скопје, Македонија

#### Апстракт

**Вовед.** Формирањето на сером е честа компликација по извршена абдоминопластика и различни постапки се сугерирани за таа да се превенира и да се лекува. Кај овие пациенти, постоперативниот период е продолжен поради појава на оваа компликација.

**Методи.** Во период од три години (2006-2009) на Хируршката клиника "Св. Наум Охридски" во Скопје беа оперирани девет пациенти (8 жени и 1 маж), на возраст од 32-48 години. Кај сите беше спроведена инфраумбиликална дермолипектомија во општа анестезија, кај три од нив, истовремено е извршена херниопластика на инфраумбиликална хернија. Вообичаено се поставуваат два дрена во пубичната регија, кои се отстрануваат четвртиот ден, постоперативно. Овие дренажи можат исто така да предизвикаат додатно реактивно насобирање на течност во раната и да го продолжат нејзиното заздравување.

**Резултати.** Кај пет пациенти дренажата беше отстранета од 10-иот до 14-иот ден. Кај двајца пациенти се формираше сером во пределот на дермолипектомијата, што го продолжи периодот на дренажа на раната. Кај една пациентка на 40-годишна возраст, две недели по операцијата беше формиран сером 12 x 5 см (ултрасонографски верифициран), кој беше третиран со дренажа и со антибиотска терапија. Кај истата пациентка по 5 години се појави силна болка во предел на раната и формиран сером 6x5 см, кој беше третиран конзервативно и со антибиотици. Оперативен зафат беше сугериран, но до сега е одбиван.

**Заклучок.** Формирањето на сером по извршена абдоминопластика е честа компликација. Во нашите случаи, се појавува како рана компликација (постоперативно по 10-от ден) кај двајца пациен-

ти (со висок процент од 22,22%), и беше третиран конзервативно со дренажа и со антибиотици, и како доцна компликација кај една пациентка (11,11%), третиран со антибиотици.

**Клучни зборови:** Абдоминална дермолипектомија, компликација, сером

#### Abstract

**Introduction.** Seroma formation is a common complication of abdominoplasty and different measures have been described to prevent and manage it. The recovery of these patients can be much longer because of this complication.

**Methods.** In the period between 2006 and 2009 nine patients (8 female, 1 male), average age 32 – 48 years, were treated at the Surgery Clinic of St. Naum Ohridski in Skopje. All of them underwent infraumbilical dermolipectomy with general anesthesia; 3 of them also underwent hernioplasty of the infraumbilical hernia at the linea alba. Two drains are usually inserted in the pubic area. These drains can also produce additional reactive fluid and prolong the initial healing time. The inserted drains in our patients were removed on the 4th postoperative day.

**Results.** Five patients underwent a long-term drain therapy (10-14 days). Two patients with seroma formation had prolonged drain therapy. One of our patients, a 40-year-old woman underwent dermolipectomy, and 2 weeks after surgery a seroma 12x5cm (ultrasound diagnosis) appeared. She was treated with drainage and antibiotics. She was cured, however 5 years later the seroma 6x5 cm re-appeared, presenting itself with severe pains. It was treated conservatively with antibiotics. Surgery was suggested, but the patient has so far refused to give consent.

**Conclusion.** Seroma formation is a common complication of abdominoplasty. It was found in high percent (22.22%) in our patients; there were two patients treated conservatively with antibiotics and drainage. One of them (11.11%) had a late postoperative complication (seroma) that was treated conservatively with antibiotics.

**Key words:** abdominal dermolipectomy, complication, seroma

## Вовед

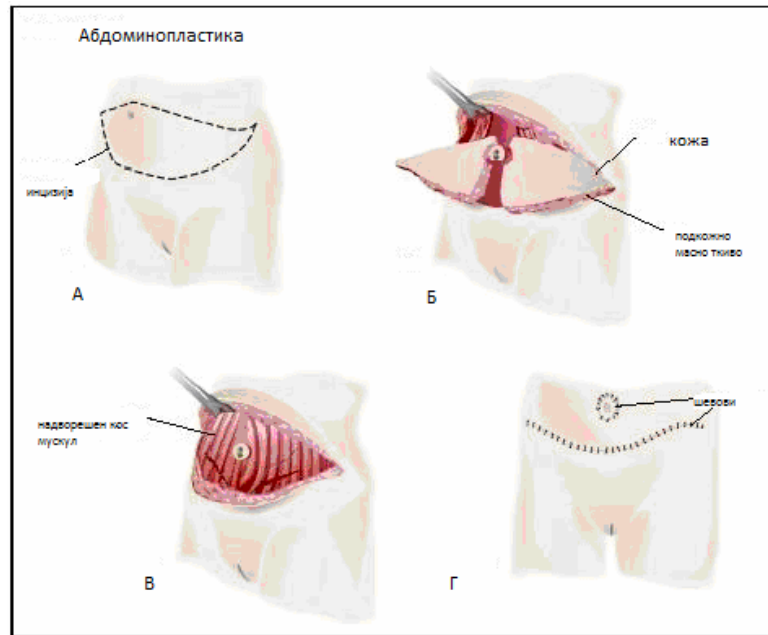
Процентот на популацијата со зголемена телесна тежина сè повеќе се зголемува. Тоа може да се види во извештаите на официјалните институции во САД (U.S. Centers for Disease Control and Prevention), Обединетото Кралство (King's and St Thomas' School of Medicine, King's College London) и другите земји. Воедно, со ова расте и бројот на оние кои се подложуваат на бројни диети и техники за слабеење. Оние кои губат големо количество од нивната вкупна тежина се соочени со проблемот на вишок кожа и слабост на абдоминалниот сид. Една од најчестите области која е предмет на пластичната хирургија, за оформување на телото и редукација на кожата е абдоминалната област. Естетската операција позната како дермолипектомија на абдоменот се состои од отстранување на вишокот абдоминална кожа и поткожно масно ткиво, репозиционирање и формирање на нов папок. Пациентите кои најчесто се подложуваат на ваков вид операција имаат слабост на абдоминалната мускулатура, вишок кожа, стрии или дијастаза на абдоминалната мускулатура (m. rectus abdominis). Но, најблагодарен пациент за оваа операција е оној кој има телесна тежина во граници на неговата возраст, височина и тежина (нормален БМИ), со умерен вишок на кожа и поткожно масно ткиво, лесна дијастаза на мускулатурата и не планира идна бременост [1]. Техниката и локацијата на инцизијата се најчесто инфраумбилично со хоризонтална или инвертирачка Т-лузна.

Се смета дека почетоците на оваа операција ги дале Кели и Торек [2-5]. Од тоа време до сега се сугерирани најразлични варијации. Во 1967 година, Иво Питанги [6] објавува серија од 300 абдоминални липектомии, следува Регнаулт 1972 [7] кој објавува W-техника за дермолипектомија и Греизер 1973 [8] е првиот автор кој ја опишува т.н. бикини-инцизија. Во 1967 Калиа [9] опишува ниска инцизија која оди и под ингвиналниот превој и прв објавува сатура на апонуерозата во средната линија која има цел да ја подобри проекцијата на абдоминалниот сид. Веќе во 1977 се појавува труд на Греизер и Голдвин кој ги објаснува компликациите од оваа операција [10]. Со развојот на липосукцијата се проширува постапката на абдоминопластика, од отстранување на вишокот кожа и поткожно масно ткиво, преку сатура на абдоминалната апонеуроza, преку ексци-

зија на ребрените лаци, сè до 1988 година кога Матарасо ја надополнува абдоминопластиката со липосукција. Најчеста компликација на дермолипектомијата е серомот и ризикот за негово појавување е поголем кога оваа операција оди заедно со липосукцијата. Тоа е акумулирана течност во празните делови, шуплини меѓу ткивата, се разликува од едемот, кој е акумулација во интрестицијалниот простор. Тоа е акумулирано лимфатично ткиво, обично бистра течност или инфламаторен ексудат при венулокапиларна пролиферација; или резидуа од поголем хематом или крвавење. Се превенира со внимателна хируршка техника и употреба на компресивен појас. Помалите сероми се ресорбираат, а поголемите се отстрануваат со пункција или со поставување на дрена. Во некои случаи, ако серомот не се разреши на овој начин, потребно е да се ексцидира шуплината, џебот, бидејќи тоа е она што ја продуцира течноста.

## Материјал и методи

На нашиот оддел за пластична и реконструктивна хирургија при Универзитетската клиника "Св. Наум Охридски", во Скопје, се спроведе ретроспективна студија за да се евидентира појавата на сером кај пациенти кај кои е изведена прва абдоминална дермолипектомија. Анализирани се 9 пациенти (8 жени и 1 маж). Пациентите добиваат инструкции како да се подготват за операција. Пред операцијата треба да одбегнуваат некои лекови, како што се лековите кои содржат аспирин или други лекови кои влијаат на коагулациониот систем. Треба да одбегнуваат пушење поради влијанието врз циркулацијата и здравувањето на раната, а кај жените се одбегнува оперативен зафат неколку дена пред и по менструалниот циклус. Кај секој пациент во општа анестезија беше спроведена стандардна дермолипектомија, со ниска хоризонтална инцизија, маркирањето беше направено предоперативно во вертикална положба. Беше извршена сепарација на ткивото и подигање на флеповите до ребрените лаци со сутирање на перфораторните крвни садови (артерии и вени) со vicryl. Кај шест пациенти се направи појачување на абдоминалниот сид со поединечни шевови на апонеурозата супра и инфраумбиликално, а кај тројца се постави полипропиленска мрежа поради постоење на инфраумбиликална хернија, се отстрани вишокот на ткиво, се репозиционираше папокот, раната се затвори со полипропиленски конец и со поставување на два дрена во пубичната регија (Слика1).



Сл. 1. Четириите фази на оперативната постапка при дермолипектомија

Постоперативно беше поставен абдоминален еластичен појас. Неколку дена по операцијата пациентот одржуваше флексија во колковите и се одбегнуваше исправањето на торзото, а раздвижувањето беше спроведено за да се забрза што покоро закрепнувањето на пациентот и да се спречи создавање на венска тромбоза на долните екстремитети. Постоперативно беа следени општите знаци за формирање на сером и инфекција на раната-покачена телесна температура, вкупен број на леукоцити и локалните знаци-болка, формирање на оток во пределот на раната, должината на дренажа на раната.

Дреновите се отстранија една недела по операцијата. Конците беа отстранети две недели по операцијата. Пациентот беше отпуштен од болница по отстранување на дренажите.

## Резултати

Во студијата се вклучени 9 пациенти, 8 жени (88,89%) и 1 маж (11,11%), на возраст од 38-42 години. Количеството на отстранетото ткиво беше од 300 до 700 гр. Дренажањето на раната беше до 7 дена кај 4 пациенти (44,45%), до 10 дена кај 3 пациенти (33,33%), односно дренажот се отстрануваше кога количеството на течност беше помало од 30 мл во тек на 24 часа. Кај 2 пациенти (22,22%) кај кои се појави сером, дренажањето на раната беше над 14 дена. Отпуштањето од болница беше по отстранување на активната дренажа, од 7 до 10 дена (88%). Кај двајцата пациенти (22%) со појава на сером, хоспитализацијата траеше од 14 до 17 дена.

Кај двајца пациенти постоперативно по 10-иот



Сл. 2. 40-годишна пациентка предоперативно



Сл. 3. Истата пациентка постоперативно - по 1 година

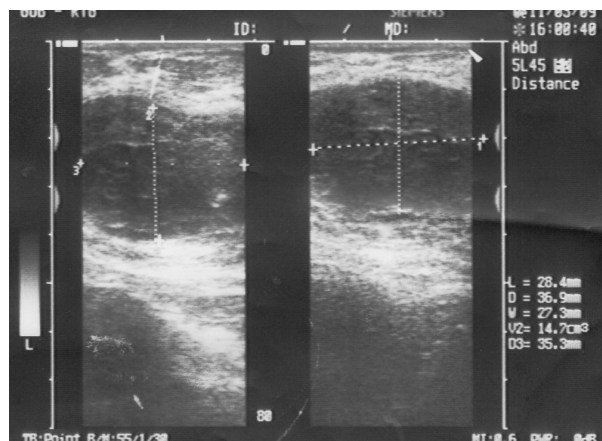


ден (22,22 %) се појави надуеност во пределот на оперативната рана, чувство на тежина и тапа болка. Клинички и ултрасонографски се верифицира формирање на сером (во двата случаја околу 12 x 5 см). Се пристапи кон повторно поставување на дренаж. Во просек количеството на течноста што се доби при поставување на дренажот изнесуваше околу 400 мл бистра жолтеникава содржина. Пасивното дренирање на серомот и бандажирање на абдоминалниот ѕид траеше околу 7 дена и во двата случаја заврши со повлекување на серомот. Кај пациентка на 40 годишна возраст (Слика 2 и 3) со БМИ 33.2 (18.5-24.9), две недели по операцијата се формира сером 12x5 см (ултрасонографски верифициран), кој беше третиран со повторно поставување на дренажа, со антибиотска терапија и абдоминално бандажирање. По две недели серомот се повлече. Кај истата пациентка по 4 години се појави силна болка во пределот на раната. Направени беа иследувања: ултрасонографија, пункциска биопсија и компјутеризирана томографија. На ултрасонографијата се покажа дека се работи за овална формација со димензии 6x5 см. Направен е обид за иглена аспирација водена ултрасонографски и не се доби течна содржина, поради што беа индицирани дополнителни иследувања. Се направи пункциска биопсија и се доби наод што одговара на хронично воспаление и беше извршена компјутеризирана томографија (Слика 4) која одеше во прилог на сером. Серомот беше третиран конзервативно со антибиотици. Под дадената терапија дојде до намалување на серомот (ултрасонографски верифицирано, (Слика 3) и болката се повлече. Беше сугериран оперативен зафат, но досега е одбиван. Резултатите по еден месец од појава на серомот: субјективните тешкотии беа повлечени, чувството на тежина и влечење, без болка.



Сл. 4. КТ наод- дијаметар на серомот од 60 мм

Ултрасонографскиот наод е во прилог на намалување на серомот (Слика 5). Предложен е оперативен зафат, пациентката засега одбива. По 6 месеци се појави болка и дискомфорт од умерен степен, кои се санираа со антибиотска терапија и се повлекоа за една недела.



Сл. 5. Ултрасонографски наод по 1 месец од третманот на серомот: L= 28,4 мм, Д=36,9 мм, W= 27,3 мм, D3=35,3 мм, V2 = 14,7 cm<sup>3</sup>

## Дискусија

Техниката што беше спроведена кај овие пациенти е стандардна дермолипектомија, со стандардна техника на формирање на флеповите (сутурирање на перфораторните крвни садови), со хоризонтална лузна и кај една пациентка со обратна Т-лузна. Кај сите пациенти беше спроведено зајакнување на предниот абдоминален ѕид со пликација со поединечни шевови или пласирана полипропиленска мрежа. Кај пациентите кај кои се појави сером немаше пласирано полипропиленска мрежа. Должината на дренажата на раната во оваа студија е од 7 до 10 дена, бидејќи оставањето на дренажата на подолг период го намалува процентот на појавување на сером. Постоперативно кај сите пациенти беше применето абдоминално бандажирање. Дополтни процедури како липосукција не беа изведувани кај ниеден од испитуваните пациенти.

Во оваа студија кај 22% од испитаниците се појави сером во пределот на оперативната рана, со што се продолжи времето на дренирање на раната над 14 дена и престојот во болница се продолжи од 14 до 17 дена.

Олку висок процент на појава на сероми по извршена дермолипектомија се среќава и во литературата. Но авторите Wilson Novaes Matos и Fernando V. Carrillo Jimenez, во својот труд [11] објавуваат појава на сером од само 1-2% како компликација, каде како причина ја наведуваат применетата хируршка техника. Додека Stephanie Dionne



Sherk, 2004 година објавува дека компликациите при абдоминопластиката може да достигнат и до 32 %, а овој процент е поголем кај пациенти кои имаат со зголемена телесна тежина [12]. Според изјавата на Американската асоцијација на пластични хирурзи, годишно се изведуваат просечно околу 150 000 абдоминопластики (2007 год.), со компликации од 15% до 52 %.

Според Susan E. Downey, формирањето на сером е главен постоперативен проблем и се јавува со голем процент од 15-52%. Истиот автор објавува труд [13] во кој наведува дека употребата на т.н. фибрински лепак е една од методите за намалување на инциденцата на серомите.

Во однос на терапијата на серомот, во оваа студија третманот е со пасивно дренирање на течноста од серомот во тек на 7 дена, иако во литературата [11,14] се наведува отстранување на дренажот по 48 часа. Ова се оправдува со фактот што кај поголемите студии по првото дренирање често се наложува потреба од повторување на дренирањето или иглена аспирација на серомот, кое од своја страна носи ризик од внесување на инфекција. Во литературата [15] се наведува нов третман со уфрлување на воздух во шуплината по отстранување на течноста и потоа компресија на регијата. Се смета дека воздухот делува како иритант и може да помогне во заздравување на шуплината.

Во нашата студија како превенција и намалување на можноста за создавање сером се користеше внимателната хируршка техника, компресивен појас и поставување на два дрена. Дреновите се за превенција од акумулација на течноста. Според некои автори добра превенција против создавање на сером е затворање на празниот простор со додатни шевови т.н. прогресивни тензиски шевови без поставување на дренажа. Во своите трудови [16-18], авторите објавуваат дека оваа техника драматично ги намалува сите компликации, како и серомот за време на абдоминопластиката. Но, самиот податок дека само околу 5% од пластичните хирурзи се одлучуваат за оваа техника на затворање на празниот простор, а повеќе од 90 % поставуваат дренажа, оди во прилог на втората техника. Некои пластични хирурзи ја наведуваат можноста од комбинирање на двете техники, затворање на празниот простор и плазирање на дренажи, со што се намалува периодот на дренирање и се зголемува можноста за по добро зараснување на раната.

Додатни процедури како што е липосукцијата можат да го зголемат ризикот за појава на сером, иако во литературата има контрадикторни резултати. Според некои автори, абдоминопластиката комбинирана со липосукција на телото го зголемува ризикот за појава на сером [19], а според други автори липосукцијата на телото во комби-

нација со абдоминопластиката не го зголемува ризикот за појава на сером [20,21]. Како објаснување за ваквите резултати може да се земе важноста на техниката на подигање на флеповите и количеството на отстранетото ткиво. Се смета дека можноста за појава на сером се зголемува за 4 пати кога количеството на отстранетото ткиво е поголемо од 700 грама [20].

Важен фактор е и телесната тежина на пациентот. Статистички е покажано дека пациентите кои имаат зголемена телесна тежина имаат поголем ризик за постоперативно развивање на сером отколку пациентите со нормална тежина [21]. Направена е студија во која е споредена појавата на сером со должината на имобилизација на пациентите. За време на имобилизацијата пациентите имале механичка и хемиска тромемболична профилакса и биле поделени на пациенти кои биле имобилизирани 24 часа и пациенти кои биле имобилизирани 48 часа. Заклучок на студијата е дека имобилизацијата од барем 48 часа сигнификантно го намалува ризикот од појава на сером [22].

## Заклучок

Формирањето на сером е честа компликација по извршена абдоминопластика. Кај случаите кај кои е применета стандардна дермолипектомија со пластика и пластика на абдоминалниот сид, како што е во оваа студија, има висок процент на појава на сером во оперативната рана. Внимателната хируршка техника, компресивен појас и поставување на дренажи беа употребени како превенција за појава на серомот. Ултрасонографијата е метод на избор за негово дијагностицирање. Потребни се дополнителни интервенции-иглена аспирација или дренажа, за да се реши проблемот. Појавата на серомот го продолжува времето на дренирање на раната, престојот во болница и ја зголемува можноста за секундарни компликации и инфекција на оперативната рана.

*Конфликт на интереси:* Не е деклариран.

## Литература

1. Rees TD, ed. *Aesthetic Plastic Surgery*. Philadelphia, Pa: WB Saunders 1980.
2. Kelly HA. Report of gynecological cases (excessive growth of fat). *Johns Hopkins Med J* 1899;10: 197.
3. Kelly HA. Excision of fat of the abdominal wall lipectomy. *Surg Gynecol Obstet* 1910; 10: 229.
4. Thorek M. Plastic Surgery of the Breast and Abdominal Wall. *Springfield, Ill: Thoma*; 1924.
5. Thorek M. Plastic reconstruction of the female breast and abdomen. *Am J Surg* 1939; 43: 268.
6. Pitanguy I. Abdominolipectomy. An approach to it through an analysis of 300 consecutive cases. *Plast Reconstr Surg* 1967; 40: 384.
7. Regnault P. Abdominal lipectomy, a low "W" incision. *New York International Society of Aesthetic Plastic Surgery*, 1972.

8. Grazer FM. Abdominoplasty. *Plast Reconstr Surg* 1973; 51(6): 617-23.
9. Callia WE. Uma plastica para cirurgiao genal. *Med Hosp* 1967; 11: 40.
10. Grazer FM, Goldwyn RM. Abdominoplasty assessed by survey, with emphasis on complications. *Plast Reconstr Surg* 1977; 59(4): 513-7.
11. Porto da Rocha R, Ribeiro S, Jiminez F. Classification for indications of lipoabdominoplasty and its variations. *Aesthetic Surgery Journal* 2006; 26: 417-31.
12. Mericli AF, Drake DB. Abdominal Contouring in Super Obese Patients: A Single-Surgeon Review of 22 Cases. *Ann Plast Surg* 2011; 29.
13. Susan E. Downey MD, Cheryl L. The Use of Fibrin Sealant in the Prevention of Seromas in the Massive Weight Loss Patient.
14. Nahas FX, Ferreira LM, Ghelfond C. Does quilting suture prevent seroma in abdominoplasty? *Plast Reconstr Surg* 2007; 119(3): 1060-4.
15. Shiffman MA. Seromas in Cosmetic Surgery. *International Journal of Cosmetic Surgery and Aesthetic Dermatology*. 2002, 4(4): 293-297. (<http://www.liebertonline.com/toc/cos/4/4>)
16. John W. Antonetti, and Alfred R. Antonetti. Reducing Seroma in Out-patient Abdominoplasty: Analysis of 516 Consecutive Cases, *Aesthetic Surg J*. 2010; 30(3): 418-425.
17. Nahas FX; Ferreira LM; Ghelfond C. Does quilting suture prevent seroma in abdominoplasty? *Plast Reconstr Surg* 2007; 119 (3): 1060-4; discussion 1065-6 (ISSN: 1529-4242).
18. Di Martino M, Nahas FX, Barbosa MV, et al. Seroma in lipoabdominoplasty and abdominoplasty: a comparative study using ultrasound. *Plast Reconstr Surg* 2010; 126(5): 1742-51.
19. Ajera Robert M, Asheld Wilbur, Sayeed Syed M, et al. Comparison of Seroma Formation following Abdominoplasty with or without Liposuction. *Plastic and reconstructive surgery* 2011; vol. 127, n<sup>o</sup>1, pp. 417-422.
20. Araco A, Gravante G, Araco F, et al. Postoperative Seromas after Abdominoplasty: A Retrospective Analysis of 494 Patients and Possible Risk Factors. *Plastic & Reconstructive Surgery* 2009; Volume 123 - Issue 4 - pp 158e-159e.
21. Kim James, Stevenson Thomas R. Abdominoplasty, Liposuction of the Flanks, and Obesity: Analyzing Risk Factors for Seroma Formation. *Plastic & Reconstructive Surgery* 2006; Volume 117 - Issue 3 - pp 773-779.
22. Gertrude M, Beer, MD. Prevention of Seroma After Abdominoplasty. *Aesthetic Surgery Journal* 2010; 30: 882.
23. Matos W, Ribeiro R, Marujo R, et al. Recent trends in abdominoplasty, *eMedicine Surgery*, 2006.

Приказ на случај

## ПЕРИОПЕРАТИВЕН ТРЕТМАН НА ВИСОКОРИЗИЧЕН ПОСТАР ПАЦИЕНТ СО СКРШЕНИЦА НА КОЛК: ПРИКАЗ НА СЛУЧАЈ

### PERIOPERATIVE TREATMENT OF HIGH RISK ELDERLY PATIENT WITH HIP FRACTURE: A CASE REPORT

Темелковска Стевановска Марина<sup>1</sup>, Ачковски Петар<sup>1</sup>, Талеска Гордана<sup>1</sup> и Костов Христијан<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ЈЗУ Универзитетска клиника за анестезија, реанимација и интензивно лекување, Скопје, <sup>2</sup>ЈЗУ Универзитетска клиника за трауматологија, Медицински факултет, Универзитет "Св. Кирил и Методиј" Скопје, Република Македонија

#### Апстракт

**Вовед.** Според најновите истражувања, во групата на стари луѓе спаѓаат сите оние кои се постари од 65 години. Луѓето од оваа возрастна група често страдаат од придружни хронични заболувања, а по здобивање на скршеница на колк како резултат на пад, кај овие пациенти, често се јавуваат компликации. Периоперативниот третман на овие пациенти претставува со дел и сериозен анестезиолошки проблем.

**Приказ на случај.** Пациентка В.Т. на 81-годишна возраст примена на Клиниката за трауматологија во Скопје поради пертрохантерна скршеница на колкот, со присуство на сериозен коморбидитет. Со предоперативен анестезиолошки преглед утврдено е висок оперативен ризик за појава на постоперативни компликации заради што спиналната анестезија беше избор за периоперативно водење. Во тек на првите четири постоперативни дена пациентката третирана во единицата за интензивно лекување со минуциозна контрола на сите системи. По 10-дневен третман на Клиниката за трауматологија, пациентката е отпуштена во задоволителна општа состојба.

**Заклучок.** Периоперативниот морбидитет и морталитет кај постарите пациенти сè уште претставува значаен проблем. Нивно намалување може да се постигне со добра предоперативна проценка и подготовка на пациентите, одржување на стабилна хемодинамика и нормотермија, ефикасен третман на болката и избегнување на хипоксемијата.

**Клучни зборови:** анестезија, постари пациенти,

постоперативни компликации

#### Abstract

**Introduction.** According to the latest studies, elderly patients are patients above 65 years. These patients have many co-morbidities and in cases of femur fracture, many complications occur. Perioperative treatment of these patients is still an important anesthesiologic problem.

**Case report.** An 81-year-old woman with pertrochanteric femur fracture was admitted at the Traumatology Clinic in Skopje for surgical treatment. The patient had high co-morbidity. Despite the preoperative clinical assessment with high risk of postoperative complications, there was an established indication for surgical treatment. Spinal anesthesia was used for intraoperative treatment. The first four postoperative days the patient was treated in the Intensive Care Unit with precautionous control of all systems. After 10-day-treatment at the Traumatology Clinic the patient was discharged in a satisfactory condition.

**Conclusion.** Perioperative morbidity and mortality in elderly patients is still an important problem. Specific intraoperative and postoperative anaesthesia management in terms of maintenance of haemodynamic stabilization and normothermia, effective postoperative pain control, and prevention of hypoxaemia, could minimize postoperative adverse events in the elderly.

**Key words:** anesthesia, elderly, postoperative complications

#### Вовед

Според најновите истражувања, во групата на стари луѓе спаѓаат сите оние кои се постари од 65 години. Овие луѓе, трпат системски физиолошки промени кои со текот на годините стануваат се поизразени. Поради тоа, пациентите од оваа

*Кореспонденција и рејриинг до:* Ас. д-р Марина Темелковска Стевановска, ЈЗУ Универзитетска клиника за анестезија, реанимација и интензивно лекување, Водњанска 17, 1000 Скопје, Р. Македонија; E-mail: matest@t-home.mk

возрасна група се делат на: млади стари- во кои припаѓаат луѓе од 65 до 74 -годишна возраст, стари стари- од 75 до 84 -годишна возраст и многу стари- над 85-годишна возраст. Со возраста, расте и класификацијата кај овие пациенти според Американското анестезиолошко здружение (ASA). Оние од 65 до 74 години припаѓаат на ASA I, групата од 75 до 84 години на ASA II и пациентите кои имаат над 85 години припаѓаат на ASA III [1].

Луѓето од оваа возрасна група често страдаат од придружни хронични заболувања (хипертензија, срцева исхемична болест, дијабет, хронични белодробни заболувања и сл.) и користат голем број медикаменти [2]. По здобивање на скршеница на колк како резултат на пад, кај овие пациенти, често се јавуваат компликации од типот на акутни белодробни и уринарни инфекции, срцево попуштање и сл. Честа појава е и потхранетоста, која пак може да се развие и непосредно по приемот во болница, што дополнително ја влошува општата состојба на оваа група пациенти [3-5]. Препораките кои се воведени во 1989 година од страна на Кралскиот колеџ на научници, препорачуваат оперативен третман на скршениците на колкот кај старите пациенти во период од 24 часа по приемот. Но честопати, оперативниот третман се одложува поради потребата од дополнителни испитувања кај старите пациенти како и нивна предоперативна подготовка со цел да се намалат периоперативните компликации [6].

### Приказ на случај

Пациентката В.Т. на 81-годишна возраст е примена на Клиниката за трауматологија во Скопје поради пертхроантерна скршеница на колкот на 30-ти мај 2011 година. Пациентката се е повредена 7 дена пред приемот и била хоспитализирана во друга болница во Скопје, каде била поставена контраиндикација за операција поради лошата здравствена состојба и постоење на висок оперативен и анестезиолошки ризик. На иницијатива на фамилијата, пациентката е префрлена на Клиниката.

По анестезиолошки преглед, анамнестички е утврдено дека пациентката боледува од неколку хронични заболувања: хронична опструктивна белодробна болест (ХОББ), конгестивна срцева слабост, стеноза на аорталното устие, хипертензија, преткоморна фибрилација, tachyarrhythmia, дијабет тип 2, лумбална дископатија и хронична бубрежна инсуфициенција (ХБИ) третирана конзервативно. Од претходни резултати: ехо-прегледи на срце од 2009 и 2010 година за аорталната стеноза од лесен степен, и ежек-

ционата фракција на срцето (ЕФ) од 45%. Од терапија на одржување: Aminophyllin, spray Flixotide, Skopril, Aldizem, Edemid, Dilcoran, Glibedal. Аускултаторниот наод на срцето и белите дробови со суви пискави тонови поизразени при експириум како и крепитации десно, базално. Периферните делови на телото, особено усните цијанотични, поради што е поставена на кислородна маска со проток на O<sub>2</sub> од 2L/min. Според конституцијата гојазна, без знаци за демениција. Ограничено движење со бастум и чувство на замор при најмал напор. Паднала од стоечка положба, без претходна вртоглавица, несвестица или било какво друго ментално нарушување. Негира поранешни хируршки интервенции, не пуши. Класифицирана е во ASA IV статус.

Пациентката беше префрлена на ампуларна терапија со Aminophyllin, беше вклучен антибиотик, аналгетик и антикоагулансна терапија со Clexane 40mg. Од предоперативната дијагностика Rtg на бели дробови со зголемена срцева сенка и застојни промени во белите дробови и EKG со tachyarrhythmia и депресија на st-сегментот. Лабораториски вредности релативно уредни, сем уреата и креатининот двојно повисоки во однос на референтните вредности и лесно намален хематокритот.

И покрај тешката здравствена состојба на пациентката, операцијата е извршена 48 часа по приемот во регионална (спинална) анестезија, имајќи го предвид белодробниот наод. Мониторингот покажа стабилни витални параметри во однос на возраста и придружните заболувања. По обезболување на пациентката со 0,05mg Fentanyl iv, беше поставена во бочна положба и изведен е спинален блок со 2,2ml Bupivacaine 0,5% и 0,015mg Fentanyl. Во текот на интервенцијата користен е стандарден мониторинг (EKG, пулс, неинвазивен крвен притисок, периферна сатурација со O<sub>2</sub> и диуреза). Пациентката е водена на O<sub>2</sub> маска со проток од 4L/min, 500ml FR 0,9% и една единица еритроцити на крајот од интервенцијата. Во тек на целата операција пациентката стабилна со уредни витални параметри.

Хируршката интервенција траеше 1 час и 30 минути, по што е однесена во единицата за интензивно лекување каде е продолжено со претходно препишаната терапија и ограничени количества течности (0,9% FR 1000ml/24h и препорака да пие течности). Истиот ден во текот на ноќта, пациентката "намалува" со мокрењето (20ml/h), поради што е вклучен Dopamin, во ренална доза кој е исклучен на третиот ден, а четвртиот ден по приемот, пациентката е вратена на Клиниката за трауматологија во стабилна општа состојба. Во текот на престојот во единицата за

интензивно лекување, од иследувањата, кај пациентката направени гасни анализи на артериската крв (PaCO<sub>2</sub>- 6,7 kPa; PaO<sub>2</sub>- 8,2 kPa; SAT- 92%), кои беа очекувани резултати за пациент со наод на ХОББ.

Пациентката се лекува уште 10 дена на Клиниката за трауматологија, постепено е префрлена на таблетарна терапија и со секојдневно физикална терапија. Отпуштена е од болницата на 14-ти јуни во задоволителна општа здравствена состојба, со препорака за антикоагулантна покрај нејзината редовна терапија.

## Дискусија

Со продолжување на животниот век на луѓето во последниве 20 години, старите луѓе се почесто стануваат предмет на хируршки третман, особено оние над 80-годишна возраст [1]. И додека порано се сметало дека оперативниот третман кај старите луѓе треба да биде ограничен само во неопходните случаи, последниве 20 години се смета дека возраста сама по себе не смее да биде ограничување за хируршки третман [2,3]. Тоа е и мотивот за дадената можност за закрепнување на нашата пациентка, и покрај претходно поставената контраиндикација за операција во една болничка установа, заради возраста и придружните заболувања.

Постарите пациенти кај кои се планира операција треба добро предоперативно да се проценат и подготват, со претходен план за водењето на анестезијата, заради периперативниот висок ризик од метаболни, кардиоваскуларни и респираторни компликации во тек на операцијата [4-6]. Секако, подготовката за операција не треба да трае долго бидејќи секое одложување на оперативниот третман кај пациентите со скршеница на колкот подолго од 48 часа неминовно доведува до повисока смртност и продолжување на постоперативниот болнички престој кај старите пациенти [1,2]. Кај нашата пациентка веќе беа поминати 7 дена од повредата при што немаше значајна промена на општата здравствена состојба во однос на првите денови по повредата. Поради тоа, по краткотрајна подготовка беше поставена индикација за оперативен третман.

Времетраењето на хируршката интервенција исто како и типот на анестезијата, има влијание врз постоперативниот морбидитет и морталитет кај постарите пациенти. Краткотрајните операции спречуваат појава на хипотермија и овозможуваат брзо закрепнување на пациентите [2,3].

Од предоперативните дијагностички иследувања, кај пациенти со ХОББ се препорачува Rtg на

бели дробови со цел да се исклучи постоење на акутен воспалителен процес и постоење на цисти кои можат да прснат и предизвикаат пнеумоторакс, како и ЕКГ за утврдување на постоење на позначајни срцеви проблеми [6-8]. Спирометријата, тест на толеранција на замор, артериски гасни анализи и ултразвук на срце можат да бидат показатели на степенот на оштетување на белите дробови и срцето, но не се неопходни дијагностички методи при поставување на итна индикација за операција [8,9]. Во нашиот случај направен е само Rtg на бели дробови (без знаци за акутно воспаление) и ЕКГ (ултразвук на срце од претходните две години).

Кај пациентите со ХОББ кај кои хируршки треба да се интервенира во долната половина на телото се препорачува регионална анестезија (епидурална и спинална) [8-10]. Регионалната анестезија има помал ефект на останатиот дел од телото. Нејзиното дејство помалку се одразува на срцевата и белодробната функција во однос на општата анестезија, па затоа овој тип на анестезија може да помогне кај пациенти со срцеви и белодробни заболувања [8]. Постоперативното закрепнување е побрзо во однос на операциите со општа анестезија, а несаканите придружни ефекти се поретки. Воедно, регионалната анестезија обезбедува подолготрајно постоперативно обезболување на пациентите [9,10]. Нашата пациентка е водена во спинална анестезија со мало количество локален анестетик и Fentanyl кој се врзува за рецепторите на нивото каде што е аплициран. На тој начин се обезбедува низок блок и хемодинамска стабилност на пациентот. Пациентката уште во предоперативниот период покажа знаци за хипоксија која беше третирана со низок проток на кислород. Третманот со кислород продолжи до петиот постоперативен ден. Ова е во согласност со препораките на Rees и Dudley [11] за третирање на пациентите со ХОББ со 2-4L/min во текот на првите три дена по операцијата. Тие, во нивната студија, дошле до заклучок дека пациентите со ХОББ водени во општа анестезија почесто побаруваат третман со кислород во постоперативниот период и почесто развиваат белодробна слабост за која е потребен третман со механичка вентилација.

Аорталната стеноза претставува ризик за регионална анестезија бидејќи го намалува срцевиот "preload" и со тоа се влошува хемодинамиката на пациентот. Пациенти со аортална стеноза може безбедно да се третираат со спинална анестезија, доколку се обезбеди нормален артериски притисок и добра хемодинамска стабилност. Кај овие пациенти се препорачува епидурална анестезија бидејќи количеството на локалниот анестетик

може да се титрира [5,6]. Наспроти овие резултати, кај пациенти со конгестивна срцева слабост се препорачува примена на регионална анестезија секогаш кога тоа е возможно бидејќи овој тип анестезија го растоварува срцето, односно го намалува срцевиот "preload" и "afterload" [5,6]. Во нашата студија, пациентката страдеше од лесна форма на аортална стеноза и значајна конгестивна срцева слабост. Во текот на спиналната анестезија не покажа знаци на дестабилизација, веројатно поради нискиот блок и добрата хемодинамска стабилност. Постарите пациенти со срцеви и белодробни придружни заболувања мора внимателно да се третираат со течности и притоа да се следат виталните параметри и количеството и бојата на урината [6,7]. Нашата пациентка првиот постоперативен ден, иако беше третирана со диуретик, разви бубрежна слабост со појава на олигурија. Се покажа дека препораката од 1000ml FR 0,9% не е задоволителна. Нашата идеја беше да се започне со течности и лесна храна уште во вечерните часови со цел пациентката сама да го регулира внесот на течности и да се одржи нутритивниот статус. По вклучувањето на Doramin и лесно зголемениот внес на течности, состојбата на пациентката беше подобрена.

На крајот на хируршката интервенција пациентка доби една единица еритроцити имајќи предвид дека вредноста на хематокритот предоперативно беше под долната референтна вредност, а во текот на операцијата имаше загуба од 500ml крв. Во студија направена кај пациенти со скорешен инфаркт [12] било утврдено дека трансфузијата на еритроцити и одржување на вредноста на хематокритот од 0,30, ја намалува инциденцата за појава на срцев инфаркт.

### Заклучок

Периоперативниот морбидитет и морталитет кај постарите пациенти сè уште претставува значаен проблем. Сумирани потенцијални препораки за третман на постарите пациенти се:

1. Предоперативна проценка на постарите пациенти како високоризична група за појава на постоперативни компликации.

2. Предоперативни тестови (инвазивни или неинвазивни) само доколку нивното изведување ја менува насоката за предоперативна подготовка или одлуката за хируршка интервенција.
3. Ефективна контрола на коегзистирачките заболувања.
4. Периоперативно одржување на стабилна хемодинамика.
5. Примена на помалку инвазивни хируршки процедури (кога е можно).
6. Интензивен периоперативен мониторинг.
7. Превенција на хипоксемија, хипотермија и делириум.
8. Ефективен постоперативен третман на болката.

Инкорпорирањето на секој од овие елементи во периоперативниот третман на постарите пациенти го подобрува постоперативното закрепнување кај оваа брзорастечка, вулнерабилна група на пациенти.

*Конфликт на интереси.* Не е деклариран.

### Литература

1. Bottle A, Aylin P. Mortality associated with delay in operation after hip fracture: observational study. *British Medical Journal* 2006; 332: 947-951.
2. Katelaris Ag, Cumming RG. Health status before and mortality after hip fracture. *Am J Public Health* 1996; 86: 557-560.
3. Maggi S, Siviero P, Wetle T, et al. A multicenter survey on profile of care for hip fracture: predictors of mortality and disability. *Osteoporos Int* 2010; 21(2): 223-31.
4. M Zaugg, E Lucchinetti. Respiratory function in the elderly. *Anesthesiology Clinics of North America* 2009; Vol. 18, Issue 1. 47-58.
5. Carbone L, Buzkova P, Fink HA, et al. Hip fractures and heart failure: findings from the Cardiovascular Health Study. *Eur Heart J* 2010; 31(1): 77-84.
6. Jin F and Chung F. Minimizing perioperative adverse events in the elderly. *BJA* 2001; 87: 608-24.
7. Wong DH, Weber EC, Schell MJ, et al. Factors associated with postoperative pulmonary complications in patients with severe chronic obstructive pulmonary disease. *A & A* 1995; Vol. 80. No. 2. 276-284.
8. Henzler D, Rossaint R, Kuhlen R. Anaesthetic considerations in patients with chronic pulmonary disease. *Curr Opin Anaesthesiol* 2003; 16: 323-30.
9. Ferguson MK. Preoperative Assessment of Pulmonary Risk. *Chest* 1999; 115: 58-63.
10. Yeager MP, Glass DD, Neft RK, et al. Epidural anesthesia and analgesia in high-risk surgical patients. *Anesthesiology* 1987; 66:729.
11. Rees PJ, Dudley F. ABC of oxygen. Oxygen therapy in chronic lung disease. *British Medical Journal* 1998; 317: 871-4.
12. Wen-Chihwu, Saifs R, Yongfeiwang MS, et al. Blood transfusion in elderly patients with acute myocardial infarction. *Engl J Med* 2001; Vol. 345: 1230-36.

## 18-ТИ КОНГРЕС НА ЛЕКАРИТЕ НА РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА

Традиционалниот 18. конгрес на лекарите на Република Македонија се одржа од 15-18 јуни, 2011 година во хотелот Десарет во Охрид. На Конгресот имаше вкупно 900 учесници, од кои 339 од странство (Албанија, Црна Гора, Хрватска, Србија, Словенија, Бугарија), а останатите од Македонија. Главни цели на Конгресот, како најдостапен и најмасовен начин на едукација, беа:

- да излезе во пресрет на потребата и должноста на македонските лекари да ги изнесат своите достигнувања во структурата и науката;
- да им овозможи на учесниците да добијат информации за новостите, промените и трендовите од областите кои беа главни теми на Конгресот;
- да влијае на подигнувањето на квалитетот на лекарската работа;
- да придонесе за унапредување на здравството во земјата.

Основна заложба на Научниот одбор на 18. конгрес на лекарите на Република Македонија беше целосна поддршка и промоција на концептот на медицина заснована на докази, на континуираната едукација и на континуираниот професионален развој на лекарите во Р. Македонија. Затоа, меѓу останатото, беше одлучено сите презентации да бидат изнесени на пленарни седници.

Главни теми на Конгресот беа:

1. **Хипертензија** - Хипертензија и срце; хипертензија и срцево и васкуларно ремоделирање; хипертензија и срцева слабост; хипертензија и бубрег; хипертензија и ренална надоместувачка терапија; хипертензија и прогресија на хронична ренална болест; хипертензија и цереброваскуларни заболувања; хипертензивна енцефалопатија; васкуларни деменции.
2. **Инфекции** - Долгореспираторни инфекции; бактериски долгореспираторни инфекции; небактериски долгореспираторни инфекции; цревни инфекции; бактериски цревни инфекции; небактериски цревни инфекции;
3. **Резистенција и рационална употреба на антибиотици.**
4. **Превенција и рана детекција на карциномите** (на грлото на матката, на дојката, на дебелото црево, на простата, на тироидеата)-**тркалезна маса**
5. **Слободни теми**

Критериумите за селекција на главните теми на конгресот беа тие да бидат од општ интерес за здравството во Р. Македонија; да се однесуваат на состојби/болести со кои лекарите секојднев-

но се сретнуваат; да бидат од области во кои може да се направат истражувања на секое ниво на здравствената заштита; од области во кои се потребни понатамошни подобрувања во дијагностиката, терапијата и пружањето на здравствената нега и/или онаму каде има потреба од нови стратегии. На Конгресот беше пријавен 181 апстракт. Апстрактите се рецензираа од двајца рецензенти. Во процесот на рецензија, анонимно, рецензентот му доделуваше на секој апстракт максимум 5 поени -по еден за секој задоволен критериум од однапред зададените 5. Петте критериуми се: актуелност и важност на темата за презентација на Конгресот; примена на соодветна методологија на истражување; валидност и важност на добиените резултати; конзистентни заклучоци; соодветен формат (јазик, стил, форма, естетика). Завршната оценка се добиваше како аритметичка средина од оценките на двајцата рецензенти, а врз таа основа се одредуваше дали трудот ќе биде прифатен за усна презентација - се прифаќаа најдобро оценетите трудови од секоја поттема.

Забележлив е значително помалиот број на пријавени апстракти (повеќе од 3 пати помалку во споредба со 17-иот Конгрес одн., 181 наспроти 605). Може да се претпостави дека една од причините за тоа е начинот на кој денес се извршува и се вреднува континуираната медицинска едукација. Постојат многу КМЕ активности, во кои, за жал, сè уште се стимулира повеќе пасивното, отколку активното учество.

Најголем интерес имаше за презентација на слободни теми (51), што зборува дека и овој пат е присутен проблемот на немање инвентивност и креативност за истражување кај нашите лекари, заради што се ретки вистински истражувања според одредена идеја и со однапред задена цел. Постои речиси целосно отсуство на подолгорочни студии на следење или на добро осмислени интервентни или епидемиолошки студии.

Предавања по покана имаше 12, а според бројот на поени од рецензијата, 30 апстракти беа избрани за усна презентација, додека останатите 116 за презентација преку постер. Од вкупниот број на прифатени апстракти за постер-презентација, околу половината беа слободни теми. На тркалезната маса беа изнесени 15 предавања.

### Одржување на Конгресот

Посетеноста на предавањата, генерално, беше задоволителна, но како и вообичаено на сесиите кои беа први наутро или веднаш по паузата за ручек,

немаше задоволувачка посетеност. Констатирано е дека организаторите во иднина, треба да ја засилат контролата и евиденцијата за реално учество на Конгресот. Затоа, се предлага на следните конгреси да се спроведе вистинско евидентирање на учеството, односно, да се доделат помал број поени за пократок престој /учество (да се воведат кредит-систем според бројот на часови на активно учество).

#### **Квалитет на пленарните, воведните, усните и презентациите преку постер**

Генерално, сите воведни излагања беа на високо ниво. Најголемиот број усни излагања имаа задоволувачко ниво на квалитет. Треба да се одбележи релативно понискиот стручен квалитет, а исто така и нискиот техничко-естетски квалитет на дел од поставените постери.

На тркалезната маса која се одржа последниот ден од Конгресот во преполна сала, учествуваа 15 презентери и голем број дискусанти. Големiot интерес кој го побудија одделни презентации се гледа од фактот што тие беа проследени со

бројна и квалитетна дискусија, а на крајот беа донесени соодветни заклучоци.

Како општ заклучок за Конгресот, може да се каже дека тој беше успешен, но дека во иднина треба да се работи на тоа повеќе да се стимулира активното, а не пасивното учество на лекарите и потребни се повеќе елементи за континуиран професионален развој.

За високиот стручен квалитет и организацијата на стручниот дел на Конгресот, Македонското лекарско друштво и во оваа пригода особено се заблагодарува на Научниот одбор на чело со претседателот проф. д-р Катица Зафировска.

Овој навистина успешен и квалитетен Конгрес на лекарите на Република Македонија со меѓународно учество не ќе можеше толку добро да биде организиран без целосната и безрезервна поддршка на генералниот спонзор на Конгресот-Ал-калоид АД Скопје.

Проф. д-р Јован Тофоски  
Претседател на Македонското лекарско  
друштво



## СПАСУВАЈКИ ГИ ДЕЦАТА ГРАДИМЕ ПОУБАВА ИДНИНА 5-ти конгрес на педијатрите на Македонија со интернационално учество

Здружението на педијатрите на Македонија го одржа својот јубилеен 5-ти конгрес во периодот од 5-9 октомври во Охрид во хотел Метропол. Како најголема и организациски најкомплексна манифестација на педијатрите од Македонија организирана од Здружението на педијатрите на Република Македонија се одржува секои четири години. Тоа е место на интензивна научна педијатриска размена на искуства и знаења. Така, целта и на овој конгрес беше да се презентираат најновите трендови во полето на педијатријата со застапеност на научни и апликативни теми од примарната, секундарната и терцијерната здравствена заштита, како и теми од сродни специјалности, со цел да се даде придонес во обезбедувањето квалитетна здравствена заштита на нашите деца.

5-тиот конгрес на педијатри е досега најпосетената манифестација на која учествуваа 950 педијатри од вкупно 15 држави во Европа. Беа одржани 58 предавања од реномирани домашни и странски предавачи во склоп на десет пленарни научни сесии поделени во 6 главни теми: Исхрана, Раст и развој, Кардиологија, Интензивна нега, Инфекции и Разно. Во усните сесии беа презентирани 25 предавања, а имаше и 108 постер-презентации. За одбележување е тоа што првпат на овој конгрес е внесен нов научен приод во нашите научни манифестации, а тоа е збогатување на конгресот со придружни научни манифестации-тринаесет симпозиуми, еден постдипломски курс и шест работилници, сè со цел да се прошират знаењата на педијатрите. Притоа, во шесте работилници учествуваа 17 реномирани презентери, а на постдипломскиот курс 4 истакнати професори. Во рамките на научните симпозиуми слушнаваме 21 предавање.

Учеството на нашите колеги и пријатели од различните области на медицината придонесува овој конгрес да биде вистински интердисциплинарен и меѓународен. Здружението на педијатрите на Македонија ги отвори вратите за активно учество и на невладиниот сектор. Значаен придонес во организацијата на Конгресот дадоа повеќе фармацевтски компании, за што, во оваа пригода им се заблагодаруваме.

Овој редовен 5. конгрес на педијатрите на Македонија се одржа во периодот на големиот јубилеј-65 години од постоењето на Здружението на педијатрите на Македонија. Тоа се 65 години кои значат развој и напредок на педијатриската

наука и мисла во Македонија, 65 години грижа за унапредување на здравствената заштита на децата, грижа за здраво и среќно потомство. Во тој контекст, на свеченото отворање на конгресот кое се одржа во хотелот Метропол во Охрид присуствуваа заменикот-министер за здравство, г. Јовица Андовски, Претседателот на Македонското лекарско друштво г. Јован Тофоски, претставникот на УНИЦЕФ за Македонија г. Семјуел Цет, Високиот претставник на Американската амбасада, директорката на СЗО г-ѓа Марија Кишман, директорот на Клиниката за детски болести-Скопје, г. Ацо Костовски и г. Африм Сулејмани, директори на повеќе еминентни клиници, болници и сродни институции. По повод 65-годишниот јубилеј, на претставниците на овие реномирани институции им беа доделени плакети за придонес во унапредувањето на здравствената заштита на децата во Република Македонија.

Од името на Организацискиот одбор, Петтиот конгрес на педијатрите на Македонија со интернационално учество го отвори Претседателот на Здружението на педијатри на Македонија, д-р. сци. Александар Сајковски, кој се осврна на важноста на почитување на постулатите за правата на детето и на Декларацијата за правата на детето, злоупотребите од типот на дискриминација, нетолеранција, неправда, насилство и ропство. Беше нагласено дека овие права и овие обврски се кодекс на однесување на секој педијатар во светот, тоа е најсуптилниот и најосетливиот сегмент на делувањето на педијатрите. Беа нагласени и реформите во нашиот здравствен систем во склоп на реформските процеси во многу други земји во светот. Беше потенцирано дека педијатрите во светот и кај нас, во континуитет го градеа, го прифаќаа и го развиваа секој нов приод кон дијагностиката и третманот на сите болести кај децата, дека педијатрите беа и се главни актери во драматичното намалување на неонаталниот и донечкиот морталитет. Педијатрите во Република Македонија помалку или повеќе се движат во лавиринтот на реформските промени, сите со надеж дека ќе се врати сјајот и местото на педијатарот, посебно во примарната здравствена заштита. Особено забележително, на отворањето на Конгресот, беше обраќањето на Претседателот на Македонското лекарско друштво кој не криеше убави и топли зборови за нашето здружение и неговата активност.

Оценка на сите учесници на 5-тиот конгрес на педијатрите на Република Македонија е негова-та голема полезност за сите лекари од медицинско-професионален аспект. Овој конгрес беше навистина убава можност за сите нас, педијатрите, да ги размениме нашите професионални ис-

куства, со главна цел-унапредување на севкупниот приод во третманот на болните деца.

Д-р.сци. Александар Сајковски  
Претседател на Здружението на  
педијатри на Р. Македонија

## ПРВ МАКЕДОНСКИ КОНГРЕС НА ПАТОЛОЗИ СО МЕЃУНАРОДНО УЧЕСТВО (Охрид, 12-16 октомври 2011 г.)

Првиот македонски конгрес на патолозите со меѓународно учество се одржа во хотелот Метропол во Охрид од 12 до 16 октомври 2011 година. Конгресот беше организиран од Македонското здружение на патолозите.

На Конгресот учествуваа повеќе од 150 учесници, заедно со 38 поканети предавачи. Освен десет и четирите членови на Здружението на патолози на Македонија, на Конгресот присуствуваа и многу други колеги од Македонија, како и 26 поканети предавачи и 42 учесници од соседните земји (Албанија, Босна и Херцеговина, Бугарија, Косово, Србија, Словенија, Хрватска, Црна Гора), други европски земји (Австрија, Белгија, Данска, Германија, Турција, Франција, Холандија, Чешка, Швајцарија, Шпанија) и САД. Во рамките на научната програма на Конгресот беа одржани 7 симпозиуми од областа на гастроинтестиналната, пулмоналната, гинеколошката патологија, потоа од патологијата на дојка, меки ткаења и коски, цитологијата и друга патологија. Во рамките на овие симпозиуми беше презентирани 31 предавање, заедно со едно предавање од областа на хематопатологијата. Беа организирани три сателитски симпозиуми од комерцијални компании, три слајд-семинари од областа на хируршката патологија, хематопатологијата и патологијата на дојка и беа одржани три воведни предавања. Четворица истакнати професори по патологија-Ханс Конрад Милер-Хремлинк (од Универзитетот од Вирзбург, Германија), Џовани Де Петрис (од Клиниката Мајо, Аризона, САД), Хозе Игнацио Лопез (од Универзитетот на Баскија, Билбао, Шпанија) и Хусеин Ситки Тузлал (од Универзитетот на Истанбул, Турција) ги споделија своите значајни искуства преку предавањето од областа на хематопатологијата и трите воведни предавања.

Покрај споменатите предавања, на Конгресот беа изнесени 13 усни и 60 постер-презентации на учесниците од сите области на патологијата. Крајната програма на Конгресот е достапна на интернет-адресата (<http://www.pathology2011.com/>). На завршната церемонија, на авторите на трите најдобри усни и постер-презентации им беа доделени посебни дипломи и специјални награди.

Во рамките на Конгресот, на 14 октомври се одржа и Европска школа за нефропатологија, поддржана од ЕРА-ЕДТА (Европското бубрежно здружение и Европското здружение за дијализа и трансплантација) и од Работната група за не-

фропатологија при Европското здружение на патолози. На Школата, која се евалуираше како КМЕ-активност, покрај патолозите, учествуваа и нефролози, педијатри и лекари од други специјалности, односно вкупно 60 учесници кои имаат интерес во оваа област. Во рамките на програмата на Школата, проф. д-р Михаел Михач, претседател на Работната група за нефропатологија на Европското здружение на патолози, и уште десет други предавачи одржаа предавања во кои беа изнесени најсовремени сознанија за болестите на гломерулите, тубуло-интерстицијалните болести и трансплантациската патологија. Сите предавања одржани во рамките на Школата се достапни на интернет-адресата на Работната група за нефропатологија во рамките на Европското здружение на патолози (<http://www.nephropathology-esp.org/>). Освен тоа ЕРА-ЕДТА даде две стипендии на млади патолози кои имаат интерес од областа на нефропатологијата.

Покрај работниот дел на Конгресот, за учесниците беа организирани и социјални активности како коктелот по повод свеченото отворање коешто се одржа во салата Билјана во хотелот Метропол, потоа концертот на триото Скопје-организиран во црквата Св. Софија во Охрид и заедничката вечера на сите учесници и поканети предавачи. Богатата и добро избрана научна програма, заедно со добрите услови за одржување во хотелот Метропол и нашиот Охрид полн со историски знаменитости и со прекрасното Охридско Езеро овозможува на Конгресот да се разменат знаења и искуства, да се воспостават многу професионални и лични контакти меѓу учесниците, како и да се отворат можности за натамошна соработка и усовршување на кадри во бројни врвни институции од овие области низ целиот свет. Управниот одбор на Македонското здружение на патолозите заедно со Организацискиот и Научниот одбор на конгресот со својот ангажман и залагање обезбедија одлични услови за успешна реализација на овој историски Прв македонски конгрес на патолозите. За одбележување е и тоа што Конгресот се одржа во годината во која Здружението на патолози на Македонија слави 40-годишнина од своето основање.

Гледано во целост, македонските патолози потврдија дека имаат капацитет за организација на еден ваков многу успешен настан, а истовремено покажаа дека практикуваат современа дијагностичка патологија и дека се залагаат во сво-

ите научни проекти да ги воведат технолошките напредоци кои беа истакнувани во сите научни сесии на Конгресот.

На крај, би сакале да ја искористиме и оваа можност за да им се заблагодараме од името на Македонското здружение на патолозите и Организациониот комитет на Конгресот на сите присутни учесници, на поканетите предавачи, на ЕРА-ЕДТА и Работната група за нефропатологија на Европското здружение на патолози, на сите институции кои нè подржаа во организацијата, како на спонзорите и тоа генералниот спонзор-компанијата Хофманн-Ла Рош, како и Адриамед-официјалниот претставник на Рош Дијагностик во Македонија, Фармахем-авторизираниот прет-

ставник на Дако производите во Македонија, Варус претставникот на Мерк во Македонија, Алкалоид, Новартис и Би-Ел инженеринг од Струмица, без чија помош и поддршка немаше да може да биде реализиран овој успешен настан, стимулативен и инструктивен како од научен, така и од социјален аспект.

проф. д-р Нели Башеска  
Претседател на Здружението на патолози на  
Македонија  
проф. д-р Весна Јаневска  
Претседателот на Организациониот одбор  
проф. д-р Гордана Петрушевска  
Претседателот на Научниот одбор

## **ЕРАТУМ**

*Оригинален ишруд*

**МАКЕДОНСКИ РЕНАЛЕН РЕГИСТАР: 2002-2008**

**MACEDONIAN RENAL REGISTRY: 2002-2008**

Стојчева-Танева Оливера

ЈЗУ Универзитетска клиника за нефрологија, Скопје, Р. Македонија

*Мак Мед Преглед* 2010; 64(2): 129-34

Се објавува корекција на податок објавен во трудот на Проф. Др. Оливера Стојчева-Танева, Македонски ренален регистар: 2002-2008. *Мак Мед Преглед* 2010; 64(2): 26-34.

Се работи за техничка грешка заради несоодветен трансфер од изворот на податоците во периодот кога се собирали, па затоа, во табелата бр. 4, каде е даден бројот на бубрежни трансплантации по години, за 2008 година каде бројот на трансплантирани болни е вкупно 8, треба да изнесува 13.

## УПАТСТВО ЗА ПРИЈАВА НА ТРУД ОД СОРАБОТНИЦИТЕ НА ММП

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

Списанието ги има следниве рубрики и категории на трудови:

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

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

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

Редакцијата ги испраќа ракописите на стручна рецензија; рецензентот (ите) и Редакцијата ја определуваат дефинитивната категоризација на ракописот кој е прифатен за печатење. Редакцијата го задржува правото ракописите да ги печати според рецензираниот приоритет.

Упатството за соработниците на ММП е во согласност со Ванкуверските правила за изедначени барања за ракописите кои се праќаат до биомедицинските списанија.

### 1. ТЕКСТ НА РАКОПИСОТ

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

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

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

**Изворните трудови и соопштувањата** го имаат следниов формален редослед: насловна страна, извадок на македонски јазик (вовед, методи, резултати, заклучок) со клучни зборови, извадок на англиски јазик со клучни зборови, вовед, материјал и методи, резултати, дискусија и заклучоци, литература и прилози (табели, графици и слики) и легенди за прилозите во еден фајл.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Заклучоцӣе** треба да не бидат подолги од 150 зборови.

## **2. ПРИЛОЗИ**

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

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

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

**Микрофотографӣиӣе** може да содржат посебни ознаки во вид на стрелки или симболи. Покрај описот на сликата, мора да се наведе и зголемувањето и видот на бојењето на препаратот (ако тоа веќе не е направено во секцијата *материјал и методи*).

Сите ознаки на фотографиите мора да бидат доволно големи, за да може јасно да се распознаат и по смалувањето во печатницата, при нивното вклучување во печатената страница на списанието.

## **3. ЛИТЕРАТУРА**

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

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

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

**б) заеднички авиор**

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

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

**г) илустрација во книга или монографија**

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

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

#### **Адресата на Редакцијата**

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

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

#### **Известување за членовите на МЛД**

Сите што сакаат и натаму да го добиваат списанието треба да ја имаат уплатено членарината за 2011 година во висина од 600 денари и за тоа да ја информираат стручната служба на Македонско лекарско друштво, писмено или преку телефон.

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

#### **Известување за рецензентите за ММП**

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