



Академија медицинских наука
Српског лекарског друштва



**Монографије научних скупова
Академије медицинских наука
Српског лекарског друштва**

Волумен 7, број 1, 2017.

УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР

Главни и одговорни уредник

Љубица Ђукановић

Помоћник главног и одговорног уредника

Љиљана Вучковић-Декић

Чланови уређивачког одбора

Љубица Божиновић

Обрад Зелић

Радојка Коцијанчић

Зоран Латковић

Лазар Лепшановић

Павле Миленковић

Душан Пејин

Драгослав Стевовић

Љубомир Тодоровић

Љубомир Хаџи-Пешић

Добросав Цветковић

Рецензију радова овог броја урадили су, поред чланова Уређивачког одбора, проф. др Видосава Ђорђевић, проф. др Славољуб Живковић, проф. др Јован Поповић, проф. др Недељко Радловић, проф. др Радомир Синђелић, Проф. др Милица Чоловић.

Лектор за српски језик

Александра Бокоњић

Лектор за енглески језик

Сања Бјелановић

Секретар редакције

Сара Јањић

**Монографије научних скупова АМН СЛД
Волумен 7, број 1, 2017.**

**ПРИСТУПНА ПРЕДАВАЊА
ЧЛАНОВА АКАДЕМИЈЕ
МЕДИЦИНСКИХ НАУКА СЛД
ИЗАБРАНИХ 2016. ГОДИНЕ**

**Академија медицинских наука Српског лекарског друштва
Београд, 2017.**

Наслов књиге

Приступна предавања чланова Академије медицинских наука СЛД изабраних 2016. Године

Издавач

Академија медицинских наука Српског лекарског друштва, Београд

За издавача

Павле Миленковић

Компјутерска припрема и дизајн

Александра Миловановић

Штампа

Lapressing, Лајковац

Тираж

300 примерака

CIP - Каталогизација у публикацији - Народна библиотека Србије, Београд

61(082)

61:061.2(497.11)(043.5)"2016"

ПРИСТУПНА предавања чланова Академије медицинских наука СЛД изабраних 2016. године / [главни и одговорни уредник Љубица Ђукановић]. - Београд : Академија медицинских наука Српског лекарског друштва, 2017 (Лајковац : Lapressing). - 190 стр. : илустр. ; 24 см. - (Монографије научних скупова Академије медицинских наука Српског лекарског друштва ; вол. 7, бр. 1, 20157)

Тираж 300. - Стр. 7: Предговор / Љубица Ђукановић. - Библиографија уз сваки рад. - Summaries.

ISBN 978-86-6061-091-3

1. Ђукановић, Љубица [главни и одговорни уредник] [аутор додатног текста]
а) Српско лекарско друштво (Београд). Академија медицинских наука - Чланови - Приступне беседе - 2016 б) Медицина - Зборници
COBISS.SR-ID 251394316

САДРЖАЈ

ПРЕДГОВОР7

Зоран Р. Вулићевић

ИСТРАЖИВАЊА ОДНОСА И ЈАЧИНЕ ВЕЗЕ КОМПОЗИТНИХ
МАТЕРИЈАЛА И ТВРДИХ ЗУБНИХ ТКИВА9

Михајло Јаковљевић

СВЕТСКО СТАРЕЊЕ ПОПУЛАЦИЈЕ И ПОРАСТ ФИНАНСИЈСКИХ
ИЗДВАЈАЊА ЗА ЗДРАВСТВЕНУ ЗАШТИТУ – ПРИМЕР ВОДЕЋИХ
БРИКС НАЦИЈА33

Драгана Јанић

АКУТНА ЛИМФОБЛАСТНА ЛЕУКЕМИЈА У ДЕЦЕ: ЗНАЧАЈ
АКАДЕМСКИХ КЛИНИЧКИХ СТУДИЈА ЗА ПОБОЉШАЊЕ
ИСХОДА ЛЕЧЕЊА.....53

Невена Калезић

САВРЕМЕНИ СТАВОВИ У ЕВАЛУАЦИЈИ И РЕШАВАЊУ
ОТЕЖАНОГ ДИСАЈНОГ ПУТА КОД БОЛЕСНИКА СА
ЕНДОКРИНИМ И МЕТАБОЛИЧКИМ ПОРЕМЕЋАЈИМА69

Гордана Коцић

ЗНАЧАЈ ПУРИНА И МОКРАЋНЕ КИСЕЛИНЕ КАО
ПОТЕНЦИЈАЛНИХ МЕДИЈАТОРА ОБОЉЕЊА – ЕФЕКТИ
ДЕПУРИНИЗОВАНОГ МЛЕКА84

Алекса Марковић

АКТУЕЛНОСТИ У ОРАЛНОЈ ИМПЛАНТОЛОГИЈИ107

Драгослав П. Милошевић Предраг Ерцег

ПРЕВЕНЦИЈА КРХКОСТИ: ПУТ КА УСПЕШНОМ СТАРЕЊУ?121

Кармен Станков

ГЕНЕТСКА ПРЕДИСПОЗИЦИЈА ЗА НЕ - МЕДУЛАРНИ
КАРЦИНОМ ШТИТАСТЕ ЖЛЕЗДЕ И *DIABETES MELLITUS* ТИП 1
.....133

Едита Стокић

ГОЈАЗНОСТ И ДЕФИЦИЈЕНЦИЈА ВИТАМИНА Д157

Владан П. Чокић

ТЕРАПИЈА ХИДРОКСИУРЕЈОМ: ОД ИНХИБИЦИЈЕ
МИЈЕЛОПРОЛИФЕРАЦИЈЕ ДО ИНДУКЦИЈЕ ФЕТАЛНОГ
ХЕМОГЛОБИНА171

ПРЕДГОВОР

У овом броју Монографије научних скупова АМН СЛД објављују се приступна предавања ванредних чланова Академије медицинских наука Српског лекарског друштва изабраних 2016. године. Академија је и раније објављивала приступна предавања новоизабраних чланова (Српски архив, суплументи мај 2006. и мај 2008) са циљем да она остану трајно забележена као документ о домету и стремљењима наше медицинске науке у одређеном времену.

Приступна предавања објављена у овој монографији написали су лекари различитих струка и сва су посвећена веома актуелним темама. У њима је дат преглед најновијих истраживања у појединим областима медицине и стоматологије, али и резултати истраживања аутора ових радова, у којима су коришћене најсавременије клиничке и експерименталне методе. О квалитету тих истраживања говоре бројни цитати радова објављени у водећим националним и интернационалним часописима.

Академија медицинских наука Српског лекарског друштва настоји од свог оснивања да у своје редове бира најпознатије научнике и стручњаке из разнородних области медицине. Приступна предавања наших нових ванредних чланова потврђују да се и у изборима 2016. године Академија обогатила вредним стручњацима и научним радницима различитих струка па верујемо да ће они својим радом допринети активностима и угледу Академије.

На позив Уређивачког одбора Монографије научних скупова АМН СЛД да доставе текстове својих приступних предавања одазвало се десет новоизабраних чланова којима у име Уређивачког одбора захваљујем на труду и одговорности. Надам се да ће се они који нису доставили своје текстове одужити Академији интересантним научним скуповима и новим бројевима Монографије научних скупова АМН СЛД.

Београд, 31. октобар 2017.

Проф. др Љубица Ђукановић

ИСТРАЖИВАЊА ОДНОСА И ЈАЧИНЕ ВЕЗЕ КОМПОЗИТНИХ МАТЕРИЈАЛА И ТВРДИХ ЗУБНИХ ТКИВА

Зоран Р. Вулићевић

*Клиника за дечју и превентивну стоматологију,
Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, Београд*

Сажетак

Један од великих доприноса естетској рестауративној стоматологији дао је *Vioposoge* средином прошлог века. Његово откриће припреме површине глеђи нагризањем ортофосфорном киселином се користи у свакодневној стоматолошкој пракси. На овај начин проблем везивања композита за глеђ је у потпуности размотрен и решен, пажња истраживача је преусмерена на изналажење поступка који ће обезбедити јаку и трајну везу између композита и дентина. Дентинвезујућа средства се на основу адхезивног приступа могу поделити на: (1) адхезивна средства која се користе након потпуног нагризања глеђи и дентина и (2) самонагризајућа адхезивна средства. У зависности од врсте растварача у адхезиву, разликују се "*wet bonding*" и "*dry bonding*" адхезиви.

На јачину везе дентина и композита утиче више фактора. Осим метода мерења и врсте дентина, јачина везе зависи и од врсте зуба (хумани или говеђи), удаљености од глеђно-дентинске границе, времена протеклог између вађења зуба и лабораторијског испитивања, присуства каријеса на зубима, као и од температурних разлика термо циклуса који се примењују ради симулације старења материјала. Присуство размазног слоја такође утиче на јачину везе композита и дентина. На јачину везе композита и дентина утичу и величина, дубина и геометрија кавитета, као и угао који заклапа површина глеђи са зидовима кавитета. Због свих ових чинилаца који утичу на везу композита и зубног ткива, неопходно је направити протокол за

испитивање јачине везе који би прецизирао услове чувања узорака, методологију и површину зубног ткива за коју ће се везати композит.

Предмет истраживања било је и испитивање појединих фактора који могу утицати на успешност цементирања композитних кочића ојачаних влакнима, као што су припрема површине кочића, врста композитног цемента за цементирање кочића и светлосна проводљивост кочића. Истраживања која су уследила бавила су се темом збрињавања ендодонтски лечених зуба са аспекта избора материјала за цементирање композитних кочића ојачаних влакнима, као и биомеханичког понашања ендодонтски лечених зуба збринутих композитним кочићима. Правилан избор материјала за цементирање композитних кочића у значајној мери утиче на понашање и прогнозу третираних зуба. Посебну пажњу треба посветити разумевању фактора који утичу на биомеханичко понашање девитализованих зуба, како би се обезбедио дугорочан успех лечења.

Такође, упркос различитим резултатима о јачини везе оствареној на глеђи и дентину млечних и сталних зуба, утврђено је да не постоји статистички значајна разлика између различитих адхезивних система како на глеђи тако и на дентину млечних и сталних зуба.

Кључне речи: адхезија, глеђ, дентин, јачина везе, дентин везујућа средства.

Ретенција и адхезија

Израз „ретенција“ потиче од латинске речи *retentio* што значи задржавање, ускраћивање или одбијање од себе. Такође, још једно од тумачења овог појма је и специфичан процес задржавања. У медицинским наукама, овај појам се дефинише као задржавање или заустављање.

Појам ретенције у стоматологији означава моћ/капацитет задржавања односно својство надокнаде да задржи своју позицију без померања и под стресом. Ретенција представља резултат добре и блиске адаптације надокнаде, обично уз помоћ дентин везујућег средства и/или цемента. Проблем ретенције у стоматолошкој пракси се јавља још од почетка примене рестауративних материјала. Највећи проблем представља везивање материјала за надокнаду зубне супстанце са дентином.

Под појмом адхезија подразумева се припој два материјала са међуслојем између њих. Овај међуслој се назива адхезив. Веза два материјала може бити механичка или хемијска. Механичка веза у

стоматологији се одликује припојем материјала било његовим микро или макроскопским сједињавањем са подминирајућим просторима (композит или амалгам). Хемијска веза се карактерише припојем материјала на молекуларном нивоу уз успостављање јачих (примарних) или слабијих (секундарних) веза. За разлику од примарних веза (металне, јонске и ковалентне силе), секундарне везе (водоничне и *Van Der Waals*-ове) нису у могућности да се одупру силама које се јављају унутар усне дупље. Ипак, управо разноликост врста веза омогућава изналажење различитих начина везивања материјала за тврда зубна ткива.

Примена композитних материјала у стоматологији довела је до револуције у начину препарације кавитета, као и до настанка „естетске стоматологије“, идеје која је почела као нови тренд, а данас представља једну од главних тежњи у свакодневној пракси како пацијената, тако и стоматолога. Развој композитних материјала кроз протекле деценије омогућио је њихову широку примену у свакој грани стоматологије. Током година ови материјали су напредовали и решен је велики број њихових недостатака (отпуштање резидуа, ослобађање топлоте приликом процеса везивања, непостојаност облика и структуре). Ипак, и данас остаје проблем појаве микропростора приликом везивања за тврда зубна ткива. Бројна истраживања су рађена у циљу његовог решавања попут промене састава честица пунила (макро, микро, хибридни и нано), различитих комбинација органских смола, промене начина полимеризације (хемијска, УВ, светлосна, ласер), као и примена различитих система адхезивних средстава. Нажалост, ниједно истраживање није успело да у потпуности реши проблем појаве микропростора.

До појаве микропростора долази услед димензионе контракције композита приликом његове полимеризације. Појава ових микропростора зависи и од тврдог зубног ткива за које се композитни материјал везује. Везивање композита за глеђ зуба решено је кондиционирањем површине глеђи киселином и накнадном апликацијом танког слоја бонда (непуњене смоле) и том приликом долази до стварања микромеханичке везе глеђ-композит (систем микроретенције). За разлику од везивања композита за глеђ зуба, проблем њиховог везивања за дентин још увек није решен.

На квалитет ретенције материјала испуна утиче тип дентина односно локализација дентина (да ли се ради о спољашњем, унутрашњем, круничном или коренском дентину), као и време формирања дентина (у зависности од тога да ли је реч о примарно створеном дентину или о дентину насталом као последица склерозе). Такође, ретенција је под утицајем квалитета дентина, као и количине дентина која учествује у контакту са материјалом за испун. Главни проблем лежи у саставу дентина. Дентин се састоји од тубула и матрикса. Дентински тубули чине 10% његове запремине [1]. Ови каналићи обезбеђују хидрауличку улогу приликом излагања дентина стресу односно притиску [2]. Дентински матрикс се састоји из кристала хидроксиапатита и влакана колагена. Ова влакна су уплетена, а пружају се нормално у односу на дентинске каналиће и паралелно са унутрашњом површином дентина. С обзиром на сложени састав дентина (присуство воде и протеина), његову структуру, биолошку активност и хидрофилна својства, веома је тешко успоставити добру везу дентина и хидрофобних материјала за испуне.

Решавање проблема појаве микропростора између дентина и композита покушава се на разне начине – сталним усавршавањем композитних материјала, развојем адхезивних система, развојем и применом амортизујућих подлога, као и развојем композита који су димензионо стабилни током процеса полимеризације. Иако је развој дентин везујућих средстава допринео успостављању изузетно чврстих веза дентин-композит, ипак проблем појаве микропростора није решен. Елиминацијом појаве микропростора побољшао би се квалитет и трајност композитних испуна.

Приликом испитивања везе дентин-композит мора се поменути размазни слој. Размазни слој представља структуру која се не налази на интактном дентину, већ се јавља приликом препарације кавитета и представља остатке дентинског ткива, делимично причвршћеног за дентин, а другим делом гради сплет различитих форми дебљине око 1 микрометар. Ове форме прекривају површину дентина и обтурирају дентинске каналиће. Размазни слој граде честице величине 0,05 до 1 μ m неправилног облика при чему веће честице леже на површини дентина. Састав размазног слоја је сличан саставу дентина из кога је проистекао са изузетком денатурације услед повећане температуре приликом препарације кавитета [3,4].

Уклањање овог слоја доводи до смањења јачине везе дентин-композит [5].

Захваљујући јакој и дуготрајној вези између композитних материјала и тврдих зубних ткива, у савременој стоматологији је могуће потпуно заобилажење чувених Блекових принципа препарације кавитета, односно очување здравог зубног ткива (минимална препарација) и отклањање појаве микропростора између испуна и зубног ткива.

Један од великих доприноса естетској рестауративној стоматологији дао је *Вуоносоре* средином прошлог века. Његово откриће припреме површине глеђи нагризањем ортофосфорном киселином, потом испирањем водом и посушивањем млазом ваздуха користи се и данас у свакодневној стоматолошкој пракси [6]. Овај начин припреме глеђи омогућава настаanak микромеханичке везе адекватне јачине која ће током даљег развоја заменити у пракси дотадашње макрофизичке методе везивања (подминирање, косина и др). Ипак, његова даља истраживања показала су да овај вид припреме површине дентина омогућава стварање хемијске везе композит-дентин чија јачина је далеко слабија од јачине везе настале микромеханичким ужлебљавањем композита и глеђи [7]. Упркос овим значајним налазима *Вуоносоре-а*, тек 20-ак година касније метода припреме глеђи нагризањем усвојена је као неопходни поступак пре постављања композитних материјала [8]. С обзиром да је на овај начин проблем решавања везивања композита за глеђ у потпуности размотрен и решен, пажња истраживача је преусмерена на изналажење поступка који ће обезбедити јаку и трајну везу између композита и дентина. У том тренутку прешло се на развој и усавршавање дентин везујућих средстава која су у почетку остваривала само хемијску везу, а касније и физичку везу дентин-композит.

Дентин везујућа средства

Савремени композитни материјали и даље трпе значајне димензионе промене односно контракцију приликом полимеризације услед чега настају микропростори у којима се веома брзо настањују бактерије из оралне флоре компромитујући цео

испун [9]. Да би се овај проблем избегао, користе се дентин везујућа средства која би морала задовољити више захтева. Она би требало да буду биокompatibilна с обзиром на близак однос са виталним зубним ткивима и њихов продор у дентинске тубуле, а све у циљу очувања виталитета зуба. Затим, пожељно је да се ова средства везују истовремено и за глећ и за дентин, како из разлога што је тешко тачно разлучити где престаје глећ, а почиње дентин, тако и због поједностављивања целокупног поступка припреме глећи и дентина. Већ је поменут значај да се коришћењем дентин везујућих средстава спречи настанак микропростора око постављених композитних испуна. Такође, узимајући у обзир да у *in vivo* условима није могуће постићи идеално суву површину дентина приликом постављања композитног испуна, ова средства би требало да буду хидрофилна. Пожељно је да ова средства обезбеђују потребну јачину везе у што краћем року, као и да могу да повежу различите материјале.

Подела дентин везујућих средстава

Од почетка примене па до данас, дентин везујућа средства су претрпела бројне промене у циљу свог усавршавања и достизања јачине везе приближне оној између глећи и композита [10]. С обзиром на ове промене, првобитна подела дентин везујућих средстава на генерације базирана је на редоследу њихове појаве односно на хронологији развоја [11].

Прву генерацију чиниле су обичне непунене смоле које нису успеле да успоставе хемијску везу са дентином. Веза се базирала на микромеханичком ујљебљавању са нагриженом површином глећи. Примери ове врсте су *Helio Bond (Vivadent)* и *Enamel Bond (3M)* (врло брзо повучен из употребе).

Другој генерацији, поред непунених смола, додати су адитиви или супстанце које су градиле слабу молекуларну везу са дентином. Њихови представници су *Bondlite (Kerr)*, *Dentin Adhesit (Vivadent)*, *Prisma Universal Bond (Caulk)* и *Scotchbond (3M)*.

Трећој генерацији припадају материјали који хемијском припремом дентина омогућавају добру хемијску везу између композита и дентина. Припрема се најчешће врши киселим

растворима („primer“ или „conditioner“). Прајмер улази у дентинске тубуле и на тај начин доводи до појачавања везе са дентином. Недостатак ових материјала се огледа у пребојавању ивица испуна. Представници ове генерације су *Gluma (Bayer)*, *Scotchbond 2 (3M)* и *Superlux Universal Bond 2 (DMG)*.

Четвртој генерацији припадају дентин везујућа средства која хемијском припремом дентина стварају хибридни слој који чине колагена влакна натопљена смолом. На овај начин обезбеђује се веза изузетне јачине, приближна јачини везе композит-глеђ. Процес започиње уклањањем размазног слоја након наношења и испирања ортофосфорне киселине са површине дентина. На овај начин долази до отварања дентинских каналића и деминерализације површинских слојева интертубуларног дентина дебљине 3-5 μm . Колагена влакна интертубуларног дентина се скоро у потпуности одвајају од хидрокси апатита и стварају мрежу у коју продиру мономери адхезивног средства, заједно чинећи хибридни слој [12]. Адхезив продира и у дентинске тубуле формирајући смолине продужетке. Након полимеризације хибридног слоја долази до стварања микромеханичке везе између композита и дентина. Примери четврте генерације су *All Bond 2 (Bisco)*, *OptiBond (Kerr)*, *Superlux Prep (DMG)* и *Scotchbond Multi Purpose (3M)*.

У петој генерацији спојени су у једну бочицу и прајмер и адхезив ради упрошћавања саме апликације при чему је добра и постојана јачина везе задржана. Петој генерацији припадају *OptiBond Solo Plus (Kerr)*, *Single Bond Plus (3M)*, *One-step Plus (Bisco)* и *XP Bond (Dentsply)*.

Шеста генерација користи самонагризајући прајмер. Овај прајмер остаје на зубном ткиву након деловања, а потом се наноси адхезив. Иако зуби након употребе ових адхезива показују смањену осетљивост, јачина њихове везе са глеђи је слабија у односу на адхезиве претходне две генерације (Слика 1). Примери шесте генерације су *Clearfil SE Bond (Kuraray)* и *Simplicity (Apex Dental)*.

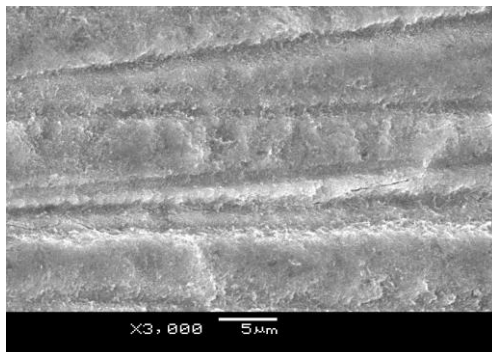
Слика 1.

Утицај самонагризајућих
прајмера на глеђ

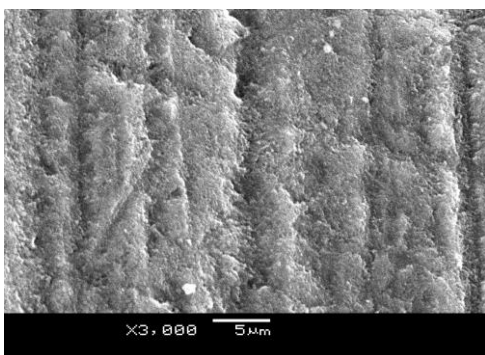
А. AdheSE (Ivoclar Vivadent)

Б. Contax (DMG)

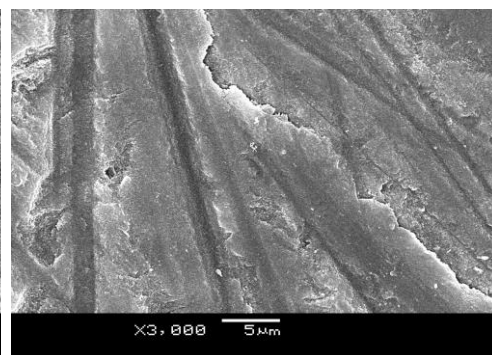
В. G-Bond (GC)



А



Б



В

Седму генерацију чине тзв. „све у једном“ адхезиви у којима се киселина, прајмер и бонд налазе у једном раствору, а представљају их *I-bond* (Heraeus), *Xeno IV* (Dentsply), *G-Bond* (GC) и *Opti Bond All-in-one* (Kerr).

Ипак, последњих година ова подела је доста критикована, па је у употреби и нова подела која се заснива на основном механизму адхезије. Основни механизам адхезије представља замену неорганског садржаја дела зубног ткива са мономерима смоле адхезивног средства који улазе у нагризањем створене микропросторе [11]. Дентин везујућа средства се на основу адхезивног приступа и јачине процеса ове замене могу поделити на:

- Адхезивна средства која се користе након потпуног нагризања глеђи и дентина (“*total-etch*” техника)

- Самонагризајућа адхезивна средства (“self-etch” техника).

Адхезивна средства која се користе након потпуног нагризања глеђи и дентина могу бити двофазна (сврстана у пету генерацију) и трофазна (сврстана у четврту генерацију). Прва фаза је иста код свих и представља припрему глеђи и дентина 30-40% раствором ортофосфорне киселине, а потом се киселина испира. Двофазна средства садрже комбинацију бонда и прајмера у једној бочици и наносе се у другој фази чиме је знатно олакшана употреба ових средстава. Код трофазних средстава, прајмер се наноси у другој фази, након чега се приступа nanoшењу адхезива (бонда). Ипак, без обзира на једноставнији поступак примене двофазних средстава, трофазна средства са потпуним нагризањем представљају „златни стандард“.

У зависности од врсте растварача у адхезиву, разликујемо “wet bonding” и “dry bonding” адхезиве. Код примене “wet bonding” адхезива, дентин се не посушује у потпуности већ остаје делимично влажан с циљем да вода да потпору колагеним влакнима деминерализованог дентина. Ова средства користе ацетон као растварач јер у додиру са површином зуба ацетон истискује воду и на тај начин омогућава инфилтрацију мономера у дентин. “Dry bonding” адхезиви користе алкохол (дентин се пре њихове апликације суши благо) или воду (дентин се пре њихове апликације суши интензивније) као растварач.

Захваљујући киселим мономерима који се налазеу самонагризајућим адхезивима, процес деминерализације тврдих зубних ткива и инфилтрације мономера смоле се одвија истовремено. Ова средства користе прајмер који се не испира. Самонагризајући адхезиви могу бити двофазни (смештени у шесту генерацију) и једнофазни (смештени у седму генерацију). Код двофазних адхезива у првој фази се наноси прајмер са киселим мономерима који се не испира, а у другој фази се апликује адхезив. Представници ових адхезива су *AdheSE (Ivoclar Vivadent)*, *Contax (DMG)*, *Clearfil SE Bond (Kuraray)*, *Opti Bond Solo plus self-etch system (Kerr)* и *Unifil Bond (GC)*. Једнофазни самонагризајући адхезиви су повезали у једну фазу нагризање зубног ткива, апликавање прајмера и адхезива. Ови адхезиви могу бити двокомпонентни попут *Adper Prompt L-Pop (3M)*, *Prompt L-Pop 2 (3M)*, *Futurabond NR*

(VOCO) (две компоненте се мешају непосредно пре апликације) и такозвани “all-in-one” адхезиви попут *I-bond (Heraeus)*, *G-bond(GC)*, *AdheSE One (Ivoclar Vivadent)* (две компоненте се налазе у једној бочици).

Самонагризајући адхезиви се могу поделити и на основу своје *pH* вредности на:

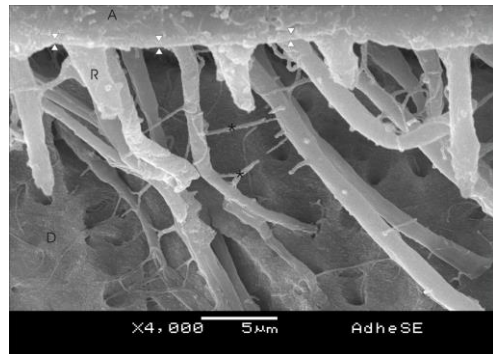
- Самонагризајуће адхезиве благе киселости: *pH* око 2 (*Clearfil SE Bond (Kuraray)*, *G-bond (GC)*)
- Самонагризајуће адхезиве средње киселости: *pH* око 1,5 (*AdheSE (Vivadent)*, *Futurabond NR (VOCO)*)
- Самонагризајуће адхезиве изражене киселости; *pH* око 1 (*Adper Prompt L-Pop (3M)*, *Prompt L-Pop 2 (3M)*).

Смањивање *pH* вредности доводи до повећања интензитета реакције са зубним ткивом, као и дебљег хибридног слоја. Захваљујући томе, самонагризајући адхезиви изражене киселости остварују са зубним ткивом везу која по својим морфолошким карактеристикама подсећа на везу која се ствара између адхезива и зубног ткива након потпуног нагризања глеђи и дентина.

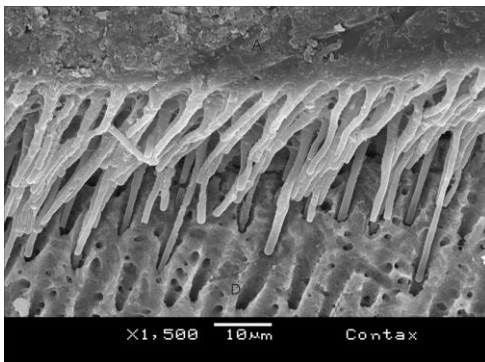
Испитивање јачине везе композит-дентин

Скенинг електронском микроскопијом утврђено је да је степен интеракције са дентином такође био у складу са *pH* вредностима самонагризајућих прајмера/адхезива. Однос самонагризајућих система средње киселости – *Contax (DMG)*, *AdheSE (Vivadent)* и *Futurabond NR (VOCO)* са дентином био је сличан када је реч о формирању продужетака смоле, док се ширина хибридног слоја кретала од 0 до 2 μm . Однос самонагризајућег адхезива благе киселости – *G-Bond (GC)* са зубним ткивом разликовао се од осталих експерименталних група (Слика 2). Хибридни слој није уочен, уз минимално присуство смолиних продужетака. У контролној групи, где је коришћен адхезивни систем са потпуним нагризањем, уочен је најшири хибридни слој и највећи број смолиних продужетака [13].

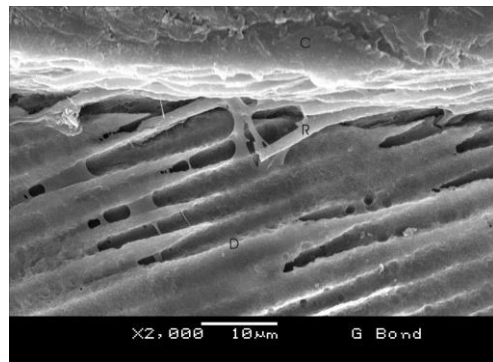
Слика2.
 Однос самонагризајућих
 прајмера и дентина
 А. AdheSE (Vivadent),
 Б. Contax (DMG),
 В. G-Bond (GC)



А



Б



В

Јачина и однос везе композит-дентин може се испитивати *in vivo* на зубном ткиву, смицањем комплекса композит-дентин или истезањем слепљених фрагмената (ортогонално на површину слоја). Резултати мерења се разликују у зависности од коришћеног метода, али може се приметити тенденција раста јачине везе током протеклих деценија. Упркос томе што су истраживања обављена *in vivo* на зубима адекватнија и боља, због ограничених могућности ових истраживања, углавном се прибегава *in vitro* мерењима.

Већ је поменуто да на јачину везе дентина и композита утиче више фактора. Осим метода мерења и врсте дентина, јачина везе зависи и од врсте зуба (хумани или говеђи), удаљености од глеђно-дентинске границе [14], времена протеклог између вађења зуба и

лабораторијског испитивања, присуства каријеса на зубима, као и од температурних разлика термо циклуса који се примењују ради симулације старења материјала [15].

Код коришћења извађених хуманих зуба, неопходно би било увести протокол њиховог чувања и припреме за истаживање. Хумани зуби се обично чувају у растворима формалина од 4 до 10%, обичној води, физиолошком раствору или вештачкој пљувачки. Варира и температура на којој се чувају узорци – од +4°C па све до собне температуре. Такође, испитивања се спроводе на хуманим зубима од 30 минута, па и до 5 година након екстракције [16, 17]. Након наношења композита на дентин разликује се и период и начин његовог чувања пре истраживања. Док неки истраживачи нису открили значајне разлике у дужини овог периода [18, 19] *Aquilino* и сарадници су закључили да јачина везе слаби за скоро половину вредности у периоду од 11 месеци након постављања композитних материјала [20]. Симулација услова у устима, односно наизменично потапање у хладне (4 до 8 °C) и топле купке (50 до 55 °C) просечно 120 пута у току 24 сата показало је незнатно смањење јачине везе [21]. Јачина везе је под утицајем начина сушења узорка – јача веза се ствара након сушења топлим ваздухом, као и код сушења ваздухом уопште, за разлику од спонтаног испаравања површине дентина [22]. Због свих ових разлика, потребно је стандардизовати начин чувања као и припреме хуманих зуба ради могућности поређења добијених резултата. Различита припрема зуба за истраживања подразумева заравњивање површине дентина абразивним материјалима од карборундум ваљака, силикон карбидног папира, дијамантских дискова, дијамантских тестера, алуминијум оксидних ваљака, карбидних сврдала [16], па све до финијих и грубљих дијамантских сврдала [23]. Што се апарата тиче, приликом заравњивања дентина се користе микротоми, суви или влажни тримери [16]. У истраживањима се користе и различите површине зуба (оклузална, букална, апроксимална) што може довести до појаве различите јачине силе у истраживањима [17, 24].

Присуство размазног слоја такође утиче на јачину везе композита и дентина. Док у *in vitro* студијама уклањање овог слоја ојачава везу између дентин и композита, *in vivo* истраживања показују да уклањање размазног слоја води проблему са влажењем површине дентина дентинском течносту из тубула под крвним притиском

пулпе, као и повећаној могућности контаминације дентина бактеријама. Дакле, размазни слој представља неку врсту баријере на отворима дентинских тубула, а смањење влажења површине дентина дентинском течностима побољшава везу композита и дентина.

На јачину везе композита и дентина утичу и величина, дубина и геометрија кавитета, као и угао који заклапа површина глеђи са зидовима кавитета [25]. Због скупљања композита током полимеризације, неопходно је да дентин везујућа средства могу брзо успоставити очекивану јачину везе након наношења да би дочекала спремна напон истежања током полимеризације композита.

Због свих ових чинилаца који утичу на везу композита и зубног ткива, неопходно је направити протокол за испитивање јачине везе који би прецизирао услове чувања узорака, методологију и површину зубног ткива за коју ће се везати композит. Нажалост, овакав протокол још увек не постоји.

Испитивање јачине везе композит-радикуларни дентин

Предмет неколико истраживања био је испитивање појединих фактора који могу утицати на успешност цементирања композитних кочића ојачаних влакнима, као што су припрема површине кочића, врста композитног цемента за цементирање кочића и светлосна проводљивост кочића. Истражена су основна својства композитних кочића, као што су састав, еластичност и естетика, а описане су и клиничке погодности које ова својства пружају. Наведене су индикације у којима композитни кочићи могу у потпуности испољити свој потенцијал, укључујући и посебне предности које примена ових кочића доноси у дечјој стоматологији и трауматологији. Иако се сви композитни кочићи састоје од истих основних компоненти, њихова механичка својства и квалитет у клиничким условима могу значајно да варирају у зависности од произвођача. Због тога су испитивана нека од својстава која могу да утичу на избор кочића [26, 27]. Испитиван је утицај експерименталне фабричке припреме и различитих ординацијских начина припреме површине кочића са матриksom од епокси смоле на јачину везе са композитним цементима. Експерименталну фабричку припрему чинило је два корака: наношење слоја

цирконијум оксида дебљине 1 μm , а затим силанизација 3-(триметоксилил) пропил метакрилатом. Према тврдњи произвођача, оваквом припремом обезбеђује се микромеханичка ретенција, као и хемијска веза између силана и адхезива или цемента. Ординацијски поступци припреме кочића који су испитивани у овом раду обухватили су наношење силана и наношење адхезива, док у контролној групи површина кочића није третирана. Микроскопски су посматране површине третираних и нетретираних кочића, као и адхезивни спојеви цемент-кочић (CEM). Површина фабрички припремљених кочића такође је испитивана помоћу EDAX анализе (*Energy Dispersive Analysis by X-ray*) у скенинг електронском микроскопу [28].

Посебна пажња посвећена је самоадхезивним композитним цементима, који чине најновију и најмање испитивану категорију композитних цемената. Преглед литературе имао је за циљ да пружи информације о самоадхезивним композитним цементима на основу оригиналних научних радова објављених у рецензираним часописима који су индексирани у бази *PubMed* [29]. Резултати су класификовани у следеће категорије: адхезија са зубним ткивима (глеб, дентин, дентин канала корена), адхезија са рестауративним материјалима (ендодонтски кочићи, керамика, титанијум), маргинална адаптација, микропропустљивост, механичка својства, биокомпатибилност, хемијска адхезија и отпуштање флуорида и оцена квалитета током клиничке употребе.

На основу испитивања различитих фактора цементирања композитних кочића изведени су одређени закључци. Фабрички третман може поједноставити клинички поступак цементирања. Цементирање композитних кочића са матриksom од епокси смоле без припреме површине кочића се не препоручује. Самоадхезивни композитни цементни могли би да понуде обећавајући нови приступ у индиректним рестауративним поступцима, укључујући цементирање композитних кочића. Међутим, највећи број података из литературе о овим цементима потиче из лабораторијских истраживања само једног од више цемената који су тренутно на располагању клиничарима. Неопходне су дуготрајне клиничке студије како би се могла дати генерална препорука за употребу самоадхезивних цемената у цементирању кочића.

Истраживања која су уследила бавила су се темом збрињавања ендодонтски лечених зуба са аспекта избора материјала за цементирање композитних кочића ојачаних влакнима, као и биомеханичког понашања ендодонтски лечених зуба збринутих композитним кочићима. Правилан избор материјала за цементирање композитних кочића у значајној мери утиче на понашање и прогнозу третираних зуба. Такође, посебну пажњу треба посветити разумевању фактора који утичу на биомеханичко понашање девитализованих зуба, како би се обезбедио дугорочан успех лечења. Резултати релевантне литературе која се бавила истраживањем различитих аспеката ферул ефекта објављени су у прегледном чланку [29]. Сви резултати су класификовани у три главне категорије: лабораторијска истраживања, метода коначних елемената и клиничке студије. Резултати лабораторијских студија су даље класификовани у следеће подкатеорије, на основу главног аспекта истраживања којим се студија бавила: висина/дизајн ферула, врста кочића и надоканде круничног дела, врста дефинитивне надокнаде, дужина кочића, техника цементирања и продужење клиничке круне или ортодонтско извлачење. На основу резултата добијених у студијама које су представљене у овом чланку, могу се извести следећи закључци: већина доступне литературе указује на то да се може очекивати већа отпорност на прелом и повољнији тип прелома ендодонтски лечених зуба уколико постоји ферул ефекат. Непотпун ферул који није присутан целим обимом зуба, повољније утиче на прогнозу у односу на потпуно одсуство ферула. Присуство ферул ефекта смањује утицај врсте кочића, материјала за цементирање и дефинитивне надокнаде на понашање ендодонтски лечених зуба. Код зуба са потпуним недостатком клиничке круне, предност треба дати ортодонтском извлачењу зуба, у односу на хируршко продужење клиничке круне. Када је реч о биомеханичком понашању структурно компромитованих ендодонтски лечених зуба, неколико значајних аспеката ферул ефекта још увек није довољно испитано. Дебљина ферула, као и положај преосталих зидова крунице зуба, пре него број зидова, представљају област од значаја за даља истраживања. Такође, већина лабораторијских студија и студија које користе методу коначних елемената су испитивале утицај ферул ефекта на једнокореним зубима. Међутим, врсту зуба и латерално оптерећење

којем су зуби изложени треба такође узети у обзир. Стога, корисно би било вршити даља истраживања на премоларима и моларима. Коначно, неопходне су дуготрајне, рандомизоване, контролисане студије са прецизно утврђеним степеном губитка тврдых зубних ткива и оклузалним детерминантама, као што су тип оклузије и тип оклузалног вођења, како би се усвојиле униформне клиничке препоруке за збрињавање ендодонтски лечених зуба.

Истраживања која су у току баве се испитивањем разлике у отпорности на фрактуру, као и врсте фрактуре између ендодонтски лечених зуба са незавршеним растом корена рестаурираних композитним испуном и зуба рестаурираних композитним кочићем са композитним испуном. Зубе са незавршеним растом корена одликују кратки коренови, танки зидови коренских канала и широки апикални отвор, а након ендодонтске терапије овакви зуби подложнији су фрактурама у поређењу са зубима чији је корен завршио раст [31]. Прелиминарни резултати показали су да се отпорност на фрактуру није статистички значајно разликовала код ендодонтски лечених зуба са незавршеним растом корена рестаурираних композитним испуном у поређењу са зубима који су рестаурирани композитним кочићем и композитним испуном. Такође, врста прелома није се статистички разликовала између две испитиване групе. Потребна су даља истраживања са већим бројем узорака како би се донели поуздани закључци.

Поређење јачине везе композита и тврдых зубних ткива млечних и сталних зуба

У свакодневној стоматолошкој пракси, дечји стоматолози имају прилику да се срећу са млечним и сталним зубима. Врста надокнаде која ће се урадити у устима детета зависи од много фактора као што су нпр. узраст и ниво сарадње. Глас јономер цементи представљају златни стандард у дечјој стоматологији за испуне на млечним зубима захваљујући својим особинама од којих се посебно издваја отпуштање флуорида. Ипак, савремени композитни материјали такође могу бити материјал избора у неким ситуацијама. Због разлике у саставу млечних и сталних зуба поставља се питање да ли адхезивна процедура треба да буде иста на млечним и сталним

зубима [32–34]. Резултати досадашњих истраживања разлике у јачини везе између сталних и млечних зуба су контраверзни без обзира да ли се ради о истраживањима на глеђи или дентину [35–39].

Зуби млечне дентиције су морфолошки слични зубима сталне дентиције али се разликују по броју, облику, величини, боји и другим карактеристикама. Глеђ представља најтврђе биолошко ткиво у људском организму. Неорганске материје чине 92-96%, 1-2% органске материје, а 3-4% заузима вода. Глеђ обе дентиције је изграђена од кристала хидроксиапатита распоређених у глеђне призме. Свака глеђна призма је састављена из густо распоређених кристала хидроксиапатита између којих се налазе интеркристални простори попуњени органском материјом и водом. На глеђи млечних зуба се уочава разлика у минерализацији. Наиме, светлија боја глеђи говори о бољој минерализацији и представља део глеђи изграђен интраутерино док тамнија нијанса представља слабије минерализовани део створен постнатално који је богат инкрементним линијама. Граница која раздваја ова два дела се назива Retzius-ова линија или неонатални прстен. За разлику од зуба сталне дентиције, глеђне призме млечних зуба у цервикалном делу су увек усмерене ка оклузално.

Дентин обе дентиције се састоји од 70% неорганске, 20% органске материје и 10% воде. Неоргански део чине кристали хидроксиапатита док органски део чини колаген. Дентин представља део зубног ткива који се ствара константно а основну структуру му чине дентински тубули и дентинска маса. Дентински тубули имају правац пружања од пулпе ка глеђно дентинској граници и више их је у круничном него у коренском делу. На дентину млечних зуба се такође уочава разлика између добро минерализованог – пренаталног и слабије минерализованог – постнаталног дентина. Дентински каналићи млечних зуба су шири, неправилнији и налазе се у мањем броју у односу на зубе сталне дентиције. Цемент млечних зуба је слабије минерализован и танак док је пулпа зуба млечне дентиције волуминознија, изражених рогова на бочним зубима. Као и код сталних зуба, пулпа млечних зуба ствара секундарни дентин али је он неправилније грађе [40].

Клиничка истраживања пружају најрелевантније доказе о стоматолошким материјалима али захтевају дугачак период

праћења резултата. Периодични контролни прегледи су неопходни а резултати истраживања су валидни тек након периода од неколико месеци или чак година. Недостатак клиничких истраживања представља управо време трајања истраживања јер се технологија стоматолошких материјала развија брзо што може довести до проблема застаривања материјала у тренутку завршетка истраживања. Са друге стране лабораторијска истраживања имају могућност да дају корисне и брзо добијене резултате о ефикасности савремених материјала. Лабораторијска истраживања стоматолошких материјала су процедурално мање захтевна а добијени резултати пружају увид у понашање испитиваних материјала у устима пацијента. Важно је нагласити да је неопходно да сви стоматолошки материјали морају проћи кроз фазу лабораторијских истраживања пре клиничких истраживања тј. примене материјала у устима пацијента. Најчешће коришћени лабораторијски тестови су отпорност на истезање и смицање [41].

У току је израда једне докторске дисертације на Клиници за дечју и превентивну стоматологију која има за циљ: 1. Испитивање јачине везе различитих адхезивних система са дентином и глеђи млечних и сталних зуба методом микроистезања; 2. Испитивање односа зуб/адхезивни систем/композитни материјал методом скенинг електрон микроскопије.

Испитивање је вршено под хипотезом да врста адхезивног система и разлика у саставу млечних и сталних зуба неће утицати на јачину везе и однос зуб/адхезивни систем/композитни материјал током тестирања. Зуби су подељени у две групе: млечни и стални зуби, који су додатно распоређени у три подгрупе према адхезивном приступу који се користио: 1. Приступ потпуног нагризања глеђи и дентина (*Opti Bond FL (KERR)*, *Opti Bond Solo Plus (KERR)*, *Adhese Universal (Ivoclar Vivadent)*, *Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE)*, *Single Bonding (DMP)*); 2. Приступ самонагризања (*Opti Bond XTR (KERR)*, *Opti Bond All-in-one (KERR)*, *Adhese Universal (Ivoclar Vivadent)*, *Evetric Bond (Ivoclar Vivadent)*, *Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE)*); 3. Приступ селективног нагризања (*Opti Bond All-in-one (KERR)*, *Adhese Universal (Ivoclar Vivadent)*, *Evetric Bond (Ivoclar Vivadent)*, *Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE)*).

Узевши у обзир ограничења лабораторијских истраживања, а на основу резултата овог истраживања могу се извести закључци. На

глеђи млечних зуба адхезивни системи *Opti Bond FL (KERR)* и *Opti Bond FL (KERR)* (системи са потпуним нагризањем) су остварили најјачу снагу везе током теста микроистезања. На глеђи сталних зуба адхезивни системи *Opti Bond XTR (KERR)* и *Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE)*, оба са додатком нагризања глеђи киселином су остварили најјачу снагу везе током теста микроистезања. На дентину млечних зуба адхезивни систем *Opti Bond XTR (KERR)* је остварио најјачу везу током теста микроистезања. На дентину сталних зуба адхезивни систем *Opti Bond XTR (KERR)* је остварио најјачу везу током теста микроистезања. *Opti Bond All-in-one (KERR)* је остварио најслабију везу у односу на остале материјале како на глеђи тако и на дентину млечних и сталних зуба. Упркос разноликој јачини везе оствареној на глеђи и дентину млечних и сталних зуба, анализом добијених резултата утврђено је да не постоји статистички значајна разлика између испитиваних адхезивних система како на глеђи тако и на дентину млечних и сталних зуба. Упркос различитој структури млечних и сталних зуба утврђено је да нема разлога за продуженим нагризањем глеђи млечних зуба у односу на глеђ сталних зуба. Селективно нагризање може побољшати јачину везе између испитиваних адхезивних система и глеђи сталних зуба. Свакако због ограничења могућности лабораторијских истраживања а у сврху испитивања дуготрајности њихове клиничке употребе, мора се нагласити да су неопходна даља лабораторијска и клиничка истраживања испитиваних адхезивних система.

Литература

1. Garberoglio R, Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. Arch Oral Biol 1976;21(6):355-62.
2. Pashley DH. Mechanisms of dentin sensitivity. Dent Clin North Am 1990;34(3):449-73.
3. Pashley DH. Dentin: a dynamic substrate--a review. Scanning Microsc 1989;3(1):161-74.
4. Eick JD, Wilko RA, Anderson CH, Sorensen SE. Scanning electron microscopy of cut tooth surfaces and identification of debris by use of the electron microprobe. J Dent Res 1970;49(6):Suppl:1359-68.

5. Umino A, Nikaido T, Sultana S, Ogata M, Tagami J. Effects of smear layer and surface moisture on dentin bond strength of a waterless all-in-one adhesive. *Dent Mater J* 2006;25(2):332-8.
6. Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res* 1955;34(6):849-53.
7. Brudevold F, Buonocore M, Wileman W. A report on a resin composition capable of bonding to human dentin surfaces. *J Dent Res* 1956;35(6):846-51.
8. Silverstone LM, Dogan IL. Proceedings of an international symposium on the acid etch technique. St. Paul, Minnesota: N. Central Publishing Co; 1975. p. 293.
9. Brännström M. Infection beneath composite resin restorations: can it be avoided? *Oper Dent* 1987;12(4):158-63.
10. Vulićević ZR. Jačina veze različitih dentin-vezujućih sredstava u kompozitnom sistemu. *Stomatološki glasnik Srbije* 1995;42 (4):205-13.
11. Radovic I, Krstanovic G. Kompozitni adhezivi. U: Zoran R. Vulićević, urednik. *Klinička primena materijala u dečkoj stomatologiji*. Beograd: Beo Book; 2010. ISBN 978-86-87027-25-1.
12. Nakabayashi N. Bonding of restorative materials to dentine: the present status in Japan. *Int Dent J* 1985;35(2):145-54.
13. Radovic I, Vulicevic ZR, Garcia Godoy F. Morphological evaluation of 2- and 1-step self-etching system interfaces with dentin. *Oper Dent* 2006;31(6):710-8.
14. Causton BE. Improved bonding of composite restorative to dentine. A study in vitro of the use of a commercial halogenated phosphate ester. *Br Dent J* 1984;156(3):93-5.
15. Causton BE, Johnson NW. Changes in the dentine of human teeth following extraction and their implication for in-vitro studies of adhesion to tooth substance. *Arch Oral Biol* 1979;24(3):229-32.
16. Mitchem JC, Gronas DG. Effects of time after extraction and depth of dentin on resin dentin adhesives. *J Am Dent Assoc* 1986;113(2):285-7.
17. Williams VD, Svare CW. The effect of five-year storage prior to bonding on enamel/composite bond strength. *J Dent Res* 1985;64(2):151-4.
18. Zidan O, et al. Stability and strength of the bond between resin and dentin mediated by dentin bonding agents. *J Dent Res* 1987;66: Abs No 1479.
19. Chan DC, Reinhardt JW, Boyer DB. Composites incompatibility and bond longevity of a dentin bonding agent. *J Dent Res* 1985;64(12):1402-4.
20. Aquilino SA, Williams VD, Leary N. The effect of storage time on dentinal adhesive bond strengths. *J Dent Res* 1987;66:292 (Abst. No 1483)
21. Nolden R. Bonding of restorative materials to dentine: the present status in the Federal Republic of Germany. *Int Dent J* 1985;35(2):166-72.

22. Batchelder KF, Richter RS, Vaidyanathan TK. Clinical factors affecting the strength of composite resin to enamel bonds. *J Am Dent Assoc* 1987;114(2):203-5.
23. Pashley EL, Tao L, Mackert JR, Pashley DH. Comparison of in vivo vs. in vitro bonding of composite resin to the dentin of canine teeth. *J Dent Res* 1988;67(2):467-70.
24. Murray GA, Yates JL. A comparison of the bond strengths of composite resins and glass ionomer cements. *J Pedod* 1984;8(2):172-7.
25. Hansen EK, Asmussen E. Comparative study of dentin adhesives. *Scand J Dent Res* 1985;93(3):280-7.
26. Radovic I, Monticelli F, Goracci C, Cury AH, Coniglio I, Vulicevic ZR, et al. The effect of sandblasting on adhesion of a dual-cured resin composite to methacrylic fiber posts: Microtensile bond strength and SEM evaluation. *J Dent* 2007;35(6): 496-502.
27. Radovic I, Monticelli F, Papacchini F, Magni E, Cury AH, Vulicevic ZR, Ferrari M. Accelerated aging of adhesive-mediated fiber postresin composite bonds: A modeling approach. *J Dent* 2007;35(8): 683-9.
28. Radovic I, Monticelli F, Cury AH, Bertelli E, Vulicevic ZR, Ferrari M. Coupling of composite resin cements to quartz fiber posts: a comparison of industrial and chairside treatments of the post surface. *J Adhes Dent* 2008;10(1):57-66.
29. Radovic I, Monticelli F, Goracci C, Vulicevic ZR, Ferrari. Self-adhesive resin cements: a literature review. *J Adhes Dent* 2008;10(4):251-8.
30. Juloski J, Radović I, Goracci C, Vulićević ZR, Ferrari M. Ferrule effect: a literature review. *J Endod* 2012; 38(1):11-19.
31. Corbella S, Ferrara G, El Kabbaney A, Taschieri S. Apexification, apexogenesis and regenerative endodontic procedures: a review of the literature. *Minerva stomatol* 2014;63(11-12):375-89.
32. Beloica D, Vulović M, Gajić M, Stevanović R, Ivanović M, Carević M, Vulićević Z, Marković D. *Dečja stomatologija*. Beograd: Draslar partner; 2005.
33. Sumikawa DA, Marshall GW, Gee L, Marshall SJ. Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatr Dent* 1999;21(7):439-44.
34. Angker L, Nockolds C, Swain MV, Kilpatrick N. Quantitative analysis of the mineral content of sound and carious primary dentine using BSE imaging. *Arch Oral Biol* 2004;49(2):99-107.
35. Lenzi TL, Soares FZ, Rocha Rde O. Degradation of resin-dentin bonds of etch-and-rinse adhesive system to primary and permanent teeth. *Braz Oral Res* 2012; 26(6): 511-5.
36. Ricci HA, Sanabe ME, Costa CA, Hebling J. Bond strength of two-step etch-and-rinse adhesive systems to the dentin of primary and permanent teeth. *J Clin Pediatr Dent* 2010;35(2):163-8.

37. Yaseen SM, Subba Reddy VV. Comparative evaluation of shear bond strength of two self-etching adhesives (sixth and seventh generation) on dentin of primary and permanent teeth: an in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2009;27(1):33-8.
38. da Costa CC, Oshima HM, Costa Filho LC. Evaluation of shear bond strength and interfacial micromorphology of direct restorations in primary and permanent teeth--an in vitro study. *Gen Dent* 2008;56(1):85-93; quiz 94-5, 111-2.
39. Peutzfeldt A, Nielsen LA. Bond strength of a sealant to primary and permanent enamel: phosphoric acid versus self-etching adhesive. *Pediatr Dent* 2004;26(3):240-4.
40. Gajic M. Anatomohistološke karakteristike zuba. U: Beloica D, urednik. *Dečja stomatologija, drugo izmenjeno i dopunjeno izdanje*. 2005, Beograd: Draslar partner; 2005. p. 74-94.
41. Placido E, Meira JB, Lima RG, Muench A, de Souza RM, Ballester RY. Shear versus micro-shear bond strength test: a finite element stress analysis. *Dent Mater* 2007;23(9):1086-92.

RESEARCH ON THE RELATIONSHIP AND BOND STRENGTH BETWEEN COMPOSITE MATERIALS AND HARD DENTAL TISSUES

Zoran R. Vulićević

*Clinic for Pediatric Care and Preventive Dental Care
Faculty of Dentistry, University of Belgrade*

One of the great contributions to aesthetic restorative dentistry was given by Buonocore in the middle of the last century. His discovery of the treatment of the enamel surface with orthophosphoric acid is used in everyday dental practice. In this way, the problem of composite bonding for enamel has been fully considered and resolved, and the researchers' attention has been redirected to finding a method that will provide a strong and durable bond between the composite and the dentine. Based on the adhesive approach, the adhesive systems can be divided into: (1) adhesive systems based on total etch approach, and (2) self-etch adhesives. Depending on the type of solvent in the adhesive, "wet bonding" and "dry bonding" adhesives are distinguished.

The bond strength of composite to dentine is influenced by several factors. In addition to the methods of measurement and the type of dentine, the bond strength depends on the type of teeth (human or bovine), distance from the dentin-enamel junction, the time elapsed between tooth extraction and laboratory testing, the presence of caries on the teeth, as well as the temperature differences in the thermal cycle used to simulate the aging. The presence of a smear layer also affects the bond strength between the composite and the dentine. It is also influenced by the size, depth and geometry of the cavity, as well as the angle between the enamel surface and the cavity walls. Due to all of these factors affecting the bond between the composite and the dental tissue, it is necessary to make a protocol for testing the bond strength that would specify the conditions of the preservation of the samples, the methodology and surface of the dental tissue to which the composite will be bonded.

The matter of the research was also the examination of certain factors that could influence the performance of cementing composite fiber reinforced composite posts, such as the surface preparation of the post, the type of composite cement for post cementation and the light transmitting ability of the posts. The following studies dealt with the treatment of endodontically treated teeth from the aspect of selecting materials for cementing fiber reinforced composite posts, as well as the biomechanical behavior of endodontically treated teeth treated with fiber posts. The proper choice of materials for post-luting significantly affects the behavior and prognosis of the treated teeth. Particular

attention should be given to understanding the factors that influence the biomechanical behavior of devitalized teeth, in order to ensure the long-term success of the treatment.

Also, despite the different values of the bond strength of the composites to dentin of deciduous and permanent teeth, it was established that there is no statistically significant difference among different adhesive systems when bonded to deciduous and permanent teeth.

Keywords: adhesion, enamel, dentine, bond strength, dentin adhesive systems.

Проф. Др Зоран Р. Вулићевић
Стевана Јаковљевића 2
11000 Београд
zrvdent01@gmail.com

СВЕТСКО СТАРЕЊЕ ПОПУЛАЦИЈЕ И ПОРАСТ ФИНАНСИЈСКИХ ИЗДВАЈАЊА ЗА ЗДРАВСТВЕНУ ЗАШТИТУ - ПРИМЕР ВОДЕЋИХ БРИКС НАЦИЈА

Михајло Јаковљевић

*Катедра за глобално здравље, економију и политику, Факултет
медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Србија
Академија медицинских наука Српског лекарског друштва, Београд, Србија*

Сажетак

Старење становништва се појављује у демографској историји човечанства као сложен феномен превасходно почев од двадесетог века. Настаје здруженим садејством опадајуће стопе плодности жена, унапређеним преживљавањем деце у раном детињству и продуженом очекиваном дуговечношћу грађана. Међу коренитим узроцима се наводе индустријске и потом сексуална револуција, еманципација, школовање и апсорбовање жена у тржишта рада и напредак превентивног - јавног здравља и куративне - клиничке медицине. Процес старења има два кључна обележја у смислу његове распрострањености у простору и времену. Географски је постао раширен на свим континентима богатог севера и сиромашног југа са привременим изузетком једино у неким земљама суданске Африке и Авганистану. Хронолошки процес не напредује константним темпом него се видно убрзава. Студије показују да ће се чак и у водећим земљама у развоју убрзати у просеку троструко у првој четвртини XXI века у односу на последњу четвртину XX века. Земље БРИКС-а (Бразил, Русија, Индија, Кина) су актуелан пример за проучавање динамике и последица процеса старења. Земље ове групе се током већег

дела протеклих двадесет година развијају темпом који вишеструко превазилази темпо раста зрелих западних привреда. Јасно је да се региони света налазе у различитим стадијумима старења становништва - одмакли (Јапан, Западна Европа, делови Далеког Истока), средњи (Источна Европа, земље Арапске лиге и Латинске Америке) и јувенилни, тј. рани стадијум (црна под-сахарска Африка, делови централне и јужне Азије и Индијског потконтинента). У том смислу земље имају корисну прилику да уче на моделима туђих историјских грешака и успеха. Основни проблем лежи у чињеници да је целокупна традиција здравствених система и социјално-пензионог-инвалидског осигурања сазидана на моделу демографског раста који је био универзалан у свету крајем XIX и почетком XX века. Изузетним потребама старих лица за дугорочном кућном и медицинском негом се придружује феномен последње године живота у којој грађанин-пацијент потроши ресурса у висини сопствених медицинских расхода за читав претходни живот. Не постоји једносмеран нити безболан одговор на овакву еволуцију саврмених друштава. Ипак, време ће нас принудити на развој каквог-таквог модела адаптације с обзиром на јасну дугорочну неодрживост данашњих механизма финансирања и обезбеђења ових пот

Кључне речи: старење становништва, БРИКс, финансирање, дугорочни тренд, демографија

Старење становништва као јединствен догађај у демографској историји човечанства

Писано предање као и усмена традиција различитих народа и државотворних процеса на меридијанима широм света памти заједнице људске прошлости као вечно млада друштва. Без обзира да ли говоримо о етничким заједницама древних или саврмених пред-индустријских култура, да ли посматрамо религијске кругове водећих монотеистичких или паганских вера, све „без разлике, деле неколико заједничких образаца. Демографски гледано, у питању су заједнице са снажном превагом деце и младих у односу на старе, релативно кратким очекиваним животима на рођењу од свега три до четири и по деценије и високом стопом плодности. Структура оболевања и умирања су дубоко обележене заразним болестима, трауматизмом и раширеном појавом неухрањености и глади услед дубоког сиромаштва [1]. Без обзира на веома споре али дубоке и темељне промене у друштвеним односима, степену и начину експлоатације маса од стране локалних елита, систем успостављања

и одржавања социјалне правде и цивилизацијски напредак, ова демографска обележја остају мање-више константна кроз миленијуме од зоре писане историје човечанства.

Ипак, захуктали след догађаја покренут Европским колонијалним освајањима света, геноцидним праксама над домородачким народима разних меридијана и напослетку, појава индустријске револуције уздрмаће и саме темеље овог наизглед непомерљивог начина живота традиционалних људских заједница. Дубока друштвена раслојавања покренута технолошким иновацијама у западној Европи временом доводе до снажног развоја капитализма и неминовности укључивања жена и деце у тржиште рада [2]. Овај необично суров период је запамћен у западњачкој официјалној историографској школи као време изградње првих зачетака синдикалног удруживања радника у индустрији. Нека од невероватних достигнућа тога времена у колонијалној енглеској империји касног XVIII и раног XIX века су рецимо забрана запошљавања деце испод десет година у рудницима или ограничавање трајања радног времена не преко 12 сати дневно у индустрији текстила. Даљи ток прве и друге индустријске револуције ће довести и до раних корена сексуалне револуције превасходно у Европи а потом и њеним колонијалним наследницама [3].

Важан део богаћења елите и постепеног и врло мукотрпног пораста животног стандарда обичних људи у земљама Запада је била масовна сеоба са села у град - „трбухом за крухом“ која се у Европи и Америци окончала трајном миграцијом око три стотине милиона људи [4]. У том процесу долази до урушавања традиционалног племенског начина живота (задругарства на примеру Совјетског Савеза, Израела и бивше Југославије) у великим заједницама неколико узастопних поколења. Уместо ње формира се атомизирана мала градска породица. У новим економским околностима, подстакнуте либерализацијом права жена, еманципацијом и све масовнијим школовањем жена широм света, долази до тзв. инкорпорације жена у тржишта рада [3]. Ефективно ово значи финансијски подстицај женама да рађају мање. Наиме, малена градска породица више нема традиционалну поделу рада на мушке и женске послове у фамилијарној мануфактури. Редовна зарада женског супружника, поред мушке у домаћинству у коме

нема других руку које би преузеле радно оптерећење у случају болести или било каквог другог ризика, представља обично разлику испод или изнад границе сиромаштва. Изненађујуће један исти процес, само у дијаметрално различитим околностима, је током пола века хладног рата узимао маха и на социјалистичком истоку Варшавског уговора и његовим безбројним клијент-државама широм Латинске Америке, Африке и Азије и у земљама тврдог прекоморског неолибералног капитализма [5]. Широки појас Исламске и Хиндуистичке цивилизације Индијског потконтинента се са доста успеха одупирао западном моделу сексуалне револуције и нових породичних односа. Уследило је убрзано и несметано ширење концепта и праксе глобализације на западни начин у временском прозору од 1991. (пресудан догађај распуштање СССР-а у Беловешкој шуми, Белорусија) до 2008. године (више догађаја прекретница почетка нове геополитичке ере мултиполарног света). Велики део успеха овог процеса се дугује економским средствима условљавања и наднационалним финансијским установама Бретон-Вудса створеним крајем последњег светског рата. Углавном МЕНА земље Арапске лиге, Индија и њене сателитске културе ће подлећи новонасталим променама само са драгоценим кашњењем од неколико деценија.

Некакав замишљени објективан и непристрасан посматрач свих ових промена не би никако могао да претпостави оно што ће се догодити као последица свих ових промена. А то је коренит, озбиљан и дугорочан пад женске плодности огромне већине савремених друштава. Наиме, број деце по жени-мајци је пао на примеру сиромашних арапских земаља са седморо на свега троје или мање деце [6]. У Европи ове промене су документоване у архивској грађи француског народа са стидљивим почетком још у време пада Бастиље и почетка Француске буржоаске револуције 1789. године. Код Срба је јасно да је пик високе плодности био између 1870- их и 1910. и да су почеци ових промена старији од века. Наравно то се није десило самостално него удружено са две добре тековине развоја грађанског начина живота, савремене медицине и јавног здравља. То је најпре драстично унапређено преживљавање одојчади и деце у раном детињству до пете године живота. Друга таква тековина је дугорочан и непобитан тренд продужене дуговечности просечног грађанина (очекивано трајање живота на

рођењу) [7]. Овакав тренд је најдраматичнији ток имао код најдуговечније нације данашњице – Јапана. У гладним годинама после Другог светског рата, долази до постепеног увођења разних врста сточног и живинског меса у традиционално морску исхрану локалне популације, ширења система кућног грејања (иначе одсутних у старинској Јапанској сеоској кући), ширења спровођења вакциналних и других јавно здравствених програма. Исход је био невероватан. Скок животног века са 55 на 88 година у прозору од непуних пола века. У источној Европи, земљама СССР-а и касније руског Комонвелта, као и земљама Балкана, се сличан напредак догодио, само нешто споријим темпом. Достигнута дуговечност показује битне регионалне варијације и заостаје за Западном, али је тренд опште снажно узлазан [8].

Све ове три крунске промене, обједињене у времену, су довеле до постепеног преображаја демографских пирамида савремених народа. Процес је временом постао познат као старење становништва (популације) а у лаичком народном жаргону и као бела куга. Запањујуће су и просторно-географска и хорнолошка свеобухватност ове појаве. У времену од око само три до пет деценија он је постао универзална светска појава која се прелила са индустријализованих народа северне хемисфере ка донедавно изразито сиромашном и неразвијеном Глобалном Југу (искључујући неколико мањих националних економија које су преседан у том смислу али маргиналне у величини популације) [9]. Једини изузетак према статистици и проценама Одсека за социјална и економска питања Уједињених Нација, су тзв. 17–18 земаља демографских изузетака. Већина њих су земље црне, Суб-Суданске Африке и Авганистан. Са временског гледишта, сада, у 2017. години се налазимо на јединственој прекретници у читавој писаној историји човечанства – први пут по нашем сазнању ће удео старијих особа у сенијуму преко 65 година старости превазићи удео деце испод 5 година старости у светској популацији. Та тачка укрштања се дешава негде око цифре од пет процената и највероватније је да смо је већ прошли [10]. С обзиром да се описана демографска транзиција показала као неумитан и једносмеран процес, многих последица ћемо засигурно постати свесни тек у деценијама које су пред нама.

Последице старења популације за системе здравствене и социјалне заштите данашњице – питање финансирања

Као што смо уочили на описаним променама, старење популације је добило пандемијске размере. У том светлу за нас су важне две кључне јавно здравствене чињенице у вези са такозваном трећом демографском транзицијом или сребрним цунамијем како се уобичајено назива овај феномен у литератури. Прва је темпо самог старења [9, 11]. Када би тај темпо био мање-више константан и уобичајен у већини популација, историјско искуство земаља које су раније почеле да старе би било веома корисно млађим нацијама. Међутим, испоставило се да су се развијене земље, са почетком индустријализације у касном XVIII и раном XIX веку нашле у повољнијој ситуацији [12]. Процес је испочетка, док су сазревали друштвени предуслови за његово наступање, био поприлично постепен и спор. Међутим, када су се ти претходно описани предуслови већ стекли, демографско старење је кренуло да се значајно убрзава. Уколико посматрамо време потребно да се удео старих преко 60 година дуплира са 7% на 14% укупне популације уочићемо да је Француској за овај скок требало читавих 115 година. У Бразилу се иста промена одиграла за свега 21 годину [13].

Овде долазимо до друге кључне особине јавно здравственог пејзажа старења народа. Посматраћемо накратко период у Европи око преломних 1870-тих година који је довео до потпуног етно-географског преображаја и стварања нових економских постулата на старом континенту. Наиме, то је време зачетака социјализације ризика на примеру Бизмарковог здравственог осигурања индустријских радника и њихових породица [14]. Такође, то је време настанка темеља раних институционализованих, хијерархијски устројених здравствених система. Тада у епидемиолошком пејзажу континента преовладава структура морбидитета и морталитета врло слична оној у данашњој руралној Индији или деловима Африке. Национални здравствени стратегије тога касног XIX и почетка XX века већ имају прилику да виде делотворност превентивних јавно здравствених мера и побољшања ефикасности клиничке медицине [15]. Они су углавном сматрали да су потребна масивна улагања у развој националних здравствених система тога времена. Превасходни задатак те борбе је успостављање контроле

над инфективним болестима, порођајних компликација и обољења раног детињства. Они су убеђени да ће се, по ликвидацији пула заразних болести, здравље популација усталити на својеврсном, много вишем нивоу и потом бити потребна много мања улагања за одржавање новонасталих здравствених система [16].

Изненађење које је уследило након што су индустријализација и колонијални приходи подигли животни стандард маса у земљама Западне Европе нико није очекивао. Дошло је до омасовљавања појаве тзв. болести благостања познатијих као хроничне незаразне болести. Ова обољења, на челу са разним врстама последица убрзане атеросклерозе, рака, душевних болести, дијабетеса, бубрежне слабости су позната у аналима историје медицине од древне прошлости [17]. Међутим с обзиром на релативно кратко трајање животног века просечног грађанина, и начин живота, ове болести су биле епидемиолошки минорног или потпуно маргиналног значаја. Дубоки преображај друштва и начина живота је водио ка већој приуштивости хране за широке народне масе. Егзохотеотермија у домовима и на радним местима, јавни системи водовода са хлорисаном водом, канализације, уклањања смећа, обавезни вакцинални програми сви су на свој начин дали допринос ономе што ће уследити. Напослетку током друге половине XX века по окончању великих сукоба дошло је до открића микрочипа и информационе технолошке револуције [18]. То је довело до потпуног преображаја међународног тржишта рада од тешких послова у примењеној индустрији и пољопривреди ка претежно умном раду уз посредство електронских помагала и средстава за рад. Двотрећински или чак већи део укупног привредног сектора како развијених тако и брзорастућих тржишта је већ дуги низ година у превасходно услужним делатностима. Огроман и растући је удео послова који се могу обављати из фотеље у удобним канцеларијама или чак такозваних консултативних послова у кућним условима на даљину посредством интернета. Ово је довело до потпуног имплементирања седелачког начина живота у савременим друштвима. Већ с краја хладноратовске ере, од 1970-их и 1980-их година са трендом акцелерације ове промене су део одрастања од раног школског узраста. Заједно са елементима популарне културе долази до дисеминације и омасовљавања брзе индустријске хране за масе и појаве безалкохолних напитака са

високим садржајем простих шећера. Успех у богаћењу мултинационалних компанија произвођача овакве хране (Кока Кола, Пепси, МекДоналдс и многи други) довео је до даљег масивног инвестирања у маркетиншку популаризацију употребе истих и представљања таквих навика као део процеса одрастања у тренду. Искоришћена су најбоља сазнања адолесцентне психологије да се створи синкретички систем вредности младих генерација који је између осталог довео до пандемије гојазности и пратећих болести [19]. На ово се историјски надовезала експанзија болести зависности, у уској вези са процесима отуђења Западних друштава, сексуалном револуцијом и развојем Хипи и следствених покрета у Америци (САД) почев од 1960-тих година. Глобално ширење путева злоупотребе алкохола, дувана, хероина и кокаина превасходно, много касније и синтетичких дрога, је одиграло велику улогу у дубоком преображају структуре оболевања и умирања људи данашњице широм света [20–22].

Све описане промене су имале неколико битних здравствено-политичких и здравствено-економских последица по савремени начин живота. Потребе грађанства за услугама здравствене заштите и друштвене подршке су се радикално промениле из корена. Уместо уобичајених бактеријских инфекција прошлости које су се од почетка ере антибиотика углавном лечиле пар недеља са мање-више предвидљивим исходом, дошло се до мукотрпних, хроничних и неизлечивих болести [23]. За разлику од пнеумоније, сифилиса или акутног циститиса третман схизофреније, шећерне болести или терминалне бубрежне слабости, на данашњем нивоу знања траје деценијама. Додатан проблем у вези са омасовљавањем удела старог и пензионисаног грађанства је наступајућа пандемија деменција која је у појединим земљама попут Ирске или Канаде прворазредни национални приоритет. Оваква стања захтевају дугорочну институционалну (старачки домови и специјализоване установе) или кућну негу [24]. Код традиционалнијих народа Азије породично старатељство је још увек императив како због ризика од тзв. катасторфалне потрошње домаћинства у вези са болешћу тако и због друштвене стигматизације. Међутим одрживост породичног неговатељства је веома под знаком питања. У земљи величине Србије, Израелу, имамо процене да се скоро два од осам милиона грађана стара о неком члану породице. То води до великог питања

функционалности запосленог члана породице на дуге стазе који паралелно са оваквим тешким дужностима обично има и радни однос или води бригу о малолетној деци и старим родитељима истовремено [25].

Друго питање је отворено масивном иновацијом у клиничкој медицини како у сфери фармакологије тако и у сфери хируршких дисциплина и посебно употребе имплантата у ортопедији и кардиоваскуларној хирургији, визуелизационе дијагностике, интервендне радиологије, онколошке радиотерапије, психотерапијских приступа, рехабилитационих и физијатријских третмана и тако редом [26]. Уопште, појава нових технологија које омогућавају подношљивији квалитет живота или продужетак живота са тешким болестима, је драстично увећао тражњу за таквим услугама у свим земљама света [27].

Успешност решења начина финансирања здравственог осигурања је довео до испоручивања универзалне покривености свих слојева становништва општом превентивном и куративном здравственом заштитом. Изненађујуће за многе, прва земља на свету која је ово постигла је Совјетска Русија својим Семашко системом у раним предратним 1930-им годинама а на нивоу знања и технологије тога времена. Појава ефикасних централизованих државних фондова у друштвеној својини превасходно у земљама реал-социјализма али у то време и у многим земљама Запада, довела је до појаве ефективно приуштиве или чак бесплатне медицинске неге за крајњег корисника, односно пацијента [28]. Ова појава доводи до опште познатог феномена „тражње индиковане понудом“.

У привредама неолибералног капитализма, здравствени сектор ће временом постати масивно приватизован као што је то случај са САД, Јапаном и рецимо већином земаља Арапске лиге. Овде је проблем лекара, власника или упосленика мале приватне клинике као „савршеног агента“ добио на значају. Давалац медицинске услуге је овде на искушењу да ли да пацијенту пропише традиционалне, конвенционалне и доказано исплативе технологије дијагностике и лечења или иновативне, скупе, вишег ризика, на којима много више зарађује [29].

Занимљиво је да у земљи рођења здравствене економије као дисциплине, Сједињеним Америчким Државама, од давних 1840-их па све до 1960-их пораст расхода тј. издвајања за здравствену

заштиту стабилно прати раст националне привреде и бруто домаћег дохода (БДД/ГДП). Ово је видљиво на примеру поређења цене лекарског прегледа и радничке наднице на месечном нивоу. Међутим од 1960-их због свих наведених и многих других предуслова долази до експлозивног убрзања пораста потрошње за здравство. Овај темпо у већини богатих земаља ОЕЦД, са изузетком Јапана и неколико мањих земаља, достиже чак два пута бржи темпо раста од раста националне привреде у истом периоду [10, 30]. То тако остаје до данас и нема индиција да ће се поменути расходи успоравати или достићи некакав историјски плато. Једине релативно успешне мере контроле трошкова су мере драконске контроле и регулативе тржишта од стране националних влада. Ово је у потпуној супротности са принципима и теоријом неолибералног капитализма. Међутим након треће светске рецесије оваквих капиталистичких система у распону од непуног века, сведоци смо напуштања једне од основних догми глобализације предвођене оваквим моделом привређивања и друштвених односа. Видимо наступајуће конзервативне и протекционистичке тенденције затварања националних тржишта у водећим земљама западног Англо-Саксонског културног круга. У завијенијој правној форми, овакве политике социјализације здравственог сектора, контролисања финансијских ризика и питања приуштивости медицинске неге и лекова за обично грађанство, већ деценијама су на делу типично у рецимо земљама Бенелукса, Скандинавије, Француској и Швајцарској. Очигледно је да ће се овакве дубоке и корените промене одразити и у сфери светског здравственог сектора [31].

Здружене последице старења популације и експлозивног прираста инциденце и преваленце хроничних „болести благостања“ заједно са осталим описаним променама, довели су у питање целокупну одрживост финансирања и управљања савременим здравственим системима [32]. Зашто? Подсетимо се времена у коме су ти системи настајали. Они су као и целокупан систем социјалне пензионе и инвалидске заштите сазидани на моделу демографског раста односно постулату младости и високих стопа рабања који је за то време био универзалан. Међутим, данас влада нова „реалност на терену“. Актуелни пензионо-инвалидски (ПИО) као и здравствено-осигуравајући фондови временом

природно губе на вредности и девалвирају. Потребна им је непрестана текућа подршка коју у већини земаља пружа опорезивање прихода самих послодаваца као правних лица и зарада запослених грађана у радно способној доби. Механизми којима се овакав приход остварује су разнолики од региона до региона али је суштина свуда иста. Маса релативно младог радно способног и запосленог становништва се осипа и умањује и у процентуалном уделу и у смислу апсолутних бројева у већини земаља света [33]. Истовремено маса старијих грађана у сенијуму преко 60, 65 и 80 година старости се сукцесивно увећава. При томе је посебно изражајан тренд акцелерације на субпопулацији веома старих лица. Прираст у бројности тзв. центенаријанаца односно стогодишњака се увећава и до десет пута већом брзином глобално [7]. У вези са тим постоји једна важна истина. Последња година живота, обично намеће потребе за интензивном или онколошком болничком негом или збрињавањем тешких неуролошких и других обољења дубоког сенијума [34]. Ових последњих три до девет месеци обично коштају у смислу медицинске потрошње приближно исто или више од целоживотне друштвене потрошње на здравствену заштиту тог појединца „од колевке па до гроба“ .

Све ово значи да на демографској пирамиди целокупне заједнице, доњи млађи спратови радно способних се сужавају и слабе док горњи спратови финасијски зависних и неретко издржаваних старијих лица се омасовљавају и добијају на тежини. Врло упрошћено, дугорочно гледано је веома неизвесна свеукупна стабилност и одрживост текућег система финансирања јавног здравственог сектора и заштите рањивих слојева становништва. Ово питање је веома „врућа“ политичка тема у економски и развојно потпуно удаљеним системима од Канаде до Лаоса и од Монголије до Аргентине [33].

Појава брзорастућих БРИКС привреда и њихов утицај у арени глобалног здравља

Описана еволуција традиција обезбеђења права на здравствену заштиту широм света је пратила велике, такорећи тектонске геополитичке промене. Неки од „километарских каменова“ које

бисмо издвојили су следећа догађања: Реформе Денг Ксијаопинга почев од 1974. са ефективним успоном кинеске економије након догађаја на Тјан-Мену од 1989; пад Берлинског зида 1989; мирни разлаз СССР договором у Беловешкој шуми, Белорусија 1991; успостављања Мاستришког уговора (оснивачког акта Европске Уније у данашњем смислу) 1992; руска криза морталитета и дно руске рецесије 1998. која је повукла читаву источну Европу и централну Азију за собом; почеци Блиско-источних сукоба око контроле над тржиштима фосилних горива са кулминацијом у догађајима од 2001. и 2003. и поразом коалиције најугицајнијих земаља света у овим ратовима; ширење Атлантског војног савеза на исток Европе противно изворном договору Москва-Вашингтон из времена Перестројке с краја 1980-их; оснивање Шангајске асоцијације за сарадњу ((SCO/ShOS) формално 1996. а под данашњим именом 2001); банкрот браће Лиман у јесен 2007. и покретање светске економске кризе; оснивање Евроазијског економског савеза (ЕАЕС/ЕЕС) 2011; покретање обојених револуција почев од раних 2000-их у земљама бивше Југославије, широм источне Европе и северне Африке (Арапска пролећа); непредвидљив развој сукоба Запада и земаља Руског комонвелта у прокси – ратовима у Грузији (2008), Украјини (2014) и Сирији (2015); објава Међународног монетарног фонда (ММФ) о губитку светског економског примата САД у смислу паритета куповне моћи (ППП) и освајање позиције најбогатије земље света од стране Народне Републике Кине у јесен 2014. и званично напуштање оснивачких постулата Европске уније, Римским уговором о „Европи у више брзина“ 2017. године [35].

Уколико се измакнемо од појединачних преломних догађаја од којих су овде наведени само неки, уочићемо нека од темељних обележја новије економске историје света која имају битне импликације по развој здравственог сектора на свим континентима. Наиме, од почетака колонијалних европских освајања и пада династије Минг у Кини, током последња четири века је успостављен извесни препознатљив образац у економским односима. Богате земље индустријализоване северне хемисфере типично поседују и знање и напредне технологије за производњу. Оне улажу у сиромашне земље преваходно јужне хемисфере где користе релативно образовану, вешту и приуштиву локалну радну снагу.

Типично, зидањем фабрика или хотела у земљама југа, стварају се робе и услуге високог квалитета и завидне цене. Њихово примарно тржиште тј. потрошачко тело међутим неће бити на југу него ће напротив те робе и услуге бити извожене и продаване назад у богатим земљама севера. Овим земљама се након бољшевичке револуције придружује и Совјетски Савез захваљујући изузетној успешности Стаљинових петогодишњих развојних планова и позицији СССР-а као друге светске привреде од 1950-их па све до 1988. године. Иначе, тај модел развоја привреде је и дан данас на снази у великим сегментима савремене кинеске привреде [36].

Овакви неумитни и сурови односи експлоатације су зацементирали имовинске и развојне паритете који су се одржавали у времену без обзира на свеукупни напредак. Озбиљан изазов овом изворно капиталистичком обрацу, је током пола века Хладног рата пружан од стране СССР-а и великог мноштва његових сателитских привреда и тзв. клијент – држава. Као што је познато, комунистичке револуције и успостављање социјалистичких држава су били веома распрострањени широм арапског света, црне суб-сахарске Африке, Латинске Америке и Азије. Након догађаја 1991. уследио је убрзан темпо глобализације на принципима неолибералног капитализма, слабљењу суверенитета традиционалних националних држава и давању неограничених транснационалних права експлоатације профита мултинационалним корпорацијама у свим областима привређивања. Тај модел глобализације као такав се према изјавама њених доктринарних идеолога ширио несметано неких 17 година. Почев од 2008. године указале су се неке не само битне мањкавости и слабости самог економског модела, него и рањивости групе земаља које су биле његови носиоци и ограничења у способности да тај модел наметну трећим земљама. Битан део рушења стереотипа север-југ је везан за постепено економско и политичко успињање групе земаља некадашњег Другог и Трећег света. Ове земље је економиста Голдман-Сакса ирског порекла Џим О Нил објединио у акрониму БРИКс – Бразил – Русија – Индија –Кина (енг. прим. превод „цигла“) [35]. Објаснио је њихову есенцијалну улогу у стварању новог светског економског поретка у свом епохалном извештају из 2001. године. Тада је сматрано да ће се то догађати процесом постепеног прерастања изнутра тј. еволуцијом углавном дуж линија западног, капиталистичког модела без реалнијег

потенцијала за сукобе и револуције по моделу оних из хладно-ратовског времена. Ове земље су заиста свака на свој начин остваривале привредни раст од 6-7% или више процената током већег дела 2000-их година. Поређења ради, златно доба благостања на Западу подразумева раст БДП од 1,5-3% годишње. Све четири земље, сходно својој величини (обједињено око две петине човечанства) су оствариле импресивне успехе у ширењу покривености становништва здравственом заштитом, развоју мреже болница и пратеће инфраструктуре у огромним руралним регионима. Оно што је најважније, укупан раст животног стандарда у овим земљама је извукао преко осам стотина милиона људи изнад границе сиромаштва само у Народној Републици Кини [17]. У претходним упоредним студијама финансијских издвајања за здравствену заштиту на основу Система националних здравствених рачуна Светске здравствене организације видљиво је неколико битних обележја. Најпре, удео земаља у развоју у светској потрошњи на здравство (ниже и средње развијених према Атлас методи Светске банке) дугорочно расте од средине 1990-их ка нашем времену. Удео Г7 константно опада у поређењу са земљама БРИКС-а чији константно расте [36]. Унутар БРИКС групе, Народна Република Кина изразито доминира великом сликом што је очигледно и у размерама апсолутне потрошње и у величинама тржишта лекова и медицинске опреме и уопште националног болничког сектора. Године 1995. најуспешнији је био Бразил у већини показатеља, док је ка 2015. примат преузела Руска Федерација која у пер capita терминима остаје изразито најбогатија земља у групи. Важна забрињавајућа околност и нус-ефекат транзиције и масивне приватизације здравственог сектора је озбиљан раст тзв. издвајања из џепа грађана (приватна потрошња, *out-of-pocket health expenditure*) у свим овим нацијама. Ово се односи како на формална и легална плаћања партиципација и доплата за услуге и лекове тако и на неоформална односно коруптивна плаћања. Проблем је озбиљан и у порасту јер означава пораст друштвених неједнакости и изражену рањивост најсиромашнијих слојева становништва као и опадајућу одговорност државе (дугорочно снижена владина издвајања за здравство) [37].

Текуће средњерочне пројекције раста у овим земљама до 2025. показују да ће се њихов раст, под претпоставком очувања глобалног

мира, наставити мање више несметано без обзира на напоре конкурентне групе водећих земаља света да се тај раст успори или барем одложи [35]. Ово је можда најочигледније на примеру уздржаног става старе Европске петнаесторице и већине Г7 економија према мамутском пројекту „Нови пут свиле“ („Један пут – један појас“) који се повезује са новим, тзв. кинеским моделом глобализације. Овде је наравно веома видан још један раскол унутар Европске уније на примеру учешћа свих централно и источно-европских земаља у поменутом пројекту у формату 16 + 1 и склапању билатералних националних уговора са Народном Републиком Кином. Други индикативан пример унутрашњих подела земаља западног културног круга је оснивање Азијске развојне банке и Банке БРИКС-а којом приликом се један број водећих западних земаља (Британија, Француска, Немачка, Италија) свесно укључио оснивачким капиталом или у својству посматрача, упркос јавном ограђивању тадашњих власти у САД [36].

Једини релативни преседан од овог правила је Република Индија чији удео трошкова за здравствену заштиту стоји фиксно око четири процента чак са лакоом стагнацијом у протеклих двадесетак година. Свакако треба и ово узети са резервом јер је динамичан развој индијске привреде омогућио радикалан скок тих истих издвајања за здравство у апсолутном монетарном смислу расположивих сума за јавни сектор. Између осталог, важно је напоменути да ће Индија због млађег становништва и ранијег стадијума старења популације искусити демографску дивиденду – прираст од око 150 милиона младе радне снаге како идемо ка средини века. Овај стадијум старења и прилике за развој које су повезане са њим је историјски у осталим земљама групе или одавно искоришћена или пропуштена шанса [38].

Без обзира на многобројне тешкоће важно је разумети суштинска и дубока међународна померања тежишта економских и политичких односа са великим последицама по ресор здравствених услуга у већини региона света укључујући и нашу земљу. Описане геополитичке промене су последица дугог процеса сазревања иманентних односа и оно што данас видимо је кулминација процеса дугог скоро тридесет година. Ефективно, зачетак данашње мултиполарне архитектуре светских односа видимо већ у самом крају ере Хладног рата. Битно је разумети да се нови односи

успостављају у многоуглу Шангај – Хонг Конг – Џен Шен – Гуанг Џоу – Макау који је место настанка првог и највећег светског мега града, зоне непрекидне конурбације са преко 100 милиона људи. У садашњој констелацији снага то средиште има тенденцију да прерасте у нови Њу-Јорк Сити, центар са светским цивилизацијским и културним приматом. Слични мега градови – огњишта захукталог развоја се интензивно стварају на кључним географским чвориштима како унутар земаља БРИКС-а тако и унутар мањих али такође брзорастућих „следећих једанаест“ нација (Бангладеш, Египат, Индонезија, Иран, Мексико, Нигерија, Пакистан, Филипини, Турска, Јужна Кореја и Вијетнам - такође акроним Голдман-Сакса). У свим овим земљама, без обзира на бројне тешкоће и регионалне нестабилности, приметан је изразит напредак јавно здравственог сектора. Ово је можда најочигледније на упоредној корелацији финансијских издвајања за здравствену заштиту и прираста у дуговечности просечног грађанина (очекивано трајање живота на рођењу) које има изразиту узлазну путању у свим овим земљама током претеклих двадесет година [39].

Наше време поред тешких изазова поставља многа занимљива питања у вези са постигнућима у обезбеђивању услуга модерне превентивне и клиничке медицине и финансирању истих. Како то да се један круг земаља успешно извлачи из такозване „омче сиромаштва“ диверзификује националну привреду и ниже успехе, док друге у сличним или чак повољнијим спољним околностима стагнирају? Које су границе у продужавању људске дуговечности и да ли је могуће уистину пружити здраво и достојанствено старење већини људи у данашњим заједницама? Хоће ли доћи до платоа у порасту трошкова медицинске неге и терапије у достижној будућности? Да ли ће бити могуће развити ефикасне и флексибилне финансијске инструменте којима ће се моћи вршити мудра и праведна расподела ресурса ка исплативим технологијама и ка онима којима је најпотребнија? Да ли ће дубоке противречности у досадашњем току глобализације и њеним постулатима између интересно супростављених група земаља моћи да се превазиђу мирним моделом мултилатералног развоја? Да ли ће инклузивни систем једнакости великих и силних са малим и slabим земљама који заговара НР Кина уистину заживети у пракси на дуге стазе и како ће то изгледати? Које је место Републике Србије

као чланице формата 16 + 1, и српског народа у целини, у процесу чији ће јасни обриси бити видљиви тек у наредним деценијама? Постоји ли начин да „президамо“ у ефикаснији и одржив текући модел здравственог система у складу са нашим сопственим традицијама а према новонасталој демографској и економској стварности имајући у виду неуспехе и поразе источно-европске и балканске транзиције? Постоји ли могућност да учимо на туђим историјским грешкама у управљању и финансирању здравствене заштите без понављања истих у неком другом облику?

Надамо се да ће одговоре на ова и многа друга питања пружити домаћи академски сектор као природно бољи и одговорнији партнер националним ауторитетима у одлучивању од мултинационалне индустрије са својим профитним интересима и тржишним начином размишљања. Надамо се да ће корпус доказа и објављених студија који је сажет у овом рукопису пробудити радозналост и покренути нова истраживања у интердисциплинарним здравственим наукама.

Литература

1. Feigin V. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016; 388(10053):1459–44.
2. Gething PW. Global, regional, and national levels of maternal mortality, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016;388(10053):1775–812. Escoffier J, editor. *Sexual Revolution*. Philadelphia, PA: Running Press; 2003.
3. Escoffier J, editor. *Sexual Revolution*. Philadelphia, PA: Running Press; 2003.
4. Kulcsár L, editor. *Rural migration, Europe and North America 1945 to present*. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd; 2013.
5. Gaddis JL. *The Cold War: A New History*. New York: Penguin Press; 2005.
6. Jakovljevic M. Population Ageing alongside Health Care Spending Growth. *Srp Arh Celok Lek* 2017;145(9-10):532–7. doi: <https://doi.org/10.2298/SARH160906113J>
7. Jakovljevic M. The aging of Europe. The unexplored potential. *Farmeconomia. Health economics and therapeutic pathways* 2015;16(4):89–92.
8. Jakovljevic MB, Vukovic M, Fontanesi J. Life expectancy and health expenditure evolution in Eastern Europe-DiD and DEA analysis. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res* 2016;16(4):537–46.
9. Jakovljevic M, Laaser U: Population aging from 1950 to 2010 in seventeen transitional countries in the wider region of South Eastern Europe (Original research). *SEEJPH* 2015, posted: XX February 2015. doi: 10.12908/SEEJPH-2014-42

10. Ogura S, Jakovljevic M. Health financing constrained by population aging - an opportunity to learn from Japanese experience. *Ser J Exp Clin Res* 2014;15 (4): 175-181
11. Rancic N, Jakovljevic M. Long Term Health Spending Alongside Population Aging in N-11 Emerging Nations. *Eastern European Business and Economics Journal* 2016; 2(1):2-26.
12. Jakovljevic MM, Ogura S. Health Economics at the Crossroads of Centuries - From the Past to the Future. *Front Public Health* 2016;4:115.
13. WHO. Ageing and life-course. Facts about ageing. <http://www.who.int/ageing/about/facts/en/> Accessed Jyly 10, 2017
14. Jakovljevic M , Arsenijevic J, Pavlova M, Verhaeghe N, Laaser U & Groot W. Within the triangle of health care legacies - comparing the performance of South-Eastern European health systems. *Journal of Medical Economics* 2017;20(5):483-92.
15. Jakovljevic M, Groot W, Souliotis K. Health care financing and affordability in the emerging global markets. *Front in Public Health* 2016;4:2.
16. Jakovljevic M, Getzen T. Growth of Global Health Spending Share in Low and Middle Income Countries. *Front Pharmacol* 2016;21(7):1-4.
17. Jakovljevic MB, Milovanovic O. Growing Burden of Non-Communicable Diseases in the Emerging Health Markets: The Case of BRICS. *Front Public Health* 2015;3:65.
18. Nikoloski K. Technology and economic development: retrospective. *Journal of Process Management - New Technologies* 2016;4(4):45-50.
19. Global Burden of Disease Child and Adolescent Health Collaboration, Kassebaum N, Kyu HH, Zoeckler L, Olsen HE, Thomas K, Pinho C, et al. Child and Adolescent Health From 1990 to 2015: Findings From the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors 2015 Study. *JAMA Pediatr* 2017;171(6):573-92.
20. Jakovljevic M, Varavikova EA, Walter H, Wascher A, Pejic A and Lesch O. Alcohol Beverage Household Expenditure, Taxation and Government Revenues in Broader European WHO Region. *Front Pharmacol* 2017;8:303.
21. Milovanovic DD, Jakovljevic M, Scekcic M, Djordjevic N. Caffeine consumption patterns and determinants among adolescents in Serbia. *Int J Adolesc Med Health* 2016 Oct 14. pii: /j/ijamh.ahead-of-print/ijamh-2016-0076/ijamh-2016-0076.xml. doi: 10.1515/ijamh-2016-0076.
22. Jovanovic M, Jakovljevic M. Regulatory issues surrounding audit of electronic cigarette charge composition. *Front Psychiatry* 2015;6:133.
23. Jakovljevic MM, Lazarevic M, Jurisevic M, Jovanovic MR. When cure becomes an illness-abuse of addictive prescription medicines. *Front Pharmacol* 2015;6:193.
24. Jakovljevic MB. Resource allocation strategies in Southeastern European health policy. *Eur J Health Econ* 2013;14(2):153-9.
25. Jakovljevic M. Commentary: Patient Cost Sharing and Medical Expenditures for the Elderly. *Front Pharmacol* 2016;7:73.
26. Jakovljevic M, Gutzwiller F, Schwenkglens M, Milovanovic O, Rancic N, Varjadic M, et al. Costs differences among monoclonal antibodies-based first-line

- oncology cancer protocols for breast cancer, colorectal carcinoma and non-Hodgkin's lymphoma. *JBUON* 2014;19(3):1111-20.
27. Jakovljevic MB. Targeted immunotherapies overtaking emerging oncology market value based growth. *JBUON* 2015;20(1):348-53.
 28. Jakovljevic M. Pharmaco-economic assessment based decision making in delivering health care being on the rise among Eastern European and Balkans policy makers. *ISPOR Connections* 2011;17(6):19-20.
 29. Pejic AV & Jakovljevic MB. Economic impact of traditional medicine practice worldwide. *Traditional Medicine Research* 2017;2(2): 60-74.
 30. Jakovljevic M, Malmose-Stapelfeldt C, Milovanovic O, Rancic N, Bokonjic D. Disability, Work absenteeism, sickness Benefits, and cancer in selected European OECD countries – Forecasts to 2020. *Front Public Health* 2017;5:23.
 31. Lim SS, Allen K, Bhutta ZA, Dandona L, Forouzanfar MH, Fullman N, et al. Measuring the health-related Sustainable Development Goals in 188 countries: a baseline analysis from the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016;388(10053):1813-50.
 32. Jakovljevic M, Varjadic M. Commentary: Do health care workforce, population, and service provision significantly contribute to the total health expenditure? An econometric analysis of Serbia. *Front Pharmacol* 2017;8:33.
 33. Jakovljevic M, Vukovic M, Chia-Ching C, Antunovic M, Dragojevic-Simic V, Velickovic-Radovanovic R, et al. Do health reforms impact cost consciousness of Health care professionals? Results from a nation-wide survey in the Balkan. *Balkan Med J* 2016;33(1):8-17.
 34. Jakovljevic M, Folic M, Dagovic A. Hospital oncology costs among the cohort of elderly in an aging South-Eastern European nation. *Farmeconomia: Health economics and therapeutic pathways* 2015;16(1):3-5.
 35. Jakovljevic M, Potapchik E, Popovich L, Barik D, Getzen T. Evolving health expenditure landscape of the BRICS nations and projections to 2025. *Health Econ* 2016;26:844-52.
 36. Jakovljevic M. Comparison of Historical Medical Spending Patterns among the BRICS and G7. *Journal of Medical Economics* 2016;19:70-6.
 37. Jakovljevic M. The key role of leading emerging BRIC markets for the future of global health care. *Ser J Exp Clin Res* 2014;15 (3):139-43.
 38. Jakovljevic MB. BRIC's growing share of global health spending and their diverging pathways. *Front Public Health* 2015;3:135.
 39. OECD Data. Health spending. <https://data.oecd.org/healthres/health-spending.htm> Accessed July 10, 2017

GLOBAL POPULATION AGING AND GROWTH OF HEALTH EXPENDITURE – AN EXAMPLE OF LEADING EMERGING BRICS NATIONS

Mihajlo Jakovljevic

*Department of Global Health, Economics and Policy, Faculty of Medical Sciences
University of Kragujevac, Serbia*

Academy of Medical Sciences of Serbian Medical Society, Belgrade, Serbia

Population aging is a complex demographic phenomenon present mostly since the XX century. It is being created by falling female fertility, improved early childhood survival and an extended longevity. Core underlying processes were industrial and sexual revolutions, education and absorption of women into the labor markets, progress of both public health and clinical medicine. Geographically aging has taken place worldwide both in rich industrialized North and the poor Global South. The only temporary exceptions are Sudan Africa and Afghanistan. Besides there is clear evidence of its acceleration. Even in emerging nations people will age three times faster from 2000-2025 compared to 1975-2000. BRICs nations (Brazil, Russia, India, China) are a convenient example for research of aging due to their population size and unprecedented long term economy growth. It is obvious that diverse geographical regions are in different stages of population aging: Advanced (Japan, Western Europe, parts of Far East Asia), medium (Eastern Europe, Arabic League, most of Latin America) and juvenile or early stage (Sub-Saharan Africa, parts of Central and Southern Asia). This offers the opportunity for countries to learn from each other's successes and failures. Ground concern is in the fact that entire tradition of health system and social insurance establishment was built on demographic growth model which used to be universal in the late XIX and early XX century. Senior citizens have demanding needs for long term home and medical care. This is worsened by the fact that last year of life intensive medical care costs as much as entire lifetime medical consumption of that person. There is no simple response to ongoing evolution of contemporary societies. Yet, time will force us to develop some kind of adaptive response since current system of financing and provision of such services is completely unfeasible.

Keywords: Population aging, long term trend, demographics, BRICs, financing, health care

Проф. др Михајло Јаковљевић
Светозара Марковића 69
34 000 Крагујевац
sidartagothama@gmail.com

АКУТНА ЛИМФОБЛАСТНА ЛЕУКЕМИЈА У ДЕЦЕ: ЗНАЧАЈ АКАДЕМСКИХ КЛИНИЧКИХ СТУДИЈА ЗА ПОБОЉШАЊЕ ИСХОДА ЛЕЧЕЊА

Драгана Јанић

Универзитетска децја клиника, Београд

Сажетак

Акутна лимфобластна леукемија (АЛЛ) обухвата 75–80% акутних леукемија и око 30% свих малигних обољења децје доби. У овом прегледном раду приказан је историјат лечења АЛЛ и напредак постигнут у Србији. Сведоци смо изванредних побољшања у лечењу АЛЛ које је започело шездесетих година прошлог века од када датирају први подаци о излеченој деци. Напредак у процентима преживљавања одвијао се захваљујући академским клиничким студијама чије су темеље поставили истраживачи болнице *St. Jude* у САД. Овај приступ актуелан је и данас, више од пола века касније: стандардном лечењу (које се примењује код све деце) рандомизовано се додају различите модификације, подаци се непрестано обрађују и на основу њих стандардни протокол редовно ревидира. Захваљујући томе, као и многим иновацијама везаним за различите аспекте терапије које су омогућиле новија научна открића, свеукупни успех у лечењу АЛЛ се стално увећавао и данас је досегао око 90%, што чини историјат лечења ове болести јединственим у аналима медицине. Највећи утицај на терапијске принципе у нашој средини имала је група Берлин-Франкфурт-Минстер. Захваљујући чланству у овој групи данас најбољи (и практично једини делотворан) начин унапређивања терапије децје АЛЛ примењује се у Србији.

Истраживање биолошких фактора ризика и молекуларних детерминанти токсичности лекова која се спроводе у нашем центру не би било могуће без униформне савремене терапије АЛЛ у оквиру академских клиничких студија. Центар за педијатријску онкологију према данашњим стандардима треба да буде у могућности да понуди учешће у клиничкој студији уколико пацијент то жели.

Кључне речи: акутна лимфобластна леукемија, деца, лечење, клиничке студије

Увод

Акутна лимфобластна леукемија (АЛЛ) је малигно обољење које потиче од клонског поремећаја хематопоезског система. Акутна лимфобластна леукемија (АЛЛ) обухвата 75–80% акутних леукемија и око 30% свих малигних обољења дечје доби [1]. Годишње од АЛЛ просечно оболева око 40 деце на милион, с тим што је учесталост већа у развијеним земљама. Иако се јавља у свим узрасним групама, инциденца дечје АЛЛ највећа је код деце узраста 2–5 година, при чему дечаци оболевају нешто чешће од девојчица, изузев код одојчади [2]. Просечно се око 85% АЛЛ одликује Б-ћелијским фенотипом, а око 15% Т-ћелијским. Међутим учесталост Т-АЛЛ је веома варијабилна и креће се од 6 до 47%. Србија спада у земље са просечном учесталошћу. Т-ћелијска АЛЛ је била заступљена у 14% оболелих на узорку од 335 новодијагностикованих пацијената са АЛЛ од 1996. до 2002. године [3].

АЛЛ је крајње хетерогено обољење (или, боље речено, група различитих обољења коју повезују заједнички патофизиолошки процеси). Према савременом гледишту, етиопатогенеза дечје АЛЛ подразумева комбинацију урођене (не нужно и наслеђене) биолошке предиспозиције и деловања чинилаца спољашње средине. Притом је увек потребно имати на уму да специфичне подгрупе АЛЛ могу имати међусобно различиту етиологију [4]. Наследна предиспозиција за АЛЛ постоји у оквиру одређених урођених синдрома (*Down*-ов синдром, *Li-Fraumeni*-ев синдром, *Nijmegen*-ски синдром хромозомске нестабилности, атаксија-телангиектазија), али се неки од поменутих (или других, ређих) синдрома уочава код свега око 5% деце са АЛЛ [5]. Иако су урођена

стања која предиспонирају за развој малигнитета, па тиме и АЛЛ у деце ретка [6], њихово изучавање даје важне информације о генима везаним за леукемогенезу који могу бити таргети за потенцијалне терапијске интервенције новим биолошким агенсима. У нашој сарадњи са групом из *Cancer Research* центра у Бирмингему окарактерисан је молекуларни профил у породици у којој је више деце оболело од АЛЛ и лимфома [7].

Далеко чешће, предиспозиција за дечју АЛЛ проиходи из соматских генетичких аберација, као што су хромозомске транслокације, делеције и амплификације гена, или полиморфизми појединачних нуклеотида. Студије су показале да су соматске мутације гена које стварају услове за настанак АЛЛ неретко присутне већ интраутерино. Међу спољашње чиниоце за које постоје докази да играју улогу у развоју АЛЛ убрајају се излагање јонизујућем зрачењу и мутагеним агенсима. Претпоставља се да би и неки микроорганизми могли да учествују у настанку АЛЛ, што је посредно поткрепљено епидемиолошким студијама у којима је откривен пораст инциденце дечје АЛЛ на територијама где је дошло до мешања различитих популација. Хипотези о инфективним агенсима као етиолошким чиниоцима АЛЛ, такође посредно, говори у прилог и протективни учинак исхране мајчиним млеком у првих шест месеци живота, премда је механизам у основи тог учинка засад непознат. Још једна чињеница која би се могла узети као посредно сведочанство у прилог хипотези о значајној улози неке инфекције у генези АЛЛ је повећана инциденца у група са вишим социјално-економским статусом [4].

Најчешћи генетички налаз код Б-АЛЛ је хипердиплоидија (> 50 хромозома), која се среће у до 25% случајева и повлачи релативно повољну прогнозу. Насупрот томе, хиподиплоидија (< 44 хромозома) је удружена са лошом прогнозом. Међу хромозомским реаранжманима карактеристичним за дечју АЛЛ, прво место по заступљености припада реаранжману *TEL-AML1 (ETV6-RUNX1)* који одговара транслокацији (12;21) [8]. Међутим, интерна амплификација гена *RUNX1 (iAMP21)*, која се може срести у око 2% педијатријских пацијената са АЛЛ, удружена је са лошом прогнозом [9]. Генска фузија *BCR-ABL* (хромозомска транслокација 9;22 – познати „филаделфијски хромозом“) среће се у 2–3% деце са АЛЛ и условљава лошу прогнозу, премда је прогноза драматично

побољшана увођењем генски циљане терапије инхибиторима тирозин-киназе [10]. Леукемије са реаранжманима у којима учествује ген *MLL* најчешће се јављају у узрасту одојчета (чинећи око 80% АЛЛ тог узраста) и прогностички су веома неповољне [11]. У серији од 111 деце са АЛЛ дијагностикованих у Србији у периоду од две године, реаранжман *TEL-AML1* је нађен код 18%, *E2A-PBX* код 3,6%, *BCR-ABL* код 3,6% и *MLL-AF4* код 2,8% [12].

Алтерације броја генских копија, по свему судећи, у леукемогенези имају синергијско дејство са малочас поменутиим предиспонирајућим променама. Неретко се откривају у генима који играју значајну улогу у контроли пролиферације Б-лимфоцита, као што су *PAX5* и *IKZF1* [13]. Анализама генске експресије идентификована је група педијатријских пацијената са АЛЛ која се клинички понаша слично АЛЛ са реаранжманом *BCR-ABL* („*Ph-like*“ АЛЛ), али се алтерације налазе у другим генима, као што су *ABL2*, *CSF1R* и *PDGFRB*, или пак гени за *Janus* киназе и одговарајуће сигналне молекуле [14]. Ген који је најчешћа мета мутација код Т-АЛЛ (у ~50% случајева) је *NOTCH1*, док су друге по учесталости (~20%) код овог облика АЛЛ мутације гена *FBXW7* [15]. За разлику од Б-АЛЛ, генетички налаз код Т-АЛЛ засад по правилу нема значајну улогу у стратификацији пацијната према ризику [10].

Клиничка слика акутне лимфобластне леукемије

Не постоје симптоми или знаци који би били патогномонични за АЛЛ [16]. Клиничко испољавање АЛЛ најчешће је условљено инфилтрацијом коштане сржи леукемијским ћелијама, што по правилу резултира би- или панцитопенијом, и/или леукемијском инфилтрацијом екстремедуларних ткива и органа (Табела 1). У почетку болести доминирају неспецифични симптоми и знаци, као што су повишена температура, бледило, малаксалост, губитак апетита и бол у екстремитетима, који је по правилу у раскораку са објективним налазом. Често се виђају крварења у кожи и слузницама. Хепатоспленомегалија и лимфаденопатија се при презентацији бележе код 50–60% деце оболеле од АЛЛ.

Физикални налаз	% болесника	Лабораторија	% болесника
Хепатоспленомегалија	70	Број леукоцита ($10^9/L$)	55
		<10	30
		10-49	15
Спленомегалија	65	>50	
Температура	60	Хемоглобин (g/L)	
Крварење	50	<7,0	45
		7,0-11,0	45
		>11,0	10
Лимфаденопатија	50	Тромбоцити ($10^9/L$)	
Бол/оток костију и зглобова	25	<20	30
		20-99	50
		>100	20

Табела 1. Акутна лимфобласта леукемија у деце: уобичајена клиничка слика и лабораторијски налази

У крвној слици може се открити леукоцитоза или леукопенија, а леукемијске ћелије могу, али не морају бити присутне на размазу периферне крви. Екстремно висок број белих крвних ћелија, односно леукемијских бласта ($> 100 \times 10^9/L$, „хиперлеукоцитоза“) чешће се виђа код Т-АЛЛ него код Б-АЛЛ. Код леукемија Т-ћелијске лозе такође је често присутна медијастинална маса, која може да угрожава дисање. Централни нервни систем је захваћен у 2–3% случајева дечје АЛЛ, што се манифестује знацима повишеног интракранијалног притиска (главобоља, повраћање централног типа, летаргија или раздражљивост, конвулзије) или лезијама кранијалних живаца (птоза, пареза фацијалног нерва). Код дечака са АЛЛ се, премда ретко, може сусрести и инфилтрација тестиса, по правилу у виду безболног увећања које може бити једнострано или обострано. Веома ретко акутној лимфобластној леукемији претходи дуготрајна аплазија костне сржи [17] или се пак болест презентује слично идиопатској тромбоцитопенијској пурпури или системском еритемском лупусу, што намеће значај размишљања о АЛЛ у диференцијалној дијагнози наведених обољења.

Историјат лечења акутне лимфобластне леукемије

Покушаји лечења акутне леукемије хемијским агенсима датирају из 19. века. Лечење је испрва било палијативно. Пут ка куративном лечењу дечје АЛЛ био је дуг и нипошто није био линеаран. *Sidney Farber* је 1947. године покушао да примени фолну киселину, будући да се тај витамин, који је откривен недуго пре тога, показао веома успешним у лечењу мегалобластне анемије. Међутим, давање фолне киселине убрзало је пролиферацију леукемијских бласта и тиме погоршало болест. То је навело *Farber*-а да примени аминокперин – агенс чије је деловање антагонистичко фолној киселини. Овај антимаболит, претеча метотрексата, синтетисали су *Siger* и његови сарадници. Он је код многе деце довео до вишемесечне комплетне ремисије болести. Иако је таква ремисија била далеко од излечења (практично је била лишена утицаја на коначну прогнозу), тим је резултатом отпочела ера специфичне терапије дечјих леукемија.

Убрзо (1949. године) је показано да адренкортикотропни хормон (АСТН) такође изазива краткотрајну ремисију код деце са леукемијом. Исти ефекат добијен је давањем глукокортикоида (кортизона, а затим преднизона), те су они заменили АСТН. Наредну откривену групу хемиотерапијских агенаса – пуринске антимаболите (6-меркаптопурин, тиогуанин) умногоме дугујемо обимној студији односа између структуре и активности хемијских једињења из групе пуринских аналога коју су крајем четрдесетих и почетком педесетих година двадесетог века извели нобеловци *Gertrude Elion* и *George Hitchings*. Прва успешна примена 6-меркаптопурина у лечењу дечје леукемије описана је 1953. године. Затим је, 1959, у терапију уведен и циклофосфамид, а 1962. године арсеналу антилеукемијских агенаса придодат је и винкристин, алкалоид изолован из зимзелена са израженим цитостатским деловањем. Чак ни комбинација свих описаних врста агенаса, међутим, по правилу није постизала ништа више од привремене ремисије.

У Мемфису (Тенеси) је 1962. године почела с радом Дечја истраживачка болница *St. Jude Children's Research Hospital*, установа у којој је развијен терапијско-истраживачки приступ који ће довести до прекретнице у лечењу дечје АЛЛ. Истраживачи болнице *St. Jude*

почели су тако што су прецизно дефинисали препреке терапијском успеху и развили стратегије којима би превазишли сваку од њих понаособ. Превладавање прве препреке – развоја резистенције леукемијских ћелија на терапијске агенсе и следственог рецидива болести – отпочело је преласком са примене појединачних лекова на комбиноване хемиотерапијске схеме, као и успостављањем лечења у више добро дефинисаних фаза (индукција, консолидација, ре-индукција, одржавање). Другу препреку представљали су чести рецидиви у централном нервном систему. Ово је превазиђено на два начина: зрачењем ендокранијума и интратекалном применом хемиотерапије. Трећа препрека састојала се у токсичности хемиотерапије, нарочито у њеном супресивном деловању на коштану срж, општој имуносупресији и оштећењу слузокожа (мукозитис). У овом погледу, постепено побољшање резултата лечења омогућено је напретком супортивне терапије. Постојала је, нажалост, и четврта препрека: општи песимизам у погледу могућег исхода лечења леукемије и следствена неспремност да се куративно лечење и покушава.

Управо је ову последњу препреку савладао иновативни и свеобухватни приступ терапији дечје АЛЛ који је од њених почетака до наших дана одликовао болницу Сент Џуд, а окосница тог приступа је рандомизација. Истраживачи су, наиме, успоставили научне и етичке стандарде који у исти мах омогућују емпиријско тестирање различитих варијанти терапијског протокола и обезбеђују пацијентима најбоље могуће изгледе излечења. Овај приступ поставио је темеље академских клиничких студија, које су и данас најбољи (и практично једини делотворан) начин унапређивања терапије дечје АЛЛ (као и многих других обољења). Један од добрих примера ваљаности и огромног потенцијала описаног приступа је пилот-студија започета децембра 1967. године, која је упоредила тада уобичајен терапијски протокол са протоколом у којем је терапија комбинована са ирадијацијом ендокранијума високим дозама и интратекалним давањем метотрексата да би се компензовао слаб пролазак главних хемиотерапеутика кроз хематоенцефалну баријеру. Већ након шест месеци постало је очигледно да овај протокол даје супериорне резултате, те је постао стандардан [18]. Временом се установило да је „цена“ смањења процента менингеалних рецидива постигнутог

овим терапијским приступом превисока. Зрачена деца су имала когнитивне и ендокрине секвеле и ми смо били међу ауторима који су то бележили [19].

Када се започело са применом високих доза метотрексата којима се постиже пенетрација овог лека кроз хемаоенцефалну баријеру дозе зрачења су значајно смањене [20]. Принцип студија *St. Jude* болнице примењује се и данас, више од пола века касније: стандардном лечењу (које се примењује код све деце) рандомизовано се придодају различите модификације, подаци се непрестано обрађују и на основу њих стандардни протокол редовно ревидира. Захваљујући томе, као и многим иновацијама везаним за различите аспекте терапије које су омогућила новија научна открића, свеукупни успех у лечењу АЛЛ се стално увећавао и данас је досегао око 90%, што чини историјат лечења ове болести јединственим у анализама медицине. Томе су допринеле бројне националне и интернационалне кооперативне групе које спроводе академске клиничке студије. Највећи утицај на терапијске принципе у нашој средини имала је група Берлин-Франфурт-Минстер (БФМ) [21].

Историјат групе Берлин-Франфурт-Минстер

Студијску групу БФМ основали су 1975. године у Немачкој *Hansjörg Riehm* из Берлина, *Bernhard Kornhuber* из Франфурта и *Günther Schellong* из Минстера, отпочевши прву мултицентричну клиничку студију лечења дечје АЛЛ. Окосницу терапијског концепта БФМ представљала је примена комбинације осам различитих хемиотерапеутика, која је довела до револуционарног повећања стопе преживљавања деце и адолесцената лечених од АЛЛ. Та основа терапијских протокола очувала се и до данас, уз постепено усавршавање и додавање нових елемената, а групи БФМ прикључио се велики број центара из различитих земаља. Сви ови центри настављају да кроз међусобну плодотворну сарадњу раде на даљем унапређењу терапије дечје АЛЛ, под окриљем интернационалне студијске групе И-БФМ, која је основана 1987. године, како би „окупила породицу“ националних студијских група Аустрије (БФМ), Француске/Белгије (EORTC-CLG), Немачке (БФМ),

Италије (*AIEOP*) и Холандије (*DCLSG*). Заједнички напори учесника И-БФМ имају за циљ развој заједничких стандарда дијагностике и лечења, као и нових терапијских модалитета који би понудили одговоре на идентификоване препреке и изазове. Студијска група се једном годишње окупља ради конструктивне дискусије, као и планирања, спровођења и евалуације колаборативних клиничких и лабораторијских пројеката. Сходно томе, И-БФМ је постала значајна међународна платформа за промоцију научних истраживања и лечења деце оболеле од АЛЛ [22]. У групи се негује инклузивна атмосфера, а истраживачи из свих земаља, средина и институција охрабрују се да износе предлоге и обогаћују рад групе својим иницијативама. И-БФМ тренутно обједињује 28 студијских група из 34 земље (*International BFM Study Group*) [23].

Примена модификованог БФМ протокола у Србији у периоду 1995-2002. године описана је у две публикације. У првој [24] је наведено преживљавање без нежељених догађаја (*event-free survival, EFS*) од око 70% у групи пацијената који су лечени на Универзитетској дечјој клиници. Друга студија [25], са већим бројем пацијената из четири центра за лечење дечје леукемије у Србији и једног из Републике Српске лечених између 1995. и 2002. године и са дужим периодом праћења, сведочи о петогодишњем *EFS* од 73,1% и десетогодишњем *EFS* од 70,5%. Иако се ови резултати могу сматрати прихватљивим за период у коме су постигнути, БФМ протокол није био примењиван у целости и пацијенти нису проспективно праћени као што се обавезно чини у оквиру академских студија. Овде се налазио очигледан простор за побољшавање терапијских концепата код нас, што је ускоро и учињено. У периоду 2002–2007. године, учешће Србије у академској клиничкој студији *ALL-IC-BFM* 2002. године, заједно са још четрнаест земаља са три континента допринело је уједначавању лечења АЛЛ у сва четири центра у Србији и омогућило мерљиво побољшање учинка на националном нивоу. Резултати ове студије [26] посведочили су да се проценти излечења не разликују у односу на европске центре високо развијених земаља.

Интензификацију терапије за АЛЛ која би била потенцијално куративна у највећој мери ограничавају токсични ефекти који могу да буду тако озбиљни да угрозе живот пацијента [27–29]. С друге стране побољшање исхода лечења резултат је не само нових

терапијских принципа, већ и боље потпорне терапије. У томе спремност, обученост и уиграност целог медицинског тима има велики утицај, што подвлачи значај мултицентричних програма едукације специјализованог медицинског кадра. Наш се центар придружио иницијативи Европског удружења за рак (*The European Cancer Organization – ECCO*), Интернационалног удружења педијатријске онкологије (*The International Society of Paediatric Oncology – SIOP*) и Европског удружења онколошких сестара (*The European Oncology Nursing Society – EONS*) да кроз побољшање вештина и знања обезбеди висок ниво неге пацијената [30].

Међутим, ваља напоменути да, и поред дуге традиције академских клиничких студија, и даље постоје бројни озбиљни проблеми у њиховом спровођењу. *SIOPE (The European Society of Pediatric Oncology* - Европско удружење педијатријске онкологије) је 2008. године у сарадњи са европским студијским групама идентификовало главне препреке: академска клиничка истраживања се у Европи још увек умногоме изводе фрагментарно, а истраживачи имају мноштво тешкоћа да прилагоде своје студије Директиви о клиничким студијама Европске Уније. Приступ новијим хемиотерапеутицима често није могуће остварити, упркос Одредби о педијатријским медикаментима из 2007. године. Премда је ЕУ уистину финансирала неколико пројеката транслационих истраживања из области дечје онкологије, постоји општа сагласност да је неопходно много више. Ниво интегрисаности биологије и клиничких истраживања сасвим је неадекватан, а разлике у приступу највишим стандардима лечења малигних болести дечјег доба толико су велике да представљају легитиман повод за биоетичку дебату [31].

Прогностички маркери акутне лимфобластне леукемије

Од првих успеха у лечењу АЛЛ идентификација клиничких и биолошких параметара који утичу на исход лечења заузима значајно место. Ове маркере називамо прогностичким факторима. Уопштено гледајући, прогностички фактори су мера несавршености наших терапијских концепата, јер их узимамо у разматрање тамо где не постижемо повољан исход у свих

пацијената. Узраст између једне и шест година и иницијални број леукоцита испод $20.000/mm^3$ јасно издвајају групу са повољном прогнозом. Један од првих покушаја сагледавања значаја биолошких маркера за прогнозу је био да се утврди утицај морфологије бласта по ФАБ класификацији. Није уочена разлика између *L1* и *L2* морфологије, док је *L3* морфологија имала лошију прогнозу. Данас се зна да *L3* морфологији одговара зрела Б-леукемија која се више не убраја у АЛЛ. Следећи маркер који је укључен у рутинску дијагностику је била имунофенотипизација бласта и разликовање прекурсора Б од прекурсора Т-ћелијске лозе. Врло брзо је уочено лошије преживљавање Т-АЛЛ. Терапијске стратегије су убрзо прилагођене интензивирањем терапије усмерене ка централном нервном систему код групе са Т-ћелијским фенотипом, што је довело готово до изједначавања преживљавања у обе групе. Лош одговор на пронизон након седмодневне примене у почетку лечења (присуство више од 1000 бласта/ mm^3 у крвној слици) се убрзо показао као значајан фактор за стратификацију оболеле деце у групу која треба да прима интензивну терапију. Концепт минималне резидуалне болести (МРБ) се појавио још осамдесетих година прошлог века, али је своју пуну примену у АЛЛ сачекао двадесетак година. У акутној мијелоидној леукемији још увек није део свакодневне праксе. Присуство бласта који се не могу морфолошки идентификовати уочено је обележавањем ћелијских маркера моноклонским антителима конјугованим са флуоресцентним обележивачем. На тај начин се са великом поузданошћу открива аберантно присуство имунофенотипских маркера које карактерише малигно измењену ћелије лимфоидне лозе у АЛЛ. МРБ је могуће одредити и *PCR* методом и то на два начина: први је детекција реаранжмана гена за имуноглобулине или Т-ћелијски рецептор [32], а други је перзистенција транскрипта фузионог гена (*TEL/AML1*, *BCR/ABL*, *MLL-AF4*, *E2A-PBX1*) ако је такав био присутан на почетку болести. У нашем центру, у студији која је обухватила 70 пацијената, нађено је да је заступљеност реаранжмана *TEL-AML1* (данас се ова транслокација $t(12;21)$ означава као *ETV6-RUNX1*) износила 17,1%, *E2A-PBX1* 8,6%, *BCR-ABL* 10%, док у тој популацији ниједно дете није имало реаранжман *MLL-AF4*. У моменту процене ремисије 33. дана *BFM* протокола *TEL-*

AML1 и *E2A-PBX* транскриптје задржало по 16,6% пацијената, док је *BCR-ABL* био присутан у 57,1% пацијената [33].

Закључак

Сведоци смо изваредних побољшања у лечењу АЛЛ. Бројна истраживања биолошких фактора ризика брзо су прелазила из лабораторије у клиничку рутину. Пример за то су и молекуларне детерминанте токсичности лекова. У нашем центру највише смо се бавили утицајем варијанти ензима тиопурин-метил трансферазе на лечење АЛЛ [34–40], а у последње време и генетичким факторима ризика за токсичност метотрексата [41]. Тумачење ових резултата не би било могуће без униформне савремене терапије АЛЛ у оквиру академских клиничких студија, која је и наш дуг према пацијентима. У регулативи здравствених система многих развијених земаља постоји директива да центар за педијатријску онкологију мора да буде у стању да понуди учешће у клиничкој студији уколико пацијент то жели [42].

Литература

1. Siegel DA, King J, Tai E, Buchanan N, Ajani UA, Li J. Cancer incidence rates and trends among children and adolescents in the United States, 2001–2009. *Pediatrics* 2014;134(4):e945–e55.
2. Spector LG, Ross JA, Robison LL, Bhatia S. Epidemiology and etiology. In: C.H. Pui, editor. *Childhood leukemias*. Cambridge: Cambridge University Press; 2006. p. 48–66.
3. Slavković B, Guč-Ščekić M, Đuričić S, Janić D, Gaipa G, Janković M, et al. Immunophenotypic and cytogenetic features of childhood acute leukemia in Serbia and Montenegro. *Korean J Genetics*. 2007;29(1): 99–106.
4. Greaves M. Childhood leukemia. *BMJ* 2002;324(7332):283–87.
5. Janić D, Dokmanović L, Jovanović N, Lazić J. T-cell acute lymphoblastic leukemia in a child with ataxia-telangiectasia: case report. *J Pediatr Hematol Oncol* 2007;29(10):713–15.
6. Ripperger T, Bielack SS, Borkhardt A, Brecht IB, Burkhardt B, Calaminus G, et al. Childhood cancer predisposition syndromes—a concise review and recommendations by the Cancer Predisposition Working Group of the Society for Pediatric Oncology and Hematology. *Am J Med Genet A* 2017;173(4):1017–37.
7. Byrd PJ, Stewart GS, Smith A, Eaton C, Taylor AJ, Guy C, [Eringyte J](#), [Fooks P](#), [Last JI](#), [Horsley R](#), [Oliver AW](#), Janić D, [Dokmanović L](#), [Stanković T](#), [Taylor AM](#).

- A hypomorphic PALB2 allele gives rise to an unusual form of FA-N associated with lymphoid tumour development. *PLoS Genet* 2016;12(3):e1005945.
8. Madhusoodhan PP, Carrol WL, Bhatia T. Progress and prospects in pediatric leukemia. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2016;46(7):229–41.
 9. Harrison CJ. Blood spotlight on iAMP21 acute lymphoblastic leukemia (ALL), a high-risk pediatric disease. *Blood* 2015;125(9):1383–6.
 10. Chiaretti S, Gianfelici V, O'Brien SM, Mullighan CG. Advances in the genetics and therapy of acute lymphoblastic leukemia. *Adv Soc Clin Oncol Educ Book* 2016;35:e314–22.
 11. Ghazavi F, Lammens T, Van Roy N, Poppe B, Speleman F, Benoit Y, et al. Molecular basis and clinical significance of genetic aberrations in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Exp Hematol* 2015;43(8):640–53.
 12. Krstić AD, Mičić D, Lakić N, Guč-Šćekić M, Janić D. Molecular diagnosis of childhood acute leukemia: Serbian experience. *Pediatr Blood Cancer* 2010;55(2):394–5.
 13. Carrol WL, Raetz EA. Clinical and laboratory biology of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr* 2012;160(1):10–18.
 14. Den Boer ML, van Slegtenhorst M, De Menezes RX, Cheok MH, Buijs-Gladdines JG, Peters ST. A subtype of childhood lymphoblastic leukemia with poor treatment outcome: a genome-wide classification study. *Lancet Oncol* 2009;10(2):125–34.
 15. Pui CH, Carrol WL, Meshinchi S, Arceci RJ. Biology, risk stratification, and therapy of pediatric acute leukemias: an update. *J Clin Oncol* 2011;29(5):551–65.
 16. Janić D. Akutna limfoblastna leukemija. U: Marisavljević D, Mihaljević B, Elezović I, Popović S, Suvajdžić-Vuković N, Vujić D i sar, urednici. *Klinička hematologija*. Beograd; Zavod za udžbenike: 2012. str. 1103–16.
 17. Janić D, Stojimirović E. Preleukemia. *Bilt Hematol Transfuz* 1983;11(2-3):97–103.
 18. Pinkel D. Historical perspective. In: Pui CH, editor. *Childhood leukemias*. Cambridge: Cambridge University Press; 2006. p. 3–21.
 19. Janić D, Stojanović M, Stojimirović E. Thyroid function in children treated for malignang diseases. *Srp Arh Celok Lek* 1988;116(4):297–304.
 20. Reiter A. Therapy of B-cell acute lymphoblastic leukemia in childhood: the BFM experience. *Baillieres Clin Hematol* 1994;7(2):321–37.
 21. Janić D. Update on treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia. 4th Balkan Hematology Meetings, Sofia 2009. *Clin Transf Hematol* 2009;14(2):23–7.
 22. Pui CH, Yang JJ, Hunger SP, Pieters R, Schrappe M, Biondi A, et al. Childhood acute lymphoblastic leukemia: progress through collaboration. *J Clin Oncol* 2015;33(27):2938–48.
 23. [Internet] <https://bfminternational.wordpress.com> Accessed Jyly 17, 2017
 24. Janić D, Dokmanović L, Jovanović N, Škorić D, Lazić J. Results of treatment of children with acute lymphoblastic leukemia with a modified BFM protocol. *Srp Arh Celok Lek* 2004;132 Suppl 1:17–22.
 25. Mičić D, Slavković B, Rašović Gvozdenović N, Kuzmanović M, Dokmanović L, Krstovski N, Janic D. History of treatment and long-term outcome in children with acute lymphoblastic leukemia in Serbia. *MEMO* 2011;4:174.
 26. Stary J, Zimmermann M, Campbell M, Castillo L, Dibar E, Donska S, [Gonzalez A](#), [Israeli S](#), [Janic D](#), [Jazbec J](#), [Konja J](#), [Kaiserova E](#), [Kowalczyk J](#), [Kovacs G](#), [Li](#)

- [CK](#), [Magyarosy E](#), [Popa A](#), [Stark B](#), [Jabali Y](#), [Trka J](#), [Hrusak O](#), [Riehm H](#), [Masera G](#), [Schrappe M](#). Intensive chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: results of the randomized intercontinental trial ALL IC-BFM 2002. *J Clin Oncol* 2014;32(3):174–84.
27. Miolski J, Lazić J, Radulović S, Petrović M, Bogičević V, Janković S, Janić D. Spontaneous perforation of sigmoid colon in a child with acute lymphoblastic leukemia. *Srp Arh Celok Lek* 2017;145(1-2):81–4.
 28. Janić D, Dokmanović L, Krstovski N, Škorić D, Lazić J, Rodić P. Toksičnost terapije dva različita protokola za akutnu limfoblastnu leukomiju dece. *BiltHematol* 2007;35 (1/2):16–20.
 29. Janić D. Hitna stanja u dečjoj hematologiji i onkologiji. U: Vučović D, urednik. *Urgentna medicina*. Beograd: Obeležja; 2002. str 987–98.
 30. Lazić J, Radenović M, Arnfield A, Janić D. Implementation of a nurse education programme in paediatric oncology using Appreciative Inquiry: a single centre experience in Belgrade, Serbia. *Eur J Oncol Nurs* 2011;15(5):524–7.
 31. Vassal G, Fitzgerald E, Schrappe M, Arnold F, Kowalczyk J, Walker D, Hjorth L, Riccardi R, Kienesberger A, Jones KP, Valsecchi MG, Janic D, Hasle H, Kearns P, Petrarulo G, Florindi F, Essiaf S, Ladenstein R. Challenges for children and adolescents with cancer in Europe: the SIOP-Europe agenda. *Pediatr Blood Cancer* 2014;61(9):1551–7.
 32. Lazić J, Dokmanović L, Krstovski N, Predojević J, Tošić N, Pavlović S, Janić D. Immunoglobulin genes and T-cell receptors as molecular markers in children with acute lymphoblastic leukemia. *Srp Arh Celok Lek* 2009;137(7-8):384–90.
 33. Lazić J, Tošić N, Dokmanović L, Krstovski N, Rodić P, Pavlović S, Janić D. Clinical features of the most common fusion genes in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Med Oncol* 2010;27(2):449–53.
 34. Dokmanović L, Urošević J, Janić D, Jovanović N, Petručev B, Tošić N, Pavlović S. Analysis of thiopurine S-methyltransferase polymorphism in the population of Serbia and Montenegro and mercaptopurine therapy tolerance in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Ther Drug Monit* 2006;28(6):800–6.
 35. Dokmanović L, Janić D, Krstovski N. Farmakogenomika u terapiji akutnih leukemija dece. *Bilt Hematol* 2007;35(1/2):5–9.
 36. Dokmanović L, Janić D, Krstovski N, Zukić B, Tošić N, Pavlović S. Značaj određivanja genotipa tiopurin S-metiltransferaze kod dece sa akutnom limfoblastnom leukemijom tokom faze održavanja. *Srp ArhCelokLek* 2008;136 (11-12):609–16.
 37. Zucic B, Radmilovic M, Stojiljkovic M, Tosic N, Pourfarzad F, Dokmanovic L, Janic D, Colovic N, Philipsen S, Patrinos GP, Pavlovic S. Functional analysis of the role of the TPMT gene promoter VNTR polymorphism in TPMT gene transcription. *Pharmacogenomics* 2010;11(4):547–57.
 38. Kotur N, Stanković B, Kassela K, Georgitsi M, Vicha A, Leontari I, Dokmanović L, Janić D, Krstovski N, Klaassen K, Radmilović M, Stojiljković M, Nikčević G, Simeonidis A, Sivolapenko G, Pavlović S, Patrinos GP, Zukić B. 6-mercaptopurine influences TPMT gene transcription in a TPMT gene promoter variable number of tandem repeats – dependent manner. *Pharmacogenomics* 2012;13(3):283–95.
 39. Kotur N, Dokmanović L, Janić D, Stanković B, Krstovski N, TošićN, et al. TPMT gene expression is increased during maintenance therapy in childhood acute

- lymphoblastic leukemia patients in a TPMT gene promoter variable number of tandem repeat-dependent manner. *Pharmacogenomics* 2015;16(15):1701–12.
40. Marjanović I, Kostić J, Stanić B, Pejanović N, Lukić B, Karan-Đurašević T, Janić D, Dokmanović L, Janković S, Vuković NS, Tomin D, Perišić O, Rakočević G, Popović M, Pavlović S, Tošić N. Parallel targeted next generation sequencing of childhood and adult acute myeloid leukemia patients reveals uniform genomic profile of the disease. *Tumour Biol* 2016;37(10):13391–401.
 41. Lazić J, Kotur N, Krstovski N, Dokmanović L, Zukić B, Predojević-Samardžić J, Životić M, Milošević G, Đorić M, Janić D, Pavlović S. Importance of pharmacogenetic markers in the methylenetetrahydrofolate reductase gene during methotrexate treatment in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Arch Biol Sci* 2017;69(2):239–46.
 42. Pritchard-Jones K, Lewison G, Camporesi S, Vassal G, Ladenstein R, Benoit Y, Predojevic J, Sterba J, Sary J, Eckschlager T, Schroeder H, Doz F, Creutzig U, Klingebiel T, Kosmidis H, Garami M, Pieters R, O'Meara A, Dini G, Riccardi R, Rascon J, Rageliene L, Calvagna V, Czauderna P, Kowalczyk J, Gil-da-Costa M, Norton L, Pereira F, Janić D, Puskacova J, Jazbec J, Canete A, Hjorth L, Ljungman G, Kutluk T, Morland B, Stevens M, Walker D, Sullivan R. The state of research into children with cancer across Europe: new policies for a new decade. *Ecancermedicalscience* 2011;5:210.

ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA: IMPACT OF ACADEMIC CLINICAL STUDIES ON TREATMENT OUTCOME

Dragana Janic

University Children`s Hospital, Belgrade

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) represents 75-80% of all acute leukemia cases and 30% of all malignancies in childhood. This review summarizes historical perspectives of ALL treatment and advances made in Serbia. We have witnessed remarkable advances in ALL treatment starting with first cures in the sixties of the previous century. Increase in survival percentages is mainly achieved through academic clinical studies instituted by St. Jude Children`s Research Hospital in USA. Same principles are valid even today, after more than half a century: on top of the standard treatment applied in all patients different modifications are added in a randomized way, such as data continuously collected and analyzed are base for protocol revisions. Based on this remarkable progress and numerous breakthroughs resulting from the research of different aspects of therapy, overall survival rate in ALL reaches 90% today, which makes history of ALL treatment a unique example in the history of medicine. The greatest influence on treatment principles in our country was exerted by Berlin-Frankfurt-Minster Group. Being part of this international consortium, Serbia offers the best (and practically the only effective) way of advancing the outcome of ALL pediatric patients.

Research on biological risk factors, as well as molecular determinants of drug toxicities, conducted in our center would be impossible without uniform up-to-date therapy of ALL within academic clinical studies. According to contemporary standards, pediatric oncology centers are to be able to offer participation in academic clinical studies to their patients.

Keywords: acute lymphoblastic leukemia, children, treatment, clinical studies

Проф. др Драгана Јанић
Краља Милутина 73
11000 Београд
dragana.janic@udk.bg.ac.rs

САВРЕМЕНИ СТАВОВИ У ЕВАЛУАЦИЈИ И РЕШАВАЊУ ОТЕЖАНОГ ДИСАЈНОГ ПУТА КОД БОЛЕСНИКА СА ЕНДОКРИНИМ И МЕТАБОЛИЧКИМ ПОРЕМЕЋАЈИМА

Невена Калезић

*Медицински факултет, Универзитет у Београду
Центар за анестезиологију и реаниматологију, Клинички центар Србије,
Београд
Центар за ендокрину хирургију, Клинички центар Србије, Београд*

Сажетак

Ендокрини и метаболички поремећаји су добро познати стечени разлози отежаног збрињавања дисајног пута. Код болесника са ендокриним поремећајима већа је учесталост отежане и немогуће интубације трахеје, како у ендокриној, тако и у неендокриној хирургији. Највећи проблем представљају болесници са обољењима штитасте жлезде која доводе до тиреомегалије и до последичне дислокације трахеје и/или ларинкса. Обољења или тумори хипофизе, која доводе до повишеног лучења питуитарних хормона, могу такође бити узроци отежане интубације, уколико је дошло до развоја акромегалије, гигантизма или *Cushing*-овог синдрома. Хиперпаратиреоидизам може допринети отежаној интубацији трахеје због изражене остеопорозе, а некада и значајнијих поремећаја коштано-зглобног система, што ограничава правилно позиционирање на операционом столу и лимитира екстензију главе и

врата приликом ларингоскопије. Код болесника са дијабетесом мелитусом, нарочито ако није добро контролисан или постоје хроничне компликације болести, интубација трахеје може бити ризична и тешка, како због синдрома укочених зглобова, тако и због гастропарезе која је повезана са повишеним ризиком од аспирације гастричног садржаја.

Код болесника са ендокриним и метаболичким поремећајима потребна је пажљива процена дисајног пута и ризика од отежане интубације и њених компликација, како би се превенирали нежељени догађаји, а у случају њихове појаве промтно купирали.

Кључне речи: проблематичан дисајни пут, ендокрини поремећаји, процена дисајног пута

Увод

Отежана интубација трахеје може довести до тешких компликација, укључујући и животно угрожавајуће и смртни исход. Уколико је удружена са немогућношћу вентилације на маску и другим начинима вентилације, то може водити немогућности оксигенације болесника (*CICO, cannot intubate, cannot oxygenate*), која је једна од најдраматичнијих ситуација у раду анестезиолога [1]. Према различитим извештајима, учесталост *CICO* ситуације креће се од веома велике (1:1.000) до веома мале (1:100.000), али је та инциденца најчешће 1–2 : 10.000 општих анестезија [2, 3]. То, практично, значи да се сваки анестезиолог, у току своје радне каријере, може бар једном сусрести са овим проблемом.

Поред урођених аномалија, које могу бити узрок проблематичног дисајног пута, бројна стечена обољења и стања могу довести до тога. *Fleisher* у петом издању *Miller*-ове “Анестезије” наводи ендокрине поремећаје као водеће разлоге отежане интубације трахеје међу стеченим обољењима [4]. Бројни радови су показали да готово сви ендокрини и метаболички поремећаји, могу довести до отежане интубације [1]. Учесталост отежане вентилације на маску и отежане интубације је различита и зависи од тежине ендокриног поремећаја, придружених поремећаја и обољења, врсте и хитности операције, искуства анестезиолога, техничке опремљености установе и низа других фактора [1, 2, 3].

Међу ендокриним поремећајима, као разлозима отежане интубације трахеје, свакако водеће место заузимају обољења

штитасте жлезде [5]. Међутим, до отежане интубације могу довести и поремећаји функције хипофизе, параштитастих и надбубрежних жлезда. Такође и болесници са дијабетесом мелитусом могу имати овај проблем.

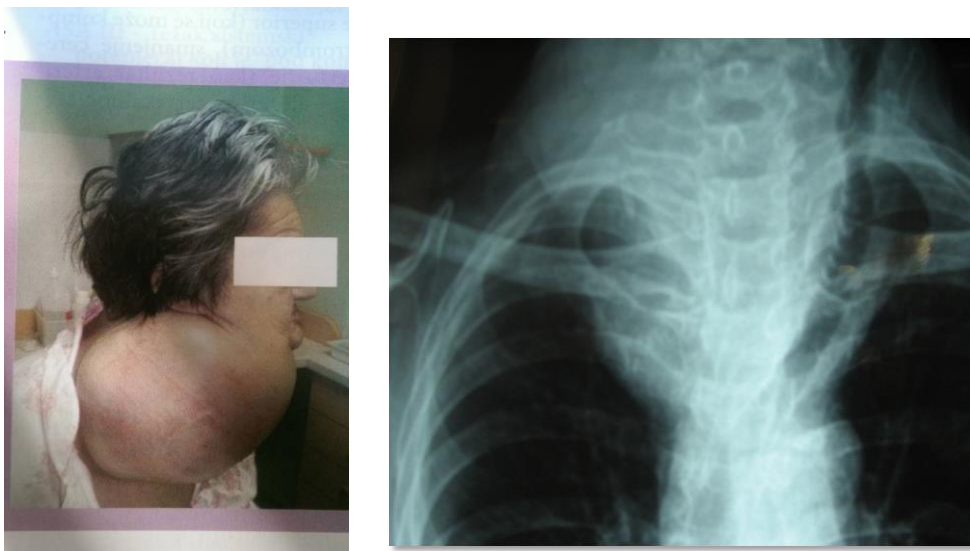
Иако су креирани многи скрининг тестови за евалуацију и процену дисајног пута, као и алгоритми за решавање (очекиване и неочекиване) отежане интубације [6–11], учесталост отежане интубације и њених компликације је и даље велика. Поседовање информације шта је код одређеног болесника био (конкретан) проблем приликом претходне (тешке) интубације, може спасити живот том болеснику. У том смислу, многе развијене земље имају националне базе података које омогућавају препознавање тих болесника, као и узроке претходне тешке интубације, приликом сваке њихове наредне хоспитализације. То свакако побољшава безбедност и исход лечења болесника који имају повишен ризик од отежане интубације и вентилације.

Обољења тиреоидеје као узрок отежане трахеалне интубације

Обољења тиреоидеје имају водеће место међу ендокриним и метаболичким поремећајима као узрок проблематичног дисајног пута [5]. Искуства Центра за ендокрину хирургију Клиничког центра Србије [12, 13], као и искуства других аутора [14–16] показују да се учесталост отежане интубације трахеје код болесника са тиреомегалијом креће од 5,5% до 17,5% па је далеко чешћа него код болесника без анатомских аномалија, код којих је инциденца око 1% [17, 18].

Имајући у виду ову чињеницу, потребна је пажљива преоперативна евалуација болесника са обољењима тиреоидеје од стране свих чланова тима који учествују у хируршком лечењу ових болесника и анестезиолошка процена дисајног пута, како би се избегли нежељени исходи, као што су немогућа интубација, *CICO* или појава различитих компликација [19–22]. У том смислу, у Центру за ендокрину хирургију Клиничког центра Србије изводи се скрининг, састављен од 14 тестова/прегледа (7 квантитативних и 7 квалитативних), који се бодују са 0 (нема ризика), 1 (умерен ризик) и 2 (висок ризик) (Табела 1). Скор већи од 5 указује на могућност

отежане интубације. У обавезан скрининг спада и радиографија грудног коша и врата, ради визуелизације и квантификације евентуалне дислокације и/или стенозе трахеје и/или ларинкса (Слика 1), мада има аутора који оспоравају рутинску радиографску дијагностику у склопу процене ризика за отежану интубацију код тиреомегалије. [23].



Слика 1. Тиреомегалија и дислокација трахеје услед тиреомегалије

Табела 1. Скрининг скала за предвиђање отежане интубације

Квантитативни тестови	Квалитативни тестови /фактори ризика
<i>BMI</i> 20–25 kg/m^2 = 0; 25–30 kg/m^2 = 1; >30 kg/m^2 = 2	Позитивна анамнеза (претходне отежане интубације)
Ограничена покретљивост (екстензија) врата (>90°=0; 80–90°=1; <80°=2)	Дислокација/стеноза трахеје/ларинкса (Rtg грудног коша и врата)
<i>IG</i> ж/м >5/>4 cm=0; 4–4,5/3,5–4 cm=1; <3,5 cm=2	Оториноларинголошки преглед
<i>TMD</i> >6,5 cm = 0; 6–6,5 cm = 1; <6 cm = 2	Анатомски деформитети
<i>SubLux</i> >0 cm = 0; 0 = 1; < 0 cm = 2)	Рецесивна мандибула
Малампатијев тест I и II = 0; III = 1; IV = 2	Изглед зуба
Обим и дужина врата кратак или широк = 1; кратак и широк = 2	Аномалије уста

Легенда: *BMI* (body mass index) – индекс телесне масе; *IG* (interincisor gap) – размак између доњих и горњих секутића; *TMD* (thyromental distance) – размак између тироидне хрскавице (или Адамове јабучице) до врха браде; *Rtg* – радиографија; *SubLux* (сублуксација) – протрузија мандибуле преко максиле, тј. доњих зуба преко горњих; *Mallampati*-ев тест – тест који се изводи са максимално отвореним устима и максималном протрузијом језику којом приликом се посматра видљивост непчаних лукова, хипофаринкса, меког непца и увуле и градира у 4 класе/степенa : I класа-виде се све наведене структуре, II – не виде се непчани лукови, III- види се само меко непце и база увуле, IV – не види се ништа); “Рецесивна мандибула” се односи на увученост мандибуле- што је израженија, већа је могућност отежане интубације

Обољења паратиреоидеје као узрок отежаног дисајног пута

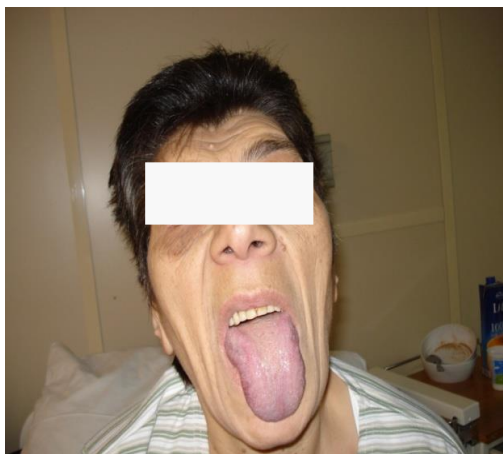
Међу обољењима паратиреоидеје која могу бити разлог тешког дисајног пута, водеће место заузима хиперпаратиреоидизам, и то првенствено секундарни, али и примарни, мада у нешто мањој мери [24–26]. Ово је разумљиво када се има у виду да хиперпаратиреоидизам доводи до остеопорозе, повећане склоности ка патолошким фрактурама, а може довести и до других, тежих компликација на коштаном-зглобном и мишићном систему (и на свим другим органским системима, али је то од мањег значаја са аспекта обезбеђивања дисајног пута и дисања). Због тога је и код ових болесника неопходна пажљива преоперативна евалуација и процена дисајног пута [27, 28]. Из овога прозилази да позиционирање болесника на операционом столу мора бити веома пажљиво и опрезно, како не би дошло до патолошких фрактура. Ово се нарочито односи на постављање главе и врата болесника у положај који омогућује олакшану ларингоскопију и интубацију (максимална екстензија). То је често немогуће постићи због опасности од фрактуре цервикалних пршљенова, па се интубација изводи у веома благој екстензији или у неутралном положају. Ови, неконформни интубациони услови, поред коштаном-зглобних деформитета, додатно доприносе повећању инциденце отежане интубације код болесника са хиперпаратиреоидизмом [24–26, 29, 30]. Посебан проблем представљају болесници са секундарним хиперпаратиреоидизмом, а најчешће су то болесници са терминалном бубрежном инсуфицијенцијом, са свим карактеристикама и последицама тог обољења, укључујући и мултипле, тешке деформитете коштаном-зглобног система, који додатно отежавају успостављање дисајног пута и обезбеђивање вентилације плућа (Слика 2) [31–33].



Слика 2. Деформитети коштано-зглобног система код болесника са секундарним хиперпаратиреоидизмом

Обољења хипофизе и/или надбубрега као разлог отежаног обезбеђивања дисајног пута

Акромегалија, као један од знакова поремећаја функције хипофизе, свакако заузима водеће место међу свим обољењима хипофизе која отежавају обезбеђивање дисајног пута (Слика 3) [34–36]. Преоперативна процена дисајног пута болесника са акромегалијом доприноси њиховој безбедности у анестезији и смањењу броја компликација повезаних са отежаном интубацијом трахеје [37, 38]. Имајући у виду да осим болесника са акромегалијом и сви други болесници који се подвргавају оперативном лечењу хипофизе, могу имати проблем са интубацијом трахеје, укључујући и оне са хипогонадизмом [39], неопходно је да сви болесници са болестима хипофизе буду подвргнути пажљивом скринингу, а нарочито они који се подвргавају хитним хируршким интервенцијама [40, 41].



Слика 3. Акромегалија – смањен простор за ларингоскопију

Cushing-ов синдром, било да је настао због примарног поремећаја функције хипофизе или надбубрежне жлезде, или је настао секундарно, најчешће због терапије глукокортикоидима, представља добро познати узрок проблематичног дисајног пута [42]. Типични знаци ове болести, као што су гојазност, кратак и широк врат, остеопороза (Слика 4), сами по себи указују на могућност отежане интубације, па се пажљива преоперативна евалуација дисајног пута ових болесника подразумева, иако се отежана интубација трахеје не јавља тако често као код других ендокриних поремећаја [43–45].

Када су у питању друга обољења надбубрежне жлезде, која нису повезана са хиперкортицизмом, учесталост тешке интубације трахеје је далеко мања и не разликује се од других болесника који немају анатомске аномалије и ендокрини/метаболички коморбидитет [43, 44–49].



Слика 4. Болесница са *Cushing*-овим синдромом на операционом столу при уводу у анестезију

Дијабетес мелитус као узрок отежаног дисајног пута

Дијабетес мелитус је најчешћи ендокрини/метаболички поремећај, са инциденцом од око 8% и тенденцијом даљег пораста. Код хируршких болесника учесталост дијабетеса мелитуса, као коморбидитета, је далеко већа и креће се од 15–20%, а у неким гранама хирургије, као што је васкуларна, чак и до 50% [50]. Проблематичан дисајни пут карактеристичан је за болесника са дијабетесом код којих су развијене хроничне компликације дијабетеса, али се може јавити и код свих болесника са дијабетесом, укључујући и дечји узраст [51]. Од хроничних компликација дијабетеса, највећи значај за могућност проблематичног дисајног пута има окоштавање зглобова ("*stiff joint syndrome*"), које се углавном односи на мале зглобове, али и на атланто-окипитални зглоб.

Имајући у виду да се код болесника са дијабетесом може јавити гастропареза, тј. успорено и одложено гастрично пражњење, ова чињеница, удружена са могућношћу отежане интубације, може резултирати аспирацијом гастричног садржаја приликом интубације трахеје, са свим последицама које касније могу произаћи из тога [52]. Наравно, ризик се увећава, ако су у питању хитна стања [53]. Стандардна примена *Sellick*-овог маневра (притиска на крикоидну хрскавицу), иако већ дуго година прилично оспоравана метода заштите дисајног пута од аспирације, и даље се препоручује у свим водичима за брзу индукцију у анестезију (*RSI, rapid sequence induction*) [54]. Осим искуства и спретности анестезиолога, фиброоптичка интубација остаје суверена метода повећања безбедности болесника у анестезији, не само са дијабетесом и анкилозом темпоро-мандибуларног зглоба, већ и у свим другим случајевима очекиване и неочекиване отежане интубације трахеје [55].

Закључак

У циљу превенције и лечења компликација које могу бити повезане са отежаном и немогућом интубацијом, потребна је пажљива преоперативна евалуација дисајног пута болесника са ендокриним и метаболичким поремећајима и процена ризика од нежељених догађаја. Такође, неопходно је етаблирати националну базу података о болесницима високог ризика, како би ови подаци били доступни свим анестезиолозима. Истовремено, и сам болесник који је имао проблематичан дисајни пут, требало би да буде обавештен о томе на прикладан начин и да поседује документ који би помогао лакшем решавању овог виталног проблема, приликом следеће, нарочито хитне, операције/анестезије.

Литература

1. Kalezić N, Sabljak V, Tošković A, Ivošević T, Cvetković A, Simić D, i sar. Disajni put. U: Kalezić N: Inicijalni tretman urgentnih stanja u medicini, drugo izdanje. Beograd: Medicinski fakultet; 2016. p. 21–134.
2. Kheterpal S, Han R, Tremper KK, Shanks A, Tait AR, O'Reilly M, et al. Incidence and predictors of difficult and impossible mask ventilation. *Anesthesiology* 2013;105:885–91.
3. Shah PN, Sundaram V. Incidence and predictors of difficult mask ventilation and intubation. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 2012;28(4):451–5.
4. Fleisher LA. Risk of Anesthesia. In: Miller RD, editor. *Anesthesia*. 7th Edition. London; Churchill Livingstone: 2013. p. 821–22
5. Kalezić N, Palibrk I, Nešković V, Grković S, Subotić D, Ugrinović Đ. Otežana intubacija kod bolesnika sa tireomegalijom. U: Kalezić N, urednika. *Anestezioološki aspekti endokrinih i metaboličkih poremećaja (štitasta žlezda, paraštitaste i nadbubrežne žlezde)*. Beograd: Medicinski fakultet; 2009. p. 125–50
6. Combes X, Jabre P, Margenet A, Merle JC, Leroux B, Dru M, et al. Unanticipated difficult airway management in the prehospital emergency setting: prospective validation of an algorithm. *Anesthesiology* 2011;114(1):105–10.
7. De Jong A, Molinari N, Terzi N, Mongardon N, Arnal JM, Guitton C, et al. Early identification of patients at risk for difficult intubation in the intensive care unit: development and validation of the MACOCHA score in a multicenter cohort study. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;187(8):832–9.
8. Seo SH, Lee JG, Yu SB, Kim DS, Ryu SJ, Kim KH. Predictors of difficult intubation defined by the intubation difficulty scale (IDS): predictive value of 7 airway assessment factors. *Korean J Anesthesiol* 2012;63(6):491–7.
9. Mahmoodpour A, Soleimanpour H, Nia KS, Panahi JR, Afhami M, Golzari SE, et al. Sensitivity of Palm Print, Modified Mallampati Score and 3-3-2 Rule in Prediction of Difficult Intubation. *Int J Prev Med* 2013;4(9):1063–9.
10. Martin LD, Mhyre JM, Shanks AM, Tremper KK, Kheterpal S. 3,423 emergency tracheal intubations at a university hospital: airway outcomes and complications. *Anesthesiology* 2011;114(1):42–8.
11. Kalezić N, Sabljak V, Stevanović K, Milčić B, MArković D, Tošković A, et al. Predictors of difficult airway management in thyroid surgery: a five-year observational single-centre prospective study. *Acta Clin Croat* 2016;55:9–18.
12. Kalezić N, Milosavljević R, Paunović I, Zivaljević V, Diklić A, Matić D, et al. The incidence of difficult intubation in 2000 patients undergoing thyroid surgery: single center experience. *Vojnosanit Pregl* 2009;66(5):377–82.
13. Amathieu R, Smail N, Catineau J, Poloujadoff MP, Samii K, Adnet F. Difficult intubation in thyroid surgery: myth or reality?. *Anesth Analg* 2006;103(4):965–8.
14. Agarwal A, Agarwal S, Tewari P, Gupta S, Chand G, Mishra A, et al. Clinicopathological profile, airway management, and outcome in huge multinodular goiters: an institutional experience from an endemic goiter region. *World J Surg* 2012;36(4):755–60.
15. Shaha A, Ferlito A, Owen RP, Silver CE, Rodrigo JP, Haigentz M Jr, et al. Airway management in anaplastic thyroid carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2013;118(7):1195–8.

16. Shen WT, Kebebew E, Duh QY, Clark OH. Predictors of airway complications after thyroidectomy for substernal goiter. *Arch Surg* 2004;139(6):656–60.
17. Wakeling HG, Ody A, Ball A. Large goitre causing difficult intubation and failure to intubate using the intubating laryngeal mask airway: lessons for next time. *Br J Anaesth* 1998;81(6):979–81.
18. Niels JF, Benumof JL. The difficult airway in head and neck tumor surgery. *Anesthesiology Clinics of North America* 1993;11:475–75.
19. Carty SE, Doherty GM, Inabnet III WB, Pasiaka JL, Randolph GW, Shaha AR, et al. For the Surgical Affairs Committee of the American Thyroid Association. American Thyroid Association statement on the essential elements of interdisciplinary communication of perioperative information for patients undergoing thyroid cancer surgery. *Thyroid* 2012;22(4):395–9.
20. Sabljak V, Kalezić N, Ivanović B, Živaljević V, Diklić A, Paunović I. Modern concepts of preoperative preparation of patients with thyroid gland disease. *Acta Chir Jugoslav* 2011;58:103–8.
21. Russell S. Managing the Airway in Thyroid Surgery. In: *Tips and Tricks in Endocrine Surgery*. London: Springer; 2014. p. 195–8.
22. Rosato L, Avenia N, Bernante P, De Palma M, Gulino G, Nasi PG, et al. Complications of thyroid surgery: analysis of a multicentric study on 14,934 patients operated on in Italy over 5 years. *World J Surg* 2004;28(3):271–6.
23. Hong BW, Mazeh H, Chen H, Sippel RS. Routine chest X-ray prior to thyroid surgery: is it always necessary? *World J Surg* 2012;36(11):2584–9.
24. Bajwa SJS, Sehgal V. Anesthetic management of primary hyperparathyroidism: A role rarely noticed and appreciated so far. *Indian J Endocrinol Metab* 2013;17(2):235–9.
25. Kiverniti E, Kazi R, Rhys-Evans P, Nippah R. Airway obstruction due to giant non-parathyroid hormone-producing parathyroid adenoma. *J Can Res Ther* 2008;4:197–9.
26. Schroeder KM, Joffe AJ, Andrei AC, Thomas KD, Arndt GA. Hyperparathyroidism, hypercalcemia and difficult laryngoscopy: a retrospective review. *Middle East Journal of Anesthesiology* 2012;21(5):665–71.
27. Živaljević V, Kalezić N, Sabljak V, Diklić A, Jovanović D, Paunović I. Preoperative preparation of patients with hyperparathyroidism as comorbidity, *Acta Chir Jugoslav* 2011;58:109–15.
28. Sabljak V, Veličković J, Gvozdenović Lj, Joksimović S, Pajtić V, Marković D, Kalezić N. Anestezija za operacije paratireoidnih žlezda zbog primarnog hiperparatireoidizma. *Medicina danas* 2010;9(4-6):188–193.
15. Gvozdenović Lj, Kalezić N, Malenković V, Palibrk I. Specifičnosti anestezije kod bolesnika sa primarnim hiperparatireoidizmom. U: Kalezić N, urednika. *Anestezioški aspekti endokrinih i metaboličkih poremećaja (štitasta žlezda, paraštitaste i nadbubrežne žlezde)*. Beograd: Medicinski fakultet; 2009. p. 243–8.
16. Malenković V, Kalezić N, Živaljević V, Sabljak V, Marković D, Paunović I. Hiperparatireoidizam i anestezija. *Anestezija i intenzivna terapija*, 2011;33(1-2):37–42.
29. Kalezić N, Gvozdenović Lj, Milošević Z, Živaljević V, Diklić A, Paunović I. Preoperativna evaluacija bolesnika sa sekundarnim hiperparatireoidizmom. *Medicina danas (Novi Sad)* 2008;4-6:161–8.

17. Kalezić N, Jovanović D, Živaljević V, Gvozdrenović Lj, Malenković V, Vučović D. Preoperativna evaluacija bolesnika sa sekundarnim hiperparatireoidizmom i bubrežnom insuficijencijom, U: Kalezić N, urednika. Anesteziološki aspekti endokrinih i metaboličkih poremećaja (štitasta žlezda, paraštitaste i nadbubrežne žlezde). Beograd: Medicinski fakultet; 2009. p. 249–66.
30. Kalezić N. Anestezija kod bolesnika sa sekundarnim hiperparatireoidizmom u endokrinom hirurgiji (za paratireoidektomije) i u neendokrinom hirurgiji (za elektivne i hitne operacije). U: Kalezić N, urednika. Anesteziološki aspekti endokrinih i metaboličkih poremećaja (štitasta žlezda, paraštitaste i nadbubrežne žlezde). Beograd: Medicinski fakultet; 2009; p. 267–76.
34. Schmitt H, Buchfelder M, Radespiel-Tröger M, Fahlbusch R. Difficult intubation in acromegalic patients: incidence and predictability. *Anesthesiology* 2000;93(1):110–4.
35. Lim M, Williams D, Maartens N. Anaesthesia for pituitary surgery. *J Clin Neurosci* 2006;13.4: 413–18.
36. Malhotra SK, Sharma K, Saini V. Pituitary Surgery and Anesthetic Management: An Update. *WJOES* 2013;5(1):1–5.
37. Bindra A, Prabhakar H, Bithal PK, Singh GP, Chowdhury T. Predicting difficult laryngoscopy in acromegalic patients undergoing surgery for excision of pituitary tumors: A comparison of extended Mallampati score with modified Mallampati classification. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 2013;29(2):187–90.
38. Seidman PA, Kofke WA, Policare R, Young M. Anaesthetic complications of acromegaly. *Br J Anaesth* 2000;84(2):179–82.
39. Yaman F, Arslan B, Yuvaç E, Büyükoçak Ü. Unexpected difficult airway with hypogonadotropic hypogonadism. *Int Med Case Rep J* 2014;7:75–7.
40. Malenković V, Gvozdrenović Lj, Milaković B, Sabljak V, Palibrk I, Živaljević V. Preparation of patients with pituitary gland disorders. *Acta Chir Iugoslav* 2011;58:93–6.
41. Kalezić N, Malenković V, Jovanović D, Milaković B, Šumarac-Dumanović M. Akutni poremećaji funkcije hormona hipofize. U: Kalezić N. Inicijalni tretman urgentnih stanja u medicine. Beograd: Medicinski fakultet; 2016; p. 661–75.
42. Kalezić N, Palibrk I, Dimitrijević I, Paunović I, Malenković V, Živaljević V. Preoperativna evaluacija bolesnika sa Kušingovim sindromom u endokrinom hirurgiji (za adrenalektomije) i neendokrinom hirurgiji (za elektivne i hitne operacije). U: Kalezić N, urednika. Anesteziološki aspekti endokrinih i metaboličkih poremećaja (štitasta žlezda, paraštitaste i nadbubrežne žlezde). Beograd: Medicinski fakultet; 2009; p. 367–78.
43. Kalezić N, Malenković V, Živaljević V, Sabljak V, Diklić A, Paunović I. Contemporary approach to preoperative preparation of patients with adrenal cortex hormones dysfunction. *Acta Chir Iugoslav* 2011;58:117–22.
44. Khan ZH, Gharabaghian M, Nilli F, Ghiamat M, Mohammadi M. Easy endotracheal intubation of a patient suffering from both Cushing's and Nelson's syndromes predicted by the upper lip bite test despite a Mallampati Class 4 airway. *Anesthesia & Analgesia* 2007;105(3):786–7.
45. Domi R, Sula H. Cushing syndrome and the anesthesiologist, two case reports. *Indian J Endocrinol Metab* 2011;15(3):209–13.

46. Malenković V, Kalezić N. Anestezija kod bolesnika sa Konovim sindromom u endokrinnoj hirurgiji (za adrenalektomije) i u neendokrinnoj hirurgiji (za elektivne i hitne operacije), U: Kalezić N, urednika. Anesteziološki aspekti endokrinih i metaboličkih poremećaja (štitasta žlezda, paraštitaste i nadbubrežne žlezde). Beograd: Medicinski fakultet; 2009. p. 399–407.
47. Kalezić N. Anestezija za operacije feohromocitoma. U: Kalezić N, urednika. Anesteziološki aspekti endokrinih i metaboličkih poremećaja (štitasta žlezda, paraštitaste i nadbubrežne žlezde). Beograd: Medicinski fakultet; 2009. p. 491–510.
48. Kalezić N, Lakićević M, Miličić B, Stojanović M, Sabljak V, Marković D. Hyomental Distance in the Different Head Positions and Hyomental Distance Ratio in Predicting Difficult Intubation. *Bosn J Basic Med Sci* 2016; doi: 10.17305/bjbms.2016.1217.
49. Hua M, Brady SJ, Li G. The epidemiology of upper airway injury in patients undergoing major surgical procedures. *Anesth Analg* 2012;114(1):148–51.
50. Bajwa SJS, Kalra S. Diabeto-anaesthesia: A subspecialty needing endocrine introspection. *Indian J Anaesth* 2012;56(6):513–7.
51. Stevanović V, Milosavljević N, Stevanović D, Vasiljević S, Mandraš A, Kalezić N. Preoperativna priprema dece sa dijabetesom melitusom. *SJAIT* 2012;34(3–4):219–26
52. Kalezić N, Veličković J, Janković R, Sabljak V, Živaljević V, Vučetić Č. Preoperative preparation of patients with diabetes mellitus. *Acta Chir Iugoslav* 2011;58:97–102
53. Kalezić N. Emergences related to diabetes mellitus: differential diagnosis and treatment. Fifth spring scientific symposium in anesthesiology and intensive care, Proceeding Scientific Symposium, Niš. 2013; p-153–7.
54. Bhatia N, Bhagat H, Sen I. Cricoid pressure: Where do we stand? *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 2014;30(1):3–6.
55. Mishra, M, Bhavsar M M, Patel C, Parikh H, Upadhyaya R, Parmar MH. A comparative study of intubating condition and hemodynamic changes during blind nasal intubation versus fibre optic intubation in cases of temporomandibular joint ankylosis. *International Journal of Biomedical and Advance Research* 2014;5(1):01–04.

EVALUATION AND MANAGEMENT OF DIFFICULT AIRWAY IN PATIENTS WITH ENDOCRINE AND METABOLIC DISORDERS - CURRENT CONCEPTS

Nevena Kalezić

*Faculty of Medicine, University of Belgrade
Center for Anesthesiology and Reanimation of the Clinical Center Serbia, Belgrade
Center for Endocrine Surgery CCS, Belgrade*

Endocrine and metabolic disorders are well known acquired causes of difficult airway. In patients with endocrine disturbances the incidence of difficult and impossible intubation is higher, not only in endocrine surgery, but in other surgical branches as well. Patients with thyroid gland diseases, which caused thyromegaly and consecutive dislocation of trachea and/or larynx, represent the biggest concern. Pituitary tumors or diseases which lead to the abnormal secretion of pituitary hormones may also be the causes of difficult intubation, in cases of acromegaly, gigantism or Cushing's syndrome. Hyperparathyroidism can contribute to the occurrence of difficult tracheal intubation due to marked osteoporosis in these patients and sometimes significant disorders of musculoskeletal system, which limit the proper positioning of the patient on the operating table and limit the extension of the head and neck during laryngoscopy. In patients with diabetes mellitus, especially if it is not properly controlled or in the presence of chronic complications of the disease, tracheal intubation can be risky and difficult: on one hand due to the stiff joint syndrome and on the other hand due to gastroparesis, which is associated with an increased risk of aspiration of the gastric content.

Careful evaluation of the airway and assessment of the risk of difficult intubation and its complications is necessary in patients with endocrine and metabolic disorders, in order to prevent and timely manage potential complications.

Keywords: difficult airway, endocrine disturbances, metabolic disturbances, airway assessment

Проф. др Невена Калезић
Центар за анестезиологију и реаниматологију
Клинички центар Србије
Вишеградска 26
11000 Београд
nevenakalezic@gmail.com

ЗНАЧАЈ ПУРИНА И МОКРАЋНЕ КИСЕЛИНЕ КАО ПОТЕНЦИЈАЛНИХ МЕДИЈАТОРА ОБОЉЕЊА - ЕФЕКТИ ДЕПУРИНИЗОВАНОГ МЛЕКА

Гордана Коцић

Медицински факултет, Универзитет у Нишу

Сажетак

Добро је познато да перзистентна хиперурикемија може изазвати гихт и уратну бубрежну калкулозу. Као стечени потремећај, хиперурикемија може бити последица повећане разградње пурина, као што је случај у кардиоваскуларним обољењима, хипертензији, обољењима бубрега, еклампсији, гојазности, метаболичком синдрому, псоријази, синдрому лизе туморских ћелија, или у току интензивног физичког тренинга. Повећан ефекат млечних производа на превенцију и ток хиперурикемија је документован у литератури. Са изузетком „млека без лактозе“, „млека са смањеним садржајем масти“ нема комерцијално произведених млечних производа код којих је уклоњена нека друга токсична материја. Наше експерименталне студије су показале повећан ефекат млечне исхране употребом „депурилизованог“ (ДП) млека, у поређењу са ефектима који се постижу комерцијалним УНТ млеком, у условима експерименталне хиперурикемије. Ефекат је потврђен на функцију јетре и кардиоваскуларне факторе ризика. Дијета са ДП-млеком је спречила развој експерименталног стрептозотоцин дијабетеса ефектом на оралну толеранцију и функцију тимуса, путем модулације пролиферативног сигналног пута (Akt/pAkt киназа, Erk/pErk киназа, p38/pp38, JNK/pJNK киназа), инфламације (NF-κB p65) и апоптозе (Bcl2, Bax, каспаза-1 и

ендонуклеаза). У закључку, добијени резултати могу помоћи да се добијени ефекти примене на персонализовану исхрану млеком у хуманој популацији.

Кључне речи: хиперурикемија, депуриновано млеко, пролиферација, апоптоза, инфламација

Увод

Нутригеномика, савремена грана молекуларне медицине, после вишедеценијског изучавања генетских и епигенетских механизма развоја обољења установила је да неадекватна исхрана представља доминантан фактор развоја и прогресије низа хроничних обољења. Најчешћи узрок смртности људи су кардиоваскуларне болести настале као последица убрзане атеросклерозе крвних судова и хипертензије, најчешћи разлог поремећаја локомоторног система у старијем добу су дегенеративна обољења зглобова, а највећи ризик за смртност трудница је еклампсија. Побројана обољења прати врло често повећање мокраћне киселине. Жеља да се продужи животни век човека, да се подигне квалитет живота, радне и умне способности, подразумева здравствени тренд превенције хроничних и дегенеративних болести, доношења здравог потомства са смањеним ризиком за труднице и тенденције што дужег одржања интелектуалних функција. Хиперурикемија праћена прекомерним таложењем соли мокраћне киселине урата у ситним зглобовима, некада је називана болешћу краљева, што значи да је и тада изобилје хране, поготову мяса и пића, упућивало да исхрана представља главни разлог развоја. Поремећај метаболизма пурина и хиперурикемија све више представљају проблеме савременог начина живота, посебно одређених навика у исхрани, које су са еволуционог аспекта прекратке да би човек могао да изгради механизме заштите и адаптације [1]. Промена навика у исхрани са напретком цивилизације, у квалитативном смислу нарочито је праћена прекомерном употребом мяса, алкохола, газираних напитака, као и природних и вештачких производа богатих фруктозом (воћни сокови). У квантитативном смислу, присутан је повећан количински унос хране, што води ка гојазности. Све то је значајно повећало учесталост хиперурикемије. Повећани унос мяса

доводи до пораста нивоа мокраћне киселине и гихта за више од 20% [2].

Поред прекомерне употребе пурина у исхрани, хиперурикемија је последица и генетске предиспозиције. Тако се издвајају два ентитета у стањима повећане концентрације мокраћне киселине у серуму и то примарна и секундарна хиперурикемија, које могу бити и удружене. Примарна хиперурикемија доводи до гихта, тј. уратне литијазе, а среће се и у урођеним поремећајима метаболизма пурина. Секундарна хиперурикемија може настати из више разлога, као последица ћелијске енергетске кризе тј. енормног катаболизма макроенергетског једињења АТП, повећане некрозе и лизе ћелија или поремећаја у бубрежној (тубуларној) елиминацији мокраћне киселине. Секундарна хиперурикемија заузима значајно место као удружени маркер у развоју кардиоваскуларних обољења, инфаркта миокарда, ангине пекторис, исхемијске кардиомиопатије, конгестивне срчане инсуфицијенције, еклампсије, есенцијалне хипертеније, метаболичког синдрома и дијабетеса. Као последица повећане разградње ћелија хиперурикемија је последично присутна код синдрома туморске лизе, леукемија и псоријазе. Као последица повећане разградње макроенергетског једињења АТП и отежане елиминације мокраћне киселине, услед конкурентског деловања млечне киселине, јавља се у току интензивног физичког напора код спортиста. У сету дијагностичких метода у испитивањима побројених обољења и стања, ниво мокраћне киселине се неретко разматрао више као удружено обољење зглобова, а не као последични метаболички фактор развоја и/или прогресије горе наведених обољења.

Мокраћна киселина и кардиоваскуларне манифестације

Највећи број студија и мета анализа потврђује улогу мокраћне киселине као независног отежавајућег фактора ризика за настанак и прогресију кардиоваскуларних обољења [3]. Ипак ефекти мокраћне киселине на кардиоваскуларни систем могу бити високо корелативни, о чему документују различити подаци мултиваријантних анализа и резултати мултицентричних студија спроведених на више хиљада пацијената: The National Health and

Nutrition Examination Survey I (NHANES I) студија пратила је преко 5000 пацијената и показала да је хиперурикемија изоловани фактор ризика за кардиоваскуларне болести нарочито код жена и потврдила концентрацију мокраћне киселине као независни фактор ризика за обољења кардиоваскуларног система [4, 5]; Wannamethee и сарадници су на близу 8000 мушкараца показали да постоји повезаност нивоа мокраћне киселине и кардиоваскуларних догађаја, али само код оних пацијената који су претходно имали инфаркт миокарда [6]; са друге стране, Framingham Heart Study је показала на скоро 7000 пацијената старости 47 година да нема корелације између нивоа мокраћне киселине и ризика од кардиоваскуларних болести [7, 8]; CARDIA студија је показала на нешто више од 4000 мушкараца да је хиперурикемија удружени фактор ризика са дислипидемијом [9]. Кристали мокраћне киселине документовани су у атеросклеротичним плаковима заједно са накупинама холестерола [10].

Механизми утицаја мокраћне киселине на развој ендотелне дисфункције и следствених кардиоваскуларних обољења показују да мокраћна киселина може посредовати развоју ендотелне дисфункције на више начина. Међу најбоље документованим спада инфламаторни ефекат, који се остварује кроз више механизма и то повећањем експресије ендотелина, кроз активацију антиген-презентујућих ћелија, синтезу Ц-реактивног протеина, синтезу моноцитног хемоатрактанта (monocyte chemoattractant protein-1), IL-1 β , као и повећану активност CD8+T ћелија. Показано је да перзистентна хиперурикемија смањује регенеративни потенцијал ткива миокарда смањеном мобилизацијом прогениторских ћелија из циркулације [11–13]. Будући да мокраћна киселина настаје симултаном реакцијом ослобађања и слободних радикала у каталитичком деловању ксантин оксидазе, неизбежно са ослобађањем мокраћне киселине долази до продукције слободних радикала, који додатно оштећују ткива [14–16]. Када је у питању хипертензивни ефекат мокраћне киселине, он се огледа кроз активацију ангиотензина II и инхибицију азот оксид синтазе (NOS1). Ангиотензин II испољава ефекте активацијом секреције алдостерона, као и директним вазоконстрикторним ефектом. Чак и подаци о директном антиоксидативном ефекту мокраћне киселине су контраверзни, јер су експериментални подаци показали да се

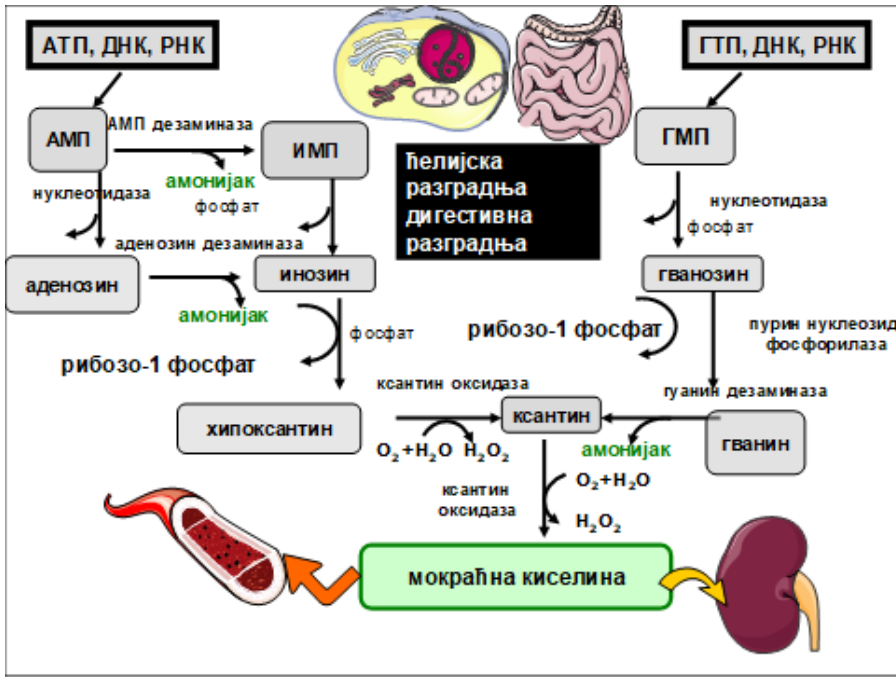
различно понаша од присутног прооксидативног или антиоксидативног окружења. Мокраћна киселина повећава и агрегацију тромбоцита [12, 17, 18].

Метаболизам пурина у ћелији

Главне пуринске базе су аденин и гуанин, а налазе се у макроенергетским једињењима, као што је АТФ и ГТФ, у нуклеонским киселинама (РНК и ДНК), али и у низу активних форми органских једињења и коензима, који за своју метаболичку функцију морају имати макроенергетску форму, коју постижу везивањем за нуклеотиде (АТФ и ГТФ). Уколико су пурины унети храном, разлажу се до мокраћне киселине преко својих интермедијера, инозина, хипоксантина и ксантина до мокраћне киселине углавном у целости у дигестивном тракту. У ћелијама процес катаболизма пурина тече каскадно, такође до мокраћне киселине, што је приказано на шеми 1.

Еволуциона генетика покушава да одговори на питање због чега је човек, као члан велике фамилије примата, једини стекао есклузивну мутацију гена за уриказу, па се катаболизам пурина задржава на нивоу мокраћне киселине. Реч је о ензиму који разлаже мокраћну киселину до алантоина, који се излучује као терминални продукт катаболизма пурина код осталих сисара. Теорија улоге мокраћне киселине као потенцијалног фактора одржавања усправног става и усправног хода у еволуцији примата, бацила је светло на хипертензивна својства мораћне киселине. Наиме, да би се превазишла ортостатска хипотензија условљена усправљањем примата на две ноге, неопходно је било повећати крвни притисак.

Каснија истраживања документовала су прецизне механизме деловања мокраћне киселине [19–22].



Шема 1. Разградња пурина код човека

Метаболизам пурина и млечна исхрана

Упоредо са проучавањем последица хиперурикемије настала је тежња да се вишак мокраћне киселине избегне или ефикасније елиминише, односно да се смањи егзогени унос. Намирнице су декларисане у односу на садржај пурина као врло богате, умерено богате и сиромашне пуринама. Поред тога, неке материје из хране, као што је витамин Ц могу показивати и урикозурична својства [1].

Исхрана млеком и млечним производима показала се веома корисном код пацијената са гихтом. Али, млеко и млечни производи садрже мокраћну киселину у највећем проценту у односу на друге пуринске базе, иако као тзв. „ацелуларни медијум“ млеко не садржи ћелијске нуклеинске киселине, већ рибонуклеотиде. Разлог релативно високог садржаја мокраћне киселине треба тражити у специфичном начину прераде сировог

млека, који подразумева хомогенизацију, при којој се ослобађа ензим ксантин оксидаза из млечних масних глобула, која разлаже присутни хипоксантин и ксантин. На тај начин се готово целокупна количина рибонуклеотида разгради до неупотребљивог терминалног продукта – мокраћне киселине.

Исхрана млеком, као једном од есенцијалних намирница савременог човека у било ком добу његовог узраста, смањила би ризик од хиперурикемије уколико би млеко било тако процесирано да у себи не садржи мокраћну киселину, њене претходнике пурине, нити ензим који продукује мокраћну киселину. Тржишна потреба за производњом „депурилизованог млека“ је проистекла из жеље да се кроз исхрану млеком и млечним производима готово у потпуности елиминише ризик за хиперурикемију. Ми смо развили технолошки процес, а затим конструисали филтерски систем, који може успешно да елиминише у великом степену, готово 90% свих присутних пуринских деривата, тј. мокраћне киселине из млека, с обзиром да се у технолошком процесу процесирања млека у млекарама, процесом хомогенизације, у готово више од 90% налази мокраћна киселина [23–26]. Анализом на масеној спектрометрији установљено је да је добијено млеко ослобођено и од преко 30 различитих потенцијално токсичних материја, као што су деривати сумпора, ацикличних и цикличних угљоводоника, о чијим токсичним ефектима на ткива је доста тога проучено [27, 28]. Постављање експерименталног дизајна утицаја са једне стране млечне исхране, а са друге метаболизма пурина, захтевало је начин прераде (третмана) млека, у коме би, готово у потпуности била елиминисана мокраћна киселина и пурини [23, 28].

Подаци у литератури који се односе на млечну исхрану показују да је исхрана млеком у постнаталном па и адултном периоду веома значајан епигенетски модулатор ћелијске сигнализације, а што се до сада тумачило најчешће на бази ендокриних ефеката присутних фактора раста (insulin-like growth factor 1, IGF-1) и есенцијалних аминокиселина. Како новији подаци у литератури све више бацају светло на ефекте пурина, било као пуринских база или егзозомалних микро РНК, то се последњих година прати и концентарција не само пуринских нуклеотида, нуклеозида, база, као и мокраћне киселине, већ и малих некодирајућих РНК у млеку. У процесу епигенетског утицаја показано је да неки од ових деривата

могу остварити снажан ефекат на специфичну групу киназа познату као *nutrient-sensitive kinase rapamycin complex (mTORC1)*, који након фосфорилације могу остварити утицај на функционалну активност низа транскрипционих фактора, фрагментацију ДНК посттранскрипциону модификацију РНК, што утиче не само на интермедијарни метаболизам, већ и на специфичну ћелијску и ткивну функцију и имунску регулацију [29–31].

Пурины, млечна исхрана и стање имунског система

Повећана инциденца масовних незаразних обољења код којих је присутна хронична инфламација, као што су аутоимунска, односно обољења и стања као што је гојазност, дијабетес, реуматска обољења деце и одраслих, инфламаторна обољења дигестивног тракта, коже, малигна обољења, нарочито лимфопрлиферативне природе, скреће пажњу на потенцијални значај исхране као једног од најважнијих епигенетских модулатора имунског и метаболичког статуса организма и јединке. Наша претходна истраживања су показала да је код пацијената са дијабетесом повећана концентрација специфичних рибонуклеинских деривата, који као DAMP молекули могу континуирано утицати на активацију имунског одговора и тиме значајно пролонгирати и отежавати обољења [32–34].

Пастеризовано млеко, у зависности од степена садржаја масноћа садржи у веома малој количини РНК, али садржи највише мокраћне киселине. Показано је да пурински нуклеотиди у мајчином млеку током дојења доприносе побољшању имунитета, јер се понашају као имуностимулатори. Али у адултном периоду, присуство пурина али и различитих контаминената значајно утиче на имунореактивност, што може бити фактор иницијације и прогресије хроничних обољења, као што су аутоимунска обољења, атеросклероза и неурокогнитивна обољења [35, 36]. Велика мултицентрична клиничка студија документовала је да је адекватан унос млека смањио ризик од малигну лимфопрлиферативних обољења, тј. леукемија. То је био додатни разлог да се приступи експерименталном истраживању потенцијалних механизма утицаја млечне исхране на имунски систем [37].

Будући да пацови као експерименталне животиње углавном имају вегетаријанску исхрану, са малим примесима казеина као пуновредног протеина, за *in vivo* испитивања су коришћене ове животиње. Показано је да су пацови толерантни на унос лактозе који не прелази 20% дневне млечне исхране. У поређењу са експерименталном угљенохидратном исхраном, исхрана млеком код пацова смањује системску инфламацију што се манифестује падом концентрације инфламаторних цитокина *IL-1 β* и *IL-6*, а у исто време повољно утиче на индекс хепатичне стеатозе [38].

Епител интестинума је прва баријера која штити од ефеката различитих патогена, али и прво место где се потенцијално имуногене материје пореклом из хране препознају и процесирају имунском систему. И као код ефеката вакцина, тако се различитим протоколима континуиране апликације малих, али растућих доза потенцијалних алергена покушава да превазиђе алергија на поједине намирнице, па између осталог и на кравље млеко (*СМРА*), што је познато као *SOTI* ефекат, односно индукција специфичне толеранције (*specific oral tolerance induction*) [39–40].

Један од веома важних имунских органа је тимус, који иако током старења инволуира, ипак значајно утиче на периферни имунски одговор. Уништење тимуса има за последицу губитак хелпер лимфоцита и смањен однос *CD4+*/*CD8+* ћелија [41, 42].

Беза између имунских ефеката различитих непатогених (*damage-associated molecular patterns DAMP*) и патогених (*pathogen-associated molecular patterns PAMP*) молекула остварује се препознавањем одређених деривата, пре свега нуклеотидне природе или липополисахарида помоћу *TLR* рецептора (*Toll-like receptors*) и *IL-1R* рецептора (*interleukin-1 receptor*). Први сигнални молекула који преноси информације са рецептора је протеин познат као *MyD88* (*myeloid differentiation primary response gene 88*), који као специфични амплификатор сигнала у ћелији нисходно активира фамилију протеин киназа, као што је *p38 MAP* киназа, *Akt* киназа и фамилија екстрацелуларним сигнаlima активираних киназа (*ERK*) и *JNK* киназа, али и транскрипционих фактора, од којих је најбоље проучен *NF- κ B*. Ови сигнали остварују даљу потенцијалну реперкусију на транскрипциону активност одређених делова генома у ћелији [43–47]. Како стимулација *TLRs* доводи на нивоу имунских ћелија до синтезе и секреције инфламаторних цитокина,

сматра се да су *TLR* рецептори специфична карика која повезује неспецифични и специфични имунски одговор. Са друге стране, присуство овог рецепторског система и у другим ћелијама, односно ткивима, као што су ентероцити, може бити специфичан сензор, који је у стању да регулише и модулира метаболизам сходно „изазовима“ које пред њега поставља унета храна [48, 49]. Због тога се последњих година веома много изучава као потенцијални циљ у третману метаболичког синдрома, гојазности и типу 2 дијабетеса [47–49].

Не мање важна каскада у ћелији је систем који региструје сигнале програмиране ћелијске смрти – апоптозе, који започиње када специфична фамилија *FAS* рецептора буде везана са *FAS* лигандима и тако активира надаље специфични систем цистеин-аспартат протеаза, познатих као каспазе до коначних егзекутора смрти као што су ендонуклеазе, које врше фрагментацију ДНК и на тај начин онемогућавају да се генетски материјал потенцијално пренеси до других ћелија [50–52]. Уколико је реч о унутрашњем оштећењу ћелије, активира се унутрашњи пут апоптозе, који полази од митохондрија и прерасподеле *Bcl2* и *Bax* протеина, изласка цитохрома *c*, као и стварања араф комплекса. Поред улоге у разградњи протеина у ћелији, каспаза-1 остварује значајну улогу и у активацији имунског одговора, јер као интерлеукин-1 конвертујући ензим (ICE), преводи цитокине *IL-1 β* и *IL-18* у активне форме, чиме практично започиње имунска реакција, па и многе аутоимунске реакције у организму. Сигнал да је ћелија у апоптози је прерасподела фосфолипида на површини мембране, где фосфатидил-холин уступа место фосфатидил-серину, чиме се покреће механизам фагоцитозе оваквих ћелија, такозвани „eat me“ сигнал [53–56].

Експериментални подаци су добијени након низа истраживања на пацовима *Sprague-Dowley* и *Wistar* *coja*, који су храњени 15 дана стандардним пастеризованим млеком са 1,5% млечне масти и депуринизованим млеком, добијеним из претходног комерцијалног пастеризованог млека. Количина млека која је давана животињама избалансирана је у односу на дневни унос протеина стандардне исхране. Као контролна група су служиле животиње које су добијале стандардну храну. У циљу испитивања директног ефекта мокраћне киселине и пурина, изазвана је експериментална

хиперурикемија код животиња, а затим је праћен утицај дијете млеком, депуринованим и комерцијалним. У сврху испитивања потенцијалних механизма учешћа пурина у развоју оралне толеранције и развој обољења, експерименталним групама животиња је изазиван стрептозотоцин дијабетес, при чему је двема групама била претходно уведена дијета комерцијалним, односно депуринованим млеком, па је затим изазиван дијабетес и настављено давање млека, а двема групама је одмах након апликације стрептозотина уведена дијета комерцијалним, односно депуринованим млеком у трајању од седам дана. Контролна група пацова са дијабетесом је за све време перимента добијала стандардну исхрану [57].

MyD88 је централни адапторни протеин, који активацијом *MAPK* киназног пута, односно активацијом *PI3K-Akt* киназног пута може бити укључен у активацију ћелијског метаболизма, изражену кроз стимулацију ћелијског опстанка, пролиферације, диференцијације, али и кроз активацију специфичног имунског одговора, као и клоналне селекције. На нивоу тимусног ткива, *MyD88* је кључни сигнал који детерминише статус тимусног ткива, степен и брзину инволуције. Када је реч о акт фамилији гена на нивоу тимуса је установљено да ова фамилија гена детерминише експресију три типа *Akt* киназа (*Akt-1*, *Akt-2*, *Akt-3*), које су одговорне првенствено за развој тимуса [58, 59]. Ензим *Akt* киназа је свакако централни регулатор ћелијског метаболизма. Као и већина ћелијских регулаторних протеина, може постојати у активној-фосфорилисаној и неактивној нефосфорилисаној форми. Фосфорилације се остварије посредством специфичних ћелијских киназа, које врше фосфорилацију серина у позицији 473 и треонина у позицији 308. О томе колики је значај *Akt* киназа у активацији имунског одговора сведоче експериментални подаци на трансгеним мишевима који су имали континуирано активирану *Akt* киназу, што је резултовало појавом неопластичне трансформације лимфног ткива [60, 61]. Следећи важан медијатор ефеката активације *MyD88* адапторног протеина је транскрипциони фактор *NF-κB*, најјачи медијатор инфламаторног одговора. Познато је да је индукција инфламаторних гена могућа уколико се изврши дисоцијација инхибиторног *IκB* протеина, посредством специфичне *IκB* киназе. Тако настаје једна од најактивнијих субјединица *NF-κB p65*, која

врши индукцију низа инфламаторних цитокина, ако што је *TNF* и *IL-6*. Иако се позитивна селекција врши на нивоу кортекса, ипак се процес матурације и компетенције Т ћелија да пролиферишу и мигрирају дешава у медули. *NF-κB* као транскрипциони фактор неопходан је за опстанак и функционалну матурацију Т лимфоцита. Стога је *NF-κB* конституционално активан у тимоцитима [62, 63]. Имајући ове податке у виду проистекла су даља истраживања која су показала да *NF-κB* заузима значајну улогу у периферним и централним механизмима имуне толеранције, али регулише да се *CD8+T* лимфоцити са меморијским карактеристикама не развијају прекомерно [64, 65]. У нашим истраживањима показано је да се овај систем различито понаша у различитим ткивима, што управо потврђује савремене поставке нутригеномике да персонализована исхрана треба да буде адаптирана специфичном статусу организма, тј. специфичном стању и обољењу. У том смислу ефекти су праћени на нивоу имунског система, јетре и миокарда [57]. Макроскопски, дошло је до значајног смањења тежине тимуса, а очигледно као последица значајно десетковане метаболичке активности, што је изражено кроз пад концентрације *Akt-1* и фосфорилисане *p-Akt-1* киназе. Услед пада концентрације *CD4+* позитивних ћелија дошло је до функционалне инактивације тимуса, једног вида функционалне анергије тимуса, али и костне сржи. Пад броја еритроцитне лозе може бити и услед дефицита гвожђа, с обзиром да је млеко сиромашно гвожђем. Није установљена екстремедуларна хематопоеза, јер је и слезина бележила значајан пад тежине.

На нивоу имунског система, депуриновано млеко је смањило *MyD88/Akt*, *MAPKs p38* и *NF-κB p65* квантитативну експресију, уз смањен *CD4+/CD8+* однос. Ови подаци се можда могу довести у везу са подацима клиничке студије да исхрана млеком може смањити ризик од појаве леукемије [66]. У складу са добијеним подацима очекивало се да би и маркери апоптозе требало да бележе пораст. У том смислу су истраживања била фокусирана на праћење активности ензима ендонуклеаза, тачније алкалне и киселе ДНазе, ензима који учествују у терминалној деградацији ДНК, али и Т ћелијској диференцијацији [67]. Али добијени подаци су показали да је само исхрана депуринованим млеком појачала ендонуклеазну активност у тимусу. То упућује на потенцијалну

претпоставку да у лимфопрлиферативним стањима исхрана, која би надомештала протеине а била лишена пурина, може бити могућа депуринованим млеком. Са друге стране већ је напоменут значај каспазе-1 у активацији имунског одговора, кроз превођење прекурсора *IL-1 β* и *IL-18* у своје активне деривате. Због учешћа каспазе-1 и у стварању стромалног лимфопоетина (*TSLP*), значајног у диференцијацији наивних CD4+ Т ћелија, потенцијално место депуринованог млека могло би да буде и у алергијским стањима код којих се налази повећана концентрација *TSLP* [68]. Увођење растућих доза алергена би могло да супримира развој аутоимунских обољења, кроз смањену секрецију низа проинфламаторних цитокина, као што је *IL- α* , *IL-6*, *IL-9*, *IL-12p70*, *MIP-1 β* , *RANTES* и *Eotaxin*, о чему сведоче експериментални подаци на моделу мултипле склерозе [69]. Надаље је показано да мале дозе орално унетих антигена могу да индукују оралну толеранцију путем индукције латентне форме *TGF- β* (*LAP TGF- β*), на шта негативно делује *IL-6* [70]. О значају *TGF- β* на развој оралне толеранције има опречних резултата, нарочито када се испитује на *TGF- β* генетски дефицијентним мишевима, када ефекат *TGF- β* тотално изостаје. У индукцији оралне толеранције чини се да нема учешћа ни Th2 одговор, јер није доказана супресија код генетских *IL-4* нула мишева [71, 72]. У прилог чињеници да *TGF- β* не би требало да има значајан ефекат у оралној толеранцији говоре и наши подаци који показују да је концентрација *TGF- β* непромењена, али је концентрација *IL-6* пала, када је коришћено депуриновано млеко. Доказ о потенцијалном месту нуклеотида, односно пурина, и мокраћне киселине у имунској стимулацији је показан у експериментима коришћења мокраћне киселине и пурина као адјуваната вакцини [73].

Концепт стечене имунске толеранције на одређени антиген развијан је и доказиван на моделима различитих аутоимунских обољења, али и експерименталног дијабетеса. У нашем експерименту на моделу стрептозотин дијабетеса показано је да претретман животиња млеком изазива одређену врсту имуносупресије, која може бити потенцијални кључ објашњења толеранције на развој дијабетеса. Доказ томе је податак да је претретман животиња депуринованим млеком условио то да стрептозотин није испољио ефекте на пораст гликемије код ових

животиња, док је претретман комерцијалним млеком условио много слабији ефекат, јер је гликемија порасла али далеко мање него код животиња на стандардној дијети којима је апликован стрептозотоцин. Добијени подаци показују да пурины и мокраћна киселина, чак и у релативно ниским концентрацијама, каква је у млеку, ипак изазивају имуномодулаторни ефекат [57]. Ови подаци се могу надовезати на претходна истраживања која смо обавили на пацијентима са типом 1 дијабетеса, као и са циркулишућим моноклеарним ћелијама. Установљено је да је код пацијената са типом 1 дијабетеса повећана концентрација циркулишућих нуклеинских киселина, углавном као последица недостатка ензима РНазе. Овај ензим има задатак да разгради циркулишуће РНК, како не би деловале као *DAMP* молекули и активирале *TLR* рецепторе, чиме би активирале или деловале као додатни појачивачи већ активираних имунских механизма [74–76]. Орган-специфични ефекти исхране млеком документовани су и у ткиву јетре пацова. Установљено је да на ткиво јетре исхрана млеком делује потенцијално хепатопротективно и регенеративно. Ова хипотеза је постављена на основу утицаја депуринизованог млека на концентрацију *Akt/p-Akt* киназа, *ERK/p-ERK* киназа, као и *IRAK/p-IRAK* киназа и концентрацију активне субјединице транскрипционог фактора *NF-κB p65*. Екстрацелуларним сигнаlima активирана киназа (*extracellular signal-regulated kinase*) позната као *ERK1/2* киназа је регулаторни ензим сигналне ћелијске трансдукције, који се активира процесом фосфорилације треонина у позицији 202 и тирозина у позицији 204. Након фосфорилације, поменута киназа у стању је да каскадним реакцијама фосфорилације нисходно активира више од 150 различитих регулаторних протеина у ћелији, од есенцијалног значаја за ћелијско преживљавање, пролиферацију и диференцијацију, уз истовремену инхибицију апоптотских процеса. Тако *Akt* и *ERK* киназа готово симултано остварују моћне ефекте на одржање анаболичких процеса у јетри, што доприноси регенеративној способности овог органа. Подаци до којих су дошли у својим истраживањима други аутори показују да су *ERK1,2* киназе и *Akt* киназе сигнални медијатори који условљавају молекуларне догађаје везане за иницијацију и одвијање регенерације јетре [77].

Испитивања ефеката депурилизованог млека на експерименталним моделима хиперурикемије и регенерације јетре су показала да депуриново млеко смањује ендонуклеазну активност у условима експерименталне хиперурикемије, али и код здравих животиња. Ендонуклеазна активност је испитивана као Ca^{2+} , Mg^{2+} -зависна ДНаза, која има способност да разлаже фосфодиестарске везе двоструко спиралне ДНК, али и једноструког-расплетеног ланца ДНК. Депуриново млеко као специфични епигенетски модулатор репрограмирања генома је смањило ДНазну активност [57]. Добијени подаци су показали да исхрана млеком, а нарочито депуринованом формом може повољно да утиче на регенеративни потенцијал јетре. Повољан ефекат остварен је и када је претходно била изазвана експериментална хиперурикемија.

Ефекти исхране конвенционалним и депуринованим млеком проучавани су и у ткиву миокарда. Познато је да се током оштећења миокарда активирају многи механизми који имају за циљ да повећају регенеративни капацитет оштећеног ткива и то како у смислу повећане опскрбе макро и микронутријентима, тако и у смислу активације фактора раста и хемоатрактанта, да оштећено ткиво препознају матичне ћелије, које имају способност диференцијације у кардијалне миоците. Поменуте матичне ћелије долазе највећим делом из костне сржи (*BMSCs*), али су присутне и у циркулацији као такозване прогениторске ћелије, или њихови прекурсори могу бити ендотелне и глаткомишићне ћелије. Тип ћелијске терапије миокардног и других ткивних оштећења, који би се огледао у надомештању матичних ћелија је познат као *BMSC* репопулациона терапија. У експерименталној студији хиперурикемије, где је симултано ефекат хиперурикемије на миокард модулисан исхраном комерцијалним и депуринованим млеком, испитивана је биохемијска функција миокарда кроз праћење параметара оксидативног стреса и то продуката липидне пероксидације и унапредовалих продуката оксидације протеина (*advanced oxidation protein products-AOPP*, *lipid peroxidation products-TBARS*), а затим и кроз праћење стандардних ензимских маркера оштећења миокарда (*CPK*, *AST*, *LDH*) и липидног статуса, као и степена експресије специфичног маркера матичних ћелија костне сржи (*BMCD34+*). Добијени подаци су показали изражен пад

прооксидативних маркера, липидне пероксидације и узнапредовалих продуката оксидације протеина, пад активности ензима маркера миокардног оштећења, повећану концентрацију *BMCD34+* у костној сржи и смањену концентрацију липидних параметара у крви, али и повећање *HDL* липопротеина, што заједно представља кардиопротективни ефекат млечне исхране, изражен нарочито приликом давања депурилизованог млека [78].

Закључак

Исхрана млеком је значајан елеменат у пирамиди исхране за велики део популације, са изузетком лактоза-интолерантних особа. Добијени подаци могу указати да нутригеномика може имати велико упориште у млечној исхрани као имуномодулаторном фактору, који своје ефекте остварује очигледно на системском нивоу. Податак да је депуриковано млеко произведено крајње нетоксичним путем, да се при том елиминише низ потенцијално токсичних материја, карактерише овај тип млека функционалном храном у ко-третману не само примарних и секундарних хиперурикемија, већ и различитих имунопролиферативних стања, оштећења јетре и оштећења миокарда. Депуриковано млеко је готово без садржаја пурина, али и других ароматичних и алифатичних токсичних угљоводоника, тако да није још са сигурношћу јасно да ли су добијени ефекти последица елиминације само мокраћне киселине или и других волатилних супстанци. Разумевање утицаја различитих епигеномских (геномских и епигенетских) механизма, као и молекуларних механизма који доводе до ћелијског репрограмирања и следствених метаболичких консеквенци, представља мултидисциплинарни и персонализовани приступ превенцији и третману обољења. Специфични модели система подразумевају строго контролисану дијету и праћење сваког органа кроз различите експерименталне моделе обољења.

Литература

1. Maiuolo J, Oppedisano F, Gratteri S, Muscoli C, Mollace V. Regulation of uric acid metabolism and excretion. *Int J Cardiol* 2016;213:8–14.
2. Nickolai B, Kiss C. Nutritional therapy of gout. *Ther Umsch* 2016;73(3):153–8.
3. Feig DI, Kang DH, Johnson RJ. Uric acid and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2008;359:1811–21.
4. Fang J, Alderman MH. Serum uric acid and cardiovascular mortality. The NHANES I epidemiologic follow-up study, 1971–1992. National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 2000;283:2404–10.
5. Pfeiffer KP, Ulmer H. Serum uric acid is an independent predictor for all major forms of cardiovascular death in 28,613 elderly women: a prospective 21-year follow-up study. *Int J Cardiol* 2008;125:232–9.
6. Wannamethee SG, Shaper AG, Whincup PH. Serum urate and the risk of major coronary heart disease events. *Heart* 1997;78:147–53.
7. Culleton BF, Larson MB, Kannel WB, Levy D. Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: The Framingham Heart Study. *Ann Intern Med* 1999;131:7–13.
8. Brand FN, McGee DL, Kannel WB, Stokes J 3rd, Castelli WP. Hyperuricemia as a risk factor of coronary heart disease: The Framingham Study. *Am J Epidemiol* 1985;121:11–8.
9. Rathmann W, Funkhouser E, Dyer AR, Roseman JM. Relations of hyperuricemia with the various components of the insulin resistance syndrome in young black and white adults: the CARDIA Study. *Ann Epidemiol* 1998;8:250–61.
10. Hayden MR, Tyagi SC. Uric acid: A new look at an old risk marker for cardiovascular disease, metabolic syndrome, and type 2 diabetes mellitus: The urate redox shuttle. *Nutr Metab* 2004;19(1):10.
11. Cheng TH, Lin JW, Chao HH, Chen YL, Chen CH, Chan P, et al. Uric acid activates extracellular signal-regulated kinases and thereafter endothelin-1 expression in rat cardiac fibroblasts. *Int J Cardiol* 2008;139(1):42–9.
12. Corry DB, Eslami P, Yamamoto K, Nyby MD, Makino H, Tuck ML. Uric acid stimulates vascular smooth muscle cell proliferation and oxidative stress via the vascular renin-angiotensin system. *J Hypertens* 2008;26:269–75.
13. Anderluh M, Kocic G, Tomovic K, Kocic R, Deljanin-Ilic M, Smelcerovic A. Cross-talk between the dipeptidyl peptidase-4 and stromal cell-derived factor-1 in stem cell homing and myocardial repair: Potential impact of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Pharmacol Ther* 2016;167:100–7.
14. Rovcanin B, Medic B, Kocic G, Cebovic T, Ristic M, Prostran M. Molecular Dissection of Renal Ischemia-Reperfusion: Oxidative Stress and Cellular Events. *Curr Med Chem* 2016;23(19):1965–80.

15. Tasic D, Radenkovic S, Kocic G, Ilic MD, Ignjatovic A. Microinflammation factors in the common diseases of the heart and kidneys. *Dis Markers* 2015;2015:470589. doi: 10.1155/2015/470589.
16. Boban M, Kocic G, Radenkovic S, Pavlovic R, Cvetkovic T, Deljanin-Ilic M, et al. Circulating purine compounds, uric acid, and xanthine oxidase/dehydrogenase relationship in essential hypertension and end stage renal disease. *Ren Fail* 2014;36(4):613–8.
17. Ginsberg MH, Kozin F, O'Malley M, McCarthy DJ. Release of platelet constituents by monosodium urate crystals. *J Clin Invest* 1977;60:999–1007.
18. Radenkovic S, Kocic G, Stojanovic D, Milojkovic B, Velickovic D, Radovic J, et al. Sodium sensitive hypertension: can it be assessed by measuring uric acid levels? *J Hypertens* 2015;33 Suppl 1:e117.
19. Saito I, Saruta T, Kondo K, Nakamura R, Oguro T, Yamagami K, et al. Serum uric acid and the renin-angiotensin system in hypertension. *J Am Geriatr Soc* 1978;6:241–7.
20. Oda M, Satta Y, Takenaka O, Takahata N. Loss of urate oxidase activity in hominoids and its evolutionary implications. *Mol Biol Evol* 2002;19:640–53.
21. Friedman TB, Polanco GE, Appold JC, Mayle JE. On the loss of uricolytic activity during primate evolution—I. Silencing of urate oxidase in a hominoid ancestor. *Comp Biochem Physiol* 1985;81B:653–9.
22. Watanabe S, Kang DH, Feng L, Nakagawa T, Kanellis J, Lan H, et al: Uric acid, hominoid evolution and the pathogenesis of salt-sensitivity. *Hypertension* 2002;40:355–60.
23. Kocic G, Pavlovic R, Nikolic G, Stojanovic D, Jevtovic T, Sokolovic D, et al. The effect of depurinated milk draught diet on rat serum uric acid, lipid status and haematological parameters. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2012;96(4):648–55.
24. Kocic G. Technological procedure for production of composite dietetic milk beverage draught with reduced level of uric acid and purine. G. Kocic, assignee. Serbia patent RS20090231 (A) 2010-12-31 (2010).
25. Carluccio F, Kocic G. Procedimento tecnologico per de la producone di un alimentare dietetico composito a base di latte con livello ridotto di acido urico e purine e prodoto alimentare cosi ottenuto. F. Carluccio and G. Kocic, assignees. Italy patent IT2009PR00057 20090723 (2011).
26. Cencic A, Kocic G. Composite diethetic milk draught and method for production of composite milk draught with reduced level of uric acid and purine compounds. Slovenia, France, Spain patent WO2011037545 (A1) 2011-03-31 (2011).
27. Kocic G, Nikolic G, Marinkovic L, Stojanovic S. Adsorption filter device for production of depurinated milk. G. Kocic, assignee. Serbia patent RS20100157 (A) 2010-04-09 (2011).

28. Kocic G, Pavlovic R, Nikolic G, Veljkovic A, Panseri S, Chiesa LM, et al. Effect of commercial or depuritized milk on rat liver growth-regulatory kinases, nuclear factor-kappa B, and endonuclease in experimental hyperuricemia: Comparison with allopurinol therapy. *J Dairy Sci* 2014;97(7):4029–42.
29. Melnik BC. Milk: an epigenetic amplifier of FTO mediated transcription? Implications for Western diseases. *J Transl Med* 2015;13:385.
30. Melnik BC. Excessive leucine-mTORC1-signalling of cow milk-based infant formula: the missing link to understand early childhood obesity. *J Obes* 2012;2012:197653. doi: 10.1155/2012/197653.
31. Melnik BC. The pathogenic role of persistent milk signaling in mTORC1- and milk-microRNA-driven type 2 diabetes mellitus. *Curr Diab Rev* 2015;11(1):46–62.
32. Kocic GM, Kocic R, Pavlovic R, Jevtovic-Stoimenov T, Sokolovic D, Nikolic G, et al. Possible impact of impaired double-stranded RNA degradation and nitrosative stress on immuno-inflammatory cascade in type 2 diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2009;117(9):480–5.
33. Kocic G, Bjelakovic G, Saranac Lj, Kocic R, Jevtovic T, Sokolovic D, et al. Altered degradation of circulating nucleic acids and oligonucleotides in diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2008;79(2):204–13.
34. Kocic G, Bjelakovic G, Saranac L, Zivic S, Jevtovic T, Sokolovic D, et al. Possible impact of plasma RNase activity on immune dysfunction in juvenile diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2005;6(3):155–60.
35. Jyonouchi H, Zhang-Shanbhag L, Georgieff M, Tomita Y. Immunomodulating actions of nucleotides: enhancement of immunoglobulin production by human cord blood lymphocytes. *Pediatr Res* 1993;34(5):565–71.
36. Ghaemi-Oskouie F, Shi Y. The role of uric acid as an endogenous danger signal in immunity and inflammation. *Curr Rheumatol Rep* 2011;13(2):160–66.
37. Liu P, Holman CD, Jin J, Zhang M. Diet and risk of adult leukemia: a multicenter case-control study in China. *Cancer Caus Contr* 2015;26(8):1141–51.
38. Dugan CE, Aguilar D, ParkYK, Lee JY, Fernandez ML. Dairy consumption lowers systemic inflammation and liver enzymes in typically low-dairy consumers with clinical characteristics of metabolic syndrome. *J Am Coll Nutr* 2015;23:1–7.
39. Staden U, Rolinck-Werninghaus C, Brewe F, Wahn U, Niggemann B, Beyer K. Specific oral tolerance induction in food allergy in children: efficacy and clinical patterns of reaction. *Allergy* 2007;62(11):1261–9.
40. Nicolaou N, Tsabouri S, Priftis KN. Reintroduction of cow's milk in milk-allergic children. *Endocr Metab Immun Dis Drug Targ* 2014;14(1):54–62.
41. Aw D, Palmer DB. The origin and implication of thymic involution. *Aging Dis* 2011;2(5):437–43.
42. Lynch HE, Goldberg GL, Chidgey A, Van den Brink MR, Boyd R, Sempowski GD. Thymic involution and immune reconstitution. *Trends Immunol* 2009;30(7):366–73.

43. Hacker H, Häcker H, Redecke V, Blagoev B, Kratchmarova I, Hsu LC, et al. Specificity in Toll-like receptor signalling through distinct effector functions of TRAF3 and TRAF6. *Nature* 2006;439(7073):204–7.
44. Kim KA, Gu W, Lee IA, Joh E H, Kim D. H. High fat diet-induced gut microbiota exacerbates inflammation and obesity in mice via the TLR4 signaling pathway. *PLoS ONE* 2012;7:e47713.
45. Pabst O, Mowat AM. Oral tolerance to food protein. *Mucosal Immunol* 2012;5:232–9.
46. Shnawa IMS. Oral mucosal immune tolerance versus oral immune silencing: Mini review. *Am J Biomed Life Sci* 2015;3:7–9.
47. Kleinridders A, Schenten D, Könnner AC, Belgardt BF, Mauer J, Okamura T, et al. MyD88 signaling in the CNS is required for development of fatty acid-induced leptin resistance and diet-induced obesity. *Cell Metab* 2009;10:249–59.
48. Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA, Cullender TC, Mwangi S, Srinivasan S, et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science* 2010;328:228–31.
49. Osborn O, Olefsky JM. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat Med* 2012;18:363–74.
50. Larsen BD, Rampalli S, Burns LE, Brunette S, Dilworth FJ, Megeney LA. Caspase 3/caspase-activated DNase promote cell differentiation by inducing DNA strand breaks. *Proc Natl Acad Sci* 2010;107(9):4230–5.
51. Shiokawa D, Nishimura K, Maruta H, Tanuma S. DNA fragmentation during thymic apoptosis is catalyzed by DNase γ . *Apoptosis* 1996;1(2):147–52.
52. Lamkanfi M, Kanneganti TD, Franchi L, Nunez G. Caspase-1 inflammasomes in infection and inflammation. *J Leukoc Biol* 2007;82:220–5.
53. Boost KA. Targeting caspase-1 by inhalation-therapy: effects of Ac-YVADCHO on IL-1 β , IL-18 and downstream proinflammatory parameters as detected in rat endotoxaemia. *Intens Care Med* 2007;33:863–71.
54. Lamkanfi M, Kalai M, Saelens X, Declercq W, Vandenabeele P. Caspase-1 activates nuclear factor of the κ -enhancer in B cells independently of its enzymatic activity. *J Biol Chem* 2004;279:24785–93.
55. Boersma HH, Kietselaer BL, Stolk LM, Bennaghmouch A, Hofstra L, Narula J, Heidendal GA, Reutelingsperger CP. Past, present, and future of annexin A5: from protein discovery to clinical applications. *J Nucl Med* 2005;46(12):2035–50.
56. Fadeel B. Plasma membrane alterations during apoptosis: role in corpse clearance. *Antioxid Redox Signal* 2004;6(2):269–75.
57. Kocic G, Veljkovic A, Kocic H, Colic M, Mihajlovic D, Tomovic K, et al. Depurinated milk downregulates rat thymus MyD88/Akt/p38 function, NF- κ B-mediated inflammation, caspase-1 activity but not the endonuclease pathway: in vitro/in vivo study. *Sci Rep* 2017;7:41971. doi: 10.1038/srep41971.

58. Rathmell JC, Elstrom RL, Cinalli RM, Thompson CB. Activated Akt promotes increased resting T cell size, CD28-independent T cell growth, and development of autoimmunity and lymphoma. *Eur J Immunol* 2003;33:2223–32.
59. Hinton HJ, Alessi DR, Cantrell DA. The serine kinase phosphoinositide-dependent kinase 1 (PDK1) regulates T cell development. *Nat Immunol* 2004;5:539–45.
60. Malstrom S, Tili E, Kappes D, Ceci JD, Tschlis PN. Tumor induction by an Lck-MyrAkt transgene is delayed by mechanisms controlling the size of the thymus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:14967–72.
61. Surucu B, Bozulic L, Hynks D, Parcellier A, Hemmings BA. In vivo analysis of protein kinase B (PKB)/Akt regulation in DNA-PKcs-null mice reveals a role for PKB/Akt in DNA damage response and tumorigenesis. *J Biol Chem* 2008;283:30025–33.
62. Xing Y, Wang X, Jameson SC, Hogquist KA. Late stages of T cell maturation in the thymus involve NF- κ B and tonic type I interferon signaling. *Nat Immunol* 2016;17(5):565–73.
63. van Delft MA, Huitema LF, Tas SW. The contribution of NF- κ B signalling to immune regulation and tolerance. *Eur J Clin Invest* 2015;45(5):529–39.
64. Gugasyan R, Horat E, Kinkel SA, Ross F, Grigoriadis G, Gray D, et al. The NF- κ B1 transcription factor prevents the intrathymic development of CD8 T cells with memory properties. *EMBO J* 2012;31(3):692–706.
65. Barone KS, Jain SL, Michael JG. Effect of in vivo depletion of CD4+ and CD8+ cells on the induction and maintenance of oral tolerance. *Cell Immunol* 1995;163(1):19–29.
66. Liu P, Holman CD, Jin J, Zhang M. Diet and risk of adult leukemia: a multicenter case-control study in China. *Cancer Caus Contr* 2015;26(8):1141–51.
67. Yoshida A, Pommier Y, Ueda T. Endonuclease activation and chromosomal DNA fragmentation during apoptosis in leukemia cells. *Int J Hematol* 2006;84(1):31–7.
68. Mariathasan, S. Differential activation of the inflammasome by caspase-1 adaptors ASC and Ipaf. *Nature* 2004;430:213–8.
69. Peron JP. Oral tolerance reduces Th17 cells as well as the overall inflammation in the central nervous system of EAE mice. *J Neuroimmunol* 2010;227(1-2):10–17.
70. Kuhn C, Rezendel R, Weiner HL. IL-6R signaling inhibits generation of Th3 cells and is a promising therapeutic target for enhancing oral tolerance induction. *J Immunol* 2016;196 (Suppl 1):139.
71. Jyonouchi H, Zhang-Shanbhag L, Georgieff M, Tomita Y. Immunomodulating actions of nucleotides: enhancement of immunoglobulin production by human cord blood lymphocytes. *Pediatr Res* 1993;34(5):565–71.
72. Murakami R. Nucleotides enhance the secretion of interleukin 7 from primary-cultured murine intestinal epithelial cells. *Cytotechnology* 2002;40(1-3):59–65.

73. Ghaemi-Oskouie F, Shi Y. The role of uric acid as an endogenous danger signal in immunity and inflammation. *Curr Rheumatol Rep* 2011;13(2):160–6.
74. Kocic G, Pavlovic R, Najman S, Nikolic G, Sokolovic D, Jevtovic-Stoimenov T. Circulating ribonucleic acids and metabolic stress parameters may reflect progression of autoimmune or inflammatory conditions in juvenile type 1 diabetes. *Scientific World Journal* 2011;11:1496–508.
75. Kocic G, Pavlovic V, Saranac LJ, Kocic R, Zivic S, Sokolovic D, et al. Circulating nucleic acids in type 1 diabetes may modulate the thymocyte turnover rate. *Cell Immunol* 2010;266(1):76–82.
76. Kocic G, Radenkovic S, Cvetkovic T, Cencic A, Carluccio F, Musovic D, et al. Circulating nucleic acids as possible damage-associated molecular patterns in different stages of renal failure. *Ren Fail* 2010;32(4):486–92.
77. Araujo TG, de Oliveira AG, Tobar N, Saad MJ, Moreira LR, Reis ER, et al. Liver regeneration following partial hepatectomy is improved by enhancing the HGF/Met axis and Akt and Erk pathways after low-power laser irradiation in rats. *Lasers Med Sci* 2013;28(6):1511–7.
78. Kocic G, Sokolovic D, Jevtovic T, Cvetkovic T, Veljkovic A, Kocic H, et al. Short communication: Effect of commercial or depuritized milk diet on plasma advanced oxidation protein products, cardiovascular markers, and bone marrow CD34+ stem cell potential in rat experimental hyperuricemia. *J Dairy Sci* 2014;97(11):6823–7.

THE IMPORTANCE OF PURINES AS POTENTIAL MEDIATORS OF DISEASES – EFFECT OF DEPURINIZED MILK

Kocic Gordana

Faculty of Medicine, University of Nis, Serbia

It is well documented that persistent hyperuricemia may induce gout and renal urate lithiasis. As acquired-secondary purine disorder, hyperuricemia may be a result of increased purine compounds breakdown, as it can be seen in cardiovascular diseases, hypertension, kidney disease, eclampsia, obesity, metabolic syndrome, psoriasis, tumor lysis syndrome, or intense physical training. The beneficial role of dairy products on hyperuricemia prevention and management is well documented in the literature. Except for lactose-free and fat-free milk derivatives, no other milk products, with eliminated potentially harmful compounds, were produced commercially. Our experimental studies documented beneficial effect of milk dietary regimen with our patented depurinated (DP) milk diet, compared to commercial UHT cow milk, in experimental hyperuricemic conditions. Beneficial effect was documented on liver function and cardiovascular risk factors. DP-milk dietary regimen was able to prevent development of experimental streptozotocin diabetes by an influence on oral tolerance and thymus function by modulation of cell proliferation signaling pathways (Akt/pAkt kinase, Erk/pErk kinase, p38/pp38, JNK/pJNK kinase), inflammation (NF- κ B p65) and apoptosis (Bcl2, Bax, caspase-1 and endonuclease). In conclusion, obtained results may help to translate obtained effects in personalized human dairy nutrition.

Keywords: hyperuricemia, depurinated milk, proliferation, apoptosis, inflammation

Проф. др Гордана Коцић
Медицински факултет Универзитета у Нишу
Булевар др Зорана Ђинђића 81
18000 Ниш
gordana.kocic@medfak.ni.ac.rs

АКТУЕЛНОСТИ У ОРАЛНОЈ ИМПЛАНТОЛОГИЈИ

Алекса Марковић

Клиника за оралну хирургију, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београд

Сажетак

Уградња имплантата у бочни сегмент горње вилице потенцијално обухвата два изазова: присуство кости мале густине и смањену висину резидуалног алвеоларног гребена. Овај квалитативни и квантитативни недостатак кости резултира недовољном стабилношћу имплантата и последичним неуспехом имплантатне терапије.

У циљу побољшања стабилности имплантата у кости мале густине, препоручује се хируршка техника латералне кондензације кости и примена самоуређујућих имплантата. *SLActive* имплантати могу бити успешно рано оптерећени чак и у кости мале густине.

Остеотомски синус лифт (ОСЛ) омогућава симултану уградњу имплантата у регијама са смањеном субантралном димензијом. Употреба коштаног графта не нуди значајну предност клиничком успеху имплантата уграђених симултано са ОСЛ. Протокол раног оптерећења може се применити за *SLActive* импланте уграђене у бочни сегмент горње вилице ОСЛ техником, ако је њихова стабилност потврђена анализом резонантне фреквенције (АРФ).

Кључне речи: кост мале густине, техника латералне кондензације кости, самоуређујући имплантат, *SLActive* површина, остеотомски синус лифт

Увод

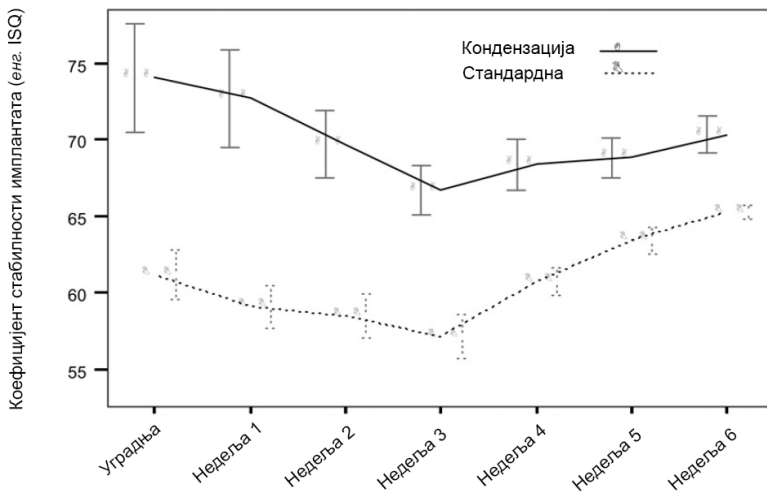
Примарна стабилност имплантата је основни предуслов осеоинтеграције и успешне имплантатне терапије. Она је условљена хируршком техником уградње имплантата, дизајном имплантата и густином кости примајуће регије [1]. Кост мале густине, класе Д3 и Д4 по *Lekholm*-у и *Zarb*-у, која је присутна у постериорном сегменту горње вилице, сачињена од растреситих трабекула и изузетног танког кортикалног слоја који често недостаје, пружа недовољну механичку потпору имплантатима, што резултује неадекватном примарном стабилношћу. Недовољна примарна стабилност имплантата условљава удаљену остеогенезу, касније оптерећење имплантата и мањи проценат успешности имплантата [2, 3]. Ниска стопа успеха имплантата, у опсегу од 50% до 94%, забележена у кости мале густине (класе Д4) у моларној регији горње вилице последица је управо недовољне примарне стабилности имплантата [2]. Будући да имплантатна терапија у кости мале густине представља својеврстан изазов за клиничаре, модификације хируршке технике и унапређење дизајна имплантата предмет су актуелних истраживања у области оралне имплантологије.

Хируршка техника препарације лежишта имплантата

Хируршка техника латералне кондензације кости препоручена је за препарацију имплантатних лежишта у кости мале густине ради постизања адекватне примарне стабилности имплантата. Ова хируршка техника подразумева примену посебно дизајнираних инструмената облика имплантата, кондензатора, растућег дијаметра, којима се коштане трабекуле потискују апикално и латерално [4]. За разлику од стандардне хируршке технике код које се у циљу препарације лежишта кост уклања борером, техником латералне кондензације кости очувава се постојећи волумен кости у највећој могућој мери и повећава се њена густина чиме се стварају услови за постизање адекватне примарне стабилности имплантата уграђених у кост мале густине.

Резултати клиничке студије у којој је учествовало 8 испитаника којима је у постериорни сегмент горње вилице уграђено укупно 48 имплантата *SLA Straumann* имплантата дијаметра 4,1 мм и дужине

10 мм (*Institut Straumann AG*, Швајцарска) и то 24 стандардном хируршком техником и 24 техником латералне кондензације кости, указују на статистички значајно већу примарну стабилност имплантата уграђених након кондензације кости (Графикон 1) [5]. Примарна стабилност имплантата уграђених техником латералне кондензације кости дозвољава имедијатно оптерећење чак и код кости мале густине. Овако високе вредности примарне стабилности имплантата уграђених у кост мале густине резултат су промена у архитектоници кости и то пораста густине кости око лежишта имплантата и већег контакта кости и имплантата (енг. *BIC*) што је потврђено хистоморфометријским и дензитометријским анализама [6].



Графикон 1. Примарна и секундарна стабилност имплантата према хируршкој техници и времену

Временом, примарна механичка стабилност имплантата бива замењена секундарном биолошком стабилношћу што је последица регенерације и ремоделације кости око лежишта имплантата. Критичан пад стабилности имплантата уграђених стандардном хируршком техником као и оних уграђених кондензацијом кости, присутан је у трећој постоперативној недељи и одговара ремоделацији некротичне кости што подразумева активацију остеокласта и последични пад примарне механичке стабилности

имплантата будући да је апозиција нове кости још увек недовољног интензитета да би очувала стабилност имплантата [7]. Међутим, чак и у овом критичном периоду зарастања, стабилност имплантата уграђених техником латералне кондензације кости није падала испод вредности неопходне за имедијатно оптерећење [5].

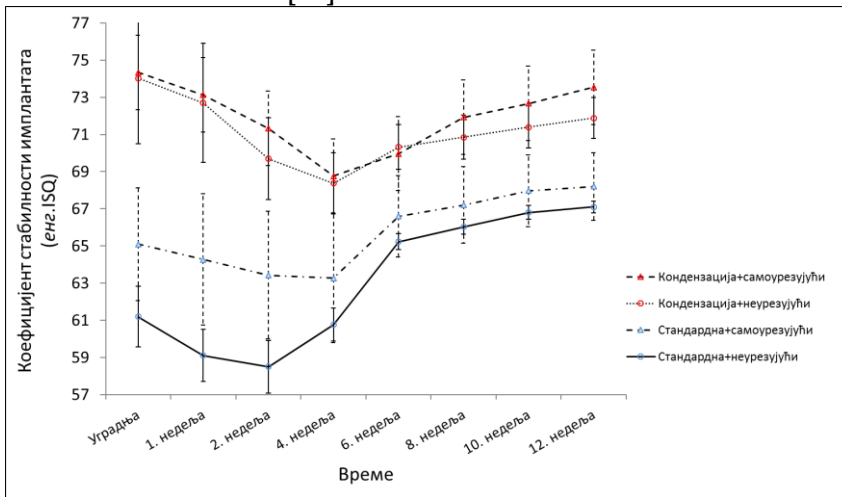
Статистички значајно већа секундарна стабилност имплантата уграђених техником латералне кондензације кости у односу на оне уграђене стандардном хируршком техником може се објаснити различитим обрасцима регенерације кости. За разлику од уобичајеног процеса регенерације кости присутног након стандардне хируршке технике, латерална кондензација кости покреће траумом изазван механизам регенерације кости познат као „регионални акцелераторни феномен“ и последично убрзано формирање коштаних трабекула [8]. Додатно, повољне услове за осеоинтеграцију имплантата уграђених техником латералне кондензације кости обезбеђује и мања количина топлоте која се генерише у имплантатном лежишту препарисаном овом техником у поређењу са стандардном хируршком техником [9].

Техника латералне кондензације кости се може препоручити за препарацију имплантатних лежишта у циљу повећања стабилности имплантата у кости мале густине. За лежишта у кости веће густине (класа Д1 и Д2), када је потребно применити силу већу од 20 MP, техника латералне кондензације није погодна, јер доводи до оштећења остеоцита, микрофрактура и следствене редукције стабилности имплантата [10]. Будући да у клиничким условима није могуће применити дефинисану силу за кондензацију кости, преоперативна процена густине кости и следствени избор хируршке технике су од изузетне важности за успех имплантатне терапије.

Макро и микро дизајн имплантата

На примарну стабилност имплантата поред густине кости и хируршке технике препарације лежишта утиче и макро дизајн имплантата [11]. У циљу повећања примарне стабилности имплантата у кости мале густине препоручена је примена коничних имплантата, широког дијаметра са самоурезујућим навојима

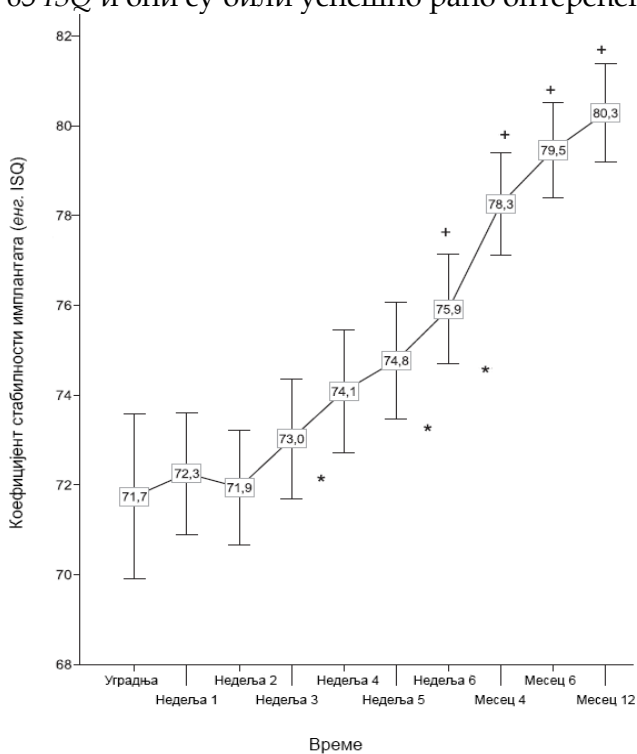
локализованим у апикалној трећини [2]. Самоурезујући имплантати остварују већу стабилност у поређењу са неурезујућим без обзира на хируршку технику којом је имплантатно лежиште препарисано, премда је разлика у стабилности у односу на макро дизајн значајно израженија код стандардне хируршке технике (Графикон 2). За лежишта у кости мале густине препоручује се примена самоурезујућих имплантата јер овај макро дизајн значајно повећава стабилност имплантата [12].



Графикон 2. Утицај хируршке технике и макро дизајна имплантата на примарну и секундарну стабилност имплантата у кости мале густине.

У свакодневном раду клиничари се често суочавају са захтевом пацијената за краћим трајањем третмана. Подаци из литературе указују да су одговарајућа стабилност имплантата и карактеристике имплантатне површине-микродизајн, два основна фактора која условљавају успех имедијатно или рано оптерећених имплантата [13]. Степен храпавости површине имплантата одређује величину контактне површине кости и имплантата, адсорпцију протеина и интеракцију са остеобластима [14, 15]. Пескирањем и нагризањем киселином а потом чишћењем у азоту атмосфери настала је хемијски активна хидрофилна (енгл. *SLActive*) имплантатна површина. Овако формирана површина својом нанотопографијом и хидрофилношћу омогућава бржу осеоинтеграцију и повећава стабилност имплантата у раном периоду зарастања, стварајући

повољне услове за рано оптерећење имплантата [16]. Анализа резонантних фреквенција *SActive* имплантата у клиничкој студији показала је да после друге постоперативне недеље формативни процеси преовладавају над ресорптивним у оквиру ремоделације кости сугеришући да наноструктурна и хидрофилна *SActive* површина имплантата промовише бржу апозицију костију током ране фазе осеоинтеграције (Графикон 3) [17]. У поменутој студији од 37 имплантата са *SActive* површином, 36 је остварило стабилност од најмање 65 ISQ и они су били успешно рано оптерећени [17].



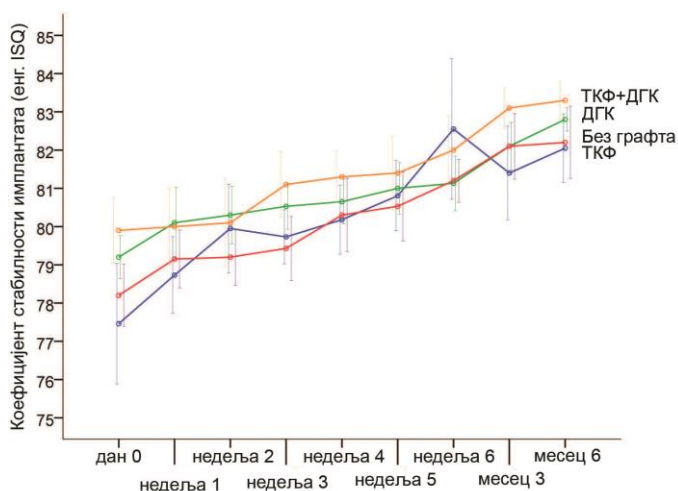
Графикон 3. Стабилност имплантата са наноструктурном и хидрофилном *SActive* површином.

*означава статистички значајну разлику у стабилности имплантата између две узастопне недеље+означава статистички значајну разлику у стабилности имплантата у поређењу са примарном стабилношћу.

Синус-лифт

Поред кости мале густине, редукована субантрална димензија резидуалног алвеоларног гребена услед ресорпције кости и пнеуматизације синуса након губитка зуба, проблем је са којим се клиничари често суочавају планирајући имплантатну рехабилитацију бочног сегмента горње вилице. Овако неповољни анатомски услови ограничавају уградњу имплантата одговарајуће дужине и условљавају потребу за вертикалном аугментацијом резидуалног алвеоларног гребена синус лифт процедуром. У клиничкој пракси, синус лифт се изводи најчешће остеотомским и латералним приступом. Будући да је остеотомски синус лифт мање инвазиван и једноставнији за извођење, треба му дати предност уколико резидуална субантрална димензија то дозвољава [18].

Принцип остеотомског синус лифта је фрактурирање пода синуса посебно дизајнираним инструментима ваљкастог облика - остеотомима, самостално или у комбинацији са борерима и подизање синусне мембране на апикалнији ниво чиме се стварају услови за симултану уградњу имплантата. Оригинална техника остеотомског синус лифта коју је описао Самерс подразумевала је истовремену примену коштаног графта који се поставља у конкавитет врха остеотома и који има двоструку функцију: амортизује ударце хируршког чекића превенирајући перфорацију синусне слузокоже и обезбеђује простор за коштану регенерацију [18]. Међутим, хистолошке студије су доказале формирање коштаног ткива у простору између подигнуте слузокоже синуса и резидуалног алвеоларног гребена који иницијално испуњава коагулум као и осеоинтеграцију имплантата уграђених након остеотомског синус лифта без примене графта [19–21]. Средњорочна стопа успешности имплантата уграђених након остеотомског синус лифта без графтовања је 90,08-100%, премда се нешто мањи проценат успеха очекује у регијама где је резидуална висина гребена мања од 4 мм [22–26].

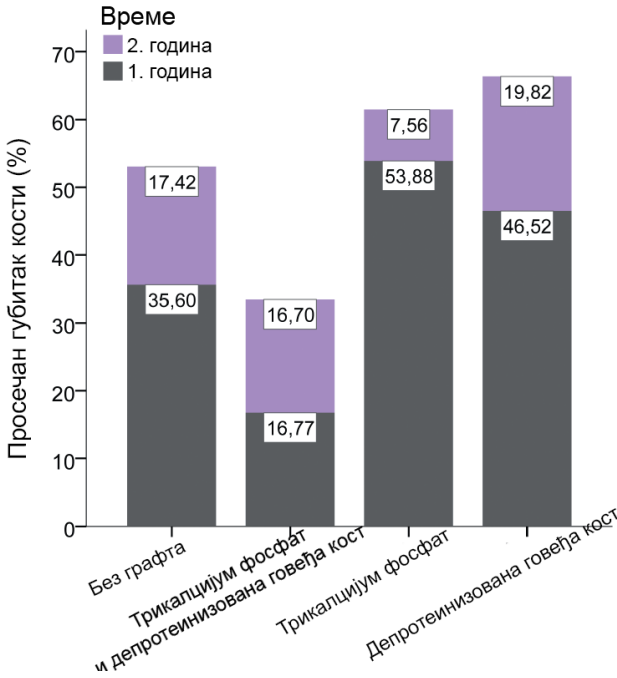


Графикон 4. Динамика промена стабилности имплантата уграђених остеотомским синус лифтом у зависности од примењеног коштаног графта ТКФ-трикалцијум фосфат, ДГК-депротеинизирана говеђа кост

Компаративна анализа резонантних фреквенција имплантата уграђених након остеотомског синус лифта без графта, и оних када су примењивани различити коштани графтови, показала је сличне вредности примарне стабилности имплантата сугеришући да гранулирани коштани графт не обезбеђује додатну подршку имплантату непосредно по уградњи (Графикон 4) [27]. Динамика промене стабилности имплантата током времена била је слична без обзира на то да ли је коштани графт примењиван или не, указујући да имплантати уграђени остеотомским синус лифтом без примене коштаног графта могу бити успешно осеоинтегрисани (Графикон 4) [27]. Примена коштаног графта није предуслов остеогенезе након остеотомског синус лифта. Подизање синусне слузокоже и очување простора за коштану регенерацију симултано уграђеним имплантатом довољни су за формирање коштаног ткива.

Међутим, за постизање и одржавање веће висине алвеоларног гребена препоручује се примена коштаног графта испод мембране у циљу стабилизације коагулума и одржавања простора испод подигнуте слузокоже синуса. Литературни подаци који се односе на примену аутогеног графта, алогогеног графта и ксеногеног графта уз синус лифт указују да ниједан од њих не испуњава све захтеве због чега се сугерише примена композитног графта [28]. Резултати

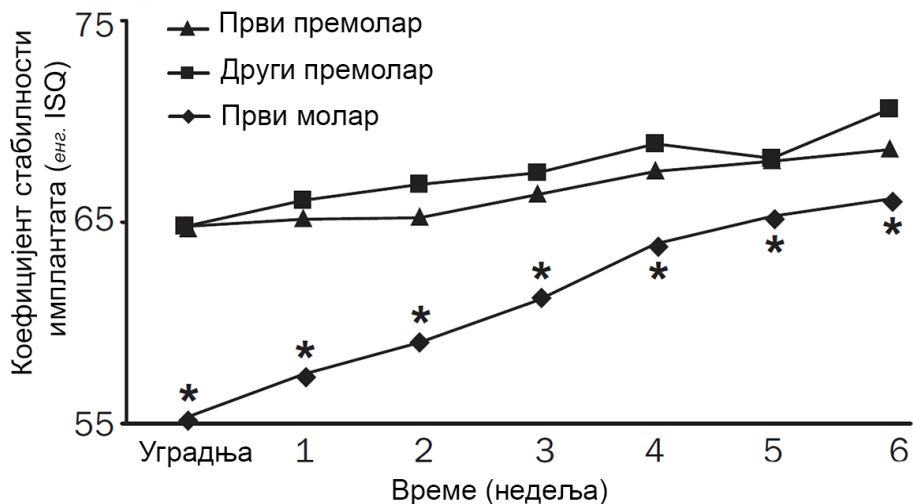
клиничке студије у којој је разматрана волуметријска стабилност композитног графта у односу на појединачне примењене уз остеотомски синус лифт, доказала је најмању ресорпцију композитног коштаног графта (Графикон 5) [27]. Новостворена кост се неизбежно ресорбује, без обзира на присуство или одсуство коштаног графта али имплантати остају функционални што указује да примена коштаног графта не доприноси значајно успеху имплантата уграђених симултано са остеотомским синус лифтом [27].



Графикон 5. Волуметријске промене кости формиране након остеотомског синус лифта током двогодишњег праћења

Време зарастања имплантата уграђених синус лифт процедуром је обично дуже у поређењу са имплантатима уграђеним у кост довољне висине. Могућност раног или имедијатног оптерећења имплантата након вертикалне аугментације кости предмет је савремених истраживања у области синус лифта. Основни предуслов раног оптерећења имплантата је одговарајућа примарна стабилност, најмање 65 ISQ коју често није лако постићи након синус лифта услед редуковане контактне површине између

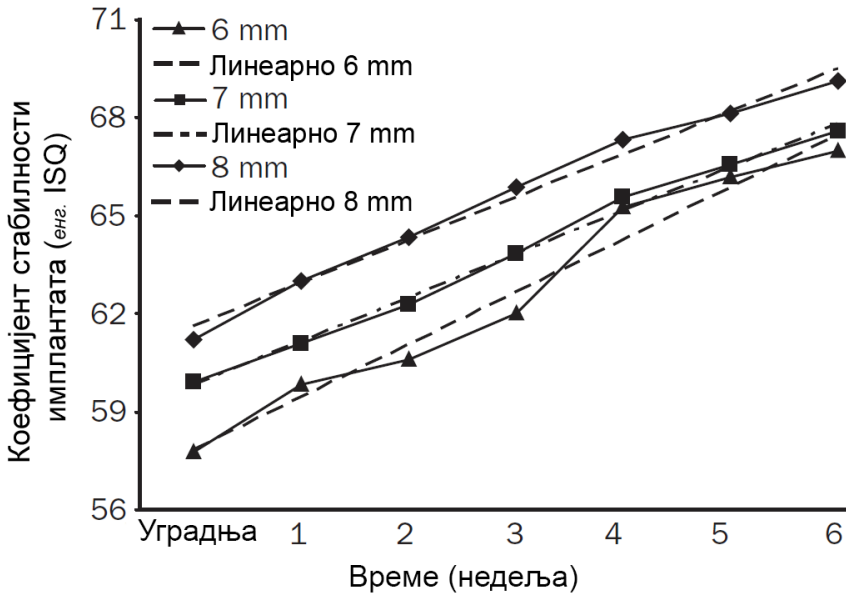
имплантата и кости [29]. Претходна истраживања су указивала да је рано оптерећење имплантата уграђених у бочни сегмент горње вилице могуће уколико је остварена контактна површина од најмање 125 mm^2 [30]. Међутим, савремена истраживања су показала да је и мања контактна површина довољна за постизање адекватне примарне стабилности имплантата која дозвољава рано оптерећење.



Графикон 6. Стабилност имплантата уграђених остеотомским синус лифтом у зависности од анатомске регије.

*означава статистички значајну разлику.

У клиничкој студији спроведеној на 21 испитанику, од 42 имплантата површине 133,74 mm^2 уграђена након синус лифта остеотомским приступом без примене графта, у резидуални алвеоларни гребен висине 6 до 8 mm са 20%-40% површине ван кости (супракрестално), 40 имплантата је остварило просечну примарну стабилност од $59,55 \pm 7,06$ ISQ и стабилност од $67,75 \pm 3,06$ ISQ након 6 недеља зарастања и сви су били успешно рано оптерећени док су преостала 2 имплантата са примарном стабилношћу од 25Ncm и 35 ISQ односно 40 ISQ оптерећена после 6 месеци [31]. Највећу примарну стабилност остварили су имплантати уграђени у регију првог премолара и она је била статистички значајно већа у поређењу са онима из регије првих молара (Графикон 6) [31].



Графикон 7. Корелација резидуалне субантралне димензије и стабилности имплантата уграђених остеотомским синус лифтом

Резидуална висина кости је у позитивној корелацији са имплантатном стабилношћу (Графикон 7) [31]. Поред одговарајуће имплантатне стабилности, значајан предуслов краћег времена зарастања имплантата је свакако површина имплантата. Хемијски активна хидрофилна *SLActive* површина омогућава бржу осеоинтеграцију и већу стабилност имплантата током критичног периода зарастања. Имплантати са хемијски активном хидрофилном површином уграђени након остеотомског синус лифта без примене коштаног графта могу се успешно рано оптеретити уколико се њихова стабилност претходно потврди анализом резонантних фреквенција [31].

Литература

1. Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* 2003;67:932–49.
2. Martinez H, Davarpanah M, Missika P, Celletti R, Lazzara R. Optimal implant stabilization in low density bone. *Clinical Oral Implants Res* 2001;12:423–32.
3. Ulf L, Zarb GA. Patient selection and preparation. In: Branemark P-I, Zarb GA, Albrektsson T, editors. *Tissue integrated prostheses: osseointegration in clinical dentistry*. Chicago: Quintessence; 1985. p. 199–210.
4. Summers RB. A new concept in maxillary implant surgery: the osteotome technique. *Compendium* 1994;15:152–62.
5. Marković A, Calasan D, Colić S, Stojčev-Stajčić L, Janjić B, Mišić T. Implant stability in posterior maxilla: bone-condensing versus bone-drilling: a clinical study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011;112(5):557–63.
6. Proff P, Bayerlein T, Rottner K, Mai R, Fanghanel J, Gedrange T. Effect of bone conditioning on primary stability of frialit-2 implants. *Clin Oral Implants Res* 2008;19:42–7.
7. Javed F, Romanos GE. The role of primary stability for successful immediate loading of dental implants. A literature review. *J Dent* 2010;38:612–20.
8. Frost HM. The regional acceleratory phenomenon. In: Frost HM, editor. *Intermediary organisation of the skeleton*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1986. p. 109–29.
9. Misić T, Markovic A, Todorovic A, Colic S, Scepanovic M, Milicic B. An in vitro study of temperature changes in type 4 bone during implant placement: bone condensing versus bone drilling. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011;112(1):28–33.
10. Strietzel FP, Nowak M, Kuchler I, Friedmann A. Peri-implant alveolar bone loss with respect to bone quality after use of the osteotome technique. *Clin Oral Implants Res* 2002;13:508–13.
11. Sennerby L, Roos J. Surgical determinants of clinical success of osseointegrated oral implants: a review of the literature. *Int J Prosthodont* 1998;11:408–20.
12. Marković A, Calvo-Guirado JL, Lazić Z, Gómez-Moreno G, Calasan D, Guardia J. et al. Evaluation of primary stability of self-tapping and non-self-tapping dental implants. A 12-week clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2013;15(3):341–9.
13. Rocuzzo M, Aglietta M, Cordaro L. Implant loading protocols for partially edentulous maxillary posterior sites. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009; 24(Suppl):147–57.
14. Novaes AB Jr, de Souza SL, de Barros RR, Pereira KK, Iezzi G, Piattelli A. Influence of implant surfaces on osseointegration. *Braz Dent J* 2010; 21:471–81.
15. Sennerby L, Gottlow J. Clinical outcomes of immediate/early loading of dental implants. A literature review of recent controlled prospective clinical studies. *Aust Dent J* 2008; 53(Suppl 1):S82–S88.
16. Wennerberg A, Galli S, Albrektsson T. Current knowledge about the hydrophilic and nanostructured SLActive surface. *Clin Cosmet Investig Dent* 2011; 3:59–67.
17. Marković A, Čolić S, Šćepanović M, Mišić T, Đinić A, Bhusal DS. A 1-Year Prospective Clinical and Radiographic Study of Early-Loaded Bone Level Implants in the Posterior Maxilla. *Clin Implant Dent Relat Res* 2015;17(5):1004–13.

18. Summers RB. A new concept in maxillary implant surgery: the osteotome technique. *Compendium* 1994;15:154-6.
19. Palma VC, Magro-Filho O, de Oliveria JA, Lundgren S, Salata LA, Sennerby L. Bone reformation and implant integration following maxillary sinus membrane elevation: an experimental study in primates. *Clin Implant Dent Relat Res* 2006;8:11-24.
20. Jungner M, Cricchio G, Salata LA, Sennerby L, Lundqvist C, Hultcrantz M, et al. On the early mechanisms of bone formation after maxillary sinus membrane elevation: an experimental histological and immunohistochemical study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2014; Mar 14. doi: 10.1111/cid.12218
21. Sohn DS, Lee JS, Ahn MR, Shin HI. New bone formation in the maxillary sinus without bone grafts. *Implant Dent* 2008;17:321-31.
22. Pjetursson BE, Ignjatovic D, Matulienė G, Bragger U, Schmidlin K, Lang NP. Transalveolar maxillary sinus floor elevation using osteotomes with or without grafting material. Part II: radiographic tissue remodeling. *Clin Oral Implants Res* 2009;20:677-83.
23. Si MS, Zhuang LF, Gu YX, Mo JJ, Qiao SC, Lai HC. Osteotome sinus floor elevation with or without grafting: a 3-year randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2013;40:396-403.
24. Nedir R, Bischof M, Vazquez L, Nurdin N, Szmukler-Moncler S, Bernard JP. Osteotome sinus floor elevation technique without grafting material: 3-year results of a prospective pilot study. *Clin Oral Implants Res* 2009;20:701-7.
25. Calin C, Petre A, Drafta S. Osteotome-mediated sinus floor elevation: a systematic review and meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2014;29:558-76.
26. Antonaya-Mira R, Barona-Dorado C, Martinez-Rodriguez N, Caceres-Madrono E, Martinez-Gonzalez JM. Meta-analysis of the increase in height in maxillary sinus elevations with osteotome. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2012;17:e146-e152.
27. Marković A, Mišić T, Calvo-Guirado JL, Delgado-Ruiz RA, Janjić B, Abboud M. Two-Center Prospective, Randomized, Clinical, and Radiographic Study Comparing Osteotome Sinus Floor Elevation with or without Bone Graft and Simultaneous Implant Placement. *Clin Implant Dent Relat Res* 2016;18(5):873-82.
28. Nkenke E, Stelzle F. Clinical outcomes of sinus floor augmentation for implant placement using autogenous bone or bone substitutes: a systematic review. *Clin Oral Implants Res* 2009;20(Suppl 4):124-33.
29. Gallucci GO, Morton D, Weber HP. Loading protocols for dental implants in edentulous patients. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009;24 Suppl:132-46.
30. Rocuzzo M, Wilson T. A prospective study evaluating a protocol for 6 weeks' loading of SLA implants in the posterior maxilla: one year results. *Clin Oral Implants Res* 2002;13(5):502-7.
31. Marković A, Colić S, Dražić R, Gacić B, Todorović A, Stajčić Z. Resonance frequency analysis as a reliable criterion for early loading of sandblasted/acid-etched active surface implants placed by the osteotome sinus floor elevation technique. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011;26(4):718-24.

CONTEMPORARY CONSIDERATIONS IN ORAL IMPLANTOLOGY

Aleksa Marković

Clinic for Oral Surgery, Faculty of Dentistry, University of Belgrade

Implant placement in posterior maxilla potentially includes two challenges: low density bone and reduced height of residual alveolar ridge. This qualitative and quantitative bone deficiency results in insufficient implant stability and consequent failure of implants.

In order to improve implant stability in low density bone, lateral bone condensing surgical technique together with self-tapping implant design are recommended. SLActive implant scan predictably achieve and maintain successful tissue integration in low-density bone after undergoing an early loading protocol.

Osteotome sinus floor elevation (OSFE) procedure allows simultaneous implant placement in sites with reduced subantral dimension. The usage of grafting material offers no significant advantage to clinical success of dental implants placed simultaneously with OSFE. An early loading protocol can be used for SLActive implants placed in the posterior maxilla via the OSFE technique if their stability is confirmed by resonance frequency analysis (RFA).

Keywords: low density bone, lateral bone condensing, self-tapping implant, SLActive surface, osteotome sinus floor elevation

Проф. др Алекса Марковић
Клиника за оралну хирургију
Стоматолошки факултет Београд
Ул. Др Суботића 4
11 000 Београд
maleksa64@gmail.com

ПРЕВЕНЦИЈА КРХКОСТИ: ПУТ КА УСПЕШНОМ СТАРЕЊУ?

Драгослав П. Милошевић^{1,2}, Предраг Ерцег^{1,2}

¹Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд

²Клиничко одељење за геријатрију „Проф. др Петар Королија“, Клиника за интерну медицину, Клиничко-болнички центар „Звездара“, Београд

Сажетак

Успешно старење представља концепт који се одликује малом вероватноћом развоја болести и инвалидитета повезаног са болешћу, високим когнитивним и функционалним капацитетом и активним учешћем у животу. Оно је последица утицаја више генетских и спољашњих фактора који доприносе развоју овог фенотипа.

С друге стране, крхкост је стање које се одликује исцрпљеношћу физиолошких резерви бројних органских система и неповољним реакцијама на стресне ситуације. Оно представља клинички синдром који се манифестује губитком тежине, исцрпљеношћу, мишићном слабашћу, смањеном брзином хода и оскудном физичком активношћу. Крхке старе особе су подложне неповољним исходима, односно имају повишен морбидитет и морталитет.

Мере превенције крхкости би се најкраће могле описати као оне које доприносе здравом, односно успешном старењу. Здрава исхрана, регуларна физичка, али и ментална активност, уз уздржавање од штетних навика су доказан „рецепт“ за дуг живот, али и за смањење ризика од хроничних болести и функционалне зависности, што би све требало да допринесе да особа „успешно“ остари.

.Кључне речи: успешно старење, крхкост, превенција

Успешно старење

Појам „успешно старење“ се први пут појавио у геронтолошкој литератури 1987. године када су га Rowe и Kahn дефинисали као концепт који се одликује малом вероватноћом развоја болести и инвалидитета повезаног са болешћу, високим когнитивним и функционалним капацитетом и активним учешћем у животу [1]. Од тада, концепт „успешног старења“, као и слични концепти као што су „здрово старење“, „активно старење“, „позитивно старење“ и „оптимално старење“ су били предмет бројних дискусија и полемика, с обзиром да дотичу нека од основних питања у савременом разумевању процеса старења [2].

Ранија истраживања феномена старења су се углавном усредсређивала на физиолошке промене у старости и њихово разграничавање од патолошких процеса. Прогресивни губитак физиолошких функција организма, уз одсуство болести, је називан „нормалним старењем“. Тиме је занемарена чињеница да су стари веома хетерогена популација и да међу њима има и оних који немају готово никакав губитак функција у односу на млађе, или су те разлике мале. Поред тога, овакав поглед на процес старења је имплицирао природност и неминовност физиолошког пропадања, а самим тим и минимизирао могућност превенције и модификације ових промена [3].

Успешно старење је последица утицаја више генетских и спољашњих фактора који доприносе развоју овог фенотипа. Генетске студије су показале да полиморфизми одређених гена (*APOE*, *GSTT1*, *IL6*, *IL10*, *PON1*, *SIRT3*) имају позитиван или негативан утицај на успешно старење. Мада је утицај наслеђа несумњив, студије са близанцима су показале да оно доприноси успешној старости са тек 20-25% [4]. Већи утицај има здрав стил живота, што укључује адекватну исхрану, редовну физичку активност и уздржавање од алкохола и дувана. Здрав животни стил, с једне стране, смањује ризик од развоја болести (кардиоваскуларних, цереброваскуларних, малигних), а с друге стране, доприноси очувању физичког и менталног функционисања. Студије су показале да је за успешно старење веома важна и социјална подршка [4, 5].

Како укратко описати успешно остареле особе? То су остарели људи без манифестних болести, очуваних физичких и когнитивних функција, са високим нивоом независности и учешћем у социјалним активностима. Ове особе обично умиру мирно, а сам процес умирања није предуг. С друге стране, „неуспешно остареле особе“ пате од манифестних болести, имају лош функционални статус, крхке су и социјално изоловане, умиру дуго и квалитет живота им је знатно нарушен [6].

Крхкост (*frailty*) – нови „геријатријски цин“

Крхкост (енг. *frailty*) је важан и недовољно проучен концепт у геријатријској медицини. Не постоји консензус око дефиниције крхкости, мада се она најчешће описује се као стање које се одликује исцрпљеношћу физиолошких резерви бројних органских система и неповољним реакцијама на стресне ситуације. Крхкост се може дефинисати као синдром у коме особа губи способност да извршава дотадашње активности дневног живота, уколико је изложена малим стресовима као што су банална инфекција, мања хируршка интервенција или увођење новог лека у терапију [7]. Тако крхке старе особе могу од покретних постати непокретне, они који су до тада били стабилни могу постати нестабилни и склони падовима, а код оријентисаних и когнитивно очуваних особа се може развити делиријум [8]. Узимајући у обзир да је крхкост релативно честа у старих и да ови болесници имају повећан морбидитет и морталитет, неки аутори сматрају да се може назвати новим „геријатријским цином“. Геријатријским циновима иначе сматрамо најчешће здравствене проблеме старих, а то су, бар до сада били: деменција, инконтиненција, непокретност, нестабилност и јатрогенеза [9].

Досадашње студије су показале да крхке старе особе имају значајно већи ризик од бројних неповољних догађаја као што су падови, инвалидитет, инфекције или институционализација, као и да је у овој групи смртност далеко већа [8]. Узимајући ово у обзир, препознавање крхкости се намеће као један од веома важних задатака геријатријске медицине. Идентификација крхких особа је важна како због превенције даљег функционалног пропадања и нежељених догађаја, тако и због могућности лечења неких од

потенцијалних узрока овог синдрома, као што је нпр. анемија. Поред тога, препознавање крхкости је значајно и због тога што поједине терапијске процедуре могу код ових особа довести до озбиљних нежељених ефеката и заправо погоршати здравствено стање болесника [8, 10, 11].

Преваленција крхкости расте са старосћу и варира у зависности од дијагностичких критеријума коришћених у појединим студијама, пола, етничке припадности и услова живота. У Европи, преваланција крхкости у старијој популацији износи 17% и најмања је у Швајцарској (5,8%), а највећа у Шпанији (27%) [12]. Истраживања су показала да је крхкост значајно чешћа код жена него код мушкараца [13].

Етиологија крхкости

Етиологија крхкости је комплексна и мултифакторијална и зависи од међусобног утицаја генетских и епигенетских фактора, животних навика, утицаја спољашње средине, као и присуства болести [11]. Код крхких старих особа долази до функционалног пропадања бројних органских система, мада истраживања указују да су за настанак овог феномена најодговорније патофизиолошке промене у имунском, мускулоскелеталном и ендокрином систему [8, 10, 11]. Хронична инфламација игра главну улогу у настанку крхкости кроз патолошки инфламаторни одговор ниског интензитета који није адекватан стимулусима и који перзистира и када се иницијални стимулуси уклоне. Студије су утврдиле да је неколико инфламаторних цитокина (*IL-6*, *CRP*, *TNF α* , *CXC hemokin ligand-10*) повезано са крхкошћу [8]. Инфламација је повезана са анорексијом и катаболичким процесима у скелетним мишићима и масном ткиву што доприноси нутритивном дефициту, мишићној слабости и губитку тежине, што су заправо и основне одлике крхкости [8, 14].

С обзиром да су мишићна слабост и успорена моторика главне манифестације крхкости, саркопенија је кључни фактор који непосредно доприноси појави овог фенотипа у старих. Саркопенија се дефинише као губитак мишићне масе и снаге и код појединих особа се развија прогресивно након 50. године живота. Она је

значајан фактор који доприноси функционалној неспособности. На појаву саркопеније утичу старачке промене на α -моторним неуронима, мишићним влакнима типа I, мишићна атрофија, малнутриција, хормон раста, полни стероидни хормони, физичка активност и већ споменута хронична инфламација [6, 8, 10, 11]. Остеопенија и остеопороза су удружене са синдромом крхкости и могу додатно компромитовати функцију мускулоскелетног система код старих [11].

Промене ендокриног система повезане са старењем такође утичу на појаву крхкости, с обзиром да полни хормони и *IGF-1* имају значајну улогу у метаболизму скелетног мишића. Нагли пад нивоа естрогена у менопаузи и постепено смањење лучења тестостерона код мушкараца доводе до смањења мишићне масе и снаге. Студије су утврдиле значајно ниже вредности дехидроепиандростерона и *IGF-1* код крхких старих особа. Поред тога, показало се и да је ниво кортизола виши код крхких старих жена, као и да је његова диурнална варијација мање изражена. Недостатак витамина Д такође утиче на појаву крхкости, поготово код старијих мушкараца [15].

Хроничне болести директно или индиректно доприносе развоју синдрома крхкости. Конгестивна срчана инсуфицијенција доводи до значајног пада у максималном аеробном капацитету што може довести до функционалне неспособности. У неким случајевима она доводи до едема слузнице црева, транслокације цревних бактерија у лимфатичку и системску циркулацију и активације имунског система и продукције цитокина услед ослобађања бактеријских ендотоксина. Ови процеси доводе до анорексије, саркопеније, губитка телесне масе, хипоалбуминемије и хипохолестеролемије. Бројне друге болести које су честе код старих, као што су хронична опструктивна болест плућа, дијабетес, хипотиреоза и анемија, такође често доводе до појаве крхкости код старих [10].

Дефиниција и клиничка процена крхкости

Крхкост представља клинички синдром који се манифестује губитком тежине, исцрпљеношћу, мишићном слабошћу, смањеном брзином хода и оскудном физичком активношћу [16]. Овај синдром

је некада тешко препознати и често се његове манифестације приписују узнапредовалим хроничним болестима као што је хронична срчана инсуфицијенција или дијабетес. Додатну тешкоћу у препознавању крхкости представља чињеница да управо хроничне болести доприносе развоју овог синдрома и да је у њима појава овог стања честа. Бројне дефиниције крхкости и инструменти који се користе за процену овог стања, као и непостојање консензуса око његове дефиниције такође отежавају препознавање овог синдрома. Данас се у клиничкој процени крхкости највише користе *Fried*-ови критеријуми [7] и Индекс крхкости [17].

Fried-ови критеријуми за крхкост се базирају на фенотипу овог синдрома који према овом аутору подразумева ненамеран губитак телесне тежине (> 4,5 кг током претходне године), мишићну слабост (процењену снагом стиска шаке), малу физичку активност (ниска потрошња енергије), успореност хода и исцрпљеност. Уколико постоји три или више од горе наведених фенотипских одлика, стара особа се сматра крхком. Овај модел крхкости идентификује и стања која претходе крхкости и које овај аутор назива пре-крхким (енг. *pre-frail*) - уколико су испуњени један или два од наведених критеријума. Упрошћени *Fried*-ови критеријуми за крхкост су приказани у табели 1.

Fried-ови критеријуми су тестирани у једној великој кохортној студији са 5300 старих особа и показали су велику предиктивну моћ за појаву дугорочног морбидитета и морталитета [7]. Ова студија је показала да крхке старе особе имају значајно већи ризик од падова, погоршања функционалне способности мерене активностима дневног живота, неспособности, хоспитализација и смрти, као и да је крхкост независан предиктор ових неповољних исхода. Већи ризик за појаву морбидитета и морталитета су имале и пре-крхке особе, мада је он био умерен. Поред тога, пре-крхкост се показала и као предиктор развоја крхкости у овој студији. Важно је напоменути да овај модел не изједначава крхкост са неспособношћу, иако је чињеница да су многе крхке особе функционално неспособне. С друге стране, неспособност не мора увек да подразумева и крхкост. Дobar пример за то су особе које су претрпеле цереброваскуларни инсулт и непокретне су, али не морају бити крхке уколико не испољавају друге манифестације овог синдрома [11].

Табела 1. *Fried*-ови критеријуми за крхкост (упрошћени)

1. Ненамеран губитак телесне масе	>4,5 kg током претходне године
2. Исцрпљеност	Током најмање 3 дана у недељи изводи све активности са напором
3. Физичка активност	Без физичке активности, углавном седи, ретко и кратко хода у току претходне године
4. Брзина хода	Време да пређе 4 m > 6 sec
5. Снага стиска шаке	< 20% за пол и ИТМ

Крхкост = испуњена ≥ 3 горе наведених критеријума; стање које претходи крхкости (*pre-frail*) = 1 или 2 испуњена критеријума

ИТМ = индекс телесне масе

Адаптирано из: Singh M, Stewart R, White H. Importance of frailty in patients with cardiovascular disease. *Eur Heart J* 2014;35:1726–31

Индекс крхкости се базира на свеобухватној геријатријској процени и он у обзир узима далеко већи број варијабли – дефицита који се акумулирају током старости. Дефицити који се прате укључују болести, физичка и когнитивна оштећења, психосоцијалне факторе ризика и геријатријске синдроме (изузев крхкости). Да би се нека од ових варијабли сматрала дефицитом требало би да задовољи следеће критеријуме: 1. да је стечена, 2. да је повезана са старењем, 3. да је удружена са неповољним исходима, 4. да њена учесталост није претерано велика у старијој популацији (да се не приближава вредности од 100%). Индекс крхкости представља однос између примећених дефицита код старе особе и укупног броја посматраних дефицита (обично од 30-70, максимално 80) и изражава се у процентима [11, 17]. Овај индекс је знатно сензитивнији у предвиђању неповољних исхода од *Fried*-овог фенотипског модела, мада је далеко захтевнији и његова примена одузима далеко више времена [11].

Клиничка процена крхкости има значајну улогу у процени ризика од неповољних исхода код бројних болести, као што су кардиоваскуларне и малигне [11]. Код болесика са кардиоваскуларним болестима крхке особе имају значајно лошију

прогнозу од оних без овог синдрома. Тако су на пример крхки болесници (према *Fried*-овим критеријумима) који су подвргнути перкутаној коронарној интервенцији имали значајно већи трогодишњи морталитет у односу на пацијенте без овог фенотипа. Поред тога болесници са акутним коронарним синдромом и крхкошћу су имали значајно већу учесталост срчане смрти, инфаркта миокарда и цереброваскуларног инсульта током дугорочног праћења [18]. Процена крхкости има све већи значај и у геријатријској онкологији, с обзиром да су студије показале већи морталитет и већи ризик од компликација хемотерапије код ових болесника [11]. Уз то, идентификовање крхкости има значајну улогу у преоперативној процени хирушких болесника, имајући у виду већи ризик од компликација код ових болесника.

Превенција и лечење крхкости

Мере превенције крхкости би се најкраће могле описати као оне које доприносе здравом, односно успешном старењу. Здрава исхрана, регуларна физичка, али и ментална активност, уз уздржавање од штетних навика су доказан “рецепт” за дуг живот, али и за смањење ризика од хроничних болести и функционалне зависности, што би све требало да допринесе да особа “успешно” остари.

Интервенције код синдрома крхкости старих особа имају два кључна циља:

1. да превенирају и одложе његову појаву, редукују тежину синдрома, као и да покушају да болесника доведу у претходно стање,
2. да превенирају или редукују појаву неповољних исхода код ових болесника код којих је овај синдром иреверзибилан [11].

Испуњавање ових циљева би требало да донесе огромну корист не само овим болесницима, већ и њиховим породицама и друштву уопште, с обзиром на велике трошкове лечења и потенцијалне институционализације ових особа. Поред редукације морбидитета и морталитета, интервенције усмерене на редукацију тежине или излечење синдрома крхкости имају потенцијал да значајно побољшају квалитет живота ових болесника [8, 11].

Бројна истраживања су показала да интервенције као што су свеобухватна геријатријска процена и програм физичких вежби најбоље могу да одговоре на ове циљеве [8]. Поред тога, у последње време се све чешће говори о скринингу крхкости који би требало да рано открије ово стање, као и она стања која називамо „pre-frail”, а која заправо претходе пуном клиничком испољавању крхкости. До сада је развијено десетак тестова за овај скрининг у примарној лекарској пракси, а изгледа да су се најбоље показали *Tilburg*-ов показатељ крхкости и *SHARE* индекс крхкости [19].

Свеобухватна геријатријска процена је златни стандард у збрињавању крхких старих особа. Она обухвата не само детаљну мултидимензионалну процену старих, већ и прављење терапијског плана, редовне контроле и евалуацију болесника. Ову процену изводи тим који се обично састоји од лекара, медицинске сестре, физиотерапеута, радног терапеута и социјалног радника [20]. Студије су утврдиле да свеобухватна геријатријска процена крхких болесника на специјализованим геријатријским одељењима има позитиван ефекат на ову групу болесника, с обзиром да је примећено да се они чешће враћају у своје домове и да је мања потреба за њиховом институционализацијом. Поред тога, болесници код којих је примењен овај приступ имају мањи интрахоспитални морталитет и код њих је забележена мања учесталост функционалног и когнитивног пропадања него код пацијената који су лечени на општим одељењима [8]. Примена комплексних интервенција базираних на свеобухватној геријатријској процени код амбулантних крхких болесника помаже да они дуже остану независни и живе у својим домовима, а доказано је и да су падови у овој групи ређи. Ипак, изгледа да болесници са најтежим синдромом крхкости и већим бројем дефицита имају најмање користи од интервенција базираних на свеобухватној геријатријској процени [8].

Програм физичких вежби је интервенција која доноси највише користи крхким болесницима. Вежбање има позитивне ефекте на скоро све органске системе, посебно на мускулоскелетални, ендокрини и имунски систем. Више студија је потврдило позитиван утицај физичких вежби на главне компоненте синдрома крхкости као што су мишићна снага и покретљивост [21].

Интервенције усмерене на исхрану крхких особа такође могу имати позитиван утицај, кроз кориговање нутритивних дефицита и повећање телесне масе ових болесника. Подаци из литературе указују да је додавање калоријских суплемената исхрани довело до редукције морталитета и повећања телесне масе код потхрањених болесника. Такође је утврђено да додаток протеинских суплемената доводи до повећања мишићне масе и снаге, повећања телесне масе, и да може деловати синергистички са програмима физичких вежби са отпором код старијих особа. Код особа које имају снижен ниво витамина Д у серуму, корекција овог дефицита доводи до редукције броја падова, прелома кука и смањења морталитета [22].

Фармаколошка терапија крхкости није довољно испитана. Супституција тестостерона у мушкараца може довести до повећања мишићне снаге, али има бројне нежељене ефекте. Терапија естрогенима код жена може имати позитиван ефекат на синдром крхкости, мада и ова терапија носи са собом значајне ризике. Потенцијални фармаколошки агенси за превенцију и лечење крхкости могу бити и статини, с обзиром на њихов антиинфламаторни утицај, као и АСЕ инхибитори, имајући у виду њихово позитивно дејство на мишићну снагу и функцију кардиоваскуларног система. Ипак, за сада не постоји довољно доказа о корисности ове терапије у синдрому крхкости [11]. На крају, када говоримо о фармаколошкој терапији, морамо напоменути и да је доказано да редукција полифармације може имати улогу у превенцији и лечењу крхкости, с обзиром да је она један од значајних фактора који доприносе појави овог клиничког стања [22].

Литература

1. Rowe JW, Kahn RL. Human aging: Usual and successful. *Science* 1987;237:143–9.
2. Bülow MH, Söderqvist T. Successful ageing: a historical overview and critical analysis of a successful concept. *J Aging Stud* 2014;31:139–49.
3. Rowe JW, Kahn RL. Successful aging. *Gerontologist* 1997;37:433–40.
4. Glatt SJ, Chayavichitsilp P, Depp C, Schork NJ, Jeste DV. Successful aging: from phenotype to genotype. *Biol Psychiatry* 2007;62:282–93.
5. Martin P, Kelly N, Kahana B, Kahana E, Willcox BJ, Willcox DC, et al. Defining successful aging: a tangible or elusive concept? *Gerontologist* 2015;55:14–25.

6. Bowker L, Price J, Smith S. Oxford Handbook of Geriatric Medicine (2 ed.). Oxford: Oxford University Press; 2012.
7. Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, et al. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001;56:M146-56.
8. Clegg A, Young J, Iliffe S, Rikkert MO, Rockwood K. Frailty in elderly people. *Lancet* 2013;381:752-62
9. Crome P, Lally F. Frailty: joining the giants. *CMAJ* 2011;183:889-90.
10. Sinclair AJ, Morley JE, Vellas B, editors. *Pathy's Principles and Practice of Geriatric Medicine* (5th ed.). Hoboken, New Jersey: Wiley-Blackwell; 2012.
11. Chen X, Mao G, Leng SX. Frailty syndrome: an overview. *Clin Interv Aging* 2014;9:433-41.
12. Xue QL. The Frailty Syndrome: Definition and Natural History. *Clin Geriatr Med* 2011;27:1-15.
13. Hubbard RE, Rockwood K. Frailty in older women. *Maturitas* 2011;69:203-7.
14. Schaap LA, Pluijm SM, Deeg DJ, Visser M. Inflammatory markers and loss of muscle mass (sarcopenia) and strength. *Am J Med* 2006;119: 526.e9-17.
15. Puts MT, Visser M, Twisk JW, Deeg DJ, Lips P. Endocrine and inflammatory markers as predictors of frailty. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005;63:403-11.
16. Cassel CK, Leipzig RM, Cohen HJ, Larson EB, Meier DE, editors. *Geriatric medicine: an evidence-based approach* (4th edition). New York: Springer-Verlag New York; 2003.
17. Jones DM, Song X, Rockwood K. Operationalizing a frailty index from a standardized comprehensive geriatric assessment. *J Am Geriatr Soc* 2004;52:1929-33.
18. Singh M, Stewart R, White H. Importance of frailty in patients with cardiovascular disease. *Eur Heart J* 2014;35:1726-31.
19. Pialoux T, Goyard J, Lesourd B. Screening tools for frailty in primary health care: a systematic review. *Geriatr Gerontol Int* 2012;12:189-97.
20. Turner G, Clegg A; British Geriatrics Society; Age UK; Royal College of General Practitioners. Best practice guidelines for the management of frailty: a British Geriatrics Society, Age UK and Royal College of General Practitioners report. *Age Ageing* 2014;43:744-7.
21. Theou O, Stathokostas L, Roland KP, Jakobi JM, Patterson C, Vandervoort AA, et al. The effectiveness of exercise interventions for the management of frailty: a systematic review. *J Aging Res* 2011 Apr 3;2011:569194.
22. Morley JE, Vellas B, van Kan GA, Anker SD, Bauer JM, Bernabei R, et al. Frailty consensus: a call to action. *J Am Med Dir Assoc* 2013;14:392-7.

PREVENTION OF FRAILTY: PATH TO SUCCESSFUL AGING?

Dragoslav P. Milosevic^{1,2}, Predrag Erceg^{1,2}

¹*Faculty of Medicine, University of Belgrade, Belgrade*

²*Clinical Department of Geriatrics "Prof. dr. Petar Korolija", Clinic for Internal Diseases "Zvezdara", University Hospital, Belgrade*

Successful aging represents a concept which is distinguished by low probability of developing disease and associated disability, high cognitive and functional capacity, and active participation in life. It is determined by multiple genetic and exogenous factors which contribute to the development of such phenotype.

On the other hand, frailty is a condition which is characterized by exhaustion of physiological reserves of numerous organ systems and unfavorable reaction to stress. It represents a clinical syndrome which is manifested by weight loss, exhaustion, muscle weakness, low walking speed, and poor physical activity. Frail elderly are prone to unfavorable outcomes, namely morbidity and mortality.

Preventive measures against frailty could be described, in short, as ones that contribute to the healthy, i.e. successful aging. Healthy nutrition, regular physical as well as mental activity, and avoiding bad habits are proven "recipe" not only for long life, but also for reducing risk of chronic disease, which altogether should contribute to the "successful" aging.

Keywords: successful, aging, frailty, prevention

Проф. др Драгослав П. Милошевић
Клиничко одељење за геријатрију „Проф. др Петар Королија“
КБЦ „Звездара“
Прешевска 31
11000 Београд
dpmilosevic@gmail.com

ГЕНЕТСКА ПРЕДИСПОЗИЦИЈА ЗА НЕ - МЕДУЛАРНИ КАРЦИНОМ ШТИТАСТЕ ЖЛЕЗДЕ И *DIABETES MELLITUS* ТИП 1

Кармен Станков

Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду

Сажетак

Убрзани напредак биохемије, генетике и фармакологије, довео је до развоја и примене техника и метода у циљу оптималне детекције и мерења биомаркера за откривање предиспозиције и ризика за настанак мултифакторијелних обољења као што су малигнитет штитасте жлезде и тип 1 *diabetes mellitus*-а. Упознавање генетских и епигенетских фактора за предиспозицију проширило је наше разумевање етиологије и патогенезе мултифакторијелних обољења, омогућило је развој и примену ефикасних приступа ране и прецизне дијагностике, као и унапређење терапијских стратегија, уз објашњење улоге интеракције генетских фактора и утицаја чинилаца животне средине на настанак малигнух тумора штитасте жлезде и типа 1 *diabetes mellitus*-а.

Кључне речи: генетска предиспозиција, не-медуларни карцином штитасте жлезде, *diabetes mellitus* тип 1

Увод

Пре свега запамтите да ни један утицај спољашње средине није довољно ефикасан без предиспозиције самог организма. У супротном, спољни фактори који утичу на појединца, утицали би и на остале људе.
– Гален, 200. н.е.

Сведоци смо великог напретка у разумевању етиологије наследних обољења, који је омогућен пре свега брзим развојем метода молекуларне генетике и истраживања генома, као и њихове примене у хуманој генетици. Највећи успех је постигнут у истраживањима ретких моногенских обољења, односно болести изазваних мутацијама које настају најчешће у само једном генском локусу. Насупрот томе, мултифакторијелна обољења, као што су *diabetes mellitus*, кардиоваскуларне, малигне и аутоимунске болести су веома честе у општој популацији, и достижу високу преваленцију. Етиологија ових обољења је комплексна, јер се сматра да су изазвана интеракцијом егзогених (епигенетских) фактора, као што су фактори спољашње средине, стил живота и исхрана, и бројних варијанти генских локуса.

Генетски и епигенетски фактори у етиопатогенези карцинома штитасте жлезде

Малигна обољења представљају специфичну форму комплексних генетских болести. Већину типова малигнух тумора карактерише акумулација аберација у секвенцама гена са патогенетским потенцијалом, а који су специфични за одређени тип тумора. Док се код већине малигнух тумора ове промене јављају услед стечених соматских мутација, неке од мутација се преносе преко герминативног епитела и имају улогу у предиспозицији за настанак наследног малигнитета [1, 2]. Поред детаљно упознатих фактора који су укључени у етиологију карцинома штитасте жлезде, укључујући дефицит јода и изложеност јонизујућем зрачењу, односно генетских фактора (мутација онкогена и тумор супресор гена), испитивање улоге епигенетских модулатора који могу допринети канцерогенези се све више примењује у циљу унапређења дијагностике и лечења. Основне класе епигенетских

поремећаја обухватају метилацију ДНК (деоксирибонуклеинске киселине), модификације хистона и не-кодирajuћих РНК (рибонуклеинских киселина) [3, 4].

Будућност у истраживањима генетике малигнитета представља идентификација гена са високом преваленцијом алела који доприносе мањој или већој предиспозицији за ризик од настанка малигнитета. Традиционалне методе које се заснивају на испитивању потомака оболелих у циљу идентификације гена за предиспозицију не представљају идеалан избор за спровођење овог важног задатка. Једна од могућности је спровођење обимних студија асоцијације (*association studies*, истраживања која испитују разлике у генотипу између здравих припадника опште и популације оболелих), где анализа узорака добијених од великог броја испитаника омогућује детекцију малих варијација у ризику за појаву малигнитета [5].

Коришћењем истог приступа, ми смо усмерили наша истраживања на испитивање генетске предиспозиције за настанак не-медуларног карцинома штитасте жлезде. Породични тип овог тумора (фамилијарни не-медуларни тиреоидни карцином – фНМТК) карактерише некомплетно пенетрантан аутозомно доминантан начин наслеђивања. Сматра се да не-медуларни тиреоидни карцином (НМТК) има учесталост од ~5% свих случајева малигнитета штитасте жлезде [6].

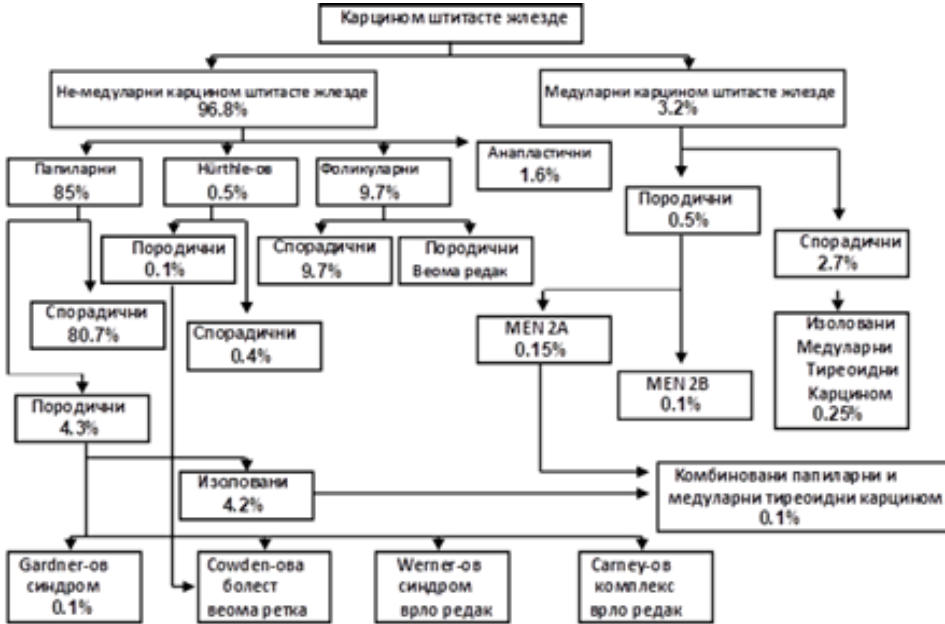
Међу свим ендокриним туморима, карциноми штитасте жлезде представљају најчешће дијагностиковане малигнитете [7]. Годишња инциденција ових тумора порасла је пет пута током последњих седамдесет година. Према регистрима светске здравствене организације, добно-стандардизоване стопе износе 6,1/100.000 за жене и 1,9/100.000 за мушкарце, при чему постоји велика варијабилност у односу на етнички састав становништва различитих региона света [8, 9].

Породице код којих постоји учестало појављивање не-медуларног карцинома штитасте жлезде (фНМТК) се често описују у литератури [10–13], а процењује се да удео фНМТК износи 3–7% свих тумора штитасте жлезде. Дефиниција породичног НМТК је базирана на критеријуму који подразумева постојање породице са најмање два рођака првог колена који су оболели од карцинома штитасте жлезде без појаве других фамилијарних синдрома.

Породични НМТК представља клинички ентитет који карактерише фенотип са испољавањем знатно агресивније форме карцинома штитасте жлезде, него што је то случај са спорадичним малигнитетом, при чему се као клинички ентитет углавном односи на пацијенте оболеле од папиларног (4,3%) или *Hürthle* ћелијског карцинома (0,1%), док се фамилијарни фоликуларни карцином штитасте жлезде јавља веома ретко и сматра се да је узрокован мутацијом гена који кодира рецептор за тиреостимулирајући хормон [14]. Већина публикованих породичних стабала указује на наслеђивање аутозомно доминантног гена са смањеном пенетрантношћу, међутим ни полигенско наслеђивање се не може искључити. Популациона банка података Јуте, САД (*The Utah Population Database*) је коришћена за систематско проучавање породичног појављивања 28 различитих типова малигнитета међу рођацима првог степена код оболелих. Показано је да највећи породични ризик (8,60) постоји у случају карцинома штитасте жлезде, што говори у прилог веома важне улоге генетске предиспозиције у етиологији НМТК [15, 16].

Епидемиолошка истраживања показала су да је инциденција малигних тумора већа међу рођацима првог и другог колена пацијената оболелих од карцинома штитасте жлезде [17]. Стога би било од великог значаја да се установе критеријуми који би омогућили да се у породицама са генетском предиспозицијом за настанак овог типа тумора, као и у широј популацији, идентификују особе са повећаним ризиком. У циљу идентификације гена који су одговорни за породичну склоност ка развоју малигнитета штитасте жлезде, 1996. године је установљен Међународни конзорцијум за испитивање генетске предиспозиције за настанак НМТК. Овај Конзорцијум координира рад 48 центара у 13 земаља, већином у Европи, а укључени су и центри у Аустралији, САД, Канади, Израелу, Мароку и Аргентини. Уз сарадњу клиничара и патолога, и уз подршку породица оболелих, банка узорака садржи 845 узорака ДНК и клиничке информације, пореклом од 261 породице. Истраживања се спроводе уз писану сагласност болесника и надлежних институција. Према нашем сазнању, ова банка представља највећу колекцију узорака породица са повећаном индиценцијом НМТК и обезбеђује веома важну основу за студије чији је циљ идентификација гена одговорних за повећану

предиспозицију за настанак НМТК, а налази се на Медицинском факултету Универзитета у Болоњи, Италија, где је спроведен највећи део наших истраживања [6, 18–22].



Табела 1. Подела малигнух тумора штитасте жлезде са подацима о заступљености у укупном обољевању (MEN 2A и MEN 2B: мултипла ендокрина неоплазија) [1].

Карцином штитасте жлезде је најчешћи малигнитет ендокриног система и представља 90% свих ново-дијагностикованих ендокриних малигнитета. Ови тумори обухватају широки спектар неопластичних фенотипа, од добро диферентованих бенигнух тумора, до малигнух анапластичних карцинома [23]. Карциноми штитасте жлезде према свом биолошком току могу варирати од оних са врло спорим растом (окултни тиреоидни карцином) до тумора које одликује интензивна пролиферација и висок морталитет (анапластични карцином штитасте жлезде). Основна подела малигнух тумора штитасте жлезде се базира на хистолошкој грађи ове жлезде и обухвата медуларни тиреоидни карцином (МТК) који потиче од калцитонин продукујућих Ц-ћелија, и не-медуларни тиреоидни карцином (НМТК), који води порекло од фоликуларних

ћелија штитасте жлезде (Табела 1). Неоплазме штитасте жлезде могу такође водити порекло од свих ћелијских типова, укључујући лимфоците, стромалне и васкуларне елементе, као и метастазе тумора са других локација [13].

Фактори ризика за настанак не-медуларног тиреоидног карцинома

Међу најзначајније факторе ризика за настанак карцинома штитасте жлезде убраја се излагање јонизујућем зрачењу, због осетљивости штитасте жлезде на радиоактивни јод, цезијум и стронцијум. У подручјима са појачаном радијацијом као последицом нуклеарних инцидената или проба, ризик и преваленција појаве папиларног карцинома штитасте жлезде (ПТК) су значајно повећани [24]. Познато је и да терапијско озрачивање може представљати ризик за настанак ПТК. Код радијационог третмана оболелих од Хочкинове болести, карцинома дојке и акни забележен је повишени ризик за настанак малигнитета штитасте жлезде [25].

Дефицит јода, као и његов повећани унос, представљају значајне факторе који доприносе повећању инциденције карцинома штитасте жлезде. Студија спроведена на Исланду, показала је да у регионима где су нивои јода у крви становника екстремно високи услед повећаног уноса исхраном, присутан је повећани ризик за настанак НМТК [26]. Поред наведеног, и дефицит јода је повезан са чешћом појавом карцинома штитасте жлезде, али није нађена значајна корелација [27].

Присуство бенигног обољења штитасте жлезде такође је сугерисано као фактор ризика за развој НМТК [28]. С обзиром да се за 10% тиреоидних нодуса претпоставља да су малигни, развој нодуса представља додатни фактор ризика за развој карцинома штитасте жлезде. Поред тога, и аутоимунска обољења штитасте жлезде доприносе повећаном ризику за настанак малигног тумора [29].

Улога хормоналних фактора у карциногенези штитасте жлезде сугерисана је епидемиолошким подацима који указују на 2–3 пута чешћу појаву свих болести штитасте жлезде код жена [30]. Различите студије су показале да хормонски механизми доводе до повећања

нивоа циркулишућег тиреостимулишућег хормона, што доводи до хиперплазије штитасте жлезде и следствене карциногенезе [31].

Породични ризик за настанак не-медуларног тиреоидног карцинома

Као и у случају бројних других обољења, идентификацију породичног ризика за настанак НМТК компликује и отежава чињеница да се сви чланови породице најчешће налазе у истом окружењу и под дејством веома сличних фактора спољашње средине, а због њихове генетске повезаности је тешко идентификовати кључне етиолошке факторе. Иако се утицај генетских фактора у процесу развоја малигнитета често проучава, тек недавно је породични ризик препознат као важан фактор за настанак НМТК и потврђене су процењене вредности повећаног породичног ризика за обољевање од карцинома штитасте жлезде, који се креће између 5 и 10,4, указујући на вероватноћу породичног аспекта овог обољења [13, 32–34]. Поред НМТК, чланови породица са фНМТК оболевају чешће и од бенигних форми болести штитасте жлезде. Спектар бенигних обољења са повећаном инциденцијом код чланова породица обухвата фоликуларне аденоме, Hürthle ћелијске аденоме, дифузну и мултинодуларну струму, као и аутоимунски тиреоидитис, на основу чега је постулирана хипотеза да бенигна обољења штитасте жлезде представљају предиспонирајући поремећај и фактор ризика за развој фНМТК. Поред спорадичног типа НМТК и породичног фНМТК, не-медуларни карцином штитасте жлезде се јавља и као компонента урођених синдрома са појавом неоплазија, као што су Cowden-ов синдром (OMIM: 158350; *On-line Mendelian Inheritance in Man*), фамилијарна аденоматозна полипоза (ФАП, OMIM: 175100), *Peutz-Jeghers*-ов синдром (OMIM: 175200) или *Carney*-ов комплекс (OMIM: 160980) [35].

Не-синдромске облике породичног НМТК одликује генетска хетерогеност, уз постојање удружености специфичних хистолошких карактеристика и мутација гена. Прецизно идентификовани локуси публиковани су за фНМТК са ћелијском оксифилијом, за папиларни карцином, мултинодуларну струму [11].

Тумори са ћелијском оксифилијом (*tumor cell oxyphilia*) – локус за *TCO1* налази се на хромозому *19p13.2*, за који је установљено да је значајно повезан са појавом фНМТК код чланова породице из Француске [36]. Наведени регион на хромозому 19 садржи и онкоген *JUNB1*, за који је утврђено да не представља каузативни ген [37]. У иницијално испитиваној породици са три генерације, код укупно шест чланова је дијагностикована мултинодуларна струма (*multinodular goiter, MNG*), и код три члана добро диференцирани НМТК (два пацијента са папиларним и један са оксифилним карциномом штитасте жлезде, дијагностиковани у узрасту од 41, 27 и 11 година). Поред наведеног и код осталих чланова породице установљена је појава мултиплих фоликуларних аденома са ћелијском оксифилијом. Додатна испитивања *Bevan*-а и сарадника, код 22 породице са фНМТК, потврдила су повезаност региона који садржи локус *TCO1* са оксифилним туморима штитасте жлезде [38]. Код пацијената са фНМТК, као и спорадичних случајева карцинома штитасте жлезде са ћелијском оксифилијом, анализирали смо губитак хетерозиготности и установили смо да унутар овог локуса постоји тумор супресор ген, код којег губитак једног или оба алела доприноси повећаном ризику за обољевање [20]. Функционална и биохемијска испитивања показала су да оксифилне туморе карактерише пролиферација и акумулација митохондрија, уз дефицит у продукцији енергије и дубоке промене у нуклеарном и митохондријалном геному, као и алтерације у онкогенима, тумор супресор генима и другим кључним генима укљученим у енергетски метаболизам, процесе пролиферације и ћелијске смрти [19]. Узимајући у обзир висок степен агресивности оксифилних тумора штитасте жлезде, како спорадичних тако и породичних облика, даље прецизно упознавање молекуларних и генетских особина ових тумора значајно би допринело даљој идентификацији гена за предиспозицију за настанак оксифилних тумора штитасте жлезде [39].

Фамилијарни папиларни карцином штитасте жлезде/папиларне неоплазме бубрега (*fPTC/PRN*) је локус на хромозому *1q21* за предиспозицију, идентификован код америчке породице са три генерације, у којој је код пет чланова дијагностикован папиларни тиреоидни карцином (ПТК), а код три реналне неоплазме

(папиларни карцином, мултифокални аденоми и један онкоцитом бубрега) [40].

За локус на хромозому *2q21* показано је да је генетски повезан са предиспозицијом за настанак не-медуларног тиреоидног карцинома (локус *NMTC1*), код породице која живи на острву Тасманији [41]. Студија генетске повезаности коју смо спровели код других породица са појавом фНМТК, потврдиле су постојање гена за предиспозицију у овом региону, уз сугестију да постоји интеракција између *TSC0* и *NMTC1* локуса [21].

Код једне португалске породице са пет од укупно једанаест чланова са појавом ПТК, установљена је генетска повезаност са локусом на хромозому *8p23.1-p22* (*FTEN*). Код преосталих шест чланова породице дијагностиковано је присуство бенигнутих тиреоидних нодуса [42].

За регион на хромозому *14q32* показано је да садржи кандидат ген за предиспозицију за фНМТК, а означен је као *MNG1* (multinodular goiter). Наведени локус је идентификован код канадске породице у којој је 18 чланова имало мултинодуларну струму поред два оболела од ПТК [43].

Сви наведени подаци указују да је за фНМТК установљено да представља комплексно наследно обољење које често показује аутозомно-доминантни начин наслеђивања са варијабилном пенетрантношћу. Детаљно упознавање генетских фактора укључених у етиопатогенезу, уз клиничку и хистопатолошку карактеризацију, допринеће бољој дијагностици и класификацији овог хетерогеног обољења, као и разумевању карциногенезе штитасте жлезде, како код породичних тако и код спорадичних облика тумора.

Генетски и епигенетски фактори у етиопатогенези типа 1 *diabetes mellitus-a*

Бројна истраживања спроведена последњих деценија, показала су да тип 1 *diabetes mellitus-a* (Т1Д) представља комплексно обољење, у чијој се етиопатогенези налази интеракција између генетских, епигенетских и фактора спољашње средине [44–48]. Болест се развија услед аутоимунског оштећења инсулин-продукујућих β

ћелија панкреаса и следствене инсуфицијентне продукције инсулина, а најчешће се дијагностикује код деце и адолесцената [49, 50]. Клиничка презентација Т1Д обухвата класични трио симптома (полидипсија, полифагија, полиурија), заједно са хипергликемијом, услед чега постоји потреба за доживотном супституционом терапијом егзогеним инсулином. Једно од најприсутнијих објашњења етиопатогенезе Т1Д засновано је на интеракцији генетских фактора предиспозиције са излагањем факторима спољашње средине, као што су: ентеровируси или ендогени ретровируси; конзумирање протеина млека; изложеност загађивачима из околине; варијације у саставу цревне флоре; концентрација витамина Д у крви [51]. Међутим, до данас није идентификован ни један фактор који би могао пружити универзално објашњење етиологије, што управо поткрепљује велики значај улоге епигенетских фактора у објашњењу комплексности етиопатогенезе мултифакторијелних болести, укључујући Т1Д [52]. Под епигенетском регулацијом подразумевају се сви процеси којима организам човека одговара на изложеност факторима спољашње средине [53]. Пролиферација, диференцијација, метаболизам и регенерација β ћелија панкреаса, представљају процесе који се могу наћи под утицајем епигенетских фактора, укључујући и процесе активације Т ћелија и индукције Т регулаторних ћелија у имунском систему човека. Поред наведеног, метаболизам глукозе и излучивање инсулина, доводе до значајног утицаја на епигеном у ткиву јетре и панкреаса, што може додатно допринети патолошким процесима удруженим са Т1Д. Узимајући у обзир све наведено, акумулација информација о епигенетским механизмима укљученим у развој Т1Д имаће велики значај за даље разумевање овог комплексног обољења, укључујући његову патогенезу, потенцијалне терапијске опције и превенцију [54].

Епидемиолошке студије указују да у свим деловима света Т1Д представља све већи проблем у области јавног здравља, уз пораст инциденције Т1Д код деце [55, 56]. У укупном обољевању од шећерне болести, Т1Д учествује са 10% од свих оболелих, а највећу преваленцију са више од два милиона оболелих Т1Д показује код популације европског порекла [57]. Највећа до сада спроведена метаанализа 540 истраживања публикованих између 1990. и 2015. године допуњена проценама Уједињених нација и Светске

здравствене организације, показала је путем екстраполације и регресионе анализе да је у 2015. години 415 милиона људи старости 20–79 година оболело од *diabetes mellitus*-а, уз морталитет од 5 милиона смртних случајева због шећерне болести (12,8% укупног морталитета), и трошкове лечења од 673 милијарде долара. Процене указују да ће до 2040. године, број оболелих порастати на 642 милиона (уз пораст укупне светске популације на 9 милијарди) [57].

Истраживање публиковано у фебруару 2017. године показује укупне неповољне трендове морталитета од *diabetes mellitus*-а у Србији, анализом података у периоду од 25 година (1991–2015. године) [58]. У наведеном периоду је укупни морталитет од шећерне болести износио више 63.000 смртних случајева (36.000 жена и 27.000 мушкараца), где је стопа морталитета једнака код оба пола (24 на 100.000 становника), чиме се Србија сврстава међу државе са највећом стопом морталитета од шећерне болести у Европи. Од 1991. године, морталитет је код мушкараца сигнификантно повећан за +1,2% годишње (95% CI 0,7 - 1,7), док пораст од +0,2% годишње код жена (95% CI 0,4 - 0,7) није статистички значајан [58]. Анализом резултата показан је тренд смањења морталитета оболелих од типа 2 *diabetes mellitus*-а почевши од 2010. године, али је на супрот овим резултатима, посебно забрињавајући тренд пораста стопе морталитета код пацијената са Т1Д од 2000. године [58]. Анализа је показала да су добно-стандардизоване стопе (*age-standardized rates, ASR*) од 25,5 на 100.000 становника у Србији, два пута више у односу на просечне стопе у другим земљама Европе (12,9 на 100.000 становника). С обзиром да је у Србији регистар оболевања од *diabetes mellitus*-а установљен 2006. године, будуће студије пружиће свеобухватнију анализу овог веома значајног здравственог и друштвеног проблема у Србији [58].

Предикција пораста преваленције *diabetes mellitus*-а код одраслих са 8,8% 2015. године на 10,4% 2040. године, указује на све веће здравствене, друштвене и финансијске импликације шећерне болести, уз хитну потребу имплементације здравствених политика за смањење фактора ризика, као и адекватног приступа лечењу за све оболеле. Глобални значај ове епидемије указује на неопходност континуиране едукације, у циљу превенције и правилне дијагностике и лечења *diabetes mellitus*-а [57].

Преглед генетских фактора у етиопатогенези типа 1 *diabetes mellitus*-а

Аутоимунски процеси представљају основни патогенетски механизам за настанак Т1Д, који се развија услед Т-лимфоцитима посредоване деструкције β ћелија панкреаса. Инфилтрација Лангерхансових острваца макрофагним ћелијама, дендроцитима, и Т лимфоцитима ($CD4+$ и $CD8+$), ограничена је на инсулин-продукујуће β ћелије, док глукагон-продукујуће α и соматостатин-продукујуће δ ћелије панкреаса нису захваћене патолошким процесом. Најзначајнију улогу у аутоимунском оштећењу β ћелија панкреаса и развоју Т1Д имају проинфламаторни цитокини које производе инфилтрирајући леукоцити, у које се убрајају интерлеукин- 1β ($IL-1\beta$), фактор некрозе тумора α ($TNF\alpha$) и интерферон γ ($IFN-\gamma$). Продужено излагање цитокинима доводи до смањеног капацитета β ћелија панкреаса да производе инсулин у одговору на секретаторе и хипергликемију, што као последицу има деструкцију ћелија путем апоптозе или некрозе [59].

Аутоимунски процес уз развој Т1Д најчешће се јавља код деце, са продромалним периодом у којем се код $>90\%$ пацијената јавља сероконверзија (*diabetes mellitus* тип 1А) и у серуму пацијената се могу детектовати аутоантитела против панкреасних аутоантигена. Најзначајнија аутоантитела су инсулин-удружено антитело (IAA), антитело за декарбоксилазу глутаминске киселине (GAD65), аутоантитело за са инсулином-удружени протеин 2 (IA-2), цинк-транспортер 9 ($ZnT8$) и антитело за β ћелијски-специфични протеин повезан са каталитичком субјединицом глукоза-6-фосфатазе (IGRP) [44, 52]. Клинички ток болести указује да је тренутак када се појаве симптоми који воде ка постављању клиничке дијагнозе, моменат у којем је секреторни капацитет већине β ћелија у потпуности изгубљен, стога је процена генетског ризика Т1Д од кључног значаја за превенцију и предвиђање појаве обољења [60]. Примарни фактори ризика за појаву аутоимунског процеса у β ћелијама су генетски фактори код особа које имају специфичне хаплотипове ризика у генима који кодирају синтезу протеина главног комплекса хистокompatбилности (HLA), као што су *HLA-DR3-DQ2* или *HLA-DR4-DQ8* (или оба), уз неопходан окидач у виду егзогених фактора. Патогенеза Т1Д може протицати кроз три основна стадијума: 1.

асимптоматски почетни развој аутоимунског процеса у β ћелијама, уз нормогликемију; 2. напредовање аутоимунског процеса, уз асимптоматску дисгликемију; 3. развој симптома, уз дисгликемију и аутоимунску деструкцију β ћелија [61, 62].

Утврђено је да само 10-15% од новодијагностикованих пацијената са Т1Д има позитивну породичну анамнезу за Т1Д. Међутим, бројна истраживања показују да је повећана предиспозиција за Т1Д наследна, с обзиром да је просечна преваленција повећаног ризика код деце оболелих од Т1Д износи 6% односно 7% код рођака првог степена оболелих, док код монозиготних близанаца ризик износи од 12 – 67,7%, у поређењу са општом популацијом где је укупни ризик само 0,4% [63, 64]. До сада публиковани подаци показују да Т1Д међу свим комплексним болестима представља обољење са највећим породичним ризиком, с обзиром да је релативни ризик за рођаке оболелих 15, уз највишу стопу конкорданце (појаве истог фенотипа) код монозиготних близанаца, у односу на друге аутоимунске болести [65]. Интензивна истраживања у области популационе генетике су током последњих 30 година пружила објашњење за најмање 80% наследних компоненти у етиологији Т1Д, сугеришући примарну улогу бројних алела који доприносе ризику за предиспозицију за Т1Д [66]. Резултати указују да гени који у највећој мери (до 50%) доприносе предиспозицији за Т1Д припадају *HLA* класи II алела, уз бројне друге гене (> 75 локуса) укључујући *HLA* класу I, са алелом *B*39*, односно не-*HLA* гене, као што су ген за инсулин, *CTLA4* (*cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4*), *PTPN22* (*protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22*), *IL2RA* (*interleukin 2 receptor alpha*), *IFIH1* (*interferon induced with helicase C domain 1*), и бројни други откривени локуси, који показују статистички значајну удруженост са појавом Т1Д ($p < 10^{-7}$) [44, 67].

Испитивање моногенских облика Т1Д показало је да постоји значајна хетерогеност у генетској предиспозицији за настанак Т1Д, при чему изучавање моногенских облика Т1Д пружа значајан увид у сигналне механизме и гене укључене у контролу функционалног статуса β ћелија и механизма патогенезе Т1Д [68, 69]. Наследна предиспозиција за Т1Д одређена је комплексним интеракцијама између бројних генетских локуса и фактора спољашње средине. Најчешће алелске варијанте *HLA* класе II припадају алелима на хромозому 6р21, који кодира синтезу високо полиморфних антиген-

представљајућих протеина, од којих су два хаплотипа (*DR4-DQ8* и *DR3-DQ2*) присутни код ~90% деце оболеле од Т1Д [70]. Међу хаплотиповима *HLA* класе II који су значајно удружени са протекцијом од Т1Д чак и у присуству антетела против β ћелија, налазе се *DRB1*1501-DQA1*0102-DQB1*0602* [71]. Примена испитивања повезаности полиморфизама читавог генома са предиспозицијом за Т1Д (*genome-wide association studies, GWAS*), довела је до идентификације 140 региона који показују статистички значајну удруженост са предиспозицијом за аутоимунске болести, укључујући и Т1Д. Процењује се да је најмање 44% полиморфизама (*single nucleotide polymorphisms, SNPs*), присутно код најмање 2 аутоимунске болести, што представља значајан пример биолошке плејотропије (када генетска варијанта или ген има директан биолошки утицај на > 1 фенотипске особине) [72]. Генске варијанте *HLA* класе II гена у *DR* и *DQ* локусима, које су удружене са Т1Д, показују удруженост са предиспозицијом за друге аутоимунске болести као што су реуматоидни артритис, мултипла склероза, системски лупус еритематозус и целијакија [73]. У циљу разумевања патогенезе Т1Д коришћењем података добијених *GWAS* анализом, веома је значајно применити приступ испитивања мреже сигналних путева укључених у развој Т1Д. Овај комбиновани приступ коришћењем методологије секвенцирања нове генерације и *GWAS*, уз детекцију повишених вредности интерферона, пружио је додатне доказе за хипотезу о укључености вируса и њихове интеракције са генетском предиспозицијом домаћина [74]. Још један интересантан увид у патогенезу Т1Д пружио је мапирање Т1Д-удруженог дисеквилибријума блока генетске повезаности (*linkage disequilibrium*), са геном *IL-2/IL-21* који кодира синтезу лиганда и варијанту α субјединице гена *ILRA2*, који кодира синтезу рецептора за *IL-2*. Протеин који је кодиран геном *ILRA2* је повишено експримиран у ефекторним Т ћелијама, уз повишене вредности протективног алела у *CD4+* ћелијама, што представља пример губитка функције активације адаптивног имунског одговора, који је атенуиран у Т1Д. Сnižена експресија *IL-2* цитокина код експерименталних животиња са алелом са повећаним ризиком, резултује супресијом Т регулаторних (*Treg*) ћелија, што указује на комплексну и ћелијски-специфичну регулацију толеранције на сопствене протеине [75]. Иницијација имунског одговора путем

препознавања специфичних антигена од стране трансмембранских Т-ћелијских рецептора (*TcR*) може резултовати покретањем аутоимунског одговора, на шта указују резултати испитивања генетских варијанти које доводе до поремећаја презентације антигена или сигнализације посредоване Т-ћелијама током развоја толеранције на сопствене антигене од стране тимуса. Такве варијанте гена, које доводе до смањења експресије одговора на активацију *TcR*, мапиране су у следећим генским локусима: *PTPN22*, *UBASH3A* и *CTLA4*. Слично генској варијанти *R620W PTPN22*, која може интерферирати са правилном индукцијом толеранције у тимусу услед снижене секреције *IL-2* и *IL-10* од стране Т ћелија под дејством *TcR* активације, варијанта *A17T CTLA4* која је удружена са Т1Д слично утиче на активацију Т-ћелија [76]. Ген *UBASH3A* је специфично експримиран у лимфоцитима, а алел који доводи до повишеног ризика је удружен са повећаном експресијом протеина у лимфобластоидним ћелијским линијама пацијената са Т1Д [77]. Наведени увид у алтерације путева гена чије су варијанте удружене са повишеним ризиком за Т1Д, указује на могуће мете терапијског деловања и развоја транслационих стратегија, чији је пример превенција и заустављање развоја Т1Д код експерименталних животиња суплементацијом *IL-2*, као и открићем малих молекула који делују као инхибитори *Lyp*, протеинског производа гена *PTPN22* [78, 79].

Епигенетски фактори у етиолопатогенези типа 1 *diabetes mellitus-a*

Упркос чињеници да се Т1Д сматра за мултифакторијелно обољење са највећим уделом генетских фактора у етиопатогенези, докази који указују да код монозиготних близанаца постоји некомплетна конкордантност предиспозиције за Т1Д, сугеришу да фактори спољашње средине такође имају веома значајну улогу у патогенези болести. Фактори спољашње средине који не доводе до промене секвенце ДНК, у које се убрајају инфекције, социоекономски и нутритивни фактори, као и утицај навика и стилова живота, индукују алтерације експресије гена путем епигенетских механизма. Аберантне епигенетске модификације, које су укључене у патогенезу бројних обољења човека, односе се на

дисрегулацију експресије гена путем метилације ДНК, модификације хистона и модификације експресије путем микро РНК (*miRNA*). Компаративна испитивања су указала на значајне разлике у епигенетским профилима код пацијената са Т1Д и код здравих особа, као и на епигенетске модификације експресије гена који доприносе предиспозицији за Т1Д. Бројни процеси укључени у патогенезу Т1Д налазе се под дејством епигенетске модификације, укључујући диференцијацију β ћелија, њихов метаболизам и регенерацију, као и имунски одговор у смислу активације Т ћелија и индукције Т регулаторних ћелија [54]. У класе гена које бивају епигенетски модификовани убрајају се гени укључени у презентацију антигена (као што је *HLA* класа гена), индукцију имуне толеранције (*FOXP3* и *CTLA4*), одговор аутореактивних Т ћелија (као што је *GAD65*), и функцију β ћелија (као што је *INS*) [44].

Метилација ДНК представља ткивно-специфични епигенетски механизам ћелијског одговора на стрес, који је есенцијалан за регулацију експресије гена. Ензими ДНК метилтрансферазе катализују стварање ковалентних веза између метил групе и угљеника на *C5* положају у *CpG* (цитозин гуанин) динуклеотидима, најчешће локализованим у промотерским регионима гена, чиме доводе до смањене експресије, тј. „транскрипционог утишавања“ гена. Код аутоимунских болести, укључујући Т1Д, смањена активност ДНК метилтрансферазе удружена је са дисрегулацијом експресије гена, хромозомском нестабилношћу и повећаном предиспозицијом за настанак Т1Д. Бројни нутритивни фактори, укључујући и исхрану са дефицитом метионина, фолне киселине и холина, удружени су са глобалном хипометилацијом [66]. ДНК-специфична хипометилација у хепатоцитима је присутна код анималног модела Т1Д, а настаје као резултат поремећаја метаболизма метил групе и хомоцистеина, што доводи до функционалног дефицита метил групе [80]. Поред наведеног, профили ДНК метилације у седам *CpG* динуклеотидних острваца лоцираних проксимално од старта транскрипције у промотеру гена за инсулин (*INS*), показала су да је код пацијената са Т1Д присутна смањена метилација следећих *CpG* динуклеотида: *CpG-19*, *CpG-135* и *CpG-234* ($p = 2 \times 10^{-16}$), а повећана на позицији *CpG-180*, у поређењу са контролном групом [81]. Најсавременија методологија високо-осетљиве метилација-специфичне квантитативне ланчане реакције

полимеразе, успешно је примењена за детекцију циркулишуће β -ћелијске ДНК у периферној крви експерименталних животиња оболелих од Т1Д, што указује на значајну перспективу у будућем мониторингу β -ћелијске смрти и предикцији појаве Т1Д [82]. Приступ који користи анализу удружености читавог епигенома, и укључује 27.458 различитих CpG динуклеотида у 14.475 промотера гена у моноцитима 15 дисконкордантних парова монозиготних близанаца, идентификовао је 132 различита CpG острвца чије разлике статистички значајно корелирају са присуством Т1Д [83]. Наведена студија укључила је идентификацију Т1Д-специфичних варијабилних позиција код пацијената пре појаве аутоантитела, чиме је указано да епигенетске промене код *HLA* класе II гена, локусу *HLA-DQB1* или *GAD2* (који кодира синтезу GAD65, аутоантигена укљученог у патогенезу Т1Д), претходе појави клиничких манифестација Т1Д [84].

Статус хроматина у области промотера гена, одређује и модулира експресију гена, као одговор на бројне стимулусе. Анализа лимфоцита оболелих од Т1Д, показала је да посттранслационе модификације (ПТМ) N-терминалних аминокиселинских остатака хистона, као што су ацетилација, метилација, фосфорилација или убиквитинација, могу допринети патогенези Т1Д и његових компликација [85]. Истраживања спроведена у циљу идентификације утицаја хипергликемије на кључне хистонске ПТМ, показују промене на нивоу *H3K9ac* (хистон H3 ацетил лизин 9), *H3K9me2* (хистон H3 диметил лизин 9), *H3K9me3* и *H3K9me1*, код промотерских секвенци бројних гена укључених у патогенезу Т1Д. Повишена експресија гена *CTLA4*, који је укључен у патогенезу Т1Д, детектована је у лимфоцитима пацијената са Т1Д у поређењу са здравим особама, као и различити профили метилације *H3K9me2*. Анализом имунопреципитације хроматина, показано је да у моноцитима пацијената са Т1Д постоје значајне алтерације нивоа *H3K9me2* у промотерским регионима *HLA-DRB1* и *HLA-DQB1* унутар локуса предиспозиције за Т1Д [86].

Бројне класе малих некодирајућих РНК могу регулисати гене циљаним дејством на синтетисане транскрипте у цитоплазми, укључујући микро РНК (*miRNA*, *miR*), мале интерферирајуће РНК (*siRNA*), и бројне друге. Хумани геном кодира бројне не-кодирајуће молекуле, укључујући > 1600 прекурсора за микро РНК, након чега

настаје најмање 2237 зрелих молекула *miRNA*. Везивање микро РНК за 3' нетранслиране регионе (3'UTR) на информационој РНК (*messenger RNA, mRNA*), указује на значајну улогу *miRNA* као негативних регулатора експресије гена, укључених у модификацију ћелијских процеса и патогенезе болести [87]. Током иницијалних, претклиничких фаза Т1Д, β ћелије панкреаса су изложене бројним стресогеним стимулусима, који доводе до дисфункције и ћелијске смрти, а што је доведено у везу са повишеним нивоима циркулишућих *miR-375*, које се сматрају маркерима β ћелијске смрти и потенцијалним предиктором Т1Д, пре појаве хипергликемије [88]. У узорцима серума код деце са ново-откривеним Т1Д, резидуална β ћелијска функција и контрола гликемије током прва три месеца клиничког стадијума болести, показала је корелацију са повишеном експресијом *miR-25*, која је детектована у раним фазама након постављања дијагнозе, што потврђује улогу *miR* као клинички применљивих и корисних биомаркера у Т1Д [89].

Детаљно упознавање епигенетских механизма укључених у регулацију експресије гена за предиспозицију за настанак Т1Д, има велики значај у идентификацији гена кандидата чије варијације утичу на епигенетске путеве контроле и превенције Т1Д, и валидацији потенцијалних епигенетских биомаркера за дијагностику, прогнозу, персонализацију терапије и превенцију Т1Д [45].

Сви наведени подаци указују да је Т1Д полигенско аутоимунско обољење комплексне етиологије, изазвано интеракцијом генетских, епигенетских и фактора спољашње средине. Досадашње познавање етиопатогенезе је значајно унапређено анализом генома и епигенома, у циљу идентификације механизма који могу довести до унапређења правовремене детекције оштећења β ћелија панкреаса и предикције појаве Т1Д [44].

Литература

1. Станков К. Генетске и молекуларне карактеристике карцинома штитасте жлезде са ћелијском оксифилијом. Монографија. Нови Сад: Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду; 2006. ИСБН 86-7197-236-4, 172 стр.
2. Kamps R, Brandão RD, Bosch BJ, Paulussen AD, Xanthoulea S, Blok MJ, Romano A. Next-generation sequencing in oncology: genetic diagnosis, risk prediction and cancer classification. *Int J Mol Sci* 2017;18:E308.
3. Feinberg AP, Koldobskiy MA, Göndör A. Epigenetic modulators, modifiers and mediators in cancer aetiology and progression. *Nat Rev Genet* 2016;17:284–99.
4. Rodríguez-Rodero S, Delgado-Álvarez E, Díaz-Naya L, Martín Nieto A, Menéndez Torre E. Epigenetic modulators of thyroid cancer. *Endocrinol Diabetes Nutr* 2017;64:44–56.
5. Price AL, Spencer CCA, Donnelly P. Progress and promise in understanding the genetic basis of common diseases. *Proc R Soc B* 2015;282:20151684.
6. Stankov K, Romeo G. Oxyphilic carcinoma of the thyroid. *Arch Oncol* 2003;11:13–21.
7. Kitahara CM, Sosa JA. The changing incidence of thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol* 2016;12:646–53.
8. La Vecchia C, Negri E. The thyroid cancer epidemic – overdiagnosis or a real increase? *Nat Rev Endocrinol* 2017;13:318–19.
9. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015;65:87–108.
10. Khan A, Smellie J, Nutting C, Harrington K, Newbold K. Familial nonmedullary thyroid cancer: a review of the genetics. *Thyroid* 2010;20:795–801.
11. Ciuni R, Spataro C, Nicosia S, Biondi A, Basile F. Familial Non Medullary Thyroid Cancer: Clinic Cases and Review of literature. *Thyroid Disorders Ther* 2012;1:111.
12. Kraimps JL, Bonin-Pineau MH, Amati P, Mothes D, Bonneau D, Marechaud R. Familial papillary carcinoma of the thyroid. *Surgery* 1997;121:715–8.
13. Bonora E, Tallini G, Romeo G. Genetic predisposition to familial nonmedullary thyroid cancer: an update of molecular findings and state-of-the-art studies. *J Oncol* 2010;2010:385206.
14. Glaire MA, Brown M, Church DN, Tomlinson I. Cancer predisposition syndromes: lessons for truly precision medicine. *J Pathol* 2017;241:226–35.
15. Yang SP, Ngeow J. Familial non-medullary thyroid cancer: unraveling the genetic maze. *Endocr Relat Cancer* 2016;23:577–95.
16. Alsanea O, Clark OH. Familial thyroid cancer. *Curr Opin Oncol* 2001;13:44–51.
17. Vlajinac HD, Adanja BJ, Zivaljevic VR, Jankovic RR, Dzodic RR, Jovanovic DD. Malignant tumors in families of thyroid cancer patients. *Acta Oncol* 1997;36:477–81.
18. Stankov K, Landi S, Gioia-Patricola L, Bonora E, Volante M, Papotti M, Romeo G. GSTT1 and M1 polymorphisms in Hürthle thyroid cancer patients. *Cancer Letters* 2006;240:76–82.
19. Stankov K, Biondi A, D'Aurelio M, Gasparre G, Falasca A, Romeo G, Lenaz G. Mitochondrial activities of cell line derived from thyroid Hürthle cell tumors. *Thyroid* 2006;16:325–31.

20. Stankov K, Pastore A, Toschi L, Kraimps JL, Bonneau D, Gibelin H, et al. Allelic loss on chromosomes 2q21 and 19p13.2 in Hürthle thyroid tumors. *Int J Cancer* 2004;111:463–7.
21. McKay JD, Thompson D, Lesueur F, Stankov K, Pastore A, Watfah C, et al. Evidence for interaction between the TCO and NMTC1 loci in familial non-medullary thyroid cancer. *J Med Genet* 2004;41:407–12.
22. Deleonardi G, Biondi A, D'Aurelio M, Merlo Pich M, Stankov K, Falasca A, et al. Plasma membrane oxidoreductase activity in cultured cells in relation to mitochondrial function and oxidative stress. *Biofactors* 2004;15:265–72.
23. Fagin JA, Wells SA. Biologic and Clinical Perspectives on Thyroid Cancer. *N Engl J Med* 2016; 375:1054–67.
24. Tuttle RM, Becker DV. The Chernobyl accident and its consequences: update at the millennium. *Semin Nucl Med* 2000;30:133–40.
25. Schneider DF, Chen H. New developments in the diagnosis and treatment of thyroid cancer. *CA Cancer J Clin* 2013;63:374–94.
26. Williams ED, Doniach I, Bjarnason O, Michie W. Thyroid cancer in an iodide rich area: a histopathological study. *Cancer* 1977;39:215–22.
27. Belfiore A, La Rosa GL, La Porta GA, Giuffrida D, Milazzo G, Lupo L, et al. Cancer risk in patients with cold thyroid nodules: relevance of iodine intake, sex, age, and multinodularity. *Am J Med* 1992;93:363–9.
28. Ron E, Kleinerman RA, Boice JD Jr, LiVolsi VA, Flannery JT, Fraumeni JF Jr. A population-based case-control study of thyroid cancer. *J Natl Cancer Inst* 1987;79:1–12.
29. Ehlers M, Schott M. Hashimoto's thyroiditis and papillary thyroid cancer: are they immunologically linked? *Trends Endocrinol Metab* 2014;25:656–64
30. Mark P. J. Vanderpump. The epidemiology of thyroid disease. *Br Med Bull* 2011;99:39–51
31. Cordina-Duverger E, Leux C, Neri M, Tcheandjieu C, Guizard AV, Schwartz C, et al. Hormonal and reproductive risk factors of papillary thyroid cancer. *Cancer Epidemiol* 2017;48:78–84
32. Hemminki K, Dong C. Familial relationships in thyroid cancer by histopathological type. *Int J Cancer* 2000;85:201–5.
33. Nosé V. Familial thyroid cancer: a review. *Mod Pathol* 2011;24:19–33.
34. Morrison PJ, Atkinson AB. Genetic aspects of familial thyroid cancer. *Oncologist* 2009;14:571–7.
35. Griffith CC, Seethala RR. Familial non-medullary thyroid cancer: an update on the genetic and pathologic features. *Diagnostic Histopathology* 2016;22:101–7.
36. Canzian F, Amati P, Harach HR, Romeo G. A gene predisposing to familial thyroid tumors with cell oxyphilia maps to chromosome 19p13.2. *Am J Hum Genet* 1998;63:1743–8.
37. Kraimps JL, Canzian F, Jost C, Romeo G. Mapping of a gene predisposing to familial thyroid tumors with cell oxyphilia to chromosome 19 and exclusion of JUN B as a candidate gene. *Surgery* 1999;126:1188–94.
38. Bevan S, Pal T, Greenberg CR. A comprehensive analysis of MNG1, TCO1, fPTC, PTEN, TSHR, and TRKA in familial non-medullary thyroid cancer: confirmation of linkage to TCO1. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3701–4.

39. Gasparre G, Bonora E, Tallini G, Romeo G. Molecular features of thyroid oncocytic tumors. *Mol Cell Endocrinol* 2010;321:67–76.
40. Malchoff CD, Sarfarazi M, Tendler B. Papillary thyroid carcinoma associated with papillary renal neoplasia: genetic linkage analysis of a distinct heritable tumor syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1758–64.
41. McKay JD, Lesueur F, Jonard L, Romeo G. Localization of a susceptibility gene for familial nonmedullary thyroid carcinoma to chromosome 2q21. *Am J Hum Genet* 2001;69:440–6.
42. Cavaco BM, Batista PF, Sobrinho LG, Leite V. Mapping a new familial thyroid epithelial neoplasia susceptibility locus to chromosome 8p23.1-p22 by high-density single-nucleotide polymorphism genome-wide linkage analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:4426–30.
43. Bignell GR, Canzian F, Shayegi M, Goldgar D, Romeo G. Familial nontoxic multinodular thyroid goiter locus maps to chromosome 14q but does not account for familial nonmedullary thyroid cancer. *Am J Hum Genet* 1997;61:1123–30.
44. Stankov K, Benc D, Draskovic D. Genetic and epigenetic factors in etiology of diabetes mellitus type 1. *Pediatrics* 2013;132:1112–22.
45. Wang Z, Xie Z, Lu Q, Chang C, Zhou Z. Beyond Genetics: What Causes Type 1 Diabetes. *Clin Rev Allergy Immunol* 2017;52:273–86.
46. Rewers M, Ludvigsson J. Environmental risk factors for type 1 diabetes. *Lancet* 2016;387:2340–8.
47. Antosik K, Borowiec M. Genetic Factors of Diabetes. *Arch Immunol Ther Exp* 2016;64:157–60.
48. Arroyo-Jousse V, Garcia-Diaz DF, Codner E, Pérez-Bravo F. Epigenetics in type 1 diabetes. *Br J Nutr* 2016;116(11):1861–8.
49. Atkinson MA. The Pathogenesis and Natural History of Type 1 Diabetes. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2:a007641.
50. Steck AK, Rewers MJ. Genetics of Type 1 Diabetes. *Clin Chem* 2011;57:176–85.
51. Thomas IH, Pietropaolo M. Type 1 diabetes: a genetic Pandora's box? *Pediatr Diabetes* 2010;11:511–2.
52. Stankov K. Genetic predisposition for type 1 diabetes mellitus – the role of endoplasmic reticulum stress in human disease etiopathogenesis. *J Med Biochem* 2010;29:139–49.
53. Paul DS, Teschendorff AE, Dang MA, Lowe R, Hawa MI, Ecker S, et al. Increased DNA methylation variability in type 1 diabetes across three immune effector cell types. *Nat Commun* 2016;7:13555.
54. MacFarlane AJ, Strom A, Scott FW. Epigenetics: deciphering how environmental factors may modify autoimmune type 1 diabetes. *Mamm Genome* 2009;20:624–32.
55. Tuomilehto J. The emerging global epidemic of type 1 diabetes. *Curr Diab Rep* 2013;13:795–804.
56. Diaz-Valencia PA, Bougnères P, Valleron AJ. Global epidemiology of type 1 diabetes in young adults and adults: a systematic review. *BMC Public Health* 2015;15:255.
57. Ogurtsova K, da Rocha Fernandes JD, Huang Y, Linnenkamp U, Guariguata L, Cho NH, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. *Diabetes Res Clin Pract.* 2017;128:40–50.

58. Ilic M, Ilic I. Diabetes mortality in Serbia, 1991–2015 (a nationwide study): A joinpoint regression analysis. *Prim Care Diabetes* 2017;11:78–85.
59. Thomas HE, Kay TW. Intracellular pathways of pancreatic β -cell apoptosis in type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Dev* 2011;27:790–6.
60. Nokoff N, Rewers M. Pathogenesis of type 1 diabetes: lessons from natural history studies of high-risk individuals. *Ann NY Acad Sci* 2013;1281:1–15.
61. Pociot F, Lernmark Å. Genetic risk factors for type 1 diabetes. *Lancet* 2016;387:2331–9.
62. Skyler JS, Bakris GL, Bonifacio E. Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. *Diabetes* 2017;66:241–55.
63. Cernea S, Dobreanu M, Raz I. Prevention of type 1 diabetes: today and tomorrow. *Diab Metab Res Rev* 2010;26:602–5.
64. Huber A, Menconi F, Corathers S, Jacobson EM, Tomer Y. Joint genetic susceptibility to type 1 diabetes and autoimmune thyroiditis: from epidemiology to mechanisms. *Endocr Rev* 2008;29:697–725.
65. Polychronakos C, Li Q. Understanding type 1 diabetes through genetics: advances and prospects. *Nat Rev Genet* 2011;12:781–92.
66. Groop L, Pociot F. Genetics of diabetes: are we missing the genes or the disease? *Mol Cell Endocrinol* 2013;382:726–39.
67. Morahan G. Insights into type 1 diabetes provided by genetic analyses. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2012;19:263–70.
68. Zalloua PA, Azar ST, Delépine M, Stankov K, Julier C. WFS1 mutations are frequent monogenic causes of juvenile-onset diabetes mellitus in Lebanon. *Hum Mol Genet* 2008;17:4012–21.
69. Hattersley AT, Patel KA. Precision diabetes: learning from monogenic diabetes. *Diabetologia* 2017;60:769–77.
70. Gilespeie KM. Type 1 diabetes: pathogenesis and prevention. *CMAJ* 2006;175:165–70.
71. Hathout EH, Jartwick N, Fagoaga DR. Clinical, autoimmune, and HLA characteristics of children diagnosed with type 1 diabetes before 5 years of age. *Pediatric* 2003;111:860–3.
72. Solovieff N, Cotsapas C, Lee PH, Purcell SM, Smoller JW. Pleiotropy in complex traits: challenges and strategies. *Nat Rev Genet* 2013;14:483–95.
73. Richard-Miceli C, Criswell LA. Emerging patterns of genetic overlap across autoimmune disorders. *Genome Med* 2012;4:6.
74. Todd JA, Walker NM, Cooper JD. Genetics of type 1 diabetes in Finland: Wellcome Trust Case Control Consortium. Robust associations of four new chromosome regions from genome-wide analyses of type 1 diabetes. *Nat Genet* 2007;39:857–64.
75. Pociot F, Akolkar B, Concannon P. Genetics of type 1 diabetes: what's next? *Diabetes* 2010;59:1561–71.
76. Herold KC, Vignali DA, Cooke A, Bluestone JA. Type 1 diabetes: translating mechanistic observations into effective clinical outcomes. *Nat Rev Immunol* 2013;13:243–56.
77. Barrett JC, Clayton DG, Concannon P. Type 1 Diabetes Genetics Consortium. Genome-wide association study and meta analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes. *Nat Genet* 2009;41:703–7.

78. Grinberg-Bleyer Y, Baeyens A, You S. IL-2 reverses established type 1 diabetes in NOD mice by a local effect on pancreatic regulatory T cells. *J Exp Med* 2010;207:1871–8.
79. Stanford SM, Krishnamurthy D, Falk MD. Discovery of a novel series of inhibitors of lymphoid tyrosine phosphatase with activity in human T cells. *J Med Chem* 2011;54:1640–54.
80. Williams KT, Garrow TA, Schalinske KL. Type I diabetes leads to tissue-specific DNA hypomethylation in male rats. *J Nutr* 2008;138:2064–9.
81. Fradin D, Le Fur S, Mille C. Association of the CpG methylation pattern of the proximal insulin gene promoter with type 1 diabetes. *PLoS ONE* 2012;7:e36278.
82. Husseiny MI, Kuroda A, Kaye AN, Nair I, Kandeel F, Ferreri K. Development of a quantitative methylation-specific polymerase chain reaction method for monitoring beta cell death in type 1 diabetes. *PLoS ONE* 2012;7:e47942.
83. Rakayan VK, Beyan H, Down TA. Identification of type 1 diabetes-associated DNA methylation variable positions that precede disease diagnosis. *PLoS Genet* 2011;7:e1002300.
84. Herold KC, Vignali DA, Cooke A, Bluestone JA. Type 1 diabetes: translating mechanistic observations into effective clinical outcomes. *Nat Rev Immunol* 2013;13:243–56.
85. Li X, Li C, Sun G. Histone Acetylation and Its Modifiers in the Pathogenesis of Diabetic Nephropathy. *J Diabetes Res* 2016;2016:4065382.
86. Miao F, Chen Z, Zhang L. Profiles of epigenetic histone post-translational modifications at type 1 diabetes susceptible genes. *J Biol Chem* 2012;287:16335–45.
87. Guay C, Jacovetti C, Nesca V, Mottrle A, Tugay K, Regazzi R. Emerging roles of non-coding RNAs in pancreatic β -cell function and dysfunction. *Diabetes Obes Metab* 2012;14:12–21.
88. Erener S, Mojibian M, Fox JK, Denroche HC, Kieffer TJ. Circulating miR-375 as a biomarker of β cell death and diabetes in mice. *Endocrinology* 2013;154:603–8.
89. Nielsen LB1, Wang C, Sørensen K. Circulating levels of microRNA from children with newly diagnosed type 1 diabetes and healthy controls: evidence that miR-25 associates to residual beta-cell function and glycaemic control during disease progression. *Exp Diabetes Res* 2012;2012:896362

GENETIC PREDISPOSITION TO NON-MEDULLARY THYROID CANCER AND DIABETES MELLITUS TYPE 1

Karmen Stankov

Faculty of Medicine, University of Novi Sad

Rapid advance in biochemistry, genetics and pharmacology has led to the development and change of techniques and methods with the aim of optimal detection and measurement of biomarkers for detection of predisposition and risks for development of multifactorial disorders such as thyroid cancer and diabetes mellitus type I. Detection of genetic and epigenetic factors for predisposition expanded our understanding of aetiology and pathogenesis of multifactorial disorders, enabling development and application of effective approaches of early and precise diagnosis, as well as improvement of therapeutic strategies, explaining a role of interaction between genetic factors and influence of environment and diabetes mellitus type I.

Keywords: genetic predisposition, non-medullary thyroid cancer, diabetes mellitus type 1

Проф. др Кармен Станков
Медицински факултет у Новом Саду
Хајдук Вељкова 3, 21000 Нови Сад
karmen.stankov@mf.uns.ac.rs

ГОЈАЗНОСТ И ДЕФИЦИЈЕНЦИЈА ВИТАМИНА Д

Едита Стокић

*Клиника за ендокринологију, дијабетес и болести метаболизма, Клинички центар Војводине, Нови Сад
Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду, Нови Сад*

Сажетак

Гојазност се дефинише као болест која се одликује увећањем масне масе тела у мери која доводи до нарушавања здравља и развоја бројних компликација. Последњих година, нарочито у индустријски високо развијеним земљама, гојазност показује тенденцију сталног пораста, тако да данас у свету заузима епидемијске размере. Ово обољење прате одређени коморбидитети, посебно тип 2 шећерне болести, артеријска хипертензија, атерогена дислипидемија, коронарна болест срца и манифестације убрзане атеросклерозе, остеоартритис, као и неке форме малигнитета.

Традиционална улога витамина Д у хомеостази калцијума и метаболичке активниост кости добро је позната. Клиничке и епидемиолошке студије указују на знатно важнију улогу витамина Д у различитим патофизиолошким процесима у односу на раније ставове. Наиме, многи аутори наводе да је витамин Д како потенцијални биомаркер, тако и променљиви фактор ризика за различите кардиометаболичке поремећаје. Витамин Д има повољан учинак на инсулинску секрецију, док је дефицит витамина Д евидентан код гојазних особа и повезан је са смањењем инсулинске

сензитивности. Наша истраживања су утврдила да је преваленција дефицита Д витамина, дефинисаног као ниво 25-хидроксивитамина Д испод 50 *nmol/l*, била 88% код гојазних и 31% код особа са нормалном ухрањеношћу, а концентрација 25-хидроксивитамина Д у серуму била је значајно нижа код гојазних него код нормално ухрањених особа. Истовремено, констатован дефицит витамина Д промовише развој проатерогеног кардиометаболичког профила код гојазних особа. Ниво витамина Д значајно је корелирао са нивоима адипокина који су у великој мери укључени у настанак кардиометаболичких поремећаја код гојазних особа, посебно лептина, резистина и адипонектина. Овакви резултати сугеришу да суплементација витамином Д може своје повољне ефекте у гојазности остваривати кроз модулацију секреције адипоцитокина. Ипак, у перспективи, неопходно је спровођење великих интервентних студија како би се утврдило да ли суплементација витамином Д може бити терапијска опција за побољшање секреторног профила масног ткива и за следствену превенцију настанка кардиометаболичких поремећаја код гојазних особа.

Кључне речи: гојазност, кардиометаболички ризик, Д витамин

Гојазност као болест

Међународна класификација болести јасно идентификује гојазност као хроничну болест [1]. У свакодневној клиничкој пракси дефинише се као болест која се карактерише увећањем масне масе тела у мери која доводи до нарушавања здравља и развоја бројних компликација [2]. Гојазност је један од најстаријих метаболичких поремећаја код човека. О томе сведоче разне скулптуре древних цивилизација, грчке каријатиде, египатске сфинге, као и многе уметничке слике.

Последњих година, нарочито у индустријски високо развијеним земљама, гојазност показује тенденцију сталног пораста. Преваленција гојазности расте глобално, тако да је данас скоро 2 милијарде одраслих прекомерно ухрањено, а 600 милиона је гојазно [3]. Међутим, посебно је забрињавајући податак о све већој

учесталости гојазности код особа млађе животне доби и адолесцената.

Прекомерна телесна ухрањеност и гојазност дефинишу се вредношћу индекса телесне масе (ИТМ) од $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ и $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ [4]. Међутим, количина абдоминалног масног ткива, посебно удео депоа висцералне масти, најпрецизније издваја појединце са повећаним метаболичким и кардиоваскуларним ризиком [5]. Мерење обима струка је брз, приступачан и прецизан начин индиректног одређивања количине интраабдоминалног, висцералног масног ткива [5]. Његово мерење је неопходно за процену ризика постојања инсулинске резистенције, а представља и један од чинилаца метаболичког синдрома, основног клиничког сурогата инсулинске резистенције, који обухвата централну гојазност, повишен крвни притисак, повишену вредност гликемије и дислипидемију [6].

Гојазност прате одређени коморбидитети, посебно тип 2 шећерне болести (Т2ДМ), артеријска хипертензија, атерогена дислипидемија, коронарна болест срца и манифестације убрзане атеросклерозе, обољења гастроинтестиналног, респираторног и репродуктивног система, малигне болести и психосоцијални проблеми [7, 8]. Већина болесника са Т2ДМ је прекомерно ухрањена или гојазна [9], док код трећине гојазних особа постоји неки од поремећаја липида и липопротеина [10]. Чиниоци који повезују прекомерну количину висцералног масног ткива са пратећим кардиометаболичким поремећајима су секреторни производи адипоцита, названи адипоцитокени. Адипоцитокени су биоактивни пептиди укључени у бројне метаболичке путеве, кључне у патогенези различитих кардиометаболичких поремећаја, типично присутних код особа са централним, висцералним типом гојазности [11].

Прекомерно нагомилавање укупног и интраабдоминалног масног ткива узрокује поремећај лучења адипоцитокина (*адипосопатија*), који се манифестује преласком са "протективног" на "дисфункционални" секреторни образац масног ткива, који карактерише повишен ниво инфламације, што је форма тзв. метаболичке инфламације. [12]. То доводи до измењене метаболичке, ендокрине и имунске активности која се налази у основи патофизиолошких механизма настанка различитих

нежељених проатерогених, кардиометаболичких поремећаја повезаних са гојазношћу [13–16].

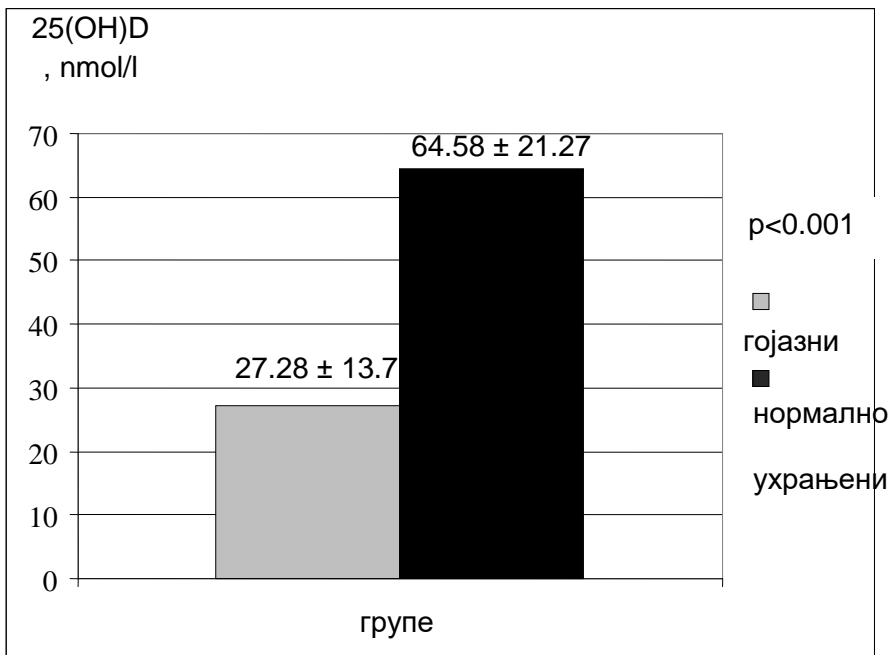
Дефицијенција витамина Д и гојазност

Традиционална улога витамина Д у хомеостази калцијума и метаболичке активниост кости добро је позната. Концентрације 25-хидроксивитамина Д у серуму сматрају се најбољим показатељем укупног нивоа витамина Д. Резултати клиничких и епидемиолошких студија указали су на знатно важнију улогу витамина Д у различитим патофизиолошким процесима у односу на раније ставове. Наиме, многи аутори наводе да је витамин Д како потенцијални биомаркер, тако и променљиви фактор ризика за различите кардиометаболичке поремећаје. Витамин Д има повољан учинак на инсулинску секрецију [17], док је снижен ниво витамина Д повезан са смањеном инсулинском сензитивношћу [18–21]. И заиста, истраживања указују да суплементација витамином Д доводи до побољшања толеранције глукозе и инсулинске сензитивности код болесника са Т2ДМ [22, 23]. Нижи ниво витамина Д је повезан и са повећаним ризиком од настанка инфаркта миокарда [24], али утицај суплементације витамином Д на поремећаје липида још увек није у потпуности разјашњен [25, 26]. Дефицит витамина Д промовише развој проатерогеног кардиометаболичког профила код гојазних особа. Ниво витамина Д значајно корелира са нивоима адипокина који су у великој мери укључени у настанак кардиометаболичких поремећаја код гојазних особа, посебно лептина и адипонектина [27–31]. Неопходна су даља истраживања потенцијалне улоге витамина Д у побољшању секреторне функције масног ткива и у последичној превенцији развоја различитих кардиометаболичких поремећаја повезаних са гојазношћу.

Улога дефицита витамина Д у идентификацији проатерогеног кардиометаболичког ризика код гојазних особа

Преваленција дефицита витамина Д у једној мета анализи била је за 35% већа код гојазних особа у поређењу са нормално ухрањеним особама и за 24% већа него код групе са прекомерном телесном масом. Дефицит витамина Д јасно је био повезан са гојазношћу, без обзира на старост, место истраживања, локацију, као и критеријум за дефинисање дефицита [30]. Свако повећање индекса телесне масе за 1 kg/m^2 доводи до снижења нивоа 25-хидроксивитамина Д за 1,15% [31]. Повезаност дефицита Д витамина и гојазности може се објаснити смањеном изложеношћу сунцу ових особа због седантерног начина живота и његовом већом секвестрацијом у масном ткиву [32, 33]. У нашем испитивању, које је обухватило 50 гојазних особа и 36 особа са нормалном ухрањеношћу, утврдили смо да је преваленција дефицита Д витамина, дефинисаног као ниво 25-хидроксивитамин Д испод 50 nmol/l , била 88% код гојазних и 31% код особа са нормалном ухрањеношћу. Истовремено, концентрација 25-хидроксивитамина Д у серуму била је значајно нижа код гојазних него код нормално ухрањених особа ($27,3 \pm 13,7$ vs. $64,6 \pm 21,3 \text{ nmol/L}$; $p < 0,001$) (Графикон 1) [34]. Поред тога, у читавој испитиваној групи, коефицијенти линеарне корелације између концентрација 25-хидроксивитамина Д у серуму и антропометријских параметара, укључујући телесну масу, индекс телесне масе, обим струка и проценат масне масе тела, били су негативни и значајни [34]. Такође, утврђено је постојање негативне корелације између 25-хидроксивитамина Д и вредности инсулинемије наше и индекса инсулинске резистенције (*HOMA-IR* - *Homeostatic Model Assessment-Insulin Resistance*), као и 25-хидроксивитамин Д са нивоом протективног, ХДЛ-холестерола (*high density lipoprotein cholesterol, HDL*). Закључено је да је повећање степена ухрањености и процента масне масе тела повезано с трендом опадања концентрације 25-хидроксивитамина Д у серуму [34]. Истовремено, са повећањем степена гојазности ниво Д витамина показује тренд опадања што је паралелно праћено развојем проатерогеног кардиометаболичког профила: пораст концентрације ЛДЛ-холестерола (*low density lipoprotein cholesterol, LDL*), триглицерида, крвног притиска, погоршање инсулинске резистенције и снижење нивоа протективног ХДЛ холестерола. Сходно томе, поставља се питање да ли квантификавањем

дефицијенције витамина Д можемо идентификовати гојазне особе са повећаним кардиометаболички ризиком.

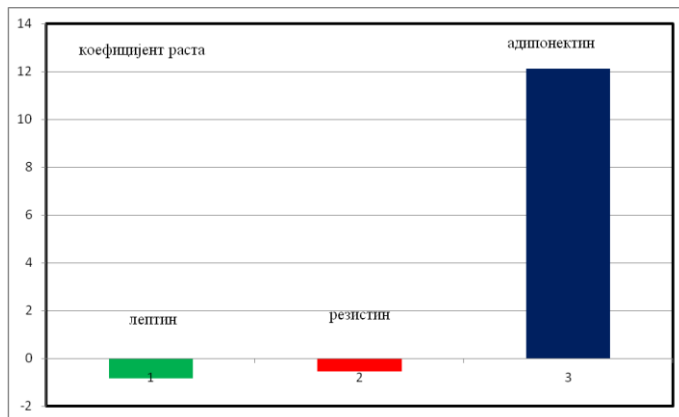


Графикон 1. Средња вредност концентрације 25-хидроксивитамина Д у испитиваним групама гојазних и нормално ухрањених особа

Дефицит Д витамина и дисфункционално масно ткиво код гојазних особа

Дефицијенција витамина Д и адипоцитокени секретовани од стране увећаног, дисфункционалног масно ткива код гојазних особа инволвирани су у настанак и развој кардиометаболичких поремећаја [15, 16]. Лептин је адипокин који је укључен у енергетску хомеостазу и који има значајан утицај на инсулинску сензитивност [35], а његов је ниво директно повезан са количином масног ткива [36]. Изучавањем везе нивоа лептина и Д витамина утврђено је постојање инверзне повезаности нивоа серумског лептина и 25-хидроксивитамина Д, али само код жена [37]. Резистин такође има утицај на метаболизам липида, толеранцију глукозе, те игра важну

улогу у патогенези метаболичког синдрома [38, 39]. Нашим истраживањем показана је негативна корелација између нивоа витамина Д и лептина и резистина, а позитивна корелација са концентрацијама адипонектина ($r = 0,7, p < 0,001$). Процена тренда показала је да повећање нивоа витамина Д прати интензивно повећање концентрације адипонектина (коэффициент раста: 12,13) (Графикон 2) [40]. Ранија истраживања указују на позитивну повезаност нивоа адипонектина у серуму са нивоом 25-хидроксивитамина Д [41], а наши резултати су у сагласности са овим налазима. Клинички значај овог односа треба да буде могућност терапијске интервенције витамином Д код гојазних особа у циљу смањења кардиометаболичког ризика [40]. Наиме, у подгрупи гојазних испитаника са вишим степеном гојазности примећена је значајна позитивна корелација између 25-хидроксивитамин Д и адипонектина. Ова корелација је постала очигледнија након евалуације тренда паралелног повећања нивоа витамина Д и нивоа адипонектина. Све ово указује да промене у количини укупног и абдоминалног масног ткива имају утицај на однос између 25-хидроксивитамина Д и серумског адипонектина [41].



Графикон 2. Процена тренда показује инверзну зависност између нивоа 25-хидроксивитамина Д и лептина и резистина; такође, пораст у нивоу 25-хидроксивитамина Д прати интензивно повећање нивоа адипонектина

Оптимизација процене кардиометаболичког ризика код гојазних болесника са дефицитом Д витамина

У циљу покушаја оптимизације квантификовања нивоа ризика одређивањем нивоа Д витамина проучаван је и значај укључивања нивоа паратироидног хормона (ПТХ) у процес кардиометаболичког профилисања код гојазних особа. Констатована је супериорност израчунавања односа између ПТХ и 25-хидроксивитамина Д током детерминисања глобалног ризика у односу на процењивање овог ризика узимањем само појединачних параметара [42]. Наиме, њихов однос је позитивно корелирао са старошћу, телесном масом, индексом телесне масе, процентом масне масе тела, обимом струка систолним крвним притиском, гликемијом наше, $Lp(a)$ (*lipoprotein(a)*), Ц реактивним протеином и дебљином интима медије каротидних артерија. ПТХ је позитивно корелирао са систолним и дијастолним крвним притиском и гликемијом наше, док 25-хидроксивитамин Д није значајно корелирао са било којим од анализираних параметара [42]. Коначно, током нашег недавног испитивања, које је обухватила 50 гојазних и 30 нормално ухрањених особа, испитали смо комбиноване ефекте магнезијума и витамина Д на индикаторе кардиометаболичког ризика [43]. Међу свим испитаницима, 25-хидроксивитамин Д и укупна концентрација магнезијума су показали негативне линеарне коефицијенте са степеном инсулинске резистенције мереном *HOMA-IR* индексом и са процењеним ризиком од развоја кардиоваскуларних болести, било када су разматрани појединачно или заједнички. Надаље, када су 25-хидроксивитамин Д и укупна концентрација магнезијума посматрани заједно, уочено је више негативних линеарних коефицијената са *HOMA-IR* индексом и са процењеним ризиком од развоја кардиоваскуларних болести, него када су ови параметри разматрани појединачно [43]. Такође, међу испитаницима са укупном концентрацијом магнезијума $< 0,85 \text{ mmol/l}$ уочени су виши негативни линеарни коефицијент између 25-хидроксивитамина Д и *HOMA-IR* индекса и процењеног ризика од развоја кардиоваскуларних болести у односу на испитанике са укупном концентрацијом магнезијума $\geq 0,85 \text{ mmol/l}$, међу којима је и позитиван ефекат 25-хидроксивитамина Д на *HOMA-IR* индекс и процењени ризик од развоја кардиоваскуларних болести био израженији [43]. На крају, указали смо да се код недијабетесних гојазних особа често може уочити истовремено присуство хроничног латентног дефицита магнезијума и недостатка витамина

Д. Истовремено присутни, ови поремећаји излажу гојазне особе повећаном ризику за развој кардиометаболичких поремећаја. Одржавање нормалног нивоа серумског магнезијума може унапредити повољне ефекте, које на индикаторе кардиометаболичког ризика има суплементација витамином Д, на шта су већ указали други аутори [44].

Закључак

У нашем досадашњем истраживачком раду указали смо на вишу преваленцију недостатка витамина Д међу гојазним особама и на снажну повезаност нивоа витамина Д са антропометријским показатељима гојазности и индикаторима дистрибуције масне масе тела, као и са другим обележјима повишеног кардиометаболичког ризика. С друге стране, са вишим нивоом витамина Д, скоро све идентификоване промене кардиометаболичких параметара показују тенденцију опадања, те изгледа да дефицит витамина Д промовише развој проатерогеног кардиометаболичког профила код гојазних особа. Одређивање концентрације витамина Д у серуму може бити корисно у идентификацији особа са вишим кардиометаболичким ризиком и може дати основу за дизајнирање ефикаснијих интервентних студија у популацији гојазних особа. Наши резултати су, такође, указали на негативну корелацију између нивоа 25-хидроксивитамина Д и нивоа лептина и резистина, као и на позитивну повезаност нивоа 25-хидроксивитамина Д са концентрацијом адипонектина у серуму. Линеарна зависност, као и тренд између нивоа серумског 25-хидроксивитамина Д и вредности анализираних адипокина указали су да при постојању виших нивоа витамина Д, нивои лептина и резистина показују тренд пада, док ниво адипонектина показује тренд раста. Ови подаци сугеришу да суплементација витамином Д може своје повољне ефекте у гојазности остваривати кроз модулацију секреције адипокина. Ипак, неопходно је спровођење великих интервентних студија како би се утврдило да ли суплементација витамином Д може бити терапијска опција за побољшање секреторног профила масног ткива и за следствену превенцију настанка кардиометаболичких поремећаја у гојазности.

Ипак, одређивање концентрације витамина Д у серуму остаје корисно средство за процену кардиометаболичког ризика у гојазних особа, посебно у комбинацији са одређивањем и неких других релевантних биохемијских параметара, као што су концентрације паратхормона и магнезијума у серуму.

Литература

1. World Health Organization. The international classification of diseases, 11th revision.
2. Stokić E, editor. Obesity is a disease that is treated. Novi Sad: Faculty of Medicine, University of Novi Sad; 2004.
3. World Health Organization. Obesity and overweight-fact sheet N° 311. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en> Accessed October 1, 2017
4. United Nations. High-level meeting of the general assembly on the prevention and control of non communicable diseases, political declaration, A/66/L.1.
5. Marques-Vidal P, Pecoud A, Hayoz D, Paccaud F, Mooser V, Waeber G, et al. Normal weight obesity: relationship with lipids, glycaemic status, liver enzymes and inflammation. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2010;20:669–75.
6. International Diabetes Federation (2015). The IDF Consensus Worldwide Definition of the Metabolic Syndrome [Internet]. https://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Meta_def_final.pdf. Accessed October 1, 2017
7. Maner JK, Dittmann A, Meltzer AL, McNulty JK. Implications of life-history strategies for obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017;114:8517–22.
8. Hebebrand J, Holm JC, Woodward E, Baker JL, Blaak E, Durrer Schutz D, et al. A proposal of the European Association for the Study of Obesity to improve the ICD-11 diagnostic criteria for obesity based on the three dimensions etiology, degree of adiposity and health risk. *Obes Facts* 2017;10:284–307.
9. Marinou K, Tousoulis D, Antonopoulos A, Stefanadi E, Stefanadis C. Obesity and cardiovascular disease: from pathophysiology to risk stratification. *Int J Cardiol* 2010;138:3–8.
10. Stokic E, Tomic-Naglic D, Djeric M, Jorga J. Therapeutic options for treatment of cardiometabolic risk. *Med Pregl* 2009;62(Suppl 3):54–8.
11. Goossens GH. The role of adipose tissue dysfunction in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. *Physiol Behav* 2008;94:206–18.
12. Kuroda M, Sakaue H. Adipocyte death and chronic inflammation in obesity. *J Med Invest* 2017;64:193–6.
13. Bays H, Abate N, Chandalia M. Adiposopathy: Sick fat causes high blood sugar, high blood pressure, and dyslipidemia. *Future Cardiol* 2005;1:39–59.
14. Bays H, Ballantyne C. Adiposopathy: why do adiposity and obesity cause metabolic disease? *Future Lipidol* 2006;1:389–420.
15. Farb MG, Gokce N. Visceral adiposopathy: a vascular perspective. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2015;21:125–36.

16. Carobbio S, Pellegrinelli V, Vidal-Puig A. Adipose tissue function and expandability as determinants of lipotoxicity and the metabolic syndrome. *Adv Exp Med Biol* 2017;960:161–96.
17. Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. Review: the role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:2017–29.
18. Chiu KC, Chu A, Go VLW, Saad M. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and β cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004;79:820–5.
19. Heaney RP, French CB, Nguyen S, Ferreira M, Baggerly LL, Brunel L, et al. A novel approach localizes the association of vitamin D status with insulin resistance to one region of the 25-hydroxyvitamin D continuum. *Adv Nutr* 2013;4:303–10.
20. Schottker B, Herder C, Rothenbacher D, Perna L, Müller H, Brenner H. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and incident diabetes mellitus type 2: a competing risk analysis in a large population-based cohort of older adults. *Eur J Epidemiol* 2013;28:267–75.
21. Tai K, Need AG, Horowitz M, Chapman IM. Vitamin D, glucose, and insulin sensitivity. *Nutrition* 2008;24:279–85.
22. Nazarian S, St Peter JV, Boston RC, Jones SA, Mariash CN. Vitamin D3 supplementation improves insulin sensitivity in subjects with impaired fasting glucose. *Transl Res* 2011;158:276–81.
23. Hutchinson MS, Figenschau Y, Almas B, Njolstad I, Jorde R. Serum 25-hydroxyvitamin D levels in subjects with reduced glucose tolerance and type 2 diabetes - the Tromso OGTT-study. *Int J Vitam Nutr Res* 2011;81:317–27.
24. Giovannucci E, Liu Y, Hollis BW, Rimm EB. 25-hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men: a prospective study. *Arch Intern Med* 2008;168:1174–80.
25. Wamberg L, Kampmann U, Stodkilde-Jorgensen H, Rejnmark L, Pedersen SB, Richelsen B. Effects of vitamin D supplementation on body fat accumulation, inflammation, and metabolic risk factors in obese adults with low vitamin D levels – results from a randomized trial. *Eur J Intern Med* 2013;24:644–9.
26. Major GC, Alarie F, Dore J, Phouttama S, Tremblay A. Supplementation with calcium vitamin D enhances the beneficial effect of weight loss on plasma lipid and lipoprotein concentrations. *Am J Clin Nutr* 2007;85:54–9.
27. Kempf AM, Li C, Kaur H, Huang TT. Leptin is a marker of body fat and hyperinsulinemia in college students. *J Am Coll Nutr* 2006;55:175–80.
28. Kim M, Na W, Sohn C. Correlation between vitamin D and cardiovascular disease predictors in overweight and obese Koreans. *J Clin Biochem Nutr* 2013;52:167–71.
29. Liu E, Meigs JB, Pittas AG, McKeown NM, Economos CD, Booth SL, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D is associated with markers of the insulin resistant phenotype in non-diabetic adults. *J Nutr* 2009;139:329–34.
30. Pereira-Santos M, Costa PR, Assis AM, Santos CA, Santos DB. Obesity and vitamin D deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev* 2015;16:341–9.

31. Vimalaewaran KS, Berry DJ, Lu C, Tikkanen E, Pilz S, Hiraki LT, et al. Causal relationship between obesity and vitamin D status: bi-directional Mendelian randomization analysis of multiple cohorts. *PLoS Medicine*. 2013;10:e1001383.
32. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000;72:690–3.
33. Trehan N, Afonso L, Levine DL, Levy PD. Vitamin D deficiency, supplementation, and cardiovascular health. *Crit Pathw Cardiol* 2017;16:109–18.
34. Stokić E, Kupusinac A, Tomić-Naglić D, Zavišić BK, Mitrović M, Smiljenić D, et al. Obesity and vitamin D deficiency: trends to promote a more proatherogenic cardiometabolic risk profile. *Angiology* 2014;66:237–43.
35. Kong J, Chen Y, Zhu G, Zhao Q, Li JC. 1,25-dihydroxyvitamin D3 upregulates leptin expression in mouse adipose tissue. *J Endocrinol* 2013;216:265–71.
36. Al Masri M, Romain AJ, Boegner C, Maimoun L, Mariano-Goulart D, Attalin V, et al. Vitamin D status is not related to insulin resistance in different phenotypes of moderate obesity. *Appl Physiol Nutr Metab* 2017;42:438–42.
37. Botella-Carretero JJ, Alvarez-Blasco F, Villafruela JJ, Balsa JA, Vazquez C, Escobar-Morreale HF. Vitamin D deficiency is associated with the metabolic syndrome in morbid obesity. *Clin Nutr* 2007;26:573–80.
38. Karonova T, Belyaeva O, Jude EB, Tsiberkin A, Andreeva A, Grineva E, et al. Serum 25(OH)D and adipokines levels in people with abdominal obesity. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2016;pii:S0960-0760(16)30241-2.
39. De Pergola G, Nitti A, Bartolomeo N, Gesuita A, Giagulli VA, Triggiani V, et al. Possible role of hyperinsulinemia and insulin resistance in lower vitamin D levels in overweight and obese patients. *Biomed Res Int* 2013;2013:921348.
40. Stokić E, Kupusinac A, Tomić-Naglić D, Smiljenić D, Kovacev-Zavisić B, Srdić-Galić B, et al. Vitamin D and dysfunctional adipose tissue in obesity. *Angiology* 2015;66:613–8.
41. Anderson JL, May HT, Horne BD, Bair TL, Hall NL, Carlquist JF, et al. Relation of vitamin D deficiency to cardiovascular risk factors, disease status, and incident events in a general healthcare population. *Am J Cardiol* 2010;106:963–8.
42. Popovic DS, Stokic E, Tomic-Naglic D, Vukovic B, Zivanovic Z, Novakovic-Paro J, et al. Parathyroid hormone to 25-hydroxyvitamin D: a cardiometabolic profile indicator. *Diabetes Stoffwech H* 2015;24:101–4.
43. Stokic E, Romani A, Ilincic B, Kupusinac A, Stosic Z, Isenovic ER. Chronic latent magnesium deficiency decreases positive effects of vitamin D on cardiometabolic risk indicators. *Curr Vasc Pharmacol* 2017 (in press). doi: 10.2174/1570161115666170821154841
44. Farhanghi MA, Mahboob S, Ostadrahimi A. Obesity induced magnesium deficiency can be treated by vitamin D supplementation. *J Pak Med Assoc* 2009;59:258–61.

OBESITY AND VITAMIN D DEFICIENCY

Edita Stokić

Clinic for Endocrinology, Diabetes and Metabolic Diseases, Clinical Center of Vojvodina, Novi Sad
Faculty of Medicine, University of Novi Sad

Obesity is defined as abnormal fat accumulation that may impair health. It is a well-established risk factor for the development of cardiovascular disorders (coronary artery disease, stroke, and myocardial infarction), which are leading causes of death. Also, the increase in fat mass results in metabolic disturbances (hypertension, insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, and dyslipidemia). Secretory products of adipocytes, adipocytokines, have been implicated in the complex pathogenesis of obesity-related metabolic disturbances. Vitamin D has an important role for the regulation of calcium homeostasis, and is suggested to supply a protective effect against multiple diseases and conditions. Numerous clinical and epidemiological studies have proposed a relationship between vitamin D level, obesity and insulin resistance. Namely, many authors report that vitamin D is a potential biomarker and modifiable risk factor for various cardio-metabolic disorders. Vitamin D may act favorably on the insulin secretion, while there are many reports on association between low vitamin D status and reduced insulin sensitivity in obesity. Additionally, in obese patients, there is a suggestion that insulin resistance improves after vitamin D supplementation. In our study, the prevalence of vitamin D deficiency, defined as 25(OH)D (25-hydroxyvitamin D) < 50 nmol/L, was 88% among obese patients and 31% among non-obese individuals and vitamin D levels were lower in the obese group than among non-obese participants. Vitamin D deficiency was associated with a proatherogenic cardio-metabolic risk profile. Our results also demonstrated a negative correlation between 25(OH) D and leptin and resistin levels, while a positive association with serum adiponectin concentrations was found. The linear dependence and trend between 25(OH) D level and analyzed adipokines showed that with the higher vitamin D levels, leptin and resistin show the downward, while adiponectin shows an upward trend. This suggests that vitamin D supplementation may have a beneficial effect in obesity through the modulation of adipocytokine secretions.

Nevertheless, interventional trials are required to establish whether the vitamin D supplementation could be a therapeutic option for improvement of the adipose tissue function and prevention of the obesity related disorders.

Keywords: obesity, cardio-metabolic risk, vitamin D

Проф. др Едита Стокић
Клиника за ендокринологију, дијабетес и болести метаболизма,
Клинички центар Војводине
Хајдук Вељкова 1-3
21 000 Нови Сад
edith@sezampro.rs

ТЕРАПИЈА ХИДРОКСИУРЕЈОМ: ОД ИНХИБИЦИЈЕ МИЈЕЛОПРОЛИФЕРАЦИЈЕ ДО ИНДУКЦИЈЕ ФЕТАЛНОГ ХЕМОГЛОБИНА

Владан П. Чокић

*Лабораторија за молекуларну онкологијуу, Институт за медицинска
истраживања,
Универзитет у Београду*

Сажетак

Код пацијената оболелих од српасте анемије, хидроксиуреја повећава фетални хемоглобин који смањује полимеризацију хемоглобина S и клиничке компликације. Показали смо да су азот моноксид (NO) и његов рецептор, солубилна гуанилат циклаза (sGC), укључени у стимулацију феталног хемоглобина код прогенитора еритропоезе. Хидроксиуреја може директно да реагује са деокси-хемом sGC, преко слободног радикала NO, стварајући гвожђе-нитрозилне деривате који активирају стварање cGMP у ћелијама еритропоезе. Хидроксиуреја повећава стварање NO код ендотелијалних ћелија и макрофага, показујући да је стимулација експресије гена гама-глобина посредована активацијом ензима NO синтазе (NOS) у ћелијама микросредине хематопоезе. Такође, показали смо да хидроксиуреја повећава стварање NO, како краткотрајно фосфорилацијом ендотелијалне изоформе NOS (eNOS), преко протеин киназе A, тако и дуготрајно посттранслационим повећањем количине eNOS протеина, преко инхибиције активности протеазома, у ендотелијалним ћелијама. Хидроксиуреја стимулише стварање cAMP, cGMP и унутарћелијског калцијума неопходног за активацију eNOS код ендотелијалних ћелија. Изнете студије представљају механизам којим краткотрајни и продужени ефекти хидроксиуреје могу утицати на NO у ћелијама код

мијелопролиферативних неоплазми (МПН). Експресија фактора ангиогенезе: хипоксија индуцибилног фактора (*HIF-1α*), фактора раста васкуларног ендотелијума (*VEGF*) и *eNOS* протеина је повећана код циркулишућих гранулоцита и *CD34+* ћелија код оболелих од МПН, али је значајно смањена након терапије хидроксиурејом. Овим се успешност терапије хидроксиурејом може делимично приписати и регулацији фактора ангиогенезе код МПН. Заједничка и слична дејства хидроксиуреје и *NO* појашњавају цитостатску регулацију изражене пролиферације ћелија хематопоезе код МПН.

Кључне речи: хидроксиуреја, азот моноксид, српаста анемија, мијелопролиферативне неоплазме

Увод

Хидроксиуреја (*Hydroxyurea*), или *Hydroxycarbamide* (*HONHCONH₂*), је неалкилирајући, антипролиферативни и мијелосупресивни лек који се користи дуже од 40 година у терапији мијелопролиферативних неоплазми, псоријазе, метастатског меланома, резистентне хроничне мијелоидне леукемије и повратног, метастатског или неоперабилног карцинома оваријума. Исто тако је нашла своју примену у комбинацији са радијационом терапијом, у локалној контроли примарног сквамозног ћелијског карцинома главе и врата. Хидроксиуреја се користи као орална терапија која достиже максималну плазма концентрацију до 1,22 сата након примене [1]. Хидроксиуреја има релативно брзи клиренс са полуживотом од 2-4 сата, док је проценат излучене непромењене хидроксиуреје у урину око 36% [2]. Излучивање хидроксиуреје урином је скоро идентично после оралне и парентералне примене, као и акутни токсични ефекти [1]. Хидроксиуреја има минималну дифузију преко двоструке липидне мембране, али представља супстрат за пет различитих транспортера који припадају фамилијама органских катјон/карнитин транспортера и анјон транспортујућих полипептида, као и транспортерима уреје А и Б, експримираним у ћелијама еритропоезе где преносе хидроксиуреју бидирекционо преко олакшане дифузије [3].

Инхибиција рибонуклеотидне редуктазе са хидроксиурејом

Мања подјединица рибонуклеотидне редуктазе представља циљни ензим за хидроксиуреју [4]. Рибонуклеотидна редуктаза је ензим који претвара рибонуклеотиде у дезоксирибонуклеотиде и неопходан је у синтези ДНК. Краткотрајни азотмоноксиду (NO) - слични радикали из хидроксиуреје су по први пут пронађени у реакцији хидроксиуреје са $R2$ протеином из *E. coli* и миша, показујући да пренос 1-електрона са хидроксиуреје на тирозилни радикал представља главни механизам у инхибицији рибонуклеотидне редуктазе [5]. И NO гас и NO произведен током активације лизата макрофага такође инхибирају рибонуклеотидну редуктазу туморских ћелија. NO -зависна цитостаза почиње са брзом и повратном инхибицијом рибонуклеотидне редуктазе, да би додатно била појачана дуготрајним антипролиферативним дејством [6, 7]. У S фази ћелијског циклуса, рибонуклеотидна редуктаза је састављена од две подјединице $R1$ и $R2$, где мањи $R2$ протеин користи диферични централни атом гвожђа за Fe^{2+} конверзију у Fe^{3+} ради стварања тирозилног слободног радикала неопходног за катализу. Хидроксиуреја и њена оксидована форма се везују за активни остатак *Tyr-176*, неопходан за стварање слободног радикала, спречавају стварање тирозилног радикала и последично инхибирају рибонуклеотидну редуктазу [8]. Хидроксиуреја у једнаком временском распону прекида везе атома гвожђа и радикала код мишјег протеина $R2$, што је пропраћено ослобађањем ферозне Fe^{2+} форме гвожђа из $R2$ протеина [9]. NO такође доводи до отклањања тирозилног радикала на $R2$ протеину, где је дејство слободног радикала NO реверзибилно и пропраћено је повећаним ослобађањем феричне Fe^{3+} форме гвожђа из мишјег $R2$ протеина [6]. Оба јона гвожђа (Fe^{2+}) на позицији централна два атома гвожђа у $R2$ протеину имају могућност везивања NO [10].

Интеракција хидроксиуреје са хемоглобином

Хидроксиуреа је фармаколошка супстанца која се биоактивацијом метаболише *in vivo* у слободни радикал NO . Стварање NO *in vivo* приликом реакције хидроксиуреје са

хемоглобином исувише је споро [11]. Показано је неколико механизма за стварање NO из хидроксиуреје:

- а) посредован каталазом,
- б) уреаза завистан,
- в) катализован пероксидазом рена [11–13].

Хидроксиуреја реагује *in vitro* са деоксихемоглобином српастих ћелија и прави метхемоглобин (*metHb*) и нитрозилни хемоглобин (*HbNO*). Хидроксиуреја реагује и са *metHb* и формира *HbNO* [14]. NO се такође везује за деоксихемоглобин са великим афинитетом [15]. Електронске парамагнетно резонантне (ЕПР) спектралне анализе су показале да петокоординисани *HbNO* комплекс потиче од NO везивања за деоксихемоглобин током интеракције са хидроксиурејом [16]. Хидроксиуреја реагује *in vitro* са *oxyHbA*, *deoxyHbA*, и *metHbA* да би директно пренела NO на атом гвожђа и наградила *HbNO* (2-6% укупних протеина) [17]. ЕПР спектроскопија је показала да стварање *HbNO* обухвата специфичан пренос NO из NHOH групе хидроксиуреје [18]. Афинитет деоксихемоглобина за NO је већи 10^6 -пута у односу на кисеониок и 10^3 -пута у односу на CO. Концентрација кисеоника је ниска у венској крви док је концентрација деоксихемоглобина релативно висока и створени *HbNO* је првенствено у петокоординисаној структури (деокси типа). Реакција хидроксиуреје са деоксихемоглобином се одиграва двоструко брже него са оксихемоглобином [14]. Хидроксиуреја реагује споро са оксихемоглобином и реактивни слободни радикали се стварају током продуженог временског периода, где је NO молекул оксидациони продукт спајања *metHb* и хидроксиуреје [19]. Реакције хемина и феричних форми *HbA*, хемоглобина S (*HbS*) и миоглобина са хидроксиурејом су такође довеле до стварања NO, чинећи хем одговорним за оксидацију хидроксиуреје. Све ово указује да сваки протеин који садржи хем може бити способан да оксидише хидроксиуреју и доведе до стварања NO [16]. Стварање NO из хидроксиуреје може бити молекуларна основа фармаколошке и антитуморске активности хидроксиуреје.

Терапија српасте анемије хидроксиурејом

Фетални хемоглобин (*HbF*) се може повећати код пацијената који су на хемиотерапији, што се може искористити код пацијената са симптоматским хемоглобинопатијама. *HbF* је испитиван код пацијената са мијелопролиферативним неоплазмама (МПН) третираних са хидроксиурејом. Пацијенти су показали повећање *HbF* од 1- 5% и више од 8% док су на хидроксиуреји, да би се са прекидом третмана вратили на мање од 1% *HbF* [20]. Хидроксиуреја такође повећава продукцију *HbF*, хемоглобина, еритроцита и инхибира *in vitro* раст еритроидних колонија из крви пацијената са српастом анемијом [21]. Хидроксиуреја смањује бол, величину слезине, пнеумонију и смртност код пацијената са српастом анемијом, као и број вазооклузивних криза, акутни синдром грудног коша, хоспитализацију и потребе за трансфузијама [22]. Болесници од српасте анемије који су на терапији хидроксиурејом дуже од 9 година имали су смањење смртности од 40% уз повећање *HbF* који спречава формирање српастих ћелија [23]. За високо ризичну децу са српастом анемијом, која су најмање једну годину на трансфузији и без озбиљних васкулопатија, терапија хидроксиурејом може заменити хроничне трансфузије ради одржавања брзине можданог протока крви и превенције можданог удара [24]. Хидроксиуреја смањује деформабилност српастих еритроцита у *in vitro* условима, што потенцијално смањује број истих у *in vivo* условима, не утичући на деформабилност нормалних еритроцита [25]. Стимулишући стварање *HbF* у еритроцитима, хидроксиуреја мења кинетику и термодинамику полимеризације *HbS*. Српасти *HbS* ствара дуге ланце полимера у еритроцитима који отпуштају кисеоник у крв повећавајући чврстину еритроцита. Чврсти српасти еритроцити затварају крвне судове изазивајући вазооклузију и болне епизоде својствене за српасту анемију [26]. Количина растворљивог адхезионог молекула васкуларних ћелија 1 (*VCAM-1*) је повећана код пацијената са српастом анемијом и значајно смањење је регистровано током терапије хидроксиурејом [27]. Утврђено је да и *NO* смањује експресију *VCAM-1* гена [28]. Поред стимулације *HbF*, хидроксиуреја може променити клиничку слику пацијената са српастом анемијом својим утицајем на ендотелијум крвних судова и последично на степен адхеренције различитих крвних ћелија.

Повећана адхезија српастих еритроцита за ендотелијум се сматра за рани корак у вазооклузији, једној од основних обележја српасте анемије [29]. Хидроксиуреја је такође смањила пријањање еритроцита за ендотелијалне ћелије крвних судова у експериментима са *HbA* или *HbS* еритроцитима [30]. Такође, ендогени и екзогени *NO* инхибира пријањање нормалних и српастих еритроцита за ендотелијум [31]. Количине л-аргинина, субстрата за стварање *NO*, су смањене у акутним вазооклузивним кризама код одраслих пацијената са српастом анемијом [32]. Такође и количина издахнутог *NO* је смањена код одраслих са српастом анемијом [33]. Док сам л-аргинин не повећава продукцију серумских метаболита *NO* у стању мировања код пацијената са српастом анемијом, он то чини када се користи заједно са хидроксиурејом [34].

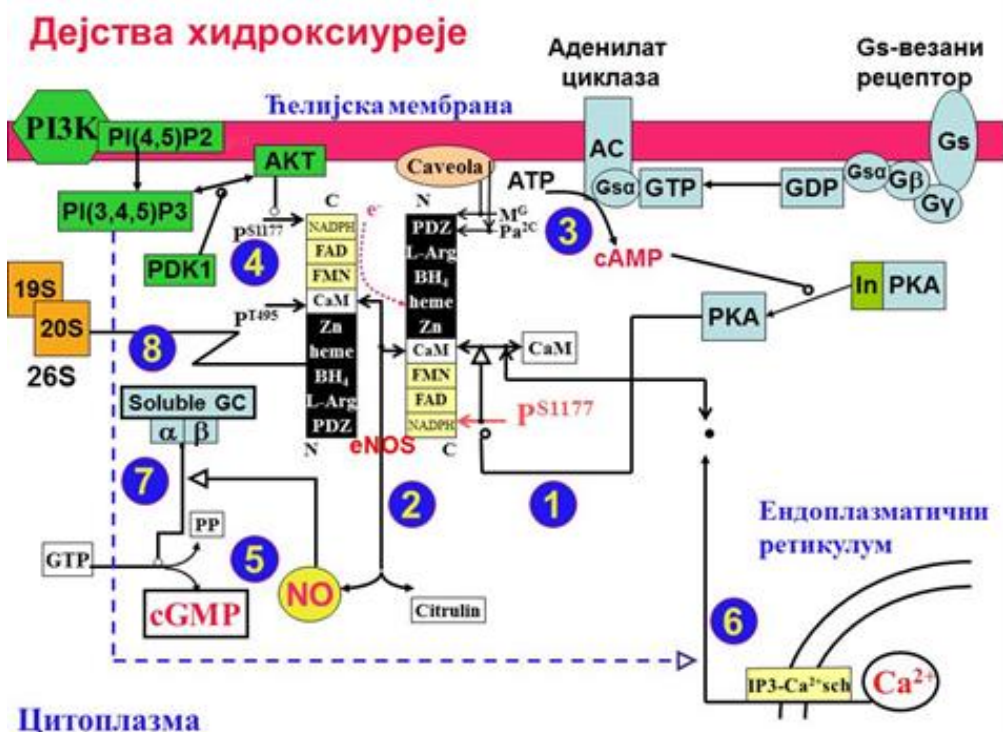


Схема 1. Евалуација дејства хидроксиуреје на нивоу ендотелијалних ћелија.

1. Хидроксиуреја је дозно и временски-зависно индуковала брзу и пролазну фосфорилацију eNOS-а на Ser-1177 у ендотелијалним ћелијама, на превасходно РКА-зависан начин, као и стимулација продукције NO-а.
2. Хидроксиуреја је изазвала eNOS зависно повећање продукције NO-а у ендотелијалним ћелијама.
3. Хидроксиуреја је повећала нивое cAMP у ендотелијалним ћелијама.
4. Стимулација продукције NO-а хидроксиурејом је регулисана механизмом зависним и од АКТ-а.
5. Хидроксиуреја може и директно реаговати са деокси-хемом sGC, правећи комплекс нитрозилованог гвожђа (HbNO), и последично активирајући продукцију cGMP-ја.
6. Повећање унутаћелијске концентрације Ca²⁺ индуковано хидроксиурејом је последица повећаног отпуштања калцијума из ендоплазматичног ретикулума.
7. Хидроксиуреја је повећала нивое cGMP у ендотелијалним ћелијама.
8. Хидроксиуреја повећава нивое протеина eNOS у ендотелијалним ћелијама, тако што спречава његову деградацију инхибицијом активности протеазома 20S.

Стимулација солубилне форме гуанилат циклазе хидроксиурејом

Солубилна гуанилат циклаза (sGC) је хетеродимер и хемопротенин састављен од α и β подјединице са хем групом везаном за остатак хистидина на β 1 подјединици, слично хемоглобину [35]. sGC је рецептор за NO (превасходно слободни радикал NO•) који омогућава NO да се веже директно за феро форму деоксихема (Fe²⁺) и активира ензим [36]. Хидроксиуреја значајно повећава NOx (NO метаболите нитрите и нитрате) и циклични гуанозин монофосфат (cGMP) у плазми пацијената са српастом анемијом, док активацијом sGC и cGMP-зависне протеин киназе стимулише испољавање γ -глобинског гена у ћелијама еритропоезе, на супрот контроли од стране цикличног аденозин монофосфата (cAMP)-зависног сигналног пута [37–40]. Количина cGMP је значајно повећана у

еритроцитима пацијената са српастом анемијом у поређењу са еритроцитима нормалних особа и додатно се повећава током терапије хидроксиурејом [38]. Хидроксиуреја може активирати *sGC* помоћу три независна механизма: сопственом деградацијом у *NO*, стимулацијом активности азот моноксид синтазе (*nitricoxidesynthase - NOS*), или директном интеракцијом са *sGC*. У светлу тих могућности, показали смо да хидроксиуреја може директно да реагује са деокси хемом у центру *sGC* правећи *HbNO* и започне стварање *cGMP* [41]. Такође смо утврдили да хидроксиуреја доводи до повећања *cGMP* и *cAMP* у ендотелијалним ћелијама и прогениторима еритропоезе, као и унутарћелијског калцијума неопходног за активацију ендотелне изоформе *NOS* (*eNOS*), што је илустровано у схеми 1 [41, 42]. Проширили смо испитивања на прогениторе еритропоезе и показали да *NO* доводи до великог повећања унутар ћелијског *cGMP* активацијом *sGC*, али смањује *cAMP* [41]. Деградација *cAMP* је регулисана фосфодиестеразом 3 (*PDE3*) код ћелија еритропоезе, чија активност је инхибирана активацијом *sGC* [43]. Наша даља истраживања су показала да хидроксиуреја, слично *NO*-донорима, повећава количину *cGMP* у ћелијама еритропоезе човека, док су инхибитори *sGC* спречили повећање γ -глобинског гена током стимулације хидроксиурејом и *NO*-донорима, чиме смо представили да је сигнализација преко *NO* укључена у стварање *HbF* [44]. Хидроксиуреја *in vitro* повећава ниво γ -глобина утичући како на ране прогениторе, тако и непосредно на касне прекурсоре еритропоезе већ ангажоване у продукцији хемоглобина [45, 46]. Током стимулације експресије гама глобина хидроксиурејом, одредили смо да су нуклеотид гуанин везујући протеин (*G* протеин)-везани рецептори (*GPCR*) и *GPCR*-стимулисани гени активирани преко *cAMP*/протеин киназе А (*PKA*) и *NO/cGMP* сигналних путева, за које смо претходно показали да су стимулирани током третмана хидроксиурејом, односно током активације *sGC* и *eNOS*, као ензима одговорног за стварање *NO* [47].

Стимулација ензима синтазе азот монооксида хидроксиурејом

Терапија хидроксиурејом је повезана са производњом *NO* унутар крвних судова и еритроцита [27]. Хидроксиурејом стимулисано

стварање *NO* спречено је инхибицијом *NOS*. Показали смо да хидроксиуреја повећава стварање *NO* и *cGMP* преко протеин киназе *A* стимулисаног *eNOS* у ендотелијалним ћелијама [42]. У поменутих нашим огледима, хидроксиуреја је краткотрајно фосфорилисала *eNOS* протеин за неколико минута, док се стварање *NO* одржавало сатима. Утврдили смо да су протеазоми примарни деградациони процес за *eNOS*, као и да инхибиција протеазома доводи до пролонгиране стимулације *NO* у ендотелијалним ћелијама [48]. Ову посттранскрипциону контролу прати повећан ниво *eNOS* протеина након продуженог третмана ендотелијалних ћелија хидроксиурејом и инхибиторима протеазома, док хидроксиуреја инхибира активност протеазома. Стога се да извести закључак да хидроксиуреја дуготрајно стимулише *NO* преко инхибиције протеазомалне деградације *eNOS* ензима [48]. Након ове наше демонстрације, откривена је нова структура названа *H*-хидроксиуреја мотив који је реверзибилни, нековалентни инхибитор специфичан за активно језгро протеазома [49]. Тако да хидроксиуреја доводи како до краткотрајне активације тако и до продужене акумулације *eNOS* ензима. Паракрини ефекат *NO* стимулисаног хидроксиурејом, пореклом из ендотелијалних ћелија микросредине хематопоезе, на ћелије еритропоезе може имати већи физиолошки значај на стимулацију *sGC* него интеракција хидроксиуреје са деокси хемом код *sGC* у ћелијама еритропоезе. Сходно томе, наша истраживања су открила да хидроксиуреја стимулише стварање *NO* преко *NOS* ензима код хуманих макрофага и ендотелијалних ћелија костне сржи, као ћелија микросредине хематопоезе, које у заједничким културама са прогениторима еритропоезе доводе до стимулације генске експресије гама глобина [50]. Међутим, наша паралелна контролна испитивања са брадикинином, као добро познатим стимулатором *NO*, указала су да не може да повећа генску експресију гама глобина како појединачно код прогенитора еритропоезе тако и у њиховим заједничким културама са ендотелијалним ћелијама. Ово указује да краткотрајна и ниска продукција *NO*, индукована брадикином, није довољна за стимулацију експресије гама глобина [51].

Терапија мијелопролиферативних неоплазми хидроксиурејом

Хидроксиуреја је хемиотерапеутски лек који се од 1980-их користи у лечењу МПН укључујући хроничну мијелоидну леукемију, полицитемију веру (ПВ), примарну мијелофиброзу (ПМФ) и есенцијалну тромбоцитемију (ЕТ) [52]. Примена хидроксиуреје смањује раст еритроидних претходника и *CD34+* код ПВ и ЕТ [53]. Деривати *NO* (нитрити и нитрати) су значајно повишени код пацијената оболелих од ЕТ након третмана хидроксиурејом у поређењу са контролама и пацијентима без терапије хидроксиурејом [54]. *NO* инхибира агрегацију тромбоцита преко *sGC* и продукције *cGMP*, док хидроксиуреја такође смањује агрегацију преко *sGC* код пацијената оболелих од хроничне мијелоидне леукемије [55]. *NO* је повећан у плазми пацијената оболелих од ПВ и ЕТ четири сата након почетка терапије хидроксиурејом [56]. Такође је утврђено да *eNOS* има кључну улогу у развоју ангиогенезе изазване са васкуларним ендотелним фактором раста (*VEGF*) [57]. Показали смо да су код МПН повећани фактори ангиогенезе: *eNOS*, *VEGF* и фактор индукције хипоксије (*HIF-1 α*) у гранулоцитима, да би након терапије хидроксиурејом били изразито смањени, што поспешује њен терапијски значај сходно томе да ангиогенеза доприноси развоју мијелофиброзе као крајњег неповољног стадијума болести [58, 59]. Хидроксиуреја смањује број леукоцита и тромбоцита код пацијената оболелих од ПВ, као и број тромбоцита код *JAK2V617F* позитивних пацијената са ЕТ [60]. Међутим хидроксиуреја не може да буде замена за флеботомију где одмах долази до смањења хипервискозности. Хидроксиуреја смањује тромбозу и пруритус код пацијената оболелих од МПН, док је смањење слезине нестабилно, а код ЕТ спречава пролазни исхемијски напад. Показано је да хидроксиуреја смањује присуство *JAK2V617F* мутације код ПВ и ЕТ пацијената само током третмана, али не и након прекида терапије [61–63]. Међутим, друга студија није показала значајно смањење оптерећења *JAK2V617F* мутацијом током третмана хидроксиурејом [64]. Оптерећење *JAK2V617F* мутацијом је повезано са развојем мијелофиброзе код ПВ, али не и са појавом акутне мијелоидне леукемије (АМЛ) [65, 66]. На основу препоруке за 2017. годину, сви пацијенти са ПВ захтевају флеботомију ради одржавања

хематокрита испод 45% и аспирин. Пацијенти са ПВ и високим ризиком захтевају циторедуктивну терапију. Пацијенти са ЕТ и изразито нискима ризиком могу бити без терапије, док они са ЕТ и ниским ризиком захтевају једнодневну терапију аспирином. Циторедуктивна терапија је препоручљива за ЕТ пацијенте са високим ризиком али није обавезна за оне са средњим ризиком. Лек избора у циторедуктивној терапији код ЕТ и ПВ је хидроксиуреја, а као лекови другог реда су интерферон алфа и бусулфан. Не препоручује се терапија руксолитинибом или другим ЈАК2 инхибиторима код ПВ и ЕТ, изузев у присуству јаког и продуженог пруритуса или изражене спленомегалије који не реагују на претходно поменути терапију [67]. Према *RESPONSE* клиничкој студији *Janus kinase 1/Janus kinase 2* инхибитор руксолитиниб је успешна дуготрајна терапија код пацијената са ПВ који показују резистенцију или интолеранцију на хидроксиуреју [68]. Пацијенти оболели од ПВ на терапији хидроксиурејом имају укупну стопу одговора од приближно 90% (24% комплетан одговори 66% делимичан одговор, по критеријумима *European Leukemia Net*) са мање тромбоемболија [69]. Међутим, приближно 24% пацијената развиће резистенцију (11%) или интолеранцију (13%) на хидроксиуреју током времена [70]. Резистенција на хидроксиуреју доводи до агресивног тока болести код пацијената са ПВ: 5-6 пута повећану смртност и 6,8 пута повећан ризик за трансформацију у мијелофиброзу или АМЛ [70].

Утицај хидроксиуреје на прогресију мијелопролиферативних неоплазми

Стопа трансформације у акутну леукемију после 20 година процењена је на < 10% за ПВ и 5% за ЕТ, док је фиброзна трансформација нешто чешћа. Циљ терапије код ПВ и ЕТ је смањити васкуларне компликације, а на дуготрајном плану предупредити развој мијелофиброзе, АМЛ и мијелодиспластичног синдрома (МДС). Прве студије нису нашле повећан ризик за МПН трансформацију у АМЛ или МДС након терапије са хидроксиурејом (64 пацијената, 3 године праћења) [71, 72]. Слично је показано и у већим студијама са 231 и 604 пацијента оболелих од ЕТ

[73, 74], као и код 1545 и 1638 пацијената оболелих од ПВ, када је у питању трансформација у леукемију [75, 76]. Две студије мањег обима су показале леукемогену природу хидроксиуреје код МПН, са инциденцом МДС од 14% (35 пацијената, 7,8 година праћења) и АМЛ од 10,5% (50 пацијената, дуготрајна проспективна студија) [77, 78]. У студији са 459 пацијената оболелих од ПВ, показано је да хидроксиуреја нема значајног утицаја на развој мијелофиброзе [79]. Међутим, у једној дуготрајној студији (16,3 године у просеку) са 94 ПВ пацијента на терапији само хидроксиурејом показана је кумулативна инциденца трансформације у АМЛ/МДС од 7,3%, 10,7% и 16,6% након 10, 15 и 20 година праћења, док је кумулативна инциденца трансформације у мијелофиброзу била 15,4%, 24,3% и 31,6% након 10, 15 и 20 година праћења. Ова дуготрајна проспективна рандомизирана студија показала је већи степен трансформације ПВ у АМЛ током терапије хидроксиурејом али без доказа да је ризик за настанак леукемије повезан са хидроксиурејом у контексту еволутивне природе ПВ-а у АМЛ [80]. У клиничкој студији са 311 пацијената оболелих од ПМФ, утврђено је да хидроксиуреја не доводи до леукемичне трансформације болести [81], а у студији од 340 пацијената са ПМФ показано је да хидроксиуреја не доприноси значајно развоју мијелофиброзе, већ је последица тока саме болести [82].

Закључак

У приложеним резултатима изнели смо паралелан механизам дејства хидроксиуреје и *NO* на стимулацију *HbE*, неопходног за замену мутираног *HbA* (*HbS*) код српасте анемије, као и стимулацију *NO/cGMP* сигналног пута од стране хидроксиуреје како у микросредини хематопоезе тако и у прогениторима еритропоезе. Појаснили смо и хемијску природу интеракције хидроксиуреје и *sGC*, која се одвија преко молекула *NO*. Значај терапије хидроксиурејом код МПН је приказан кроз инхибицију ангиогенезе као предуслова за развој мијелофиброзе, док су претходне клиничке студије изнеле да хидроксиуреја нема утицаја на мијелофиброзу или је развој мијелофиброзе комбинација дејства хидроксиуреје и природног тока болести. Занимљиво је да и поред интензивних

клинички студија за циљану терапију ЈАК2 инхибиторима, цитостатик хидроксиуреја представља терапију избора код МПН.

Литература

1. Rodriguez GI, Kuhn JG, Weiss GR, Hilsenbeck SG, Eckardt JR, Thurman A, et al. A bioavailability and pharmacokinetic study of oral and intravenous hydroxyurea. *Blood* 1998;91(5):1533–41.
2. Ware RE, Despotovic JM, Mortier NA, Flanagan JM, He J, Smeltzer MP, et al. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and pharmacogenetics of hydroxyurea treatment for children with sickle cell anemia. *Blood* 2011;118(18):4985–91.
3. Walker AL, Franke RM, Sparreboom A, Ware RE. Transcellular movement of hydroxyurea is mediated by specific solute carrier transporters. *Exp Hematol* 2011;39(4):446–56.
4. Krakoff IH, Brown NC, Reichard P. Inhibition of ribonucleoside diphosphate reductase by hydroxyurea. *Cancer Res* 1968;28:1559–65.
5. Lassmann G, Thelander L, Graslund A. EPR stopped-flow studies of the reaction of the tyrosyl radical of protein R2 from ribonucleotide reductase with hydroxyurea. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;188:879–87.
6. Lepoivre M, Flaman JM, Bobe P, Lemaire G, Henry Y. Quenching of the tyrosyl free radical of ribonucleotide reductase by nitric oxide. Relationship to cytostasis induced in tumor cells by cytotoxic macrophages. *J Biol Chem* 1994;269:21891–7.
7. Kwon NS, Stuehr DJ, Nathan CF. Inhibition of tumor cell ribonucleotide reductase by macrophage-derived nitric oxide. *J Exp Med* 1991;174:761–7.
8. Iman M, Khansefid Z, Davood A. Modeling and Proposed Molecular Mechanism of Hydroxyurea Through Docking and Molecular Dynamic Simulation to Curtail the Action of Ribonucleotide Reductase. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* 2016;11(4):461–8.
9. Nyholm S, Thelander L, Gräslund A. Reduction and loss of the iron center in the reaction of the small subunit of mouse ribonucleotide reductase with hydroxyurea. *Biochemistry* 1993;32(43):11569–74.
10. Haskin CJ, Ravi N, Lynch JB, Münck E, Que L Jr. Reaction of NO with the reduced R2 protein of ribonucleotide reductase from *Escherichia coli*. *Biochemistry* 1995;34(35):11090–8.
11. Lockamy VL, Huang J, Shields H, Ballas SK, King SB, Kim-Shapiro DB. Urease enhances the formation of iron nitrosyl hemoglobin in the presence of hydroxyurea. *Biochim Biophys Acta* 2003;1622:109–16.
12. Huang J, Kim-Shapiro DB, King SB. Catalase mediated nitric oxide formation from hydroxyurea. *J Med Chem* 2004;47:3495–501.

13. Huang J, Sommers EM, Kim-Shapiro DB, King SB. Horseradish peroxidase catalyzed nitric oxide formation from hydroxyurea. *J Am Chem Soc* 2002;124:3473–80.
14. Kim-Shapiro DB, King SB, Shields H, Kolibash CP, Gravatt WL, Ballas SK. The reaction of deoxy-sickle cell hemoglobin with hydroxyurea. *Biochim Biophys Acta* 1999;1428:381–7.
15. Westenberger U, Thanner S, Ruf HH, Gersonde K, Sutter G, Trentz O. Formation of free radicals and nitric oxide derivative of hemoglobin in rats during shock syndrome. *Free Radic Res Commun* 1990;11:167–78.
16. Glover RE, Ivy ED, Orringer EP, Maeda H, Mason RP. Detection of nitrosyl hemoglobin in venous blood in the treatment of sickle cell anemia with hydroxyurea. *Mol Pharmacol* 1999;55:1006–10.
17. Huang J, Hadimani SB, Rupon JW, Ballas SK, Kim-Shapiro DB, King SB. Iron nitrosyl hemoglobin formation from the reactions of hemoglobin and hydroxyurea. *Biochemistry* 2002;41:2466–74.
18. Sakano K, Oikawa S, Hasegawa K, Kawanishi S. Hydroxyurea induces site-specific DNA damage via formation of hydrogen peroxide and nitric oxide. *Jpn J Cancer Res* 2001;92:1166–74.
19. Stolze K, Nohl H. EPR studies on the oxidation of hydroxyurea to paramagnetic compounds by oxyhemoglobin. *Biochem Pharmacol* 1990;40:799–802.
20. Alter BP, Gilbert HS. The effect of hydroxyurea on hemoglobin F in patients with myeloproliferative syndromes. *Blood* 1985;66:373–9.
21. Platt OS, Orkin SH, Dover G, Beardsley GP, Miller B, Nathan DG. Hydroxyurea enhances fetal hemoglobin production in sickle cell anemia. *J Clin Invest* 1984;74:652–6.
22. Charache S, Terrin ML, Moore RD, Dover GJ, Barton FB, Eckert SV, et al. Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell anemia. Investigators of the Multicenter Study of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia. *N Engl J Med* 1995;322:1317–22.
23. Davies SC, Gilmore A. The role of hydroxyurea in the management of sickle cell disease. *Blood Rev* 2003;17:99–109.
24. Ware RE, Davis BR, Schultz WH, Brown RC, Aygun B, Sarnaik S, et al. Hydroxycarbamide versus chronic transfusion for maintenance of transcranial doppler flow velocities in children with sickle cell anaemia-TCD With Transfusions Changing to Hydroxyurea (TWiTCH): a multicentre, open-label, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet* 2016;387(10019):661–70.
25. Huang Z, Louderback JG, King SB, Ballas SK, Kim-Shapiro DB. In vitro exposure to hydroxyurea reduces sickle red blood cell deformability. *Am J Hematol* 2001;67:151–6.
26. Atweh GF, Schechter AN. Pharmacologic induction of fetal hemoglobin: raising the therapeutic bar in sickle cell disease. *Curr Opin Hematol* 2001;8:123–30.
27. Gladwin MT, Shelhamer JH, Ognibene FP, Pease-Fye ME, Nichols JS, Link B, et al. Nitric oxide donor properties of hydroxyurea in patients with sickle cell disease. *Br J Haematol* 2002;116:436–44.

28. Khan BV, Harrison DG, Olbrych MT, Alexander RW, Medford RM. Nitric oxide regulates vascular cell adhesion molecule 1 gene expression and redox-sensitive transcriptional events in human vascular endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:9114–9.
29. Hebbel RP, Boogaerts MA, Eaton JW, Steinberg MH. Erythrocyte adherence to endothelium in sickle-cell anemia. A possible determinant of disease severity. *N Engl J Med* 1980;302:992–5.
30. Adragna NC, Fonseca P, Lauf PK. Hydroxyurea affects cell morphology, cation transport, and red blood cell adhesion in cultured vascular endothelial cells. *Blood* 1994;83:553–60.
31. Space SL, Lane PA, Pickett CK, Weil JV. Nitric oxide attenuates normal and sickle red blood cell adherence to pulmonary endothelium. *Am J Hematol* 2000;63:200–4.
32. Lopez BL, Kreshak AA, Morris CR, Davis-Moon L, Ballas SK, Ma XL. L-arginine levels are diminished in adult acute vaso-occlusive sickle cell crisis in the emergency department. *Br J Haematol* 2003;120:532–4.
33. Girgis RE, Qureshi MA, Abrams J, Swerdlow P. Decreased exhaled nitric oxide in sickle cell disease: relationship with chronic lung involvement. *Am J Hematol* 2003;72:177–84.
34. Morris CR, Vichinsky EP, van Warmerdam J, Machado L, Kepka-Lenhart D, Morris SM Jr, et al. Hydroxyurea and arginine therapy: impact on nitric oxide production in sickle cell disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003;25:629–34.
35. Čokić VP, Schechter AN. Effects of nitric oxide on red blood cell development and phenotype. *Curr Top Dev Biol* 2008;82:169–215.
36. Denninger JW, Marletta MA. Guanylate cyclase and the NO/cGMP signaling pathway. *Biochim Biophys Acta* 1999;1411:334–50.
37. Nahavandi M, Tavakkoli F, Wyche MQ, Perlin E, Winter WP, Castro O. Nitric oxide and cyclic GMP levels in sickle cell patients receiving hydroxyurea. *Br J Haematol* 2002;119:855–7.
38. Conran N, Oresco-Santos C, Acosta HC, Fattori A, Saad ST, Costa FF. Increased soluble guanylate cyclase activity in the red blood cells of sickle cell patients. *Br J Haematol* 2004;124:547–54.
39. Ikuta T, Ausenda S, Cappellini MD. Mechanism for fetal globin gene expression: role of the soluble guanylate cyclase-cGMP-dependent protein kinase pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:1847–52.
40. Inoue A, Kuroyanagi Y, Terui K, Moi P, Ikuta T. Negative regulation of gamma-globin gene expression by cyclic AMP-dependent pathway in erythroid cells. *Exp Hematol* 2004;32:244–53.
41. Čokić VP, Andrić SA, Stojilković SS, Noguchi CT, Schechter AN. Hydroxyurea nitrosylates and activates soluble guanylyl cyclase in human erythroid cells. *Blood* 2008;111(3):1117–23.
42. Čokić VP, Beleslin-Čokić BB, Tomić M, Stojilković SS, Noguchi CT, Schechter AN. Hydroxyurea induces the eNOS-cGMP pathway in endothelial cells. *Blood* 2006;108(1):184–91.

43. Baumann R, Blass C, Götz R, Dragon S. Ontogeny of catecholamine and adenosine receptor-mediated cAMP signaling of embryonic red blood cells: role of cGMP-inhibited phosphodiesterase 3 and hemoglobin. *Blood* 1999;94(15):4314–20.
44. Čokić VP, Smith RD, Beleslin-Čokić BB, Njoroge JM, Miller JL, Gladwin MT, Schechter AN. Hydroxyurea induces fetal hemoglobin by the nitric oxide-dependent activation of soluble guanylyl cyclase. *J Clin Invest* 2003;111:231–9.
45. Stoeckert CJ Jr, Green MB. Erythropoietin and hydroxyurea can act on early erythroid progenitors from adult human peripheral blood to modulate fetal globin mRNA levels. *Exp Hematol* 1994; 22:278–82.
46. Fibach E, Burke KP, Schechter AN, Noguchi CT, Rodgers GP. Hydroxyurea increases fetal hemoglobin in cultured erythroid cells derived from normal individuals and patients with sickle cell anemia or beta-thalassemia. *Blood* 1993;81:1630–5.
47. Čokić VP, Smith RD, Biancotto A, Noguchi CT, Puri RK, Schechter AN. Globin gene expression in correlation with G protein-related genes during erythroid differentiation. *BMC Genomics* 2013;14:116.
48. Čokić VP, Beleslin-Čokić BB, Noguchi CT, Schechter AN. Hydroxyurea increases eNOS protein levels through inhibition of proteasome activity. *Nitric Oxide* 2007;16(3):371–8.
49. Gallastegui N, Beck P, Arciniega M, Huber R, Hillebrand S, Groll M. Hydroxyureas as noncovalent proteasome inhibitors. *Angew Chem Int Ed Engl* 2012;51:247–9.
50. Čokić VP, Beleslin-Čokić BB, Smith RD, Economou AP, Wahl LM, Noguchi CT, et al. Stimulated stromal cells induce gamma-globin gene expression in erythroid cells via nitric oxide production. *Exp Hematol* 2009;37(10):1230–7.
51. Čokić VP, Subotički T, Beleslin-Čokić B, Diklić M, Milenković P, Jovčić G. Bradykinin stimulation of nitric oxide production is not sufficient for gamma-globin induction. *Srp Arh Celok Lek* 2014;142(3-4):189–96.
52. Lofvenberg E, Wahlin A. Management of polycythaemia vera, essential thrombocythaemia and myelofibrosis with hydroxyurea. *Eur J Haematol* 1988;41:375–81.
53. Andreasson B, Swolin B, Kutti J. Hydroxyurea treatment reduces haematopoietic progenitor growth and CD34 positive cells in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Eur J Haematol* 2000;64:188–93.
54. Cella G, Marchetti M, Vianello F, Panova-Noeva M, Vignoli A, Russo L, et al. Nitric oxide derivatives and soluble plasma selectins in patients with myeloproliferative neoplasms. *Thromb Haemost* 2010;104(1):151–6.
55. Lahiri P, Chaudhuri U, Chattopadhyay A, Dasgupta AK. Platelet aggregation profile as a marker of hydroxyurea bioavailability through nitric oxide generation in chronic myelogenous leukemia. *Leuk Lymphoma* 2006;47(4):741–6.

56. Gumiero D, Di Gennaro L, Nicolazzi MA, Landolfi R. Hydroxyurea-mediated release of nitric oxide in myeloproliferative neoplasms patients: Effects on platelet-leukocyte interaction. *J Clin Pharmacol* 2015;55(10):1125–30.
57. Fukumura D, Gohongi T, Kadambi A, Izumi Y, Ang J, Yun CO, et al. Predominant role of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98(5):2604–9.
58. Subotički T, Mitrović Ajtić O, Beleslin-Čokić BB, Nienhold R, Diklić M, Djikić D, et al. Angiogenic factors are increased in circulating granulocytes and CD34+ cells of myeloproliferative neoplasms. *Mol Carcinog* 2017;56(2):567–79.
59. Lekovic D, Gotic M, Skoda R, Beleslin-Cokic B, Milic N, Mitrovic-Ajtic O, et al. Bone marrow microvessel density and plasma angiogenic factors in myeloproliferative neoplasms: clinicopathological and molecular correlations. *Ann Hematol* 2017;96(3):393–404.
60. Campbell PJ, Scott LM, Buck G, Wheatley K, East CL, Marsden JT, et al. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *Lancet* 2005;366(9501):1945–53.
61. Girodon F, Schaeffer C, Cleyrat C, Mounier M, Lafont I, Santos FD, et al. Frequent reduction or absence of detection of the JAK2-mutated clone in JAK2V617F-positive patients within the first years of hydroxyurea therapy. *Haematologica* 2008;93(11):1723–7.
62. Ricksten A, Palmqvist L, Johansson P, Andreasson B. Rapid decline of JAK2V617F levels during hydroxyurea treatment in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Haematologica* 2008;93(8):1260–1.
63. Besses C, Alvarez-Larrán A, Martínez-Avilés L, Mojal S, Longaron R, Salar A, et al. Modulation of JAK2 V617F allele burden dynamics by hydroxycarbamide in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia patients. *Br J Haematol* 2011;152(4):413–9.
64. Larsen TS, Pallisgaard N, de Stricker K, Moller MB, Hasselbalch HC. Limited efficacy of hydroxyurea in lowering of the JAK2 V617F allele burden. *Hematology* 2009;14(1):11–5.
65. Passamonti F, Rumi E, Pietra D, Elena C, Boveri E, Arcaini L, et al. A prospective study of 338 patients with polycythemia vera: the impact of JAK2 (V617F) allele burden and leukocytosis on fibrotic or leukemic disease transformation and vascular complications. *Leukemia* 2010;24(9):1574–9.
66. Koren-Michowitz M, Landman J, Cohen Y, Rahimi-Levene N, Salomon O. JAK2V617F allele burden is associated with transformation to myelofibrosis. *Leuk Lymphoma* 2012;53(11):2210–3.
67. Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2017;92(1):94–108.
68. Verstovsek S, Vannucchi AM, Griesshammer M, Masszi T, Durrant S, Passamonti F, et al. Ruxolitinib versus best available therapy in patients with

- polycythemia vera: 80-week follow-up from the RESPONSE trial. *Haematologica* 2016;101(7):821-9.
69. Barbui T, Barosi G, Birgegard G, Cervantes F, Finazzi G, Griesshammer M, et al. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European Leukemia Net. *J Clin Oncol* 2011;29:761-70.
 70. Alvarez-Larran A, Pereira A, Cervantes F, Arellano-Rodrigo E, Hernández-Boluda JC, Ferrer-Marín F, et al. Assessment and prognostic value of the European LeukemiaNet criteria for clinicohematologic response: resistance, and intolerance to hydroxyurea in polycythemia vera. *Blood* 2012;119:1363-9.
 71. Nand S, Stock W, Godwin J, Fisher SG. Leukemogenic risk of hydroxyurea therapy in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Am J Hematol* 1996;52(1):42-6.
 72. Björkholm M, Derolf AR, Hultcrantz M, Kristinsson SY, Ekstrand C, Goldin LR, et al. Treatment-related risk factors for transformation to acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes in myeloproliferative neoplasms. *J Clin Oncol* 2011;29(17):2410-5.
 73. Passamonti F, Rumi E, Arcaini L, Boveri E, Elena C, Pietra D, et al. Prognostic factors for thrombosis, myelofibrosis, and leukemia in essential thrombocythemia: a study of 605 patients. *Haematologica* 2008;93(11):1645-51.
 74. Chim CS, Kwong YL, Lie AK, Ma SK, Chan CC, Wong LG, et al. Long-term outcome of 231 patients with essential thrombocythemia: prognostic factors for thrombosis, bleeding, myelofibrosis, and leukemia. *Arch Intern Med* 2005;165(22):2651-8.
 75. Tefferi A, Rumi E, Finazzi G, Gisslinger H, Vannucchi AM, Rodeghiero F, et al. Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: an international study. *Leukemia* 2013;27(9):1874-81.
 76. Finazzi G, Caruso V, Marchioli R, Capnist G, Chisesi T, Finelli C, et al. Acute leukemia in polycythemia vera: an analysis of 1638 patients enrolled in a prospective observational study. *Blood* 2005;105(7):2664-70.
 77. Nielsen I, Hasselbalch HC. Acute leukemia and myelodysplasia in patients with a Philadelphia chromosome negative chronic myeloproliferative disorder treated with hydroxyurea alone or with hydroxyurea after busulphan. *Am J Hematol* 2003;74:26-31.
 78. Weinfeld A1, Swolin B, Westin J. Acute leukaemia after hydroxyurea therapy in polycythaemia vera and allied disorders: prospective study of efficacy and leukaemogenicity with therapeutic implications. *Eur J Haematol* 1994;52(3):134-9.
 79. Gangat N, Strand J, Li CY, Wu W, Pardanani A, Tefferi A. Leucocytosis in polycythaemia vera predicts both inferior survival and leukaemic transformation. *Br J Haematol* 2007;138(3):354-8.
 80. Kiladjian JJ1, Chevret S, Dosquet C, Chomienne C, Rain JD. Treatment of polycythemia vera with hydroxyurea and pipobroman: final results of a randomized trial initiated in 1980. *J Clin Oncol* 2011;29(29):3907-13.

81. Huang J, Li CY, Mesa RA, Wu W, Hanson CA, Pardanani A, et al. Risk factors for leukemic transformation in patients with primary myelofibrosis. *Cancer* 2008;112(12):2726–32.
82. Thiele J, Kvasnicka HM, Schmitt-Gräff A, Hülsemann R, Diehl V. Therapy-related changes of the bone marrow in chronic idiopathic myelofibrosis. *Histol Histopathol* 2004;19(1):239–50.

HYDROXYUREA TREATMENT: FROM INHIBITION IN MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS TO FETAL HEMOGLOBIN INDUCTION

Vladan P. Čokić

*Laboratory for Molecular Oncology, Institute for Medical Investigations,
University of Belgrade*

Hydroxyurea treatment of patients with sickle-cell disease increases fetal hemoglobin (HbF) that reduces hemoglobin S polymerization and clinical complications. We have shown that nitric oxide (NO) and its receptor soluble guanylate cyclase (sGC) are involved in hydroxyurea induction of HbF levels in erythroid progenitors. Hydroxyurea can directly interact with the deoxy-heme of sGC, via free-radical NO, producing iron-nitrosyl derivatives to activate cGMP production in erythroid cells. Hydroxyurea increases NO production in endothelial cells and macrophages, demonstrating that stimulation of gamma-globin gene expression is also mediated by NO synthase (NOS) induction in stromal cells of the hematopoietic microenvironment. We have demonstrated that hydroxyurea increased NO production in endothelial cells through phosphorylation of endothelial NOS (eNOS) in protein kinase A-dependent manner as a short-term effect and by long term posttranslational augmentation in eNOS protein levels via inhibition of the proteasome activity. Hydroxyurea increased cAMP, cGMP and intracellular calcium levels in endothelial cells, responsible for eNOS activation. These studies established an additional mechanism by which rapid and sustained effects of hydroxyurea may affect cellular NO levels in myeloproliferative neoplasm (MPN). The angiogenic HIF-1 α , VEGF and eNOS protein expression were increased in circulating granulocytes and CD34+ cells of MPN patients, but largely reduced after hydroxyurea therapy. Thus, it appears that the benefit of hydroxyurea therapy can be related to angiogenic factors control in MPN. Overlapping with NO effects supports hydroxyurea cytostatic regulation of prominent hematopoietic cell proliferation in MPN.

Keywords: hydroxyurea, nitric oxide, sickle-cell disease, myeloproliferative neoplasm

Др Владан Чокић, научни саветник
Институт за медицинска истраживања
Универзитет у Београду
Др Суботића 4
11129 Београд
vl@imi.bg.ac.rs