



BIOMEDICINSKA ISTRAŽIVANJA

Časopis Medicinskog fakulteta Foča,
Univerzitet u Istočnom Sarajevu

Godište 11, broj 1, jun 2020.

Journal of the Faculty of Medicine Foča,
University of East Sarajevo

Volume 11, No 1, June 2020

**BIOMEDICINSKA
ISTRAŽIVANJA**

Časopis
Medicinskog fakulteta Foča,
Univerzitet u Istočnom Sarajevu

ISSN 1986-8529 (Print)
ISSN 1986-8537 (Online)
UDK 57+61

Izdavač

Medicinski fakultet Foča
Univerzitet u Istočnom Sarajevu
Studentska 5, 73 300 Foča

Za izdavača:

Prof. dr Dejan Bokonić, dekan

Adresa uredništva

Medicinski fakultet Foča
Studentska 5, 73 300 Foča
Telefon: 058/210-420
Fax: 058/210-007
E-mail: urednistvo@
biomedicinskaistranzivanja.com

Članci su u cjelosti dostupni
na internet stranici:
<http://biomedicinskaistranzivanja.com>

Prelom teksta i priprema za štampu

Goran Lečić

Štamparija

PPGD "Comesgrafika" d.o.o.

Tiraž

300 primjeraka

Časopis "Biomedicinska istraživanja" je
indeksiran u Directory of Open Access
Journals, Google Scholar, Directory of
Research Journal Indexing, CrossRef,
DOI Srpska.

Ustanove članova Izdavačkog saveta
i Uređivačkog odbora navedene su u
online izdanju časopisa.

Izdavački savjet

Predsjednici

Prof. dr Milan Kulić
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Prof. dr Dejan Bokonić
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)

Članovi

Akademik Drenka Šećerov-Zečević
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Akademik Mirko Šošić
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Akademik Marko Vuković
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Prof. dr Veljko Marić
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Prof. dr Ljubica Đukanović
(Srbija)
Prof. dr Ranko Škrbić
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)

Uređivački odbor

Glavni i odgovorni urednik

Prof. dr Siniša Ristić
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)

Savjetnici urednika

Prof. dr Zvezdana Kojić
(Srbija)
Prof. dr Biljana Mijović
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)

Pomoćnici glavnog urednika

Prof. dr Nedeljka Ivković
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Prof. dr Jelena Krunić
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Prof. dr Snežana Marjanović
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Doc. dr Srđan Mašić
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)

Članovi Uređivačkog odbora

Prof. dr Radoslav Gajanin
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Prof. dr Ranko Golijanin
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Doc. dr Divna Kekuš
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Prof. dr Tamara Kovačević
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Doc. dr Sanja Marić
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Doc. dr Irena Mladenović
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Doc. dr Dragana Drakul
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Doc. dr Dragana Puhalo
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Doc. dr Dragana Sokolović
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Doc. dr Sandra Joković
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)

Doc. dr Jelena Pavlović
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Prof. dr Nikola Stojanović
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Doc. dr Svetlana Janković
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Doc. dr Bojana Davidović
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Doc. dr Vekoslav Mitrović
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Doc. dr Nenad Lalović
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)
Prof. dr Mirjana Ćuk
(R. Srpska, Bosna i Hercegovina)

Međunarodni uređivački odbor

Prof. dr Nebojša Arsenijević (Srbija)
Prof. dr Athanasios Athanasiou (Grčka)
Prof. dr Marc De Broe (Belgija)
Akademik Miodrag Čolić (Srbija)
Prof. dr Slobodanka Đukić (Srbija)
Prof. dr Marleen H.J.M. Janssen (Holandija)
Prof. dr Wolfgang Jelkmann (Njemačka)
Prof. dr Nadica Jovanović-Simić (Srbija)
Prof. dr Vladimir Jurišić (Srbija)
Prof. dr Igor Kocijančić (Slovenija)
Prof. dr Ružica Kozomara (Srbija)
Prof. dr Christos Lionis (Grčka)
Prof. dr Zvonko Magić (Srbija)
Prof. dr Michael Marberger (Austrija)
Jussi Meriluoto, Dr sc. (Finska)
Akademik Dragan Micić (Srbija)
Prof. dr Mirjana Mirić (Srbija)
Prof. dr Goran Nedović (Srbija)
Prof. dr Milomir Ninković (Njemačka)
Akademik Miodrag Ostojić (Srbija)
Prof. dr Dragan Rapaić (Srbija)
Prof. dr Luca Rosi (Italija)
Prof. dr Hans-Günther Sonntag (Njemačka)
Paola Stefanelli, Dr sc. (Italija)
Prof. dr Satoshi Toh (Japan)
Georgios Vergoulas MD, PhD (Grčka)
Prof. dr Davorka Vrdoljak (Hrvatska)
Prof. dr Nataša Milić (Srbija)
Prof. dr Snežana Hudomal (Srbija)
Prof. dr Beata Dobrovoljska (Poljska)
Prof. dr Mile Vuković (Srbija)

Uredništvo

Sekretari urednika

Dr Danijela Radulović
Dr Milena Tanasković Dubravac
Dr Maja Vuković
Mr Gorica Vuksanović
Mr Bojana Mastilo
Dr Olivera Vukotić
Dr Bojan Joksimović

Sekretar uredništva

Ana Simović

Lektor za srpski jezik

Aleksandra Bokonić

Lektor za engleski jezik

Svetlana Vuksanović

**BIOMEDICINSKA
ISTRAŽIVANJA**

Journal of the Faculty of Medicine Foča,
University of East Sarajevo

ISSN 1986-8529 (Print)
ISSN 1986-8537 (Online)
UDC 57+61

Published by

Faculty of Medicine Foča
University of East Sarajevo
Studentska 5, 73 300 Foča

On behalf of the publisher

Prof. Dejan Bokonić, MD, PhD, Dean

Editorial office

Medicinski fakultet Foča
Studentska 5, 73 300 Foča
Telephone: 058/210-420
Fax: 058/210-007
E-mail: urednistvo@
biomedicinskaistranzivanja.com

All articles are available on the
following website:
<http://biomedicinskaistranzivanja.com>

Text capture and processing

Goran Lečić

Print

PPGD "Comesgrafika" d.o.o.

Printing

300 copies

The journal "Biomedicinska istraživanja"
is indexed in Directory of Open Access
Journals, Google Scholar, Directory of
Research Journal Indexing, CrossRef,
DOI Srpska.

The affiliations of the members of the
Publishing Council and the Editorial
Board are listed in the online edition
of the journal.

Publishing Council

President

Prof. Milan Kulić, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Prof. Dejan Bokonić, MD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)

Members

Academician Drenka Šećerov-Zečević
(the Republic of Srpska, B&H)
Academician Mirko Šošić
(the Republic of Srpska, B&H)
Academician Marko Vuković
(the Republic of Srpska, B&H)
Prof. Veljko Marić, MD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Prof. Ljubica Djukanović, MD, PhD
(Serbia)
Prof. Ranko Škrbić, MD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)

Editorial Board

Editor-in-Chief

Prof. Siniša Ristić, MD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)

Advisory Editors

Prof. Zvezdana Kojić, MD, PhD
(Serbia)
Prof. Biljana Mijović, MD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)

Associate Editors

Prof. Nedeljka Ivković, DMD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Prof. Jelena Krnić, DMD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Prof. Snežana Marjanović, MD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Srđan Mašić MBI, MPH, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)

Members of the Editorial Board

Prof. Radoslav Gajanin, MD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Prof. Ranko Golijanin, DMD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Assoc. Prof. Dragana Puhalo, MD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Prof. Tamara Kovačević, MD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Assoc. Prof. Sanja Marić, MD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Assoc. Prof. Irena Mladenović, DMD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Assoc. Prof. Dragana Drakul, PhD in Pharmacology
(the Republic of Srpska, B&H)
Assoc. Prof. Divna Kekuš, PhD in Nursing
(the Republic of Srpska, B&H)
Assoc. Prof. Jelena Pavlović, PhD in Nursing
(the Republic of Srpska, B&H)
Assoc. Prof. Sandra Joković, PhD in Nursing
(the Republic of Srpska, B&H)

Assoc. Prof. Dragana Sokolović, MD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Prof. Nikola Stojanović, DMD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Assoc. Prof. Svetlana Janković, DMD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Assoc. Prof. Bojana Davidović, DMD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Assoc. Prof. Vekoslav Mitrović, MD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Assoc. Prof. Nenad Lalović, MD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)
Prof. Mirjana Čuk, MD, PhD
(the Republic of Srpska, B&H)

International Editorial Board

Prof. Nebojša Arsenijević, MD, PhD (Serbia)
Prof. Athanasios Athanasiou, MD, PhD (Greece)
Prof. Marc De Broe, MD, PhD (Belgium)
Academician Miodrag Čolić (Serbia)
Prof. Dragana Čukić, MD, PhD (Montenegro)
Prof. Slobodanka Đukić, MD, PhD (Serbia)
Prof. Marleen H.J.M. Janssen, PhD (the Netherlands)
Prof. Wolfgang Jelkmann, MD, PhD (Germany)
Prof. Nadica Jovanović-Simić, PhD (Serbia)
Prof. Vladimir Jurišić, MD, PhD (Serbia)
Prof. Igor Kocijančič, MD, PhD (Slovenia)
Prof. Ružica Kozomara, MD, PhD (Serbia)
Prof. Christos Lionis, MD, PhD (Greece)
Prof. Zvonko Magić, MD, PhD (Serbia)
Prof. Michael Marberger, MD, PhD (Austria)
Jussi Meriluoto, PhD (Finland)
Academician Dragan Micić (Serbia)
Prof. Mirjana Mirić, MD, PhD (Serbia)
Prof. Goran Nedović, PhD (Serbia)
Prof. Milomir Ninković, MD, PhD (Germany)
Academician Miodrag Ostojić (Serbia)
Prof. Dragan Rapaić, PhD (Serbia)
Prof. Luca Rosi, MD, PhD (Italy)
Prof. Hans-Günther Sonntag, MD, PhD (Germany)
Paola Stefanelli, PhD, Senior Scientist (Italy)
Prof. Satoshi Toh, MD, PhD (Japan)
Prof. Goran Trajković, MD, PhD (Serbia)
Georgios Vergoulas MD, PhD (Greece)
Prof. Davorka Vrdoljak, MD, PhD (Croatia)
Prof. Nataša Milić, MD, PhD (Serbia)
Prof. Snežana Hudomal, MD, PhD (Serbia)
Prof. Beata Dobrowolska, MD, PhD (Poland)
Prof. Mile Vuković, MD, PhD (Serbia)

Editorial Office

Editor Assistants

Danijela Radulović, MD
Milena Tanasković Dubravac, MD
Maja Vuković, MD
Assist. Gorica Vuksanović
Assist. Bojana Mastilo
Olivera Vukotić, MD
Bojan Joksimović, MD

Technical secretary

Ana Simović

Serbian language lector

Aleksandra Bokonić

English language editor

Svetlana Vuksanović, MA

Sadržaj

ORIGINALNI NAUČNI RADOVI

Diferencijalna plastičnost humanih monocita u kulturi ćelija Bojan Joksimović, Sergej Tomić, Marina Bekić, Miloš Vasiljević, Dragana Vučević, Miodrag Čolić	1
Celulozni nanokristali indukuju dozno-zavisni efekat na citotoksičnost i proliferaciju humanih mononuklearnih ćelija periferne krvi Miloš Vasiljević, Sergej Tomić, Marina Bekić, Bojan Joksimović, Dragana Vučević, Miodrag Čolić	11
Efikasnost dva različita antibiotska rastvora u prezervaciji svježe amnionske membrane Vesna Ljubojević, Sanja Jovičić, Milka Mavija, Zoran Vujković	20
Ekspresija matriks metaloproteinaze 9 kod stečenog holesteatoma srednjeg uha Dalibor Vranješ, Slobodan Spremo, Siniša Šolaja	29
Sindrom sagorijevanja kod medicinskih sestara-tehničara u jedinicama intenzivnih njega Kliničkog centra Crne Gore Dragana Backović, Dragana Jovanović, Ljubica Pejakov	37

PREGLEDNI RADOVI

Ishrana kao faktor rizika za nastanak hroničnih nezaraznih bolesti Vesna Lazić, Biljana Mijović, Miloš Maksimović	44
Maladaptivno ponašanje kod osoba sa intelektualnom ometenošću Bojana Mastilo, Slađana Čalasan	54

ZA PRAKSU

Kognitivna niša Đorđe Petronić, Igor Vujović	64
Flinov efekat – generacijski rast koeficijenta inteligencije Igor Vujović, Đorđe Petronić	71
Kardioonkologija - novi izazov u kliničkoj praksi Slađana Popović, Srđan Popović, Nikolina Dukić, Jelena Vladičić-Mašić, Olivera Čančar	78

PRIKAZ BOLESNIKA

Endodontska terapija maksilarnog drugog molara sa dva korena – prikaz slučaja Dajana Nogo-Živanović, Dragan Ivanović, Tanja Ivanović, Ivana Simić	86
Déjà vu fenomen kao simptom temporalno lobarne epilepsije kod osmogodišnje djevojčice – prikaz slučaja Goran Popović, Ranka Mirković, Dejan Bokonjić, Biljana Milinković, Tatjana Gavrilović-Elez	90
Orbitalne komplikacije akutnog rinosinuzitisa kod dece - prikaz slučaja Ljiljana Krsmanović, Siniša Šolaja, Vladimir Turuntaš	96

Contents

ORIGINAL SCIENTIFIC ARTICLES

Differentiation plasticity of human monocytes in culture Bojan Joksimović, Sergej Tomić, Marina Bekić, Miloš Vasiljević, Dragana Vučević, Miodrag Čolić	1
Cellulose nanocrystals induce a dose-dependent effect on cytotoxicity and proliferative activity of human peripheral blood mononuclear cells Miloš Vasiljević, Sergej Tomić, Marina Bekić, Bojan Joksimović, Dragana Vučević, Miodrag Čolić	11
Efficacy of two different antibiotic solutions in preservation of fresh amniotic membrane Vesna Ljubojević, Sanja Jovičić, Milka Mavija, Zoran Vujković	20
Expression of matrix metalloproteinase-9 in acquired middle ear cholesteatoma Dalibor Vranješ, Slobodan Spremo, Siniša Šolaja	29
Burnout Syndrome in Nurses/Technicians in Intensive Care Units of Clinical Center of Montenegro Dragana Backović, Dragana Jovanović, Ljubica Pejakov	37

REVIEWS

Nutrition as risk factor for development of chronic non-communicable diseases Vesna Lazić, Biljana Mijović, Miloš Maksimović	44
Maladaptive behavior in people with intellectual disabilities Bojana Mastilo, Sladjana Čalasan	54

FOR PRACTICE

Cognitive niche Đorđe Petronić, Igor Vujović	64
Flynn effect – generation growth of IQ Igor Vujović, Djordje Petronić	71
Cardio-Oncology – New Challenge in Clinical Practice Sladjana Popović, Srdjan Popović, Nikolina Dukić, Jelena Vladičić-Mašić, Olivera Čančar	78

CASE REPORTS

Endodontic treatment of maxillary second molar with two roots – a case report Dajana Nogo-Živanović, Dragan Ivanović, Tanja Ivanović, Ivana Simić	86
Déjà vu phenomenon as symptom of temporal lobe epilepsy in eight-year-old girl – a case report Goran Popović, Ranka Mirković, Dejan Bokonjić, Biljana Milinković, Tatjana Gavrilović-Elez	90
Orbital complications of acute rhinosinusitis in children - case study Ljiljana Krsmanović, Siniša Šolaja, Vladimir Turuntaš	96

Iz uredništva

O prvoj deceniji časopisa „Biomedicinska istraživanja“

Zahvaljujem profesoru Siniši Ristiću, glavnom i odgovornom uredniku časopisa „Biomedicinska istraživanja“ što me je pozvao da napišem uvodni članak za ovaj broj časopisa i osvrnem se na rad uredništva časopisa u prethodnoj deceniji. Veoma sam zahvalna prof. dr Veljku Mariću, inicijatoru osnivanja časopisa, i profesoru Ristiću što su me pri osnivanju časopisa pozvali da budem savetnik glavnog urednika i tako mi omogućili da učestvujem u prvoj deceniji života časopisa.

Zadatak izdavača i uređivačkog odbora svakog časopisa jeste da obezbedi njegovo redovno izlaženje i da neprekidno unapređuje kvalitet časopisa sa ciljem da bude prihvaćen u svetske bibliografske baze i tako postane vidljiviji. O ostvarivanju ovih zadataka najviše brinu urednici i uredništvo, i svi smo mi bili svesni ozbiljnosti tog zadatka. Zato smo na samom početku rada nastojali da časopis ispuni sve kriterijume koje propisuje „Pravilnik o uređivanju i publikovanju naučnih publikacija“: časopis od početka izlazi redovno, svi radovi podležu dvostrukoslepoj recenziji, časopis i radovi ispunjavaju bibliografske kriterijume, a od prvog broja svi radovi su slobodno dostupni na internet strani časopisa. Od kada je Narodna i univerzitetska biblioteka R. Srpske uspostavila saradnju sa CrossRef-om, svakom radu se dodeljuje doi broj, a rad se posle objavljivanja postavlja na internet stranu DoiSrpska i potom u CrossRef bazu. Time je postignuta značajno veća vidljivost svih objavljenih radova.

Na kraju treće godine života časopisa, Komisiji za kategorizaciju naučnih časopisa R. Srpske podnet je zahtev za njegovu kategorizaciju, koja ga je 2014. godine svrstala u prvu kategoriju naučnih časopisa. To smo smatrali našim prvim vidljivim uspehom. Ovaj rang časopis je zadržao i pri novoj kategorizaciji koju je Ministarstvo nauke i tehnologije R. Srpske sprovelo 2018/19. godine.

Da bi časopis mogao da podnese zahtev u međunarodne bibliografske baze, bilo je neophodno da proširimo uređivački odbor inostranim članovima, dopunimo i redovno sprovodimo etičke principe publikovanja. Na osnovu toga i neograničenog pristupa svim radovima, časopis je jula 2018. godine uvršćen u *Directory of Open Access Journals*.

Jedan od najvažnijih kriterijuma za prijem u međunarodne bibliografsko-citatne baze je kvalitet objavljenih radova. Najveći broj radova časopisu dostavljaju mladi lekari bez velikog iskustva u pisanju naučnih radova. Zahvaljujući savesnosti recenzenata i nesebičnoj pomoći uredništva, mnogim autorima je pružena svesrdna pomoć i saveti kako da svoje radove koriguju. Angažovanje članova uredništva i njihova pomoć autorima da pripreme što kvalitetniji rukopis je od posebnog značaja za kvalitet časopisa i njegov prijem u najuticajnije bibliografske baze.

Deset godina sam kao savetnik glavnog i odgovornog urednika "Biomedicinskih istraživanja" sa velikim zadovoljstvom učestvovala u pripremi svakog broja, jer je bilo zadovoljstvo sarađivati sa rukovodstvom Medicinskog fakulteta u Foči i svim članovima uredništva. Zahvaljujem dekanima, profesorima Veljku Mariću, Milanu Kuliću i Dejanu Bokonjiću na poštovanju i pažnji koju su mi ukazivali, profesoru Siniši Ristiću na spremnosti da prihvati svaki moj predlog i prijateljskom odnosu. Ani Simović, sekretaru uredništva, lektorima – Aleksandri Bokonjić, Sanji Bjelanović i Svetlani Vukšanović, i dizajneru Goranu Lečiću zahvaljujem na savesnom i odgovornom radu i divnoj saradnji. Bilo je zadovoljstvo i privilegija sarađivati s takvim timom.

Ostaje mi samo da svima poželim uspeh u radu i dalji napredak časopisa "Biomedicinska istraživanja" čemu se unapred radujem.

Prof. dr Ljubica Đukanović

Izuzetna mi je čast ali i zadovoljstvo da, kao bivši dekan Medicinskog fakulteta, a sada rektor Univerziteta u Istočnom Sarajevu, napišem nekoliko rečenica o časopisu Biomedicinska istraživanja koji izdaje Medicinski fakultet našeg Univerziteta.

Objavljivanjem ovog broja navršava se 10 godina njegovog uspešnog izlaženja. Deset godina u istorijskim razmjerama nije dug period, ali kada u samo deset godina uspijete da osnujete, održite i unaprijedite jedan časopis, to je veliki uspjeh. Na taj put, sa velikim entuzijazmom, ne štedeći sebe i svoju energiju, krenuo je urednik časopisa prof. dr Siniša Ristić koji je okupio oko sebe jednako požrtvovane profesore i saradnike, i zajedno su postavili temelj jednog izuzetno kvalitetnog časopisa.

Koristim ovu priliku da zahvalim glavnom uredniku, prof. dr Siniši Ristiću, kao i prof. dr Ljubici Đukanović i saradnicima koji su, uz ogroman trud i zalaganje, obezbijedili redovnost izlaženja časopisa, a prije svega kvalitet objavljenih radova.

U desetogodišnjem periodu izlaženja objavljeni su radovi brojnih autora kojima se iskreno zahvaljujemo. Svi oni su dali svoj doprinos izuzetnom kvalitetu časopisa, pa ih pozivam da nastave i dalje objavljivati u časopisu *Biomedicinska istraživanja*.

Časopis *Biomedicinska istraživanja* zbog svog specifičnog naučnog i stručnog područja predstavlja jedinstven i sadržajno prepoznatljiv časopis u oblasti medicinskih nauka koji izlazi na području Republike Srpske.

Treba učiniti sve da takav i ostane, ali i uložiti dodatne napore kako ga učiniti još kvalitetnijim. Pred uredništvo časopisa se postavlja zahtjevan zadatak da se časopis Biomedicinska istraživanja uvrsti na SCI listu.

Časopis *Biomedicinska istraživanja* pruža mogućnost da se čitaoci upoznaju sa najnovijim dostignućima iz oblasti medicine, stomatologije, zdravstvene njege i specijalne edukacije i rehabilitacije.

U narednom periodu posebnu pažnju treba posvetiti objavljivanju rezultata naučno-istraživačkih projekata koji se realizuju u Centru za biomedicinske nauke na Medicinskom fakultetu u Foči. Kvalitet radova koji će se realizovati u Centru za biomedicinske nauke u budućnosti će dovesti do toga da Centar za biomedicinska istraživanja postane i Centar izvrsnosti. To će biti baza za objavljivanje još kvalitetnijih radova u časopisu.

Zbog specifičnosti vremena u kojem se nalazimo, u uslovima pandemije izazvane korona virusom i izazova koji nas očekuju u budućnosti, neophodno je okupiti što više vlastitog naučnoistraživačkog potencijala kako na Medicinskom fakultetu u Foči, Uni-

verzitetu u Istočnom Sarajevu, tako i u naučnim institucijama u Republici Srpskoj, kako bi pokušali dati odgovor na mnoga pitanja koja se postavljaju pred naučnu zajednicu.

Pored toga, neophodno je učiniti sve da se angažuje određen broj stranih istraživača i autora radi upoznavanja s njihovim iskustvima, znanjima i problemima u oblasti Biomedicine.

Uredništvu časopisa i dekanu Medicinskog fakulteta prof. dr Dejanu Bokonjiću još jednom iskazujem izuzetnu zahvalnost za trud koji su uložili u kreiranje ovog časopisa, sa željom da se u skorijoj budućnosti časopis *Biomedicinska istraživanja* uvrsti na SCI listu naučnih časopisa.

Rektor Univerziteta u Istočnom Sarajevu
Prof. dr Milan Kulić

Pripala mi je velika čast kao novom Dekanu Medicinskog fakulteta da napišem nekoliko rečenica o časopisu *Biomedicinska istraživanja*, koji spada u prvu kategoriju časopisa Republike Srpske i koji slavi deset godina svog postojanja. Ovaj časopis je svojim sadržajem i prepoznatljivim stilom imao značajnu ulogu u razvoju istraživanja na Univerzitetu u Istočnom Sarajevu i Medicinskom fakultetu u Foči, takođe i za jačanje centra za *Biomedicinska istraživanja*.

Nastanak i razvoj časopisa je obilježio jednu epohu razvoja Medicinskog fakulteta u Foči. Veliki posao je bio stvoriti ga, dovesti do postojećeg nivoa kvaliteta i održavati ga sve ove godine. Posebnu zahvalnost dugujemo Dekanu i sadašnjem Rektor Univerziteta, prof. dr Milanu Kuliću, tokom čijeg mandata Dekana je časopis sazio i došao do zavidnog kvaliteta; redakciji časopisa koja je vrijedno radila sve ove godine na čelu sa prof. Ristićem i povrh svega našoj profesoric Ljubici Đukanović koja je posvetila dobar dio života njegovom oblikovanju, ugrađujući u njega ogromnu ljubav, znanje i iskustvo.

Želio bih napomenuti nekoliko važnih stvari vezanih za ovaj časopis. Časopis je nastajao, a kasnije njegovan kroz, vrlo često, volonterski rad ili rad koji je bio minimalno plaćen i entuzijazam prof. Đukanović i kompletne redakcije. Časopis je pratila profesionalnost sekretara, lektora i svih ostalih saradnika. Izlazio je redovno u elektronskom i papirnom obliku. Recenzija je bila ozbiljna, anonimna i zahtjevna. Kao rezultat toga, časopis je svrstan u I kategoriju časopisa Republike Srpske i to će biti veliki stimulans u budućem periodu svima onima koji budu radili na njemu, u smislu da bude bolji i još kvalitetniji. U sadržajnom smislu su se objavljivali kvalitetni i vrijedni članci čemu je doprinijelo i angažovanje eminentnih autora.

Pred časopisom se nalaze novi izazovi i planovi. Treba ga sačuvati u I kategoriji i pokušati ga dovesti na SCI listu. Uvjeran sam da će časopis *Biomedicinska istraživanja* i dalje ispunjavati svoju ulogu odličnog časopisa u oblasti Medicinskih nauka, doprinijeti daljem razvoju istraživanja na Medicinskom fakultetu u Foči i da ćemo biti ponosni na njega.

Uredništvu časopisa i svima koji budu učestvovali u njegovom oblikovanju i životu želim još jedanput čestitati deset godina postojanja, zahvaliti se na svemu što su uradili za naš fakultet i zaželjeti mnogo uspjeha u budućem radu!

Dekan Medicinskog fakulteta u Foči
Prof. dr Dejan Bokonjić

Original article

Differentiation plasticity of human monocytes in culture

**Bojan Joksimović¹,
Sergej Tomić²,
Marina Bekić²,
Miloš Vasiljević¹,
Dragana Vučević³,
Miodrag Čolić^{1,2}**

¹University of East Sarajevo, Faculty of Medicine Foca, Center for Biomedical Sciences, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

²University of Belgrade, Institute for Application of Nuclear Energy, Belgrade, Serbia

³Military Medical Academy, Institute for Medical Research, Belgrade, Serbia

Primljen – Received: 21/10/2019
Prihvaćen – Accepted: 29/05/2020

Corresponding author:
Teaching Assist Bojan Joksimović, MD
Studentska 5, 73 000 Foča, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

Copyright: ©2020 Joksimović B. et al. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license.

Summary

Introduction. Human monocytes are heterogeneous and plastic cell population with the ability to undergo phenotypic and functional changes as a response to a stimulus from a local microenvironment. Our aim was to determine the potential of human monocytes to differentiate into different cell populations depending on two different cytokines (IL-4 and IL-6) added to cultures as well as to compare their phenotypical and functional characteristics.

Methods. Peripheral blood mononuclear cells (PBMNC) were isolated from buffy coats of healthy donors. Monocytes, which were separated from PBMNC by plastic adherence, had been cultivated in Dendritic cell (DC), serum free medium for 5 days, either with granulocyte/macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) alone or with GM-CSF, with addition of interleukin 4 (IL-4) or interleukin 6 (IL-6), respectively. After cultivation, phenotypic characteristics of these cells were analyzed by flow cytometry, whereas the levels of produced cytokines in culture supernatants were quantified by ELISA. The potential of differentiated cells to modulate the proliferation of allogeneic T cells was examined by co-cultivation of these cells with PBMNC.

Results. GM-CSF differentiated monocytes into M0/M1 macrophages (MØ). The combination of GM-CSF and IL-4 favoured differentiation of immature DC, whereas GM-CSF and IL-6 transformed monocytes into monocytic myeloid derived suppressor cells (M-MDSC). All cell populations expressed typical monocyte/macrophage markers such as CD14, CD11b, CD16 and CD33, HLA-DR, CD209 and CD86, a co-stimulatory marker. DC and M-MDSC expressed CD1a and CD11c, in contrast to M0/M1 MØ. The expression of HLA-DR, CD1a, CD209 and CD86 was highest on DC. The expression of CD33 and CD16 was highest on M-MDSC, followed by lowest expression of HLA-DR. The potential of promoting T-cell proliferation was highest in cultures of PBMNC with DC, whereas M-MDSC had the opposite, suppressive, effect. These differences correlated with highest production of immunosuppressive cytokines such as IL-10, IL-27 and TGF-β by M-MDSC.

Conclusion. This study confirmed the differentiation plasticity of human monocytes, which are influenced by cytokines added in cultures. Phenotypic characteristics of these cells correlated with the production of cytokines involved in modulation of T-cell proliferation.

Key words: plasticity, differentiation, monocytes, culture, cytokines, T cell proliferation

Introduction

Human monocytes are heterogeneous and plastic cell population which has an important role in the immune response by sensing their local microenvironment, clearing pathogens and dead cells. In response to a stimulus from a local microenvironment, these cells have the competence to undergo phenotypic and functional changes [1]. It is well known that the addition of human recombinant granulocyte macrophages colony stimulating factor (GM-CSF) is necessary for *in vitro* differentiation of human monocytes into mature and functionally competent M0/M1 macrophages (M0/M1 MØ). The term M0 means that macrophages are undifferentiated, whereas M1 are a key subset of pro-inflammatory MØ [2]. However, for differentiation of monocytes into dendritic cells (DC) and myeloid derived suppressor cells (MDSC), except GM-CSF, the addition of interleukin-4 (IL-4) and interleukin-6 (IL-6), respectively, is required [3, 4].

Depending on the type of environmental stimuli, MØ have a wide array of functions and they have been primarily classified into: pro-inflammatory (M1), induced by GM-CSF with addition of interferon- γ and/or lipopolysaccharide (LPS) and anti-inflammatory (M2) MØ induced by macrophage colony stimulating factor (M-CSF) [5]. Macrophages are predominant cell population in the tumor and these cells are frequently named as tumor associated macrophages (TAM). Unlike M2, TAM, which predominantly promote the progression of tumor, M1 MØ have the opposite effect [6].

DC are the most potent antigen presenting cells orchestrating the adaptive immune response. In response to infection, DC are capable to differentiate into mature cells that can initiate immune responses, while in the absence of infection, most of them remain in an immature form and induce tolerance to self antigens [7]. The main function of mature DC is to process and present antigen peptides to CD4⁺ and CD8⁺ T cells. However, in the tumor microenvironment (TME), this maturation process is disturbed by increasing the accumulation of immature DC [8]. As a result, DC fail to activate tumor reactive T cells and become

tolerogenic. Dysfunction of DC and reduction in their number in patients with cancer may be the result of cross-talk between MDSC and DC [9]. MDSC are critical in the regulation of immune responses by suppressing function of DC and T cells [10].

MDSC present immature cell population of myeloid origin that accumulate in patients with cancer, burns, sepsis, or chronic inflammation. Their main physiological function is to avoid and reduce tissue damage during inflammation [11]. Immature myeloid cells generated in bone marrow can differentiate into mature granulocytes, MØ or DC, without causing detectable immunosuppression in healthy individuals. In pathological conditions such as cancer, a partial block in differentiation of immature into mature myeloid cells results in induction of pathological MDSC. These cells are capable of blocking adaptive immunity by inhibiting the activation of CD4⁺ and CD8⁺ T cells [12]. Neoplastic cells in TME affect bone marrow by releasing soluble factors such as cyclooxygenase-2, prostaglandin E-2, IL-6 and GM-CSF that drive the accumulation, expansion and activation of local MDSC [13]. Currently, two MDSC populations have been characterized: monocytic MDSC (M-MDSC) and granulocytic MDSC (G-MDSC). M-MDSC are significantly immunosuppressive in comparison to G-MDSC. M-MDSC are phenotypically described as CD14⁺ CD11b⁺ CD33⁺ CD15^{-/low} HLA-DR^{-/low} [14].

However, despite the increasing amount of data on the potential benefits of M-MDSC in different clinical situations, the protocols for differentiation of human M-MDSC *in vitro* have not been fully established. There are only few published studies describing methods for the *in vitro* generation of human M-MDSC [4, 15, 16]. We have recently shown that the combination of GM-CSF and IL-6 is capable of transforming monocytes into potent M-MDSC [17]. It is obvious that GM-CSF is a key factor for monocytes to differentiate into different effector cells. Therefore, the aim of the study was to check how addition of two different cytokines (IL-4 and IL-6, respectively), changes phenotypic and functional properties of MØ, generated in the presence of GM-CSF alone.

Methods

Most experiments were performed at the Center for Biomedical Sciences, Medical Faculty Foca, University of East Sarajevo. Cell proliferation assay was performed at the Institute for Medical Research, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia.

Cells

Buffy coats were obtained from voluntary healthy blood donors. Peripheral blood mononuclear cells (PBMNC) were isolated on Lymphoprep gradient (PAA Laboratories) by density centrifugation (2200 rpm, 20 min, 20°C). Subsequently, PBMNCs were used for the isolation of monocytes by plastic adherence, as described [18].

M0/M1 MØ were generated by cultivating adherent monocytes (1×10^6 /ml) in Cell Genix® GMP Dendritic cell Medium (CellGenix, Freiburg, Germany), supplemented with 100 ng/ml of GM-CSF (Leucomax Basel, Switzerland) within the period of 5 days. For generation of immature DC, except of GM-CSF, human recombinant interleukin (IL)-4 (Rosche diagnostics, Basel Switzerland) was added in concentration of 20 ng/ml. Human recombinant interleukin (IL)-6 (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) was added in concentration of 10 ng/ml, together with GM-CSF, for generation of M-MDSC. The cultures had been maintained for 5 days.

Flow cytometry

The analysis of markers expressed by M0/M1 MØ, DC and M-MDSC was performed on a flow cytometer (Attune Acoustic Focusing Cytometer, Applied Biosystems, by Life Technologies) after labelling the cells with primary antibodies (Abs). The following Abs and reagents were used: anti-CD11c-FITC, anti-CD11b-PE, anti-CD1a-PerCP, anti-CD209-APC, anti-CD14-FITC, anti-CD16-PE, anti-HLA-DR-PerCP, anti-CD33-APC and anti-CD86-FITC (all from Biolegend, San Diego, CA, USA).

Proliferation assay

PBMNC (3×10^5 /well) were cultured in 96-well flat bottom plates (Sarstedt), alone, or co-cultured either with M0/M1 MØ, DC or M-MDSC, all at the concentration of 1×10^4 /well. For stimulation, phytohemagglutinin (PHA) was used at the suboptimal concentration of 1 µg/ml. The cultures were set up in triplicates. After four days, ^3H -thymidine (1 µCi/well) (Amersham, UK), had been added and the cultivation had been continued for the next 8 hours. After cell harvesting, the incorporated radioactivity was measured by using a scintillation counter (Ragbeta, Finland). The results are expressed in count per minutes (cpm). The proliferation index was calculated by dividing each cpm from PHA-stimulated cultures with mean cpm of control unstimulated PBMNC cultures (442 cpm).

Cytokines

The levels of cytokines from culture supernatants were determined by ELISA commercial kits (R&D, Minneapolis, USA), according to manufacturer's protocol. The concentrations of cytokines from M0/M1 MØ, DC and M-MDSC culture supernatants: transforming growth factor β (TGF- β), IL-10 and IL-27 were calculated from standard curves after the subtraction of blank controls.

Ethics statement

Approval for all experiments was obtained from the Ethics Committee of the University of East Sarajevo, Faculty of Medicine in Foca (permission date: September 12th 2018, Foca). Informed consent was obtained from participants in accordance with the Declaration of Helsinki.

Statistical analysis

The results are presented as mean $\pm$ SD values of at least three independent experiments carried out using cells of different healthy donors. To evaluate the differences between the experimental and corresponding control samples, the data were analyzed using One-way ANOVA. Re-

sults were analyzed in GraphPad Prism software (GraphPad, La Jolla, CA, USA) and as a level of statistical significance, $p < 0.05$ was considered.

Results

The first aim of this study was to analyze phenotypic properties of cells differentiating from monocytes under different culture conditions: M0/M1 MØ, differentiated in the presence of GM-CSF; DC, differentiated with GM-CSF+IL-4; M-MDSC, differentiated with GM-CSF+IL-6. Figure 1 summarizes phenotypic properties of cultivated cells.

CD14 is a key monocyte marker which is modulated significantly upon differentiation of monocytes. The expression of CD14, which was highest on M0/M1 MØ, was significantly down-modu-

lated on DC and M-MDSC ($p < 0.001$). In addition, a decrease in CD14 expression on DC was higher compared to M-MDSC ($p < 0.05$). Contrary to this, the expression of CD1a and CD11c which was hardly detectable on M0/M1 MØ was up-regulated on DC and M-MDSC ($p < 0.001$). It is interesting, that the expression of CD11c on M-MDSC was higher in comparison to DC ($p < 0.05$). The opposite was seen with CD1a, but the difference was not statistically significant. The expression of HLA-DR, CD209 and CD86 was significantly down-regulated on M-MDSC and M0/M1 MØ, when compared to DC ($p < 0.001$). In contrast, the expression of CD16 and CD33 on M-MDSC was significantly higher in comparison to DC ($p < 0.05$), while CD33 was up-regulated in comparison to M0/M1 MØ ($p < 0.05$). The differences in the expression of CD11b were not found between these

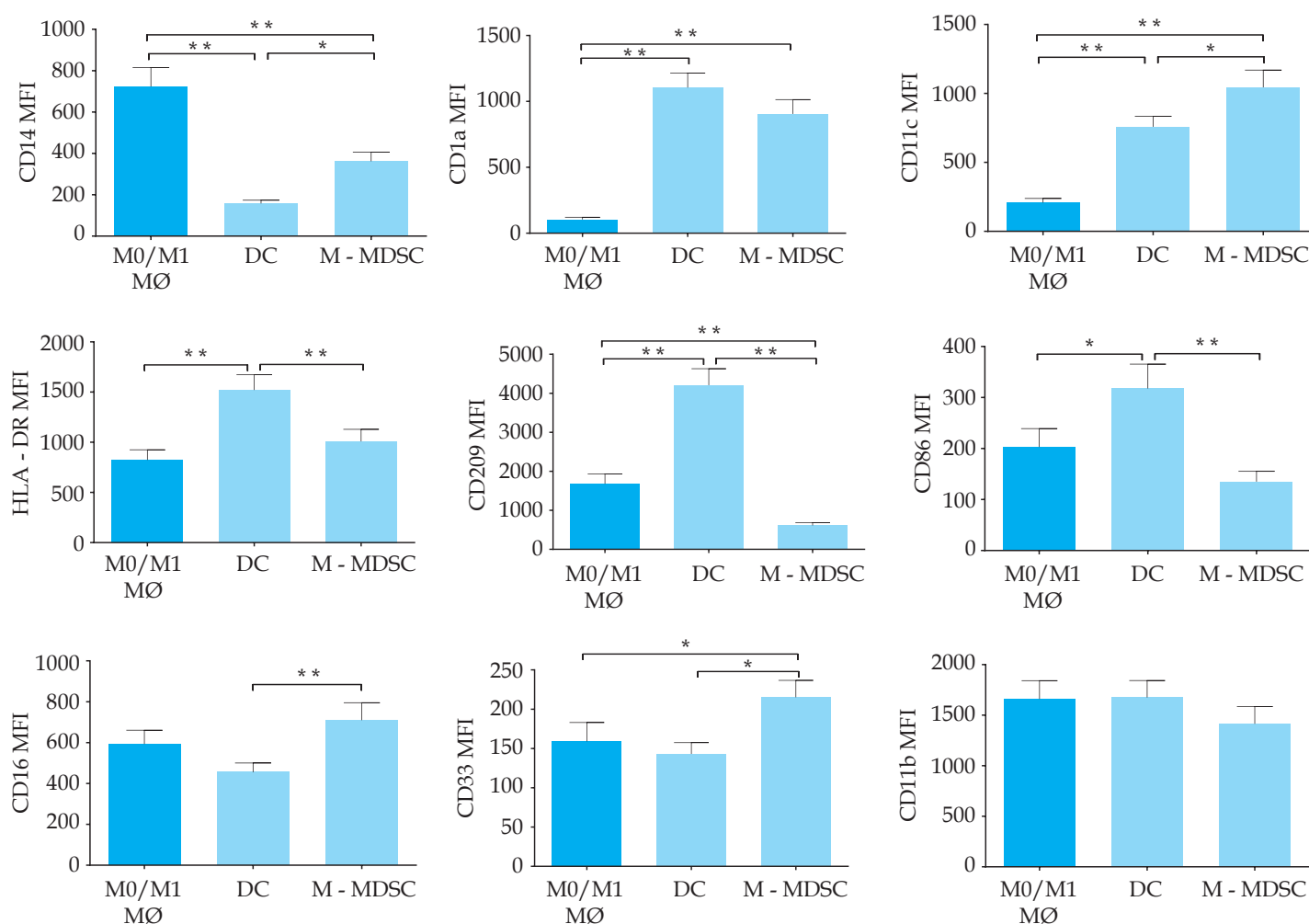


Figure 1. Expression of characteristic M0/M1 MØ, DC and MDSC markers
* $p < 0.05$; ** $p < 0.001$, compared to corresponding cells indicated by bars ($n=3$)

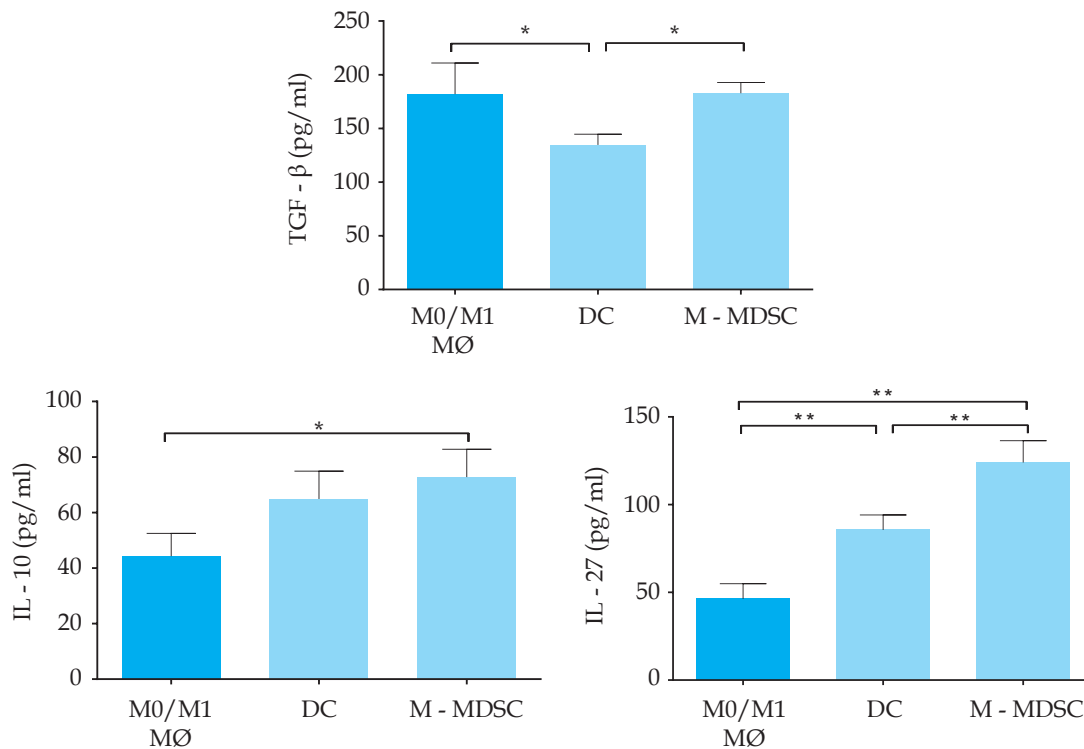


Figure 2. Production of IL-10, TGF-β and IL-27 by M0/M1 MØ, DC and MDSC in culture
* $p < 0.05$; ** $p < 0.001$, compared to corresponding cultures indicated by bars ($n=3$)

cell populations.

After this, we tested the levels of three cytokines with predominant immunosuppressive functions in culture supernatants. M-MDSC and M0/M1 MØ produced significantly higher quantity of TGF-β (182.8 ± 12.71 pg/ml and 182 ± 29 pg/ml, respectively), compared to DC (134.6 ± 11.20 pg/ml) ($p < 0.05$). M-MDSC also produced significantly more IL-10 (72.8 ± 10.0 pg/ml) in comparison to M0/M1 MØ (44.3 ± 8.2 pg/ml) ($p < 0.05$). IL-27 was considerably more produced by M-MDSC (124.02 ± 12.40 pg/ml) compared to DC (85.59 ± 8.56 pg/ml) and M0/M1 MØ (46.30 ± 8.60). Furthermore, the difference in mean concentrations of IL-27 was observed between DC and M0/M1 MØ ($p < 0.001$) (Fig. 2).

PHA is a potent stimulator of human T-cell proliferation. Therefore, the final aim of this study was to examine how cells

generated from monocytes in our culture model change T-cell proliferation using whole PBMNC. Fig.3. shows that DC significantly up-regulated PHA-induced proliferation of PBMNC ($p < 0.05$). M-MDSC had the opposite effect ($p < 0.001$), whereas M0/M1 MØ did not significantly modulate PBMNC proliferation.

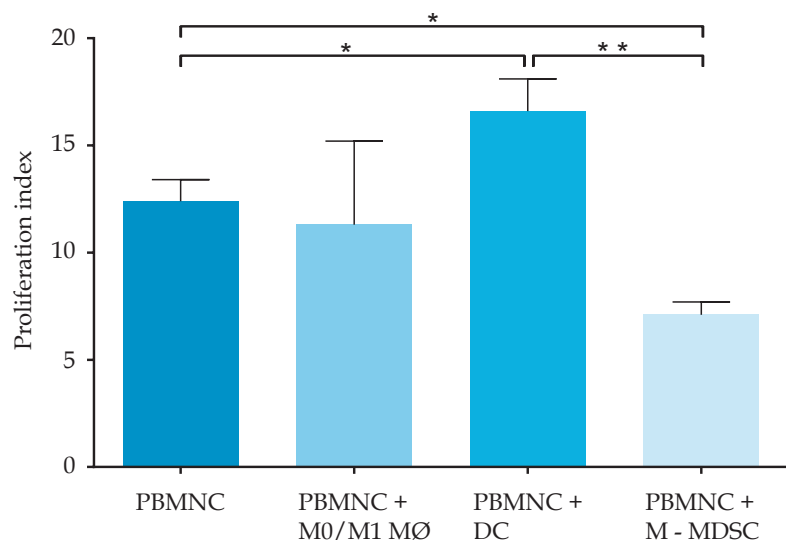


Figure 3. Proliferation of PBMNC in co-culture with M0/M1 MØ, DC or M-MDSC upon stimulation with PHA

Discussion

Two major characteristic features of monocytes are heterogeneity and plasticity. These cells have the ability to undergo phenotypic and functional changes in response to the stimuli from the local microenvironment [1]. It is known that monocytes can differentiate into different subsets of MØ, DC and M-MDSC, depending on the activation factors, but comparison of their phenotypic profiles and functions, which are changed during the differentiation process, is something which is rarely explored [2–4]. This was the reason why we studied these parameters during differentiation of human monocytes in culture.

In healthy individuals, monocytes are easily identifiable among the HLA-DR⁺CD11b⁺ myeloid compartment. According to the Nomenclature Committee of the International Union of Immunologic Societies, population of monocytes has been divided into three subsets: classical (CD14^{high}CD16^{low} cells) constituting the majority of population (>90%), whereas CD14^{low}CD16^{high} cells, non-classical monocytes and intermediate subset (CD14^{high}CD16^{high} cells) account for only 5–10% of circulating monocytes. Classical and intermediate monocytes manifest inflammatory properties and are referred as inflammatory monocytes [1, 19]. The monocytes originate from monoblasts in the bone marrow that differentiate to promonocytes and then to monocytes. Monocytes play an important role in homeostasis and inflammation including the removal of apoptotic and necrotic cells [20]. Circulating monocytes get recruited to injury sites where they differentiate into macrophages [21]. Even though, the most common function of all macrophages is phagocytosis of microorganisms and apoptotic cells, they are very heterogeneous in terms of their functions and surface marker expression [1]. Macrophages are highly plastic cell population that respond quickly to a variety of environmental stimuli. This plasticity can be easily studied in culture experiments. Aiming to study macrophage induction *in vitro*, different stimuli are used to induce a particular macrophage phenotype [22, 23]. In general, GM-CSF is used as differentiation factor for their full maturation, including transformation of these cells into M0/

M1 MØ. In contrast, LPS and IFN- γ are required as maturation factors for induction of M1 MØ. M-CSF together with IL-4 and/or IL-10 are used for M2 induction [5, 24]. M0/M1 MØ are known to produce pro-inflammatory factors and their main function is to phagocytose microorganisms and matrix debris [5]. After cultivation of monocytes with GM-CSF alone Chapuis et al. showed that HLA-DR was down-regulated, while CD14 was highly expressed compared to CD1a [25]. Previous reports showed that M0/M1 MØ induced with GM-CSF alone had high expression of CD14 and CD11b [26]. Both studies coincide with our results. In addition, we have showed that monocytes cultivated with GM-CSF also express CD11c, CD209, CD86, CD16 and CD33.

MDSC are potent immune suppressor cells. Their number is particularly increased in cancer patients [27]. Neoplastic cells release soluble cytokines that drive the accumulation of MDSC in TME, where they suppress the activation of T cells and stimulate FoxP3⁺ regulatory T cells (Tregs) by which they promote tumor progression [13]. Their detection is important because they have been recognized as a substantial limiting factor for the effectiveness of checkpoint inhibition therapy [28]. Immunotherapy by checkpoint inhibitors was very successful in treating metastatic melanoma, metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC), head and neck squamous cell cancer, colorectal cancer, hepatocellular cancer and Hodgkin lymphoma [29]. However, these Abs which are designed to block signaling molecules that regulate T cell activation have impressive results in some, but not in all patients. This non-response to immunotherapy in some patients may be related at least in part to intensive immunosuppression which is mediated by MDSC [28]. Six ongoing clinical trials suggests that possible blockage of suppressive receptors on M-MDSC could improve checkpoint inhibition therapy for advanced renal cell cancer, melanoma, NSCLC and colorectal cancer [29] and that's why investigation of their phenotypical and functional characteristics is important. The selection of cytokines used to obtain M-MDSC from monocytes was based on our previous reports [17]. We showed that these cells expressed high levels of CD33, CD14, CD16 and low levels

of HLA-DR, which is in agreement with the general phenotype of these cells [14, 17]. In addition, M-MDSC expressed CD1a, CD11c and CD11b and had the ability to suppress PHA induced proliferation of T lymphocytes.

When stimulated with GM-CSF and IL-4 in *in vitro* conditions, monocytes yield immature DC. Upon encountering microbial antigens, these cells are transformed into mature DC which are the most potent antigen-presenting cells [7]. Our results have showed high expression of HLA-DR, low expression of CD14, and high expression of CD16, CD11c, CD209 and CD1a on immature DC. These results are generally in agreement with other studies [25, 30]. Some differences depend on donor and medium used for generation of DC. The high expression of HLA-DR, CD1a and CD86 on DC, in comparison with other two cell populations, is associated with the antigen-presenting function of DC. In contrast, higher expression of CD16 and CD33 on M-MDSC, together with low expression of HLA-DR, in comparison to the other cells, supports the opinion that these molecules are of considerable importance for the immune suppressive function of M-MDSC. This is confirmed by strong stimulation of T-cell proliferation by DC in our culture system.

Even though CD1a is a cell surface molecule that is mostly studied in the context of antigen presentation by DC [31], previous reports also suggested up regulation of CD1a marker on human monocytes by GM-CSF [32]. In a study from Beyer et al., monocytes treated with GM-CSF showed significant up regulation of CD1a protein [26]. In our study CD1a has been significantly down regulated in M0/M1 MØ, while it has been up regulated in DC and M-MDSC population. Furthermore, CD11c surface marker being commonly up regulated in MØ [33] has been significantly down regulated when compared to DC and M-MDSC population. The possible explanation for this is that all these cells have been cultured in DC medium which is optimized for the differentiation of CD14⁺ monocytes into mature DC. Such a type of culture medium have not been used so far for differentiation of macrophage subsets.

To better characterize the functions of cell populations generated from monocytes in our

cultures, we analyzed the production of three cytokines (TGF- β , IL-10 and IL-27). TGF- β is a pleiotropic cytokine with a dual function role in cancer and has a capacity to block early stages of tumor progression while promoting progression at late stages of tumor [34]. Within TME, TGF- β is considered as one of the main factors of inflammation by changing the activity of the innate and adaptive response [35-40]. It is considered to be the most immune-suppressive cytokine produced by cancer cells allowing them to escape from immune surveillance [40, 41], which contributes to tumor progression and metastatic potential [42]. Production of TGF- β by TME contributes to the increase of M-MDSC number and function [34] and *in vitro* is capable to induce functional M-MDSC from human monocytes [11]. In our research, we have showed that M-MDSC and M0/M1 MØ produced equal concentrations of TGF- β in comparison with DC which secretes lower levels of TGF- β . Since M-MDSC and M0/M1 MØ have opposite functions (inhibition versus stimulation of the immune response), it can be hypothesized that TGF- β is not a crucial immunosuppressive cytokine for M-MDSC. Another cytokine with immunosuppressive properties is IL-10 [43]. Our results, showing higher production of IL-10 by M-MDSC in comparison with M0/M1 MØ cells, are in line with these findings. However, in contrast to expected results, the difference in production of IL-10 between M-MDSC and DC have not been statistically significant, suggesting that the function of this cytokine can be considered in the context with other biomolecules involved in the adjustment of the immune response. IL-27 is a member of the IL-12 cytokine family. When IL-27 binds to the IL-27 receptor, there are two possible types of responses, pro-inflammatory and anti-inflammatory and the response is mostly dependent on the external surrounding of IL-27 [44]. IL-27 is involved in inducing or suppressing different T cell subsets. Th1 cells are activated, but Th2, Th17 and Tregs are inhibited by IL-27 [45, 46]. Our results show that M-MDSC produced significantly more IL-27 when compared to M0/M1 MØ and DC population suggesting that immunosuppressive function of the M-MDSC population involves IL-27, TGF- β and IL-10, which may act synergistically.

Conclusion

This study have showed that human monocytes undergo phenotypic and functional changes in culture, which are dependent on the cytokine cocktail used. M0/M1 MØ were differentiated in the presence of GM-CSF, DC were differentiated with GM-CSF+IL-4 and M-MDSC were differentiated with GM-CSF+IL-6. Some specific phenotypic changes of MØ subsets are different to those already published. These differences can

be due to medium used which is designed for differentiation of DC. Phenotypic characteristics of these cells correlated with the production of cytokines involved in modulation of T-cell proliferation. Given the significant role of these cells in the tumor microenvironment, future research could address the effect of checkpoint blockage on these cells, especially M-MDSC as possible therapy of cancer.

Funding source. The authors received no specific funding for this work.

Ethical approval. The Ethics Committee of the Faculty of Medicine in Foca approved the study and informed consent was obtained from all individual respondents.

The research was conducted according to the Declaration of Helsinki.

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interest.

References:

1. Das A, Sinha M, Datta S, Abas M, Chaffee S, Sen CK, et al. Monocyte and macrophage plasticity in tissue repair and regeneration. *The American journal of pathology*. 2015;185(10):2596-606.
2. Eischen A, Vincent F, Bergerat J, Louis B, Faradji A, Bohbot A, et al. Long term cultures of human monocytes in vitro Impact of GM-CSF on survival and differentiation. *Journal of immunological methods*. 1991;143(2):209-21.
3. Palucka KA, Taquet N, Sanchez-Chapuis F, Gluckman JC. Dendritic cells as the terminal stage of monocyte differentiation. *The Journal of Immunology*. 1998;160(9):4587-95.
4. Lechner MG, Liebertz DJ, Epstein AL. Characterization of cytokine-induced myeloid-derived suppressor cells from normal human peripheral blood mononuclear cells. *The Journal of Immunology*. 2010;185(4):2273-84.
5. Vogel DY, Glim JE, Stavenuiter AW, Breur M, Heijnen P, Amor S, et al. Human macrophage polarization in vitro: maturation and activation methods compared. *Immunobiology*. 2014;219(9):695-703.
6. Sica A, Bronte V. Altered macrophage differentiation and immune dysfunction in tumor development. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117(5):1155-66.
7. Park S-J, Nakagawa T, Kitamura H, Atsumi T, Kamon H, Sawa S-i, et al. IL-6 regulates in vivo dendritic cell differentiation through STAT3 activation. *The Journal of Immunology*. 2004;173(6):3844-54.
8. Gabrilovich D. Mechanisms and functional significance of tumour-induced dendritic-cell defects. *Nature Reviews Immunology*. 2004;4(12):941.
9. Ostrand-Rosenberg S, Sinha P, Beury DW, Clements VK, editors. Cross-talk between myeloid-derived suppressor cells (MDSC), macrophages, and dendritic cells enhances tumor-induced immune suppression. *Seminars in cancer biology*; 2012: Elsevier.
10. Heine A, Held SAE, Schulte-Schrepping J, Wolff JFA, Klee K, Ulas T, et al. Generation and functional characterization of MDSC-like cells. *Oncoimmunology*. 2017;6(4):e1295203.
11. Casacuberta-Serra S, Parés M, Golbano A, Coves E, Espejo C, Barquinero J. Myeloid-derived suppressor cells can be efficiently generated from human hematopoietic progenitors and peripheral blood monocytes. *Immunology & Cell Biology*. 2017;95(6):538-48.
12. Mazzoni A, Bronte V, Visintin A, Spitzer JH, Apolloni E, Serafini P, et al. Myeloid suppressor lines inhibit T cell responses by an NO-dependent mechanism. *The Journal of Immunology*. 2002;168(2):689-95.
13. Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nature reviews immunology*. 2009;9(3):162.
14. Elliott LA, Doherty GA, Sheahan K, Ryan EJ. Human tumor-infiltrating myeloid cells: phenotypic and functional diversity. *Frontiers in immunology*. 2017;8:86.
15. Obermajer N, Kalinski P. Generation of myeloid-derived suppressor cells using prostaglandin E 2. *Transplantation research*. 2012;1(1):15.
16. Lechner MG, Megiel C, Russell SM, Bingham B, Arger N, Woo T, et al. Functional characterization of human Cd33+ and Cd11b+ myeloid-derived suppressor cell subsets induced from peripheral blood mononuclear cells co-cultured with a diverse set

- of human tumor cell lines. *Journal of translational medicine*. 2011;9(1):90.
17. Tomić S, Joksimović B, Bekić M, Vasiljević M, Mila-nović M, Čolić M, et al. Prostaglandin-E2 potentia-tes the suppressive functions of human mononuc-lear myeloid-derived suppressor cells and increases their capacity to expand IL-10-producing regulatory T cell subsets. *Frontiers in Immunology*. 2019;10:475.
 18. Kock G, Bringmann A, Held SAE, Daecke S, Heine A, Brossart P. Regulation of dectin-1-mediated den-dritic cell activation by peroxisome proliferator-acti-vated receptor-gamma ligand troglitazone. *Blood*. 2011;blood-2010-08-302224.
 19. Chen H-M, Ma G, Gildener-Leapman N, Eisenstein S, Coakley BA, Ozao J, et al. Myeloid-Derived Sup-pressor Cells as an Immune Parameter in Patients with Concurrent Sunitinib and Stereotactic Body Radiotherapy. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Re-search*. 2015;21(18):4073-85.
 20. Serbina NV, Jia T, Hohl TM, Pamer EG. Monocyte-me-diated defense against microbial pathogens. *Annu Rev Immunol*. 2008;26:421-52.
 21. Gordon S, Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nature reviews immunology*. 2005;5(12):953.
 22. Ambarus CA, Krausz S, van Eijk M, Hamann J, Rad-stake T, Reedquist KA, et al. Systematic validation of specific phenotypic markers for in vitro polarized human macrophages. *Journal of immunological meth-ods*. 2012;375(1-2):196-206.
 23. Verreck FA, de Boer T, Langenberg DM, Hoeve MA, Kramer M, Vaisberg E, et al. Human IL-23-producing type 1 macrophages promote but IL-10-producing type 2 macrophages subvert immunity to (myco) bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004;101(13):4560-5.
 24. Durafourt BA, Moore CS, Zammit DA, Johnson TA, Zaguia F, Guiot MC, et al. Comparison of polariza-tion properties of human adult microglia and blo-od-derived macrophages. *Glia*. 2012;60(5):717-27.
 25. Chapuis F, Rosenzweig M, Yagello M, Ekman M, Bi-berfeld P, Gluckman JC. Differentiation of human dendritic cells from monocytes in vitro. *European journal of immunology*. 1997;27(2):431-41.
 26. Beyer M, Mallmann MR, Xue J, Staratschek-Jox A, Vor-holt D, Krebs W, et al. High-resolution transcriptome of human macrophages. *PLoS One*. 2012;7(9):e45466.
 27. Seo EH, Namgung JH, Oh CS, Kim SH, Lee SH. Association of Chemokines and Chemokine Recep-tor Expression with Monocytic-Myeloid-Derived Su-pressor Cells during Tumor Progression. *Immune network*. 2018;18(3):e23.
 28. Messmer MN, Netherby CS, Banik D, Abrams SI. Tumor-induced myeloid dysfunction and its impli-cations for cancer immunotherapy. *Cancer Immu-nology, Immunotherapy*. 2015;64(1):1-13.
 29. Weber R, Fleming V, Hu X, Nagibin V, Groth C, Alte-vogt P, et al. Myeloid-Derived Suppressor Cells Hin-der the Anti-Cancer Activity of Immune Checkpoint Inhibitors. *Frontiers in immunology*. 2018;9:1310-.
 30. Boyette LB, Macedo C, Hadi K, Elinoff BD, Walters JT, Ramaswami B, et al. Phenotype, function, and differentiation potential of human monocyte sub-sets. *PLoS One*. 2017;12(4):e0176460.
 31. Porcelli SA, Modlin RL. The CD1 system: anti-gen-presenting molecules for T cell recognition of lipids and glycolipids. *Annual review of immuno-logy*. 1999;17(1):297-329.
 32. Kasinrerk W, Baumruker T, Majdic O, Knapp W, Stockinger H. CD1 molecule expression on human monocytes induced by granulocyte-macrophage co-lony-stimulating factor. *The Journal of Immunology*. 1993;150(2):579-84.
 33. Wouters K, Gaens K, Bijnen M, Verboven K, Jocken J, Wetzels S, et al. Circulating classical monocytes are associated with CD11c+ macrophages in human vis-eral adipose tissue. *Scientific reports*. 2017;7:42665.
 34. Santibanez JF, Bjelica S. Transforming Growth Fac-tor-Beta1 and Myeloid-Derived Suppressor Cells Interplay in Cancer. *The Open Cancer Immunology Journal*. 2017;6(1).
 35. Bronte V, Brandau S, Chen S-H, Colombo MP, Frey AB, Greten TF, et al. Recommendations for myelo-id-derived suppressor cell nomenclature and cha-racterization standards. *Nature communications*. 2016;7:12150.
 36. Marvel D, Gabrilovich DI. Myeloid-derived suppres-sor cells in the tumor microenvironment: expect the unexpected. *J Clin Invest*. 2015;125(9):3356-64.
 37. Beury DW, Parker KH, Nyandjo M, Sinha P, Carter KA, Ostrand-Rosenberg S. Cross-talk among myelo-id-derived suppressor cells, macrophages, and tumor cells impacts the inflammatory milieu of solid tumors. *Journal of leukocyte biology*. 2014;96(6):1109-18.
 38. Huang B, Pan P-Y, Li Q, Sato AI, Levy DE, Bromberg J, et al. Gr-1+ CD115+ immature myeloid suppressor cells mediate the development of tumor-induced T regulatory cells and T-cell anergy in tumor-bearing host. *Cancer research*. 2006;66(2):1123-31.
 39. Ostrand-Rosenberg S, Sinha P. Myeloid-derived suppressor cells: linking inflammation and can-cer. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2009;182(8):4499-506.
 40. Yang L, Pang Y, Moses HL. TGF-beta and immune cells: an important regulatory axis in the tumor mi-

- croenvironment and progression. Trends in immunology. 2010;31(6):220-7.
41. Teicher BA. Transforming growth factor-beta and the immune response to malignant disease. Clin Cancer Res. 2007;13(21):6247-51.
 42. Tian M, Schiemann WP. The TGF-beta paradox in human cancer: an update. Future oncology (London, England). 2009;5(2):259-71.
 43. Park MJ, Lee SH, Kim EK, Lee EJ, Baek JA, Park SH, et al. Interleukin-10 produced by myeloid-derived suppressor cells is critical for the induction of Tregs and attenuation of rheumatoid inflammation in mice. Scientific reports. 2018;8(1):3753.
 44. Meka RR, Venkatesha SH, Dudics S, Acharya B, Mudgil KD. IL-27-induced modulation of autoimmunity and its therapeutic potential. Autoimmunity reviews. 2015;14(12):1131-41.
 45. Yoshida H, Hunter CA. The immunobiology of interleukin-27. Annu Rev Immunol. 2015;33:417-43.
 46. Iwasaki Y, Fujio K, Okamura T, Yamamoto K. Interleukin-27 in T cell immunity. International journal of molecular sciences. 2015;16(2):2851-63.

Diferencijalna plastičnost humanih monocita u kulturi ćelija

Bojan Joksimović¹, Sergej Tomić², Marina Bekić², Miloš Vasiljević¹,
Dragana Vučević³, Miodrag Čolić^{1,2}

¹Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Medicinski fakultet Foča, Centar za Biomedicinska istraživanja, Foča, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

²Univerzitet u Beogradu, Institut za primenu nuklearne energije, Beograd, Srbija

³Vojno-medicinska akademija, Institut za medicinska istraživanja, Beograd, Srbija

Uvod. Humani monociti su heterogena i plastična populacija ćelija sa sposobnošću da se fenotipski i funkcionalno izmijene kao odgovor na stimuluse iz lokalne mikrosredine. Cilj našeg istraživanja bio je da se ispita potencijal humanih monocita za diferencijaciju u druge ćelijske populacije u zavisnosti od vrste citokina (IL-4 i IL-6) dodate u kulturi i da se uporede fenotipske i funkcionalne karakteristike dobijenih ćelija.

Metode. Mononuklearne ćelije periferne krvi (PBMNC) su izolovane iz leukocitnog koncentrata zdravih donora. Monociti, koji su izdvojeni iz PBMNC adhezijom na plastici, su kultivisani u medijumu za dendritske ćelije (DC), tokom 5 dana, u prisustvu faktora rasta granulocitno-makrofagnih kolonija (GM-CSF), ili sa GM-CSF uz dodatak interleukina-4 (IL-4) ili IL-6. Nakon kultivacije, analizirane su fenotipske karakteristike ovih ćelija protočnom citometrijom, dok su nivoi produkovanih citokina analizirani ELISA metodom. Potencijal diferencijacije ćelija u modulaciji proliferacije alogernih T ćelija su ispitivani ko-kultivacijom ovih ćelija sa PBMNC.

Rezultati. GM-CSF je diferencijovao monocyte u M0/M1 makrofage (MØ). Kombinovana primjena GM-CSF i IL-4 dovela je do diferencijacije monocita u nezrele DC, dok je primjena GM-CSF i IL-6 transformisala monocyte u monocitne mijeloidne supresorske ćelije (M-MDSC). Sve ćelijske populacije su ispoljile tipične monocitno/makrofagne markere kao što su CD14, CD11b, CD16 i CD33, HLA-DR, CD209 i CD86, ko-stimulatorni marker. DC i M-MDSC su ispoljile CD1a i CD11c, nasuprot M0/M1 MØ. Ekspresija HLA-DR, CD1a, CD209 i CD86 bila je najviša na DC populaciji. Ekspresija CD33 i CD16 je bila najviša na M-MDSC, što je praćeno najnižom ekspresijom HLA-DR. Potencijal za proliferaciju T ćelija bio je najviši u kulturama PBMNC sa DC, dok su M-MDSC imale suprotan, supresivni, efekat. Ove razlike su bile povezane sa visokom produkcijom imunosupresivnih citokina kao što su IL-10, IL-27 i TGF-β od strane M-MDSC.

Zaključak. Ova studija je potvrdila plastičnost humanih monocita u pogledu njihove diferencijacije u zavisnosti od dodatih citokina u kulturi. Fenotipske karakteristike ovih ćelija su korelisale sa produkcijom citokina koji su uključeni u modulaciju proliferacije T ćelija.

Glavne riječi: plastičnost, diferencijacija, monociti, kultura, citokini, proliferacija T ćelija

Original article

Cellulose nanocrystals induce a dose-dependent effect on cytotoxicity and proliferative activity of human peripheral blood mononuclear cells

Miloš Vasiljević¹,
Sergej Tomić²,
Marina Bekić²,
Bojan Joksimović¹,
Dragana Vučević³,
Miodrag Čolić^{1,2}

¹University of East Sarajevo, Faculty of Medicine Foca, Center for Biomedical Sciences, Foca, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

²University of Belgrade, Institute for Application of Nuclear Energy, Belgrade, Serbia

³Military Medical Academy, Institute for Medical Research, Belgrade, Serbia

Primljen – Received: 11/01/2020
Prihvaćen – Accepted: 29/05/2020

Corresponding author:
Teaching assist. Miloš Vasiljević
Studentska 5, 73 000 Foca, Republika Srpska
vasiljevicmilos85@gmail.com

Copyright: ©2020 Vasiljević M, et al. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license.

Summary

Introduction. Cellulose nanocrystals (CNCs) as attractive natural materials, have numerous applications in the biomedical field. Their unique biomechanical characteristics, surface chemistry, low cost and sustainable nature make them an engaging alternative to conventional materials and potentiate their use as progressive material. Therefore, it is critical to evaluate the cytocompatibility and immunomodulatory properties of nCNCs, which have not been completely explored. The objective of this study was to examine a dose-dependent effect of native (n)CNCs on cytotoxicity and proliferative activity of human peripheral blood mononuclear cells (PBMNCs) *in vitro*.

Methods. PBMNCs, obtained from the healthy blood donors, were cultivated with nCNCs. Cell viability was analyzed by flow cytometry assay, while proliferative activity was determined by MTT, [3H]-thymidine uptake assay and detection of IL-2 production.

Results. The cytotoxicity results suggested that no concentration of nCNCs (50–400 µg/ml) affected necrosis of PBMNCs, whereas apoptosis was induced by the highest concentration of nCNCs compared to control ($p < 0.05$). Unexpectedly, the highest concentration of nCNCs increased the metabolic activity of PHA-stimulated cells compared to control ($p < 0.05$). In contrast to these findings, lower concentrations of nCNCs (50 µg/ml and 100 µg/ml) stimulated proliferation of PBMNCs ($p < 0.05$ and $p < 0.001$). It was followed by increased production of IL-2 (100 µg/ml) ($p < 0.001$).

Conclusion. The results suggest that non-cytotoxic concentrations of nCNCs modulate the proliferative activity of human PBMNCs, a phenomenon which has not been published up to now and which is relevant for further studies.

Keywords: cellulose nanocrystals, peripheral blood mononuclear cells, culture, cytotoxicity, proliferative activity

Introduction

In recent years, natural polymers, especially cellulose, present popular area of intense research in biomedicine [1]. Nanoscaled form of cellulose, (nanocellulose) attracts more attention as unique and sophisticated material. Unlike traditional materials, nanocellulose is characterized by biocompatibility, non-toxicity, biodegradability, combined with outstanding mechanical and chemical properties, low cost, availability, and sustainability [2]. Such qualities offer numerous application opportunities

of nanocellulose in various technical, nutritional, pharmaceutical and biomedical areas [3, 4].

Depending on the source and the chemical treatment, nanocellulose can be classified into three major types: cellulose nanofibrils (CNFs), cellulose nanocrystals (CNCs) and bacterial cellulose (BC). Taking into account that cytotoxicity is a crucial parameter of biocompatibility, CNFs can be recognized as safe and biocompatible material, as pointed out by several papers [5–7]. In vitro reports concerning the CNF immunomodulatory abilities in two models of human immune cells, Čolić et al. confirmed tolerogenic capacity of CNFs [8, 9]. This was estimated by means of the inhibitory effect of CNFs on T helper1 (Th1), Th17 responses and T-cell activation, as well as by expanding Th2 cells, activating regulatory T cells (Tregs) and increasing the production of immunoregulatory cytokines. The latter study showed that phosphonation of CNFs enhanced these properties [10].

Cellulose chains parallelly packed into filamentous structures formed needle-like CNCs (high-aspect-ratio nanoparticles, $HARN \geq 3$). Due to the uniaxial orientation of these chains and the high degree of crystallinity, CNCs possessed tremendous stiffness and strength [11]. Having these characteristics, cellulose nanocrystals have obtained increasing attention recently as a result of the renewable nature of the source, comparatively low cost, low density, as well as its biodegradability. Other attractive features are the ability of CNCs to interact with other polymeric matrix materials and possibility of chemical modifications due to the abundance of surface hydroxyl groups [12]. All these features make CNCs attractive for a wide spectrum of new applications.

Taking into account that nanocellulose, including CNCs, has had commercial applications, controversy concerning its biocompatibility and immunomodulatory properties has been actualized. As it has been already mentioned, cellulose is generally considered to be biocompatible and safe material [2, 13, 14]. In contrast, cytotoxic and inflammatory effect of CNCs was confirmed in vivo, using a mice model [15]. Namely, pulmonary exposition to two types of CNCs such as powdered CNC (CNCP) and CNC suspension (CNCS) induced increased production of

pro-inflammatory cytokines, particularly tumor necrosis factor (TNF)- α and interleukin (IL)-1 α and activation of Th1 (CNCS) and Th2 (CNCP) immune responses. These results were in accordance with the results of Clift et al., who showed slight cytotoxic and inflammatory effect of CNCs in a model of human epithelial triple-cell co-culture [16]. However, such a phenomenon was not demonstrated against nine different cell lines, although applied concentrations of CNCs were similar [17]. In a realistic and efficient 3D model of the human epithelial tissue cells, Endes and co-workers tested aerosolised CNCs at a concentration of 0.14 to 1.57 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. After 24-hour post-exposure they did not identify cytotoxicity, oxidative stress and (pro-)inflammatory response considering the production of IL-8 and TNF- α [18]. In line with these results, Catalan and his group showed that CNCs (30–300 mg/ml) did not up-regulate the production of pro-inflammatory cytokines (IL-1 β and TNF- α) in human monocyte-derived macrophages after a 6-hour exposure [19].

It's obvious that besides the biocompatibility, the immunomodulatory properties of biomaterials should be examined before the clinical applications. The interaction of nanomaterials with the components of the immune system is particularly important in a view of its protective role. To this date, despite the biocompatibility of nanocellulose, almost nothing has been known about immunological properties of native (n)CNCs. Therefore, the study objective was to investigate the effect of nCNCs on cytotoxicity, proliferation and IL-2 production of human peripheral blood mononuclear cells (PBMNCs) in culture.

Materials and methods

nCNCs and PBMNCs

nCNCs were produced and supplied by Betulium Ltd., Finland. The levels of concentrations used in cultivation ranged from 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ to 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$. nCNCs were prepared in complete Roswell Park Memorial Institute (RPMI)-1640 medium containing 10% fetal calf serum (FCS), 50 μM 2-mercaptoethanol (all from Sigma-Aldrich), and 100 U/ml penicillin, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ gentamicin, 100

mg/ml streptomycin (Galenika).

The mononuclear cells were obtained from the voluntary healthy blood donors (buffy coats) at the Department of Blood Transfusion, University Hospital in Foca, upon receiving a signed informed consent in accordance with the Declaration of Helsinki. Approval for all the experiments was obtained from the Ethics Committee of the University of East Sarajevo, Faculty of Medicine in Foca (permission date October 24th 2018, Foca). Buffy coat was diluted with 0.02% ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dihydrate (NaEDTA) in 0.01 M phosphate buffered saline (PBS) in 1:2 M ratio and gently inflicted on the density gradient (Sigma-Aldrich). After centrifugation (1000xg, 20 min, 20 °C), the interphase containing PBMNCs was transferred to a new sterile conical tube. For removal of platelets, cells were centrifugated four times (130xg, 10 min, 20 °C) with 0.02% NaEDTA in PBS. Eventually, the mononuclears were resuspended in complete medium. After Trypan blue staining (1% in physiological solution), their viability and number were estimated using a light microscope (Olympus).

Necrosis and apoptosis

PBMNCs (3×10^5 /well of 96-well plates (Sarstedt)) have been plated in complete medium with nCNCs (50 µg/ml–400 µg/ml) or without nCNCs (control) in an incubator with 37°C, 5% CO₂ and 90% humidity for 48 h. All cultures were set up in triplicates. After that, PBMNCs cultures were collected, filtrated and centrifuged (130xg, 10 min) for the purpose of removal of remaining nCNC in the supernatants.

After staining the PBMNCs with propidium iodide (PI) (Sigma-Aldrich) 20 µg/ml in PBS, the viability was determined using flow cytometry (Sysmex Partec Cube 6). Necrotic cells were determined as PI+ cells. Minimal number of analyzed cells was 5.000 within a sample. The results are shown as percentages of necrotic cells.

PI (50 µg/ml) staining of mononuclears in hypotonic citric/Triton-X buffer was used for apoptosis detection. The analysis was done by cytofluorometry, as specified in necrosis assay. Hypodiploid cells (sub-G0 pick) presented apoptotic population. Minimal number of analyzed

cells per sample was 5.000. The results are shown as percentage of cells in apoptosis.

MTT assay

PBMNCs were sowed in 96-well plates (Sarstedt) (3×10^5 cells per well, in triplicates), in complete medium. The cells were stimulated with phytohemagglutinin (PHA) (20 µg/ml). After that, 20 µl of nCNC suspension in complete RPMI medium was added, and finally concentration per well was 50 µg/ml–400 µg/ml. Negative controls were the wells with PBMNCs cultivated in medium alone. The mononuclears had been incubated for 72 h at 37°C, with 5% CO₂ and 90% humidity. The wells with nCNCs at the corresponding concentrations in complete medium served as additional controls, whereas the blank controls were those wells with medium alone. The metabolic activity of PBMNCs was detected by a colorimetric assay [20].

After 48 h the plates were centrifuged (900xg, 8 min), followed by removing the supernatants. Following this, the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, final concentration 500 µg/ml) (Sigma-Aldrich) solution was added to wells. After a four-hour period of incubation, 10% sodium dodecyl sulphate (SDS) (Merck) was added to each well. The next day, optical density of the evolved colour was analyzed by ELISA reader (BioTek Instruments). The values were presented as the metabolic activity (%) relative to the analogous negative controls used as 100%.

³[H]-thymidine uptake assay

PBMNCs (3×10^5 /well, in triplicates, of 96-well plates (Sarstedt)) were stimulated (PHA, 20 µg/ml) and cultured alone or with appropriate concentrations of nCNCs (50 µg/ml–400 µg/ml). After 4th day, ³[H]-thymidine (1 µCi/well) (Amersham) was added for the last 8h. The cells were harvested at the end of the cultivation period. The radioactivity (count per minutes) was detected by scintillation counter (Beckman). The results were presented as percentages compared to the proliferation of cells without nCNC (control, 100%).

Detection of IL-2

The concentrations of interleukin-2 (IL-2) were determined using the supernatants of PHA-stimulated PBMNCs cultures. Appropriate kit (BioLegend) was used in enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the measurements of the concentrations expressed in pg/ml. The standard curves were used for assessing the concentrations of IL-2, according to known concentrations of this cytokine.

Statistical analysis

The results are shown as mean $\pm$ standard deviation (SD) values of at least three independent experiments (different healthy donors). The data was analyzed using One-way ANOVA to evaluate the differences between the experimental and corresponding control samples. All statistical analysis was performed in GraphPad Prism software (La Jolla, CA, USA). Values at $p < 0.05$ were considered statistically significant.

Results

Dose-dependent effect of nCNCs on the cytotoxicity of PBMNCs

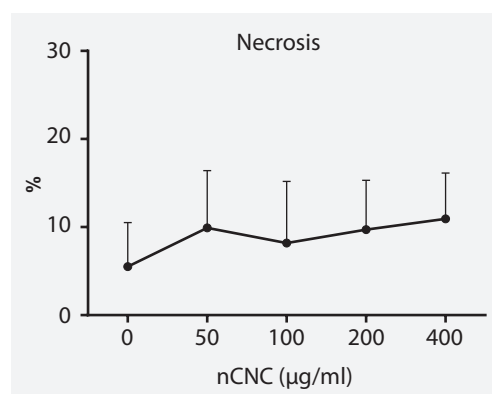
The first aim of this study was to investigate cytotoxicity of different concentrations of nCNCs (50–400 $\mu\text{g/ml}$). Cytotoxicity was assessed by testing necrosis and apoptosis of PBMNCs, as described in materials and methods.

Results presented in Fig. 1A show that nCNCs do not significantly affect the percentage of necrotic cells compared to control. However, when testing apoptosis, it can be seen (Fig. 1B) that the highest concentration of nCNCs (400 $\mu\text{g/ml}$) induce apoptosis of PBMNCs ($p < 0.05$).

Effect of nCNCs on the proliferation of PBMNCs

The proliferation of PBMNCs, stimulated with PHA, was measured by MTT and [3H]-thymidine uptake assays. Results presented in Fig. 2 show, unexpectedly, that the highest concentration of nCNCs (400 $\mu\text{g/ml}$) increased the metabolic activity of PBMNCs ($p < 0.05$) compared to

A



B

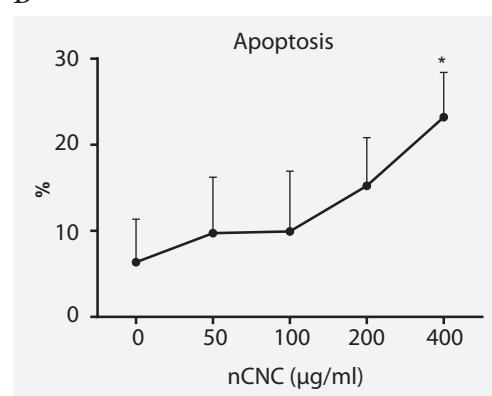


Figure 1. Effect of nCNCs on necrosis and apoptosis of PBMNCs, * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$ compared to control ($n=3$)

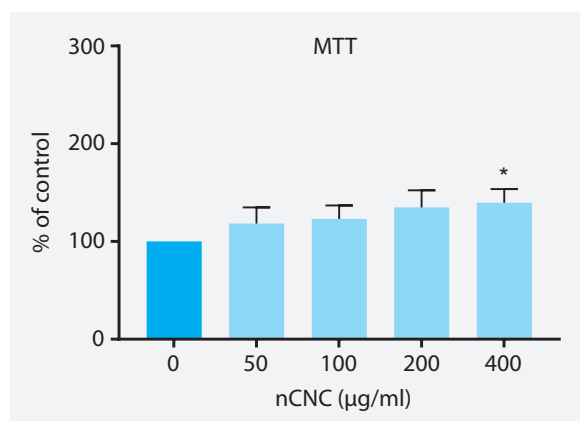


Figure 2. Effect of nCNCs on the metabolic activity of PBMNCs, * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$ compared to control ($n=3$)

control. Other concentrations have no significant modulating effect. Opposite to this, there are the results presented in Fig. 3 where significant induction of proliferation was confirmed for lower concentrations of nCNCs (50 $\mu\text{g/ml}$ and 100 $\mu\text{g/ml}$) ($p < 0.05$ and $p < 0.001$, respectively).

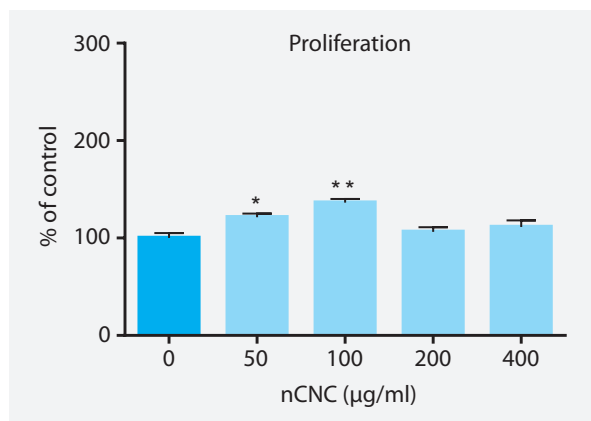


Figure 3. Effect of nCNCs on the proliferation of PB-MNCs in culture, * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$ compared to control ($n=3$)

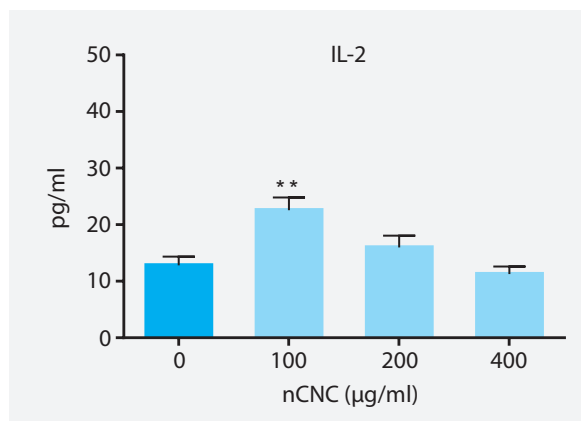


Figure 4. Effect of nCNCs on the IL-2 production in PB-MNCs cultures, * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$ compared to control ($n=3$)

The production of IL-2 was determined analysing supernatants of the mononuclear cultures stimulated with PHA. The PBMNCs cultivated with lower concentration of nCNCs (100 µg/ml) produced significant higher level of IL-2 compared to the control cells ($p < 0.001$), whereas other concentrations (200 µg/ml and 400 µg/ml) were non-modulatory (Fig. 4). These results correlate with increased proliferation of PBMNCs.

Discussion

Nanocellulose has become a promising substrate as medical implants [21, 22], cardiovascular applications [23], tissue engineering [24], wound-healing [25], drug excipient and delivery [26], as well as a promising substrate used for antimicrobial purposes [27]. In addition to the typical applications, it has been attempted for nanocellulose to be used some new biomedical areas such as capture of DNA oligomers [28], cancer targeting [29], biology-device interfaces [30] and biological detection [31].

Compared to other nanocellulose materials, nCNCs possess attractive features including surface chemistry, ability to interact with another polymeric materials, mechanical advantages and comparative affordability and sustainability [32–34]. However, prior to clinical application, it is important to define their biocompatibility and interactions with the context of the constituents of the immune system.

In the study, we investigated the effect of

nCNCs on cytotoxicity and their capability to modulate proliferation of T cells using human PHA-activated PBMNCs as in vitro model. Our cytotoxicity research demonstrated that nCNCs were not apoptosis at the highest concentration (400 µg/ml) were concerned. In contrast, a significant stimulating effect on PBMNCs was observed when using lower concentrations. This is the first report on the topic.

Pereira et al. demonstrated that cotton CNCs (above 200 µg/ml) may induce cell death of mammalian fibroblasts in vitro [35]. This phenomenon was confirmed by flow cytometry analysis and increased expressions of cell stress biomarkers (heat shock protein 70.1 and peroxiredoxin1) and apoptosis-associated molecular markers such as BCL-2 associated X protein and B-cell leukemia (BCL). In line with these outcomes, a dose-dependent cytotoxicity of cotton CNCs was observed using an in vitro model of the human epithelial airway barrier [16]. In this 3D triple cell coculture model, epithelial cells had been exposed to the multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs), cotton CNCs and crocidolite asbestos fibers (CAFs) for 24h, within the same levels of concentrations ranging between 0.005 and 0.03 mg/ml. It was demonstrated that cotton CNCs induced cytotoxicity but in a lower degree compared to the two other types of nanomaterials. Yanamala and co-workers showed toxicity of CNCs after pulmonary exposure of C57BL/6 mice to two differently processed forms of CNCs [15]. It is of interest that CNCP (powder form) el-

evated biomarkers of tissue damage to a higher extent, whereas greater increases in inflammatory mediators and oxidative stress markers were detected in mice exposed to CNC suspension (10 wt %; gel/suspension).

However, some opposite results were published. For example, no cytotoxic effects of CNCs was confirmed against nine different cell lines (bEnd.3, HBMEC, 7MCF-10A, RAW 264., MDA-MB-468, MDA-MB-231, PC-3, KB and C6) in the concentration range 0–50 µg/mL, after 48 h [17]. Also, 24-hour exposure to the aerosolised CNCs (0.14 to 1.57 µg/cm²) did not decrease the viability of cells in the 3D multi-cellular model of the human epithelial airway barrier [18]. In vitro and in vivo cytotoxicity tests with bacterial cellulose (BC), under the conditions and concentrations used, shown no evidence of toxic effect [36, 37]. CNF did not induce necrosis, apoptosis or any DNA damage in different cell lines, unlike chemically modified CNFs [5, 6, 38]. Overall, it seems that many of the observed differences can be ascribed to the wide variety of factors. The significance of appropriate biological systems (cell type), material origin, treatment and characterization, as well as cell exposure doses and time, is particularly accentuated by the seemingly directly opposing results of previous investigations. It seems that, in further studies, clear understanding of these factors is of the utmost importance and is inevitable for testing toxicological behavior of nCNCs and nanocellulose in general. However, the general conclusion is that CNCs, at the similar concentrations used by other authors, are not cytotoxic for human PBMNCs.

In contrast to the cytotoxicity study (apoptosis and necrosis), results obtained by MTT in our experiments, were different. Namely, MTT showed a significant stimulatory effect of cellular proliferation by using the highest concentration of nCNCs (400 µg/mL), as judged by increased optical density in the assay of the PHA-stimulated PBMNCs. This phenomenon could be explained by the interference of nCNCs with the solution of MTT, taking into consideration different findings which were obtained by using the ³[H]-thymidine uptake method.

The most important part of our research referred to the influence of nCNCs on prolifera-

tion of T-cells in a PHA-activated model of PBMNCs. In the presence of dendritic cells (DCs) and monocytes, PHA as a T-cell mitogen induces their proliferation. PHA allows transcription of crucial elements for T-cell growth due to interaction with diverse activating molecules on these and antigen-presenting cells (APCs) and T-cell receptor [39, 40]. In this paper, we showed, for the first time, that native CNCs were able to induce T-cell proliferation at lower concentrations (50 and 100 µg/mL). The effect was observed when ³[H]-thymidine uptake assay was applied. It is obvious that the stimulatory effect of nCNCs is an immunological phenomenon depended on a significant increase in IL-2 level. This cytokine, as a crucial T-cell growth factor, is produced by activated T cells. Furthermore, IL-2 has a key role in promoting T-cell activation and proliferation of only those cells that have been stimulated by cognate antigenic interaction [41].

Our findings are not in accordance with the results demonstrated by Moreira et al. who revealed that BC (100 µg/mL–1 mg/mL) inhibited the proliferation of CHO cells and 3T3 fibroblasts after 72 h of cultivation [42]. In line with this is slight inhibition of cellular proliferation confirmed on bacterial nanocellulose membranes [43]. Čolić and colleagues confirmed that CNFs (250 µg/mL–1 mg/mL) slightly decreased the proliferation of PHA-stimulated PBMNCs, accompanied by down-regulation of IL-2 [8]. Such properties of CNFs were the result of induction of tolerogenic human DCs, which were able to down-regulate Th1 and Th17 cells, and up-regulate Th2 and Treg [9]. On the other hand, the nanocomposite consisting of CNFs, initially showed inhibitory effect on the proliferation of endothelial and human ligament cells, while exerting a stimulatory effect afterwards [44].

According to the previous results, we suppose that APCs, particularly DCs, predominantly mediate the nCNCs up-regulating effect on activation of T-cells. In this sense, it is worth mentioning that DCs, as first components of the immune system recognizing nanomaterials, have a crucial function in initiating and modulating primary T-cell responses. What is more interesting, these interaction can lead to the initiation of either an immunogenic (inflammatory) or a tolerogenic

(anti-inflammatory) immune responses. It depends on the structural, chemical and biological properties of natural nanoscaled materials, but many other factors may affect this process such as cell types, study models, applied concentrations and exposure time [34, 45-47].

Funding source. The authors received no specific funding for this work.

Ethical approval. The Ethics Committee of the Faculty of Medicine in Foca approved the study and informed consent was obtained from all individual respondents.

Conclusion

For the first time, we have showed that nCNCs, at non cytotoxic concentrations (50-100 µg/ml), stimulate the proliferative activity of human PB-MNCs, which is followed by increased production of IL-2. Further studies are needed for better exploration of the significance of this phenomenon.

The research was conducted according to the Declaration of Helsinki.

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interest.

References

1. Jorfi M, Foster EJ. Recent advances in nanocellulose for biomedical applications. *Journal of Applied Polymer Science*. 2015;132(14).
2. Kargarzadeh H, Mariano M, Gopakumar D, Ahmad I, Thomas S, Dufresne A, et al. Advances in cellulose nanomaterials. *Cellulose*. 2018;25(4):2151-89.
3. Lin N, Dufresne A. Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect. *European Polymer Journal*. 2014;59:302-25.
4. Mondal S. Preparation, properties and applications of nanocellulosic materials. *Carbohydrate polymers*. 2017;163:301-16.
5. Vartiainen J, Pöhler T, Sirola K, Pylkkänen L, Alenius H, Hokkinen J, et al. Health and environmental safety aspects of friction grinding and spray drying of microfibrillated cellulose. *Cellulose*. 2011;18(3):775-86.
6. Alexandrescu L, Syverud K, Gatti A, Chinga-Carrasco G. Cytotoxicity tests of cellulose nanofibril-based structures. *Cellulose*. 2013;20(4):1765-75.
7. Lopes VR, Sanchez-Martinez C, Strømme M, Ferraz N. In vitro biological responses to nanofibrillated cellulose by human dermal, lung and immune cells: surface chemistry aspect. *Particle and fibre toxicology*. 2017;14(1):1.
8. Čolić M, Mihajlović D, Mathew A, Naseri N, Kokol V. Cytocompatibility and immunomodulatory properties of wood based nanofibrillated cellulose. *Cellulose*. 2015;22(1):763-78.
9. Tomić S, Kokol V, Mihajlović D, Mirčić A, Čolić M. Native cellulose nanofibrills induce immune tolerance in vitro by acting on dendritic cells. *Scientific reports*. 2016;6:31618.
10. Tomić S, Ilić N, Kokol V, Gruden-Movsesijan A, Mihajlović D, Bekić M, et al. Functionalization-dependent effects of cellulose nanofibrils on tolerogenic mechanisms of human dendritic cells. *International Journal of Nanomedicine*. 2018;13:6941-60.
11. Tashiro K, Kobayashi M. Theoretical evaluation of three-dimensional elastic constants of native and regenerated celluloses: role of hydrogen bonds. *Polymer*. 1991;32(8):1516-26.
12. Sinko R, Qin X, Ketten S. Interfacial mechanics of cellulose nanocrystals. *MRS Bulletin*. 2015;40(4):340-8.
13. Miyamoto T, Takahashi Si, Ito H, Inagaki H, Noishiki Y. Tissue biocompatibility of cellulose and its derivatives. *Journal of biomedical materials research*. 1989;23(1):125-33.
14. Izeboud E. Biocompatibility of cellulose and cellulose derivatives. *Papier (Germany)*. 1992.
15. Yanamala N, Farcas MT, Hatfield MK, Kisin ER, Kagan VE, Geraci CL, et al. In vivo evaluation of the pulmonary toxicity of cellulose nanocrystals: a renewable and sustainable nanomaterial of the future. *ACS sustainable chemistry & engineering*. 2014;2(7):1691-8.
16. Clift MJ, Foster EJ, Vanhecke D, Studer D, Wick P, Gehr P, et al. Investigating the interaction of cellulose nanofibers derived from cotton with a sophisticated 3D human lung cell coculture. *Biomacromolecules*. 2011;12(10):3666-73.
17. Dong S, Hirani AA, Colacino KR, Lee YW, Roman M. Cytotoxicity and cellular uptake of cellulose nanocrystals. *Nano Life*. 2012;2(03):1241006.
18. Endes C, Schmid O, Kinnear C, Mueller S, Camarero-Espinosa S, Vanhecke D, et al. An in vitro testing strategy towards mimicking the inhalation of high aspect ratio nanoparticles. *Particle and fibre toxicology*. 2014;11(1):40.
19. Catalán J, Ilves M, Järventaus H, Hannukainen KS, Kontturi E, Vanhala E, et al. Genotoxic and immunotoxic effects of cellulose nanocrystals in vitro. *Environmental and molecular mutagenesis*. 2015;56(2):171-82.

20. Tada H, Shiho O, Kuroshima K-i, Koyama M, Tsukamoto K. An improved colorimetric assay for interleukin 2. *Journal of immunological methods*. 1986;93(2):157-65.
21. Hagiwara Y, Putra A, Kakugo A, Furukawa H, Gong JP. Ligament-like tough double-network hydrogel based on bacterial cellulose. *Cellulose*. 2010;17(1):93-101.
22. Eyholzer C, Borges de Couraça A, Duc F, Bourban P, Tingaut P, Zimmermann T, et al. Biocomposite hydrogels with carboxymethylated, nanofibrillated cellulose powder for replacement of the nucleus pulposus. *Biomacromolecules*. 2011;12(5):1419-27.
23. Brown EE, Hu D, Abu Lail N, Zhang X. Potential of nanocrystalline cellulose–fibrin nanocomposites for artificial vascular graft applications. *Biomacromolecules*. 2013;14(4):1063-71.
24. Wen X, Zheng Y, Wu J, Wang L-N, Yuan Z, Peng J, et al. Immobilization of collagen peptide on dialdehyde bacterial cellulose nanofibers via covalent bonds for tissue engineering and regeneration. *International journal of nanomedicine*. 2015;10:4623.
25. Gonzalez JS, Ludueña LN, Ponce A, Alvarez VA. Poly (vinyl alcohol)/cellulose nanowhiskers nanocomposite hydrogels for potential wound dressings. *Materials Science and Engineering: C*. 2014;34:54-61.
26. Janjic M, Pappa F, Karagkiozaki V, Gitis C, Ktenidis K, Logothetidis S. Surface modification of endovascular stents with rosuvastatin and heparin-loaded biodegradable nanofibers by electrospinning. *International journal of nanomedicine*. 2017;12:6343.
27. Liu K, Lin X, Chen L, Huang L, Cao S. Dual-functional chitosan–methylisothiazolinone/microfibrillated cellulose biocomposites for enhancing antibacterial and mechanical properties of agar films. *Cellulose*. 2014;21(1):519-28.
28. Tabuchi M, Baba Y. Design for DNA separation medium using bacterial cellulose fibrils. *Analytical chemistry*. 2005;77(21):7090-3.
29. Dong S, Cho HJ, Lee YW, Roman M. Synthesis and cellular uptake of folic acid-conjugated cellulose nanocrystals for cancer targeting. *Biomacromolecules*. 2014;15(5):1560-7.
30. Shi Z, Li Y, Chen X, Han H, Yang G. Double network bacterial cellulose hydrogel to build a biology–device interface. *Nanoscale*. 2014;6(2):970-7.
31. Qin G, Panilaitis BJ, Kaplan ZSDL. A cellulosic responsive “living” membrane. *Carbohydrate polymers*. 2014;100:40-5.
32. Habibi Y, Lucia LA, Rojas OJ. Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications. *Chemical reviews*. 2010;110(6):3479-500.
33. Sacui I, Nieuwendaal R, Burnett D, Stranick S, Jorfi M, Weder C. Foster, EJ; Olsson, RT; Gilman, JW Comparison of the properties of cellulose nanocrystals and cellulose nanofibrils isolated from bacteria, tunicate, and wood processed using acid, enzymatic, mechanical, and oxidative methods. *ACS appl Mater Interfaces*. 2014;6:6127-38.
34. Dobrovolskaia MA, McNeil SE. Immunological properties of engineered nanomaterials. *Nature nanotechnology*. 2007;2(8):469.
35. Pereira MM, Raposo N, Brayner R, Teixeira E, Oliveira V, Quintão CCR, et al. Cytotoxicity and expression of genes involved in the cellular stress response and apoptosis in mammalian fibroblast exposed to cotton cellulose nanofibers. *Nanotechnology*. 2013;24(7):075103.
36. Jeong SI, Lee SE, Yang H, Jin Y-H, Park C-S, Park YS. Toxicologic evaluation of bacterial synthesized cellulose in endothelial cells and animals. *Molecular & Cellular Toxicology*. 2010;6(4):370-7.
37. Kim G-D, Yang H, Park HR, Park C-S, Park YS, Lee SE. Evaluation of immunoreactivity of in vitro and in vivo models against bacterial synthesized cellulose to be used as a prosthetic biomaterial. *BioChip Journal*. 2013;7(3):201-9.
38. Hua K, Carlsson DO, Ålander E, Lindström T, Strømme M, Mihranyan A, et al. Translational study between structure and biological response of nanocellulose from wood and green algae. *Rsc Advances*. 2014;4(6):2892-903.
39. O'Flynn K, Krensky AM, Beverley PC, Burakoff SJ, Linch DC. Phytohaemagglutinin activation of T cells through the sheep red blood cell receptor. *Nature*. 1985;313(6004):686.
40. Mihajlovic D, Vucevic D, Chinou I, Colic M. Royal jelly fatty acids modulate proliferation and cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells. *European Food Research and Technology*. 2014;238(5):881-7.
41. Bachmann MF, Oxenius A. Interleukin 2: from immunostimulation to immunoregulation and back again. *EMBO reports*. 2007;8(12):1142-8.
42. Moreira S, Silva NB, Almeida-Lima J, Rocha HAO, Medeiros SRB, Alves Jr C, et al. BC nanofibres: in vitro study of genotoxicity and cell proliferation. *Toxicology Letters*. 2009;189(3):235-41.
43. Bäckdahl H, Helenius G, Bodin A, Nannmark U, Johansson BR, Risberg B, et al. Mechanical properties of bacterial cellulose and interactions with smooth muscle cells. *Biomaterials*. 2006;27(9):2141-9.
44. Mathew AP, Oksman K, Pierron D, Harmand MF. Biocompatible fibrous networks of cellulose nanofibres and collagen crosslinked using genipin: potential as artificial ligament/tendons. *Macromolecular bioscience*. 2013;13(3):289-98.

45. Aldinucci A, Turco A, Biagioli T, Toma FM, Bani D, Guasti D, et al. Carbon nanotube scaffolds instruct human dendritic cells: modulating immune responses by contacts at the nanoscale. *Nano letters*. 2013;13(12):6098-105.
46. Tomić S, Đokić J, Vasiljić S, Ogrinc N, Rudolf R, Pelicon P, et al. Size-dependent effects of gold nanoparticles uptake on maturation and antitumor functions of human dendritic cells in vitro. *PloS one*. 2014;9(5):e96584.
47. Čolić M, Džopalić T, Tomić S, Rajković J, Rudolf R, Vuković G, et al. Immunomodulatory effects of carbon nanotubes functionalized with a Toll-like receptor 7 agonist on human dendritic cells. *Carbon*. 2014;67:273-87.

Celulozni nanokristali indukuju dozno-zavisni efekat na citotoksičnost i proliferaciju humanih mononuklearnih ćelija periferne krvi

Miloš Vasiljević¹, Sergej Tomić², Marina Bekić², Bojan Joksimović¹, Dragana Vučević³, Miodrag Čolić^{1,2}

¹Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Medicinski fakultet Foča, Centar za Biomedicinska istraživanja, Foča, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

²Univerzitet u Beogradu, Institut za primenu nuklearne energije, Beograd, Srbija

³Vojno-medicinska akademija, Institut za medicinska istraživanja, Beograd, Srbija

Uvod. Celulozni nanokristali (CNCs) su atraktivni prirodni materijali koji imaju brojne primjene u oblasti biomedicine. Zahvaljujući specifičnim biomehaničkim svojstvima, hemijskim karakteristikama njihove površine, niskoj cijeni i obnovljivosti izvora, pripadaju naprednim nanomaterijalima i predstavljaju odličnu zamjenu za tradicionalne celulozne materijale. Međutim, prije biomedicinske primjene neophodno je provjeriti citokompatibilnost i imunomodulacijska svojstva prirodnih (n)CNCs, koja nisu u potpunosti istražena. Zato je cilj ovog rada bio da se ispita dozno zavisni efekat nCNCs na citotoksičnost i proliferaciju humanih mononuklearnih ćelija periferne krvi (PBMNCs) in vitro.

Metode. PBMNCs, dobijene od zdravih dobrovoljnih davaoca krvi, su kultivisane sa nCNCs. Vijabilnost ćelija je analizirana pomoću protočne citometrije, dok je proliferacija ispitivana na osnovu MTT testa, testa ugradnje [3H]-timidina i detekcijom produkcije interleukina-2 (IL-2).

Rezultati. Rezultati citotoksičnosti pokazuju da nijedna od koncentracija nCNCs (50-400 µg/ml) nije uticala na nekrozu PBMNCs, dok je apoptozu indukovala najveća koncentracija nCNCs u poređenju sa kontrolom ($p < 0,05$). Neočekivano, najveća koncentracija nCNCs je povećala metaboličku aktivnost fitohemalutininom (PHA)-stimulisanih ćelija u poređenju sa kontrolom ($p < 0,05$). Suprotno ovim rezultatima, manje koncentracije nCNCs (50 µg/ml and 100 µg/ml) su stimulisale proliferaciju PBMNCs ($p < 0,05$ i $p < 0,001$). To je bilo praćeno povećanjem produkcije IL-2 (100 µg/ml) ($p < 0,001$).

Zaključak. Rezultati ukazuju da necitotoksične koncentracije nCNCs moduliraju proliferaciju PBMNCs, fenomen koji do sada nije objavljen u literaturi i zato može biti koristan za dalja istraživanja.

Ključne riječi: celulozni nanokristali, mononuklearne ćelije periferne krvi, kultura, citotoksičnost, proliferacija

Original article

Efficacy of two different antibiotic solutions in preservation of fresh amniotic membrane

**Vesna Ljubojević¹,
Sanja Jovičić¹,
Milka Mavija²,
Zoran Vujković³**

¹University of Banja Luka, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Banja Luka, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

²University Clinical Centre of the Republic Srpska, Clinic of Ophthalmology, Banja Luka, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

³University Clinical Centre of the Republic Srpska, Clinic of Neurology, Banja Luka, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

Primljen – Received: 23/03/2020
Prihvaćen – Accepted: 19/04/2020

Corresponding author:
Prof. Vesna Ljubojević, MD, DSc
Kralja Petra II 59, Banja Luka 0038765670565
ljubojevic.v@gmail.com

Copyright: ©2020 Ljubojević V, et al. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license.

Summary

Introduction. The amniotic membrane is used in transplant surgery, ophthalmology and dermatology. Various methods have been developed to preserve amniotic membrane: hypothermic storage, cryopreservation, lyophilization. Transplantation of fresh amniotic membrane showed low inflammatory response. The efficient antibiotic solutions are carefully chosen for the hypothermic storage of amniotic membranes. The aim of this study was to compare the efficacy of two antibiotic solutions for the hypothermic amniotic membrane preservation and the structure of the amniotic membrane after the preservation process.

Methods. Fifteen amniotic membranes were prepared and hypothermically stored in penicillin solution in BSS (2000 IU/ml) while the remaining fifteen in an antibiotic solution containing: benzylpenicillin (50 µg/ml), gentamicin (100 µg/ml), ciprofloxacin (200 µg/ml) and fluconazole (100 µg/ml). All amniotic membranes were microbiologically tested after preparation and after hypothermic storage for two weeks. Histological analysis of thirty amniotic membranes was performed after the process of preservation.

Results. Fifteen amniotic membranes were sterile after hypothermic preservation in the penicillin solution. Also, fifteen amniotic membranes were sterile after hypothermic preservation in the solution of antibacterial agents (penicillin, gentamicin, ciprofloxacin) and antifungal agent fluconazole. The amniotic membrane had a normal structure and thickness of 35.33 ± 11.03 µm.

Conclusion. Both antibiotic solutions, one that contains only penicillin and one that contains multiple antibacterial agents and fluconazole, provide sterility of fresh hypothermically stored amniotic membranes for two weeks. In the preparation of fresh hypothermically stored amniotic membrane, a solution with multiple antibiotics is preferred. The normal tissue structure of the amniotic membrane was histologically confirmed after the process of preservation.

Keywords: amniotic membrane, preservation, tissue, histological characteristics

Introduction

The placenta is a temporary organ used for the development and growth of the fetus and provides the transfer of the oxygen and nutrients from the mother's organism. It consists of the maternal and the fetal part. Amnion is an extraembryonic membrane that participates in the construction of the fetal part of the placenta. It represents the innermost layer of the placenta and completely envelops

the fetus, forming a cavity filled with amniotic fluid in which the fetus floats. The amnion overlies the chorion and, by its separation from the chorion, an amniotic membrane is produced - AM. AM is a thin, tough, transparent membrane that is avascular and contains no nerves [1, 2]. The thickness of the amniotic membrane is between 20-50 μm and it is composed of three layers: a single epithelial layer, basement membrane and stroma which is further subdivided into compact, fibroblast and spongy layer [3].

Because of its many beneficial characteristics and unlimited availability, the easy procurement and the low processing costs for therapeutic application, the amniotic membrane represents a valuable biological material used in transplant surgery, ophthalmology, dermatology, plastic surgery, with great potential for use in regenerative medicine for the promotion of nerve regeneration [4-6]. AM shows low or no immunogenicity and promotes wound healing and epithelialization. It is immunologically inert and it is not rejected by the recipient since its cells have only an incomplete HLA antigen. It is bacteriostatic, antiangiogenic, it inhibits scarring and suppresses inflammation. Amniotic membrane, epithelium and stroma contain many growth factors, including epidermal growth factor (EGF), keratocyte growth factor, basic fibroblast growth factor (bFGF), transforming growth factor α (TGF α) and TGF β , hepatocyte growth factor and nerve growth factor [7, 8, 9]. Epidermal growth factor and keratocyte growth factor are one of the most important growth factors in the promotion of wound healing. TGF- β has an important role in anti-scarring action. Anti-inflammatory cytokines released in the amniotic epithelium and stroma, such as asinterleukin-10 and interleukin-1 receptor antagonist, suppress inflammatory processes. Considering that AM is avascular tissue and a few anti-angiogenic proteins are identified, AM represents a good tissue for eye transplantation, because anti-angiogenic molecules are essential in ocular tissue and they keep cornea avascular [10].

With the development of the preservation and preparation methods, the amniotic membrane becomes widely used in ophthalmology, burns, plastic surgery, dentistry, and neurosurgery [11].

Various methods have been developed to

prepare and preserve the AM: hypothermic preservation, cryopreservation, lyophilization and preservation with glycerol at different temperatures. These methods differentially affect the morphological, biological and physicochemical properties of AM. The AM prepared with cryopreservation method has a higher growth factor level compared to the AM prepared with an additional freezing step that influences great destruction and devitalization of AM tissue. Optimization of an effective and safe method for the preparation and preservation of AM for a specific application is a critical task [12]. When the cryopreserved amniotic membrane from a tissue bank is not available, a fresh amniotic membrane is an alternative. In hospitals where there is the limitation related to costs and availability of the use of cryopreserved amniotic membrane from the tissue bank, the use of a fresh amniotic membrane is an option that provides the same results as the transplantation of cryopreserved amniotic membrane [13, 14]. Transplantation of fresh hypothermically stored amniotic membrane showed low-grade inflammatory response prevention of collagen decomposition of the eye surface. Hypothermic storage has a low destructive effect on the tissue and the concentration of the biologically active substances is very high [13]. Another benefit of a fresh amniotic membrane is that it is stored in an antibiotic solution. Antibiotics can subsequently be released from the membrane [15, 16]. The AM soaked with an antibiotic solution for a period of 3h at 4°C caused high drug entrapment in AM. Studies showed that 3h pretreatment might be sufficient to fill up the membrane with drug formulations. Therefore, AM may be an excellent drug carrier and the drug reservoir function of AM was demonstrated with moxifloxacin, ofloxacin, and cefazolin. It is reported earlier that AM transplantation is useful adjunctive treatment to cefazolin for staphylococcus aureus keratitis. The previous research showed that AM could release antibiotics for an extended period of 7 weeks [16].

In previous studies, the authors used different antibiotic cocktail solutions for the preparation and hypothermic storage of the fresh amniotic membrane [17, 18]. The antibacterial agents are carefully chosen for the combination of antibi-

otics that provides effective treatment against bacteria commonly found to contaminate the tissue. The aim of the study was to compare the efficacy of two different antibiotic solutions for the hypothermic amniotic membrane preservation and the structure of the amniotic membrane after the preservation process.

Methods

Thirty amniotic membranes were taken from donors (pregnant women), after the completion of pregnancy performed by the cesarean section. Donors were healthy pregnant women with no history of sexually transmitted diseases and without endometritis, toxemia, premature rupture of membranes, signs of inflammation of the fetal sheath, and amnion stained with meconium. The amniotic membrane was separated from the placenta, which was discarded after delivery and represented a medical waste. Considering previously described steps, the AM was easy to obtain without harming mothers or babies. However, legally it was still the possession of the mother, so the consent letter concerning the AM use and analysis was obtained from the mother. Before obtaining the amniotic membrane from the placenta, it was necessary to obtain the written consent of the tissue donor (pregnant woman) for performing appropriate serological tests. Consent was obtained for blood tests for human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV). Preparation, preservation and use of the human amniotic membrane were approved by the Ethics Committee of the UCC RS Banja Luka.

The amniotic membrane was obtained from the placenta after elective cesarean sections. All donors were serologically tested for the presence of HIV, HBV and HCV. To shorten and avoid the window period, i.e. the period from a possible donor infection to its seropositivity, the presence of the viral DNA and RNA was analyzed by the PCR method. Also, the presence of antibodies against HBc antigens, HBs antigens, HCV antigens, and HIV were determined by serological tests. Before the cesarean section, the ophthalmologist had to inform the obstetrician about taking AM. In the operating gynecological room, during the

cesarean section, the obstetrician surgeon had to put the placenta in a sterile container. Then the sterile container with the placenta was taken by an ophthalmologist, who transferred it to a table covered with a sterile compress. Previously, sterile instruments were placed on a sterile table. Also, an infusion system coupled with an antibiotic solution in a balanced salt solution - BSS, and sterile containers in which AM would be flushed and prepared. The whole procedure of obtaining and preparing the amniotic membrane was performed in the sterile operating room of the Gynecology Clinic. The ophthalmologist had to bedress in a surgical uniform with a cap and mask on his head. After surgical washing, he entered the operating room, where he wore sterile coat and gloves. Before the cesarean section, the table with the necessary instruments, containers, and solutions was prepared.

The placenta had to be oriented in a way that the fetal side, which was covered by the amnion, faced upwards. After that, blood clots were removed from the amnion with surgical forceps and sterile pads soaked into the solution of antibiotics in BSS. The separation of the amnion from the chorion was done by blunt dissection (Figure 1). Then, ophthalmologist washed the separated AM with an antibiotic solution in a BSS. Fifteen amniotic membranes were prepared using



Figure 1. Obtaining the amniotic membrane

an antibiotic solution in BSS containing benzyl penicillin (50 µg/ml), gentamicin (100 µg/ml), ciprofloxacin (200 µg/ml) and fluconazole (100 µg/ml). The same antibiotic solution was used for the preservation of the amniotic membrane. Another fifteen amniotic membranes were then prepared using a solution of penicillin in a balanced salt solution at a concentration of 2000 IU/ml. These fifteen amniotic membranes were also stored in the same solution. After rinsing, the amnion was placed in a sterile glass jar containing the same antibiotic solution in the balanced salt solution (BSS), with which the amnion was rinsed. The next important step was rapid transport in a hand-held refrigerator to the laminar chamber. The amnion was further processed in the laminar chamber and was stretched onto nitrocellulose paper, which was the carrier for the amniotic membrane (Figure 2). After rinsing again, the amnion was placed onto filter paper and then it was cut into small size pieces with dimension about 4x4 cm or 2x2 cm. Amniotic membranes were individually packaged in a sterile, properly labeled, plastic containers. A piece of a randomly selected portion of the amnion was used for microbiological testing. Furthermore, the antibiotic solution that was used for the preparation and storage of the fresh amniotic membrane was microbiologically tested. Then the amniotic



Figure 2. The material required for the preparation of amniotic membranes

membrane was stored hypothermically at +4°C in the refrigerator. In this way processed and stored amniotic membranes, after obtaining negative serological and microbiological results, were released and used in clinical practice. The maximum storage time at +4 °C was two weeks. The microbiological safety of the amniotic membranes was monitored after two weeks.

The thirty samples of amniotic membrane and twenty samples of the placenta were histologically processed for paraffin-embedded sections at the Department for Histology and Embryology at the Faculty of Medicine in Banja Luka. The samples were oriented so that the cut was made perpendicular to the epithelium. The 5 µm thick tissue sections were deparaffinized, rehydrated and stained with hematoxylin and eosin (HE) and periodic acid-Schiff stain (PAS). Histological analysis and morphometry were performed using a Leica DM 6000 B microscope and Image Analysis LAS V4.3 software. The results were analyzed by methods of descriptive statistics.

Results

In the operating room under sterile conditions, the amnion was separated from the thirty placentae. After the elective cesarean section, the placenta was placed in a sterile vessel. Discoid-shaped placentae was oriented in such a way that the fetal side faced upwards and the maternal side downwards. The fetal side was smooth, shiny and transparent because it was covered with transparent amnion. In most cases, the umbilical cord was attached near the central part of the fetal side.

The placenta consisted of two opposite plates: chorionic and basal. They limit the space in which the chorionic villi and maternal blood were placed. The fetal side of the placenta was built by a chorionic plate. Looking from the fetal side to the maternal side, in the chorionic plate, the following layers were differentiated: the amniotic epithelium, the amniotic mesenchyme, the chorionic mesenchyme, and the trophoblast (Figure 3).

After preliminary preparation of the placenta and removal of the coagulums of blood, the amnion has been separated from the placenta by blunt dissection with sterile instruments. Amni-

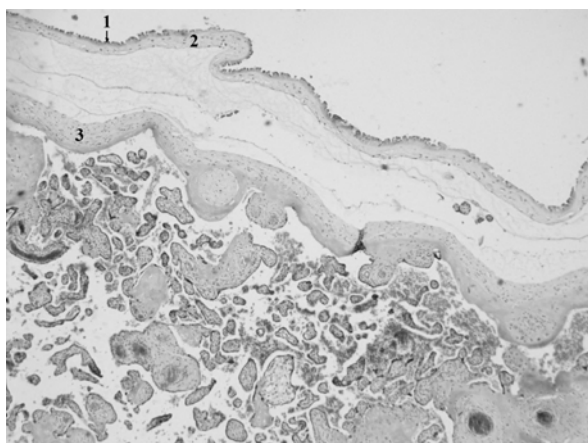


Figure 3. The Chorionic plate: 1. amniotic epithelium (arrow), 2. amniotic mesenchyme 3. chorionic mesenchyme (HE,x100)

on consisted of the epithelium, basement membrane, and stroma (Figure 4). Three sublayers were differentiated in the stroma: the compact layer, the fibroblast layer, and the spongy layer (Figure 5). The amniotic epithelium was built up of a single cuboid cell layer with a centrally located single nucleus. The amniotic epithelium rested on a basement membrane that was strongly PAS-positive. Beneath the basement membrane was an acellular compact layer. The compact layer overlaid the fibroblast layer that was the thickest layer of the amnion. This layer was made up of sparsely distributed fibroblasts. The deepest layer of the amniotic membrane was the spongy layer (Figure 5).

The amniotic membrane, the inner layer of the chorionic plate, had an average thickness of $35.33 \pm 11.03 \mu\text{m}$. The minimum thickness of the amniotic membrane was $17.99 \mu\text{m}$ and the maximum thickness of the amniotic membrane was $50 \mu\text{m}$.

Serological tests showed that all donors, the

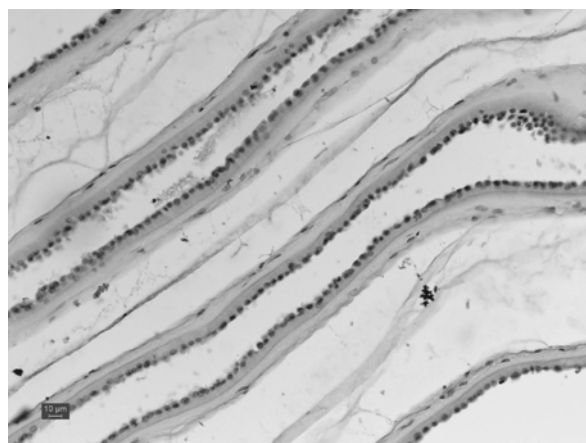


Figure 4. The Amniotic membrane (HE,x200)

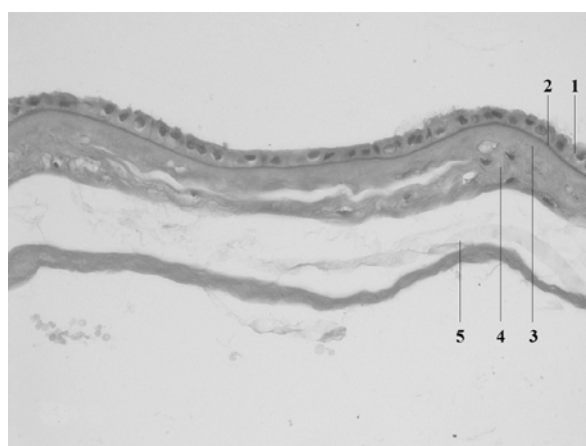


Figure 5. The amniotic membrane: 1. amniotic epithelium, 2. basal membrane, 3. compact acellular layer, 4. fibroblast layer, 5. spongy layer (PAS,x400)

pregnant women, were healthy. In the blood of thirty donors, the pregnant women, the PCR method did not detect HBV, HCV and HIV. With the method of obtaining and preparation of the fresh amniotic membrane, we got sterile amniotic membrane stretched on a nitrocellulose filter paper. From all thirty microbiologically tested samples

Table 1. Results of microbiological tests

	Results of microbiological tests	
	After processing	After two weeks of hypothermic storage
The samples of amniotic membranes processed and stored with an antibiotic solution in BSS (benzylpenicillin 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, gentamycin 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ciprofloxacin 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$, fluconazole 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	All sterile (100%)	All sterile (100%)
The samples of amniotic membranes processed and stored with penicillin solution in BSS (penicillin 2000 IU/ml)	All sterile (100%)	All sterile (100%)

of amniotic membranes, which were taken after amnion processing and before its packaging in sterile containers, bacteria and fungi were not isolated by microbiological testing (Table 1). Fifteen fresh amniotic membranes, which were washed during processing in the solution of penicillin in a balanced salt solution (BSS) at a concentration of 2000 IU/ml, showed sterility after processing. Also, fifteen fresh amniotic membranes showed sterility after preparation in the solution of antibiotics in BSS, containing benzyl penicillin (50 µg/ml), gentamicin (100 µg/ml), ciprofloxacin (200 µg/ml), fluconazole (100 µg/ml) (Table 1). By checking the microbiological suitability of the two solutions for rinsing and storage, the solution of antibiotic cocktail in BSS and the penicillin solution in BSS at a concentration of 2000 IU/ml, the bacteria and fungi were not isolated.

The obtained results showed that all amniotic membranes were sterile after two weeks of hypothermic storage at +4 °C, stored in the same antibiotic solution with which they were processed (Table 1).

Discussion

Blunt dissection easily separated the amniotic membrane on the fetal side of the placenta. The thickness of the amniotic membrane was 35.33 ± 11.03 µm. It was composed of an amniotic epithelium, a basal lamina, a compact avascular layer, a fibroblast layer and a spongy layer. In the previous studies, the amniotic membrane had been described as a thin, tough, transparent membrane, its thickness being between 20-50 µm, and was composed of three layers: a single epithelial layer, a thick basement membrane, and stroma subdivided into a compact, fibroblast and spongy layer [1, 2].

In this study, thirty sterile amniotic membranes stretched on nitrocellulose filter paper were obtained from the thirty placentae. With microbiological testing of the amniotic membrane samples, after processing and before packaging of AM into sterile containers, no bacteria and fungi were isolated. Fifteen amniotic membranes which were rinsed during processing with penicillin solution in a BSS were found sterile after processing. Also, these amniotic membranes we-

re sterile after two weeks of hypothermic storage in the same solution and at a temperature of +4 °C. Fifteen fresh amniotic membranes showed sterility after preparation and preservation in the solution of antibacterial agents (benzylpenicillin, gentamicin, ciprofloxacin) and antifungal agent fluconazole.

In previous studies, Ganatra and Durrani used antibiotic solution, containing 2000 IU crystalline penicillin/ml NaCl 0.9%, for decontamination during the processing of the fresh amniotic membranes and their hypothermic storage at +4°C temperature. In this study, microbiological tests of all amniotic membranes, after their preparation, showed sterility. Also, the amniotic membrane was sterile after hypothermic storage at +4°C temperature, during two weeks, in an antibiotic solution containing 2000 IU crystalline penicillin/ml NaCl 0.9% [17, 18]. Fifteen amniotic membranes, after processing with the antibiotic solution in BSS containing benzylpenicillin (50 µg/ml), gentamicin (100 µg/ml), ciprofloxacin (200 µg/ml), and fluconazole (100 µg/ml) were sterile. Also, the amniotic membrane was sterile after hypothermic storage at 4°C temperature for two weeks in the same solution of antibiotics. Antibiotic cocktail for sterilizing tissue contained antibacterial and antifungal agents that had to be present in amounts effective to inhibit fungal and bacterial growth. Each of the agents was present in a sufficient concentration so that the cocktail inhibited yeast and bacterial growth but did not substantially decrease the viability of the tissue being decontaminated [19, 20]. The agents that were present in the cocktail were lethal for yeasts and bacteria frequently isolated from tissue. The yeast and bacterial growth were not detectable by standard microbiological assays, after the tissue was treated with such a cocktail. The broad-spectrum antibacterial agents from two or more families were preferred in an antibiotic cocktail. Preferably the plurality of antibacterial agents was chosen from the following families: cephalosporins, glycopeptides, aminoglycosides, lincosamides, beta-lactams and rifamycin [19]. Antifungal agents used in cocktails were amphotericinB or fluconazole. A concentration of fluconazole from about 50 g/ml to about 100 g/ml was preferred in antibiotic cocktails.

Waziri used a balanced salt solution (BSS) containing gentamycin antibiotic for the preparation of fresh amniotic membrane that was used in ophthalmology [21]. Abbasi and coauthors used an antibiotic solution containing streptomycin 50 µg/ml, gentamicin 100 µg/ml, benzylpenicillin 50 µg/ml [22] for the preparation of the amniotic membrane. For the preparation of amniotic membrane and its storage at +4°C for two weeks, Salman and coworkers used antibiotic cocktail containing 50 µg/ml penicillin, 50 µg/ml streptomycin, 100 µg/ml, neomycin and 2.5 µg/ml amphotericin B in a balanced salt solution [23]. Madhavan and coauthors used the preservative medium 1:1 (vol/vol) ratio of sterile glycerol (sterilized by autoclave) and EMEM with 3.3% L-glutamine, 25 µg/ml gentamicin, 50 units/ml penicillin, 100 µg/ml ciprofloxacin and 0.5 mg/ml amphotericin B [10]. Dekaris and Gabrić extensively rinsed the amniotic membrane with BSS solution with antibiotic supplementation (penicillin 50 µg/ml, streptomycin 50 µg/ml or ciprofloxacin 200 µg/ml, amphotericin B 2.5 µg/ml, neomycin 100 µg/ml) during preparation [24]. Cirman and coauthors rinsed amniotic membrane with BSS solution with antibiotic supplementation (penicillin 50 µg/ml, streptomycin 50 µg/ml or ciprofloxacin 200 µg/ml, amphotericin B 2.5 µg/ml, neomycin 100 µg/ml) [5].

Although both antibiotic solutions provided sterility for the amniotic membrane, one that contained only penicillin and one that contained multiple antibacterial agents and fluconazole, a more preferred solution for the hypothermic storage of the amniotic membrane was the one

containing multiple antibacterial agents and an antifungal agent. The method described in this study provided a fresh hypothermically stored amniotic membrane that can be used for all indications and conditions in clinical practice for which cryopreserved amniotic membrane was recommended. Lacking cryopreserved amniotic membrane from a tissue bank, the transplantation of the fresh hypothermically preserved amniotic membrane was a good and recommended alternative.

Conclusion

Both antibiotic solutions, one that contains only penicillin and one that contains multiple antibacterial agents and fluconazole, have provided sterility of fresh hypothermically stored amniotic membranes for two weeks. The solution that contains multiple antibacterial agents and fluconazole is more preferred for the preparation and hypothermic storage of the amniotic membrane. Histological analysis has confirmed the normal tissue structure of the amniotic membrane after the process of hypothermic preservation. The method used for the hypothermic storage of the amniotic membrane represents a safe method that provides sterile amniotic membranes suitable for the application. The hypothermic storage of amniotic membrane ensures the accessibility of the amniotic membrane when the cryopreserved amniotic membrane from the tissue bank is not available.

Funding source. The author received no specific funding for this work.

Ethical approval. The Ethics Committee of the University Clinical Center of the Republic Srpska in Banja Luka approved the study and informed consent was obtained

from all individual respondents. The research was conducted according to the Declaration of Helsinki.

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interest.

References

1. Niknejad H, Peirovi H, Jorjani M, Ahmadiani A, Ghanavi J, Seifalian AM. Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering. *Eur Cells Mater* 2008;15:88–99.
2. Kreft ME, Dragin U. Amniotic membrane in tissue engineering and regenerative medicine. *Zdrav Vesta* 2010;79(10):707–715.

3. Versen-Höynck F, Syring C, Bachmann S, Möller DE. The influence of different preservation and sterilization steps on the histological properties of amnion allografts – light and scanning electron microscopic studies. *Cell and Tissue banking* 2004;5(1):45-56.
4. Dua HS, Azuara-Blanco A. Amniotic membrane transplantation. *Br J Ophthalmol* 1999;83(6):748-752.
5. Cirman T, Beltram M, Schollmayer P, Rožman P, Kreft ME. Amniotic membrane properties and current practice of amniotic membrane use in ophthalmology in Slovenia. *Cell and tissue banking* 2014;15(2):177-192.
6. Cirman T, Ramuta TŽ, Lužnik Z, Hawlina M, Schollmayer P, Smrke D, Kreft ME. Amnijska membrana kot biološki nosilec, njena priprava in uporaba v regenerativni medicini v Sloveniji. *Slovenian Medical Journal* 2018;87(11-12):530-46.
7. Koob ThJ, Rennert R, Zabek N, Massee M, Lim JJ, Temenoff JS, Li W, Gurtner G. Biological properties of dehydrated human amnion/chorion composite graft: implications for chronic wound healing. *International wound journal* 2013;10(5):493-500.
8. Lopez-Valladares MJ, Rodriguez-Ares MT, Tourino R, Gude F, Teresa Silva M, Couceiro J. Donor age and gestational age influence on growth factor levels in the human amniotic membrane. *Acta Ophthalmol* 2010;88(6):211-6.
9. Bomfim Pereira MG, Pereira Gomes JA, Rizzo LV, Cristovam PC, Silveira LC. Cytokine Dosage in Fresh and Preserved Human Amniotic Membrane. *Cornea* 2016;35(1):89-94.
10. Madhavan HN, Priya K, Malathi J, Joseph PR. Preparation of amniotic membrane for ocular surface reconstruction. *Indian journal of ophthalmology* 2002;50(3):227-231.
11. Tseng SG. Grafts made from amniotic membrane: methods of separating, preserving and using such grafts in surgeries. US Patent 2000.
12. Gholipourmalekabadi M, Farhadihosseinabadi B, Faraji M, Nourani MR. How preparation and preservation procedures affect the properties of amniotic membrane? How safe are the procedures? *Burns* 2019;9(18):3050.
13. Adds PJ, Hunt CJ, Dart JK. Amniotic membrane grafts, "fresh" or frozen? A clinical and in vitro comparison. *Br J Ophthalmol* 2001;85(8):905-907.
14. McQuilling J; Vines J, Mowry K. In vitro assessment of a novel, hypothermically stored amniotic membrane for use in a chronic wound environment. *International wound journal* 2017;14(6):993-1005.
15. Ljubojević V. Uspješnost amniotske membrane u transplantacijskoj hirurgiji kod oboljenja površine oka. Zbornik radova i sažetaka I Kongres oftalmologa Republike Srpske sa međunarodnim učešćem. Bijeljina 2015:68-73.
16. SaraSH, Prajna NV, Senthilkumari S. Human amniotic membrane as a drug carrier – An in-vitro study using fortified cefazolin ophthalmic solution. *Indian journal of ophthalmology* 2019;67(4):472.
17. Barequet IS, Habot-Wilner Z, Keller N, Smollan G, Ziv H, Belkin M. Effect of amniotic membrane transplantation on the healing of bacterial keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(1):163-7.
18. Ganatra M, Durrani KM. Method of Obtaining and Preparation of Fresh Human Amniotic Membrane for Clinical Use. *The Journal of the Pakistan Medical Association* 1996;46(6):126-7.
19. Ganatra MA. Amniotic membrane in surgery. *The Journal of the Pakistan Medical Association* 2003;53(1):29-32.
20. Brockbank K, Goldstein S, Adoma Ch, Sheldon JK, Dawson P. Antibiotic cocktail and method of use. WO 1997036479 A1. United States Patent Documents 1998.
21. Germain M, Strong DM, Dowling G, Mohr J, Duong A, Garibaldi A, Simunovic N, Ayeni OR. Disinfection of human cardiac valve allografts in tissue banking: systematic review report. *Cell Tissue Bank* 2016;17(4):593-601.
22. Waziri-Erameh J, Omoti E, Uduose A. Fresh non-preserved human amniotic membrane transplantation in the treatment of deep corneal ulcers in a developing country (Nigeria): case reports on initial experience. *Nigerian Journal of Clinical Practice* 2010;13(1):94-97.
23. Abbasi KZ. Evaluation of fresh human amniotic membrane transplantation for the treatment of corneal perforation and impending corneal perforation. *Pakistan Journal of Ophthalmology*. 2012;28(4):194-199.
24. Salman AG. Value of Fresh Amniotic Membrane Graft in Management of Resistant Non Infected Corneal Ulcer. *J Clinic Experiment Ophthalmol* 2010;1(3):108-112.
25. Dekaris I, Gabrić N. Preparation and Preservation of Amniotic Membrane. *Eye Banking* 2009;43:97-104.

Efikasnost dva različita antibiotska rastvora u prezervaciji svježe amnionske membrane

Vesna Ljubojević¹, Sanja Jovičić¹, Milka Mavija², Zoran Vujković³

¹Univerzitet u Banjoj Luci, Medicinski fakultet, Odsjek za histologiju i embriologiju, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

²Univerzitetski klinički centar Republike Srpske, Klinika za oftalmologiju, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

³Univerzitetski klinički centar Republike Srpske, Klinika za neurologiju, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

Uvod. Amnionska membrana koristi se u transplantacijskoj hirurgiji, oftalmologiji, dermatologiji. Za prezervaciju amnionske membrane su razvijene različite metode: hipotermno čuvanje, krioprezervacija, liofilizacija. Transplantacija svježe hipotermno čuvane amnionske membrane izaziva inflamatorni odgovor niskog intenziteta. Za pripremu i hipotermno čuvanje amnionske membrane bira se antibiotski rastvor koji će efikasno djelovati protiv mikroorganizama koji obično kontaminiraju tkivo. Cilj ove studije bio je da se uporedi efikasnost dva različita antibiotska rastvora za prezervaciju svježe amnionske membrane i utvrdi histološka struktura amnionske membrane nakon postupka prezervacije.

Metode. Petnaest svježih amnionskih membrana je hipotermno prezervirano u rastvoru penicilina u BSS (koncentracija 2000 IU/ml BSS), a petnaest u rastvoru antibiotika u BSS koji sadrži benzilpenicilin (50 µg/ml), gentamicin (100 µg/ml), ciprofloksacin (200 µg/ml) i flukonazol (100 µg/ml). Sve amnionske membrane su nakon pripreme i nakon hipotermnog čuvanja, tokom dvije sedmice, mikrobiološki testirane. Histološka analiza trideset amnionskih membrana nakon procesa prezervacije je urađena.

Rezultati. Petnaest amnionskih membrana je bilo sterilno nakon hipotermne prezervacije u rastvoru penicilina. Takođe, petnaest amnionskih membrana je bilo sterilno nakon hipotermne prezervacije u rastvoru antibakterijskih agenasa (penicilin, gentamicin, ciprofloksacin) i flukonazola. Histološkom analizom amnionskih membrana nakon procesa prezervacije je utvrđena očuvana histološka struktura. Prosječna debljina amnionske membrane je bila $35,33 \pm 11,03$ µm.

Zaključak. Oba antibiotska rastvora, onaj koji sadrži samo penicilin i onaj koji sadrži više antibakterijskih agenasa i flukonazol, obezbjeđuju sterilnost svježih hipotermno čuvanih amnionskih membrana tokom dvije nedjelje. U pripremi svježe hipotermno čuvane amnionske membrane prednost ima rastvor sa više antibiotika. Normalna struktura tkiva amnionske membrane je histološki potvrđena nakon procesa prezervacije.

Ključne riječi: amnionska membrana, prezervacija tkiva, histološke karakteristike

Originalni naučni rad

Ekspresija matriks metaloproteinaze 9 kod stečenog holesteatoma srednjeg uha

**Dalibor Vranješ^{1,2},
Slobodan Spremo^{1,2},
Siniša Šolaja³**

¹Univerzitet u Banjoj Luci, Medicinski fakultet, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

²Univerzitetski klinički centar Republike Srpske, Klinika za bolesti uha, grla i nosa, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

³Univerzitetska bolnica Foča, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

Primljen: 31/05/2020
Prihvaćen: 20/06/2020

Adresa autora:
Mr sc. med. Dalibor Vranješ,
Klinika za bolesti uha, grla i nosa,
Univerzitetski klinički centar Republike
Srpske, Banja Luka, Republika Srpska, Bosna
i Hercegovina 12 beba bb, 78000 Banja Luka,
+387 51 342 666
+387 51 342 663
dalibor.vranjes@yahoo.com

Copyright: ©2020 Vranješ D, et al. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license.

Kratak sadržaj

Uvod. Matriks metaloproteinaza 9 (MMP-9) ima jednu od ključnih uloga u migraciji inflamatornih ćelija i destruktivnom ponašanju stečenog holesteatoma srednjeg uha. Cilj studije je bio da se utvrde nivoi ekspresije MMP-9 kod hroničnog otitis media, sa i bez stečenog holesteatoma i njihova korelacija sa patomorfološkim promjenama na membrani timpani (MT).

Metode. Imunohistohemijska studija je uključila 178 ispitanika oba pola, od 5 do 75 godina, koji su podvrgnuti mikrohkirurškom liječenju hroničnog otitis media (HOM) u Klinici za bolesti uha, grla i nosa, Univerzitetskog kliničkog centra RS, Banja Luka od 2015. do 2018. godine. Ispitanici su podijeljeni u dvije grupe na osnovu prisustva ili odsustva stečenog holesteatoma: 97 (HHOM) i 81 (HOM). Uzorci perimatriksa stečenog holesteatoma (n=97) i inflamirane sluznice srednjeg uha (n=81) su uzeti intraoperativno. Intraoperativnom eksploracijom je ispitivano prisustvo retrakcije i pojedinih tipova i podtipova perforacije MT. Nivoi ekspresije MMP-9 su određeni imunohistohemijskom analizom.

Rezultati. U prisustvu holesteatoma i visoko pozitivne ekspresije MMP-9, veća je vjerovatnoća pojave ivičnog tipa perforacije MT ($p<0,01$), dok je kod negativne ekspresije MMP-9 u HOM grupi, veća vjerovatnoća centralnog tipa perforacije MT ($p<0,01$). Veća je vjerovatnoća prisustva atik podtipa perforacije MT kod ispitanika s holesteatomom i umjereno pozitivne ekspresije MMP-9 ($p<0,01$). Nije dokazan statistički značajan doprinos nijednog od faktora u predikciji uticaja na pojavu retrakcije MT.

Zaključak. Prisustvo stečenog holesteatoma srednjeg uha i visoko pozitivna ekspresija MMP-9 čine statistički značajne prediktore ivičnog tipa i atik podtipa perforacije MT. Nivoi ekspresije MMP-9 mogu da imaju potencijalni klinički značaj u nastanku ireverzibilnih patomorfoloških promjena na MT kod holesteatoma srednjeg uha.

Ključne riječi: holesteatom, matriks metaloproteinaza 9, membrana timpani

Uvod

Etiopatogeneza stečenog holesteatoma srednjeg uha je još uvijek kontroverzna. Većina studija je usmjerena na istraživanje razvojnih, epidemioloških, hormonalnih i genetskih faktora, kao i terapije koji bi mogli doprinijeti boljem sagledavanju i razumijevanju njegove patogeneze. Prema teoriji invaginacije ili retrakcionog džepa, prekursore sekundarnog tipa stečenog holesteatoma čine retrakcioni džepovi u području *pars flaccida* membrane timpani (MT), koji su uzrokovani negativnim pritiskom u srednjem uhu. Naknadna akumulacija deskvamiranog epitela u retrakcionom džepu

dovodi do stvaranja holesteatoma. Epitelnom invazijom ili migriranjem s ivica traumatski ili jatrogeno uzrokovane perforacije MT, skvamozni epitel urasta u mukozni sloj srednjeg uha i nastavlja nekontrolisani rast, čime se formira matriks i vrećasta struktura perimatriksa od vezivnog tkiva mukoznog sloja srednjeg uha [1-3].

Hronična inflamacija dovodi do metaplazije cilindričnog epitela mukoznog sloja srednjeg uha u pločasto slojeviti epitel, koji potom može proizvoditi keratin, odnosno matriks holesteatoma. Uvećani holesteatom tada može dovesti do dezintegracije i nastanka perforacije MT, što rezultira stanjem tipičnim za stečeni holesteatom. Centralno mjesto u zapaljenskom procesu zauzimaju medijatori inflamacije, koji uključuju proteine, peptide, glikoproteine, citokine, metabolite arahidonske kiseline, azot-monoksid i slobodne radikale kiseonika. Ova jedinjenja proizvode epitelne i endotelne ćelije, kao i infiltrirajuće inflamatorne ćelije [1, 4, 5].

Nastanak holesteatoma karakteriše kaskada reakcija na molekularnom nivou, koje uključuju indukciju matriks metaloproteinaza (MMP), oslobađanje radikala kiseonika i ostalih medijatora inflamacije što dovodi do destruktivnog dejstva holesteatoma zasnovanog na proteolitičkoj aktivnosti, koštanoj resorpciji i regrutovanju inflamatornih ćelija. MMP pripadaju porodici cink-metaloenzima koji se luče kao latentni proenzimi i aktiviraju tokom procesa proteolitičke razgradnje. MMP su visoko homologne, multidomske metaloproteinaze vezane za cink (Zn 2+) koje razgrađuju različite proteinske komponente ekstracelularnog matriksa, promovišu ćelijsku proliferaciju, migraciju i diferencijaciju i mogu imati ulogu u ćelijskoj apoptozi, angiogenezi, reparaciji tkiva i imunom odgovoru [6-8].

MMP-2 i MMP-9 pripadaju porodici želatinaza i sintetišu se u keratinocitima, monocitima, alveolarnim makrofagima, polimorfonuklearnim neutrofilnim granulocitima i ćelijama brojnih malignih tumora. Odgovorne su za razgradnju *želatina*, *laminina* i *nidogena*, a dokazano je da MMP-1 može razgraditi i nativni *kolagen tipa I* i pokrenuti proteolitičku aktivnost MMP-9 i MMP-13. Istraživanja su dokazala da MMP-9 vrši razgradnju *kolagena tipa IV*. Imunohistohemijski je utvrđena

ograničena ekspresija MMP-2 i MMP-9 u epitelnim ćelijama bazalnih i suprabazalnih slojeva holesteatoma, značajnije MMP-9, u odnosu na tkivo spoljašnjeg slušnog kanala [9-11].

Naim i saradnici ističu da se MMP-2 i MMP-9 ponašaju kao destruktivni sistem u ekstracelularnom matriksu holesteatoma, promovišući prekompoziciju okolnih tkiva. Autori su dokazali značajno veću ekspresiju MMP-2 i MMP-9 kod holesteatoma u odnosu na bazalne i suprabazalne slojeve zdrave kože spoljašnjeg slušnog hodnika. *Welkoborsky* takođe tvrdi da bakterije unutar retrakcionog džepa proizvode antigene koji aktiviraju različite citokine i litičke enzime (*ICAM - intercellular adhesion molecules*, *RANKL - Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand*, *IL-Interleukin -1, -2, -6, MMP-2, -9*), uzrokujući degradaciju ekstracelularnog koštanog matriksa i eroziju kosti [12, 13].

Cilj studije je bio da se utvrde nivoi ekspresije MMP-9 kod HOM, sa i bez holesteatoma i njihova korelacija sa patomorfološkim promjenama na membrani timpani.

Metode rada

Imunohistohemijska studija je uključila 178 ispitanika oba pola, od 5 do 75 godina, koji su podvrgnuti mikrohkirurškom liječenju HOM u Klinici za bolesti uha, grla i nosa, Univerzitetskog kliničkog centra RS (UKC RS), Banje Luke, od 2015. do 2018. godine. Studiju je odobrio Etički odbor UKC RS (br.: 01-10566-2/13). Ispitanici su podijeljeni u dvije grupe na osnovu prisustva ili odsustva stečenog holesteatoma - 97 (HHOM) i 81 (HOM). Dijagnoza oboljenja je zasnovana na istoriji bolesti, kliničkom pregledu ispitanika i dodatnih dijagnostičkih procedura. Primijenjene su zatvorene i otvorene tehnike timpanoplastike s modifikacijama. Uzorci perimatriksa stečenog holesteatoma (n=97) i inflamirane sluznice (n=81) srednjeg uha su uzeti od ispitanika tokom mikrohkirurške procedure. Intraoperativnom eksploatacijom su ispitivane patomorfološke promjene na MT. Otomikroskopski je ispitivano prisustvo retrakcije i pojedinih tipova (centralni, ivični) i podtipova (atik, prednja-ivična, zadnja-ivična, subtotalni defekt) perforacije MT.

Uključeni su ispitanici s dijagnostikovanim HOM sa i bez stečenog holesteatoma, koji su upućeni na operaciju srednjeg uha. Pacijenti s kongenitalnim holesteatomom, malignim tumorom srednjeg uha, upalom spoljašnjeg uha, prethodnom istorijom operacije uha, kao i uzorci holesteatoma bez perimatriksa, bili su isključeni iz studije. Uzorci dobijeni tokom mikrohkirurške procedure su fiksirani u 10% formalinu, potom ukalupljeni u parafinske blokove iz kojih su dobijeni semiserijski rezovi debljine 4 μm . Nakon deparafinizacije, uzorci su bojeni rutinskom hematoksilin-eozinom (HE) metodom, a zatim analizirani pod svjetlosnim mikroskopom. Uzorci su tretirani s citratnim puferom zagrijavanjem u mikrotalasnoj pećnici tokom 20 minuta radi demaskiranja antigena. Nakon blokade endogene peroksidaze hidrogen peroksidom (H2O2) u metanolu, uzorci su ispirani u *Tris Buffered Saline* (TBS) rastvoru s pH 7,6.

Imunohistohemijska analiza

Za imunohistohemijsku analizu MMP-9 u uzorcima perimatriksa holesteatoma i inflamirane sluznice kavuma timpani korišćeno je mišje anti-MMP9 monoklonalno antitijelo (*MMP9 Monoclonal Antibody, Clone 2C3, Product# MA1-12894, Invitrogen, Thermo Fisher, USA*). Imunohistohemijska identifikacija ispitivanih medijatora sprovedena je primjenom *En Vision* tehnike. Kao hromogeni supstrat je korišćen 3,3'-diaminobenzina (DAB), dok je kontrastiranje izvršeno s hematoksilinom. Imunohistohemijska analiza je izvođena ručno u

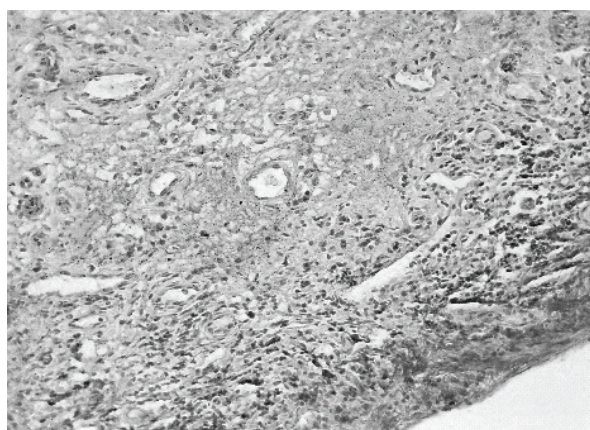
nadležnoj laboratoriji Zavoda za kliničku patologiju. Primjenjivani su originalni reagensi.

U imunohistohemijski obrađenim uzorcima su posmatrani intenziteti ekspresije u svakom pojedinom uzorku, dok je analiza imunohistohemijskih reakcija bazirana na kvantitativnom (0-odsutan, 1-prisutan) i semikvantitativnom određivanju intenziteta ekspresije putem svjetlosnog mikroskopa sistemom gradacije od 0 do 3 (0-odsutan, 1-slab, 2- umjeren, 3-visoki intenzitet).

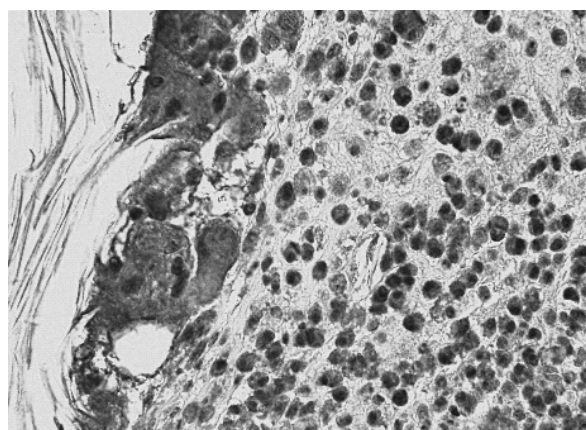
U odnosu na postotak obojenih ćelija izvršena je podjela u 4 kategorije. Rezultati su smatrani negativnim, ako nije bilo obojenja i označeni su sa 0, slabo pozitivnim kod $\leq 25\%$ pozitivnih ćelija uz oznaku 1, umjereno pozitivnim kod $\geq 25-50\%$ pozitivnih ćelija uz oznaku 2, a visoko pozitivnim uz oznaku 3, ako je bilo prisutno $\geq 50\%$ pozitivnih ćelija. Određivanje ukupnog rezultata imunohistohemijske reakcije je izračunato na osnovu proizvoda rezultata intenziteta ekspresije i postotka obojenih ćelija. Ukupni rezultati analize su smatrani negativnim kod $R \leq 1$ i označeni su s 0 (Slika 1), slabo pozitivni kod $R \geq 2 \leq 3$ uz oznaku 1+, umjereno pozitivni kod $R \geq 4 \leq 6$ uz oznaku 2+, a jako pozitivni kod $R = 9$ uz oznaku 3+ (Slika 2).

Statistička analiza

Podaci su analizirani na nivou deskriptivne statistike, računanjem apsolutnih i relativnih distribucija ispitanika kontrolnog i tkiva holesteatoma, sa nivoima ekspresije medijatora, u odnosu na posmatrane faktore, te računanjem aritmetičke sredine i standardne devijacije za dob pacijenata.



Slika 1. Prikaz negativne ekspresije ($R=0$) u stromalnim i upalnim ćelijama u okolini holesteatoma (anti-MMP9x400)



Slika 2. Prikaz visoke ekspresije u stromalnim i upalnim ćelijama u okolini holesteatoma (anti-MMP9x400)

ta. Za potrebu izračunavanja razlike u distribuciji ispitanika HOM i HHOM grupe, korišćen je Pirsonov χ^2 -test, a za računanje razlika u dobi ispitanika između grupa Mann-Whitney u ne-parametrijski test. Rezultati su smatrani značajnim ako je $p < 0,05$. Statistička obrada podataka je sprovedena korišćenjem alata za obradu podataka SPSS verzija 21.0 (IBM, USA).

Rezultati

Istraživanje je obuhvatilo 178 ispitanika, od kojih je 95 (53,4%) pripadalo muškom, a 83 (46,6%) ženskom polu. Prosječna starosna dob u ukupnom uzorku je iznosila 49,11 godina ($SD \pm 17,06$), pri čemu je najmlađi ispitanik imao 5, a najstariji 75 godina. Od ukupnog broja, prisustvo perforacije MT je uočeno kod 168 (94,4%), a odsustvo kod 10 (5,6%) ispitanika. Nije uočena statistički značajna razlika između HHOM i HOM grupe ($\chi^2 = 0,39$, $p = 0,53$) po pitanju prisustva perforacije MT. U

HHOM grupi, najveću učestalost je pokazao 31 (96,9%) ispitanik sa slabo pozitivnom ($R=1+$) i 31 (86,1%) s umjereno pozitivnom ($R=2+$) ekspresijom MMP-9, a u HOM grupi 37 (94,9%) ispitanika s negativnom ($R=0$) ekspresijom MMP-9 (Tabela 1). Binarna logistička regresija nije pokazala statistički značajan doprinos nijednog od faktora u predikciji uticaja na pojavu perforacije MT ($\chi^2 = 2,24$, $p = 0,69$).

Od ukupnog broja ispitanika, 87 (51,8 %) je imalo ivični, a 81 (48,2%) centralni tip perforacije MT. Rezultati χ^2 testa ($\chi^2 = 52,5$, $p = 0,000$, $p < 0,01$) su pokazali da je HHOM grupa imala statistički značajno više ispitanika sa ivičnim tipom u odnosu na HOM u kojoj je uočena statistički značajno veća zastupljenost centralnog tipa perforacije MT (Tabela 2). Kategorijalna logistička regresija pokazala je da oba prediktora imaju statistički značajan uticaj na tip perforacije MT ($N=168$, $R^2=0,338$, $p < 0,01$). Ovaj rezultat implicira da se može očekivati veća vjerovatnoća prisustva ivič-

Tabela 1. Ekspresija matriks metaloproteinaze 9 i perforacija membrane timpani

Grupa			Perforacija membrane timpani			
			da		ne	
			N	%	N	%
HHOM	MMP-9	Negativan (0)	26	96,3%	1	3,1%
		Slabo pozitivan (1+)	31	96,9%	1	3,7%
		Umjereno pozitivan (2+)	31	86,1%	5	13,9%
		Jako pozitivan (3+)	2	100,0%	0	0,0%
HOM	MMP-9	Negativan (0)	37	94,9%	2	5,1%
		Slabo pozitivan (1+)	24	92,3%	2	7,7%
		Umjereno pozitivan (2+)	14	100,0%	0	0,0%
		Jako pozitivan (3+)	2	100,0%	0	0,0%

HHOM - Hronični otitis media s holesteatomom; HOM - Hronični otitis media;
MMP-9 - Matriks metaloproteinaza 9

Tabela 2. Tip perforacije membrane timpani

			Grupa		
			HHOM	HOM	Ukupno
Tip perforacije membrane timpani	Ivična	N	71	16	87
		%	77,2%	21,1%	51,8%
	Centralna	N	21	60	81
		%	22,8%	78,9%	48,2%
Ukupno		N	92	76	168
		%	100,0%	100,0%	100,0%

HHOM - Hronični otitis media s holesteatomom; HOM - Hronični otitis media

Tabela 3. Ekspresija matriks metaloproteinaze 9 i tip perforacije membrane timpani

	Standardni koeficijenti		df	F	p
	β	SE			
grupa	,566	,064	1	77,546	,000**
MMP-9	,159	,058	3	7,587	,000**

Zavisna varijabla: Tipovi perforacije membrane timpani

MMP-9 - Matriks metaloproteinaza 9; β - Standardni koeficijent parcijalne regresije; SE - Standardna greška regresije; df - Broj stepeni slobode; F - Jednofaktorska analiza varijanse; **p<0,01

Tabela 4. Ekspresija MMP-9 i podtip perforacije membrane timpani

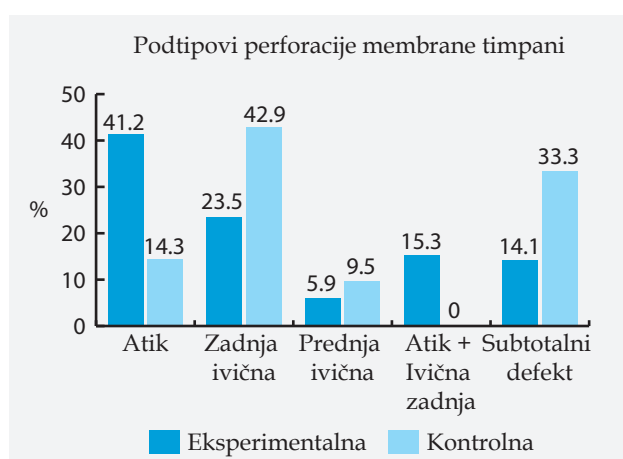
	Standardni koeficijenti		df	F	p
	Beta	SE			
grupa	,274	,115	1	5,654	,019*
MMP-9	,181	,087	3	4,341	,006**

Zavisna varijabla: Podtipovi perforacije membrane timpani

Beta-Standardni koeficijent parcijalne regresije; SE - Standardna greška regresije; df - Broj stepeni slobode; F - Jednofaktorska analiza varijanse; *p<0,05; **p<0,01

nog tipa perforacije MT kod prisustva holesteaoma i umjereno (R=2+) i slabo pozitivne (R=1+) ekspresije MMP-9, a u HOM grupi veća vjerovatnoća centralnog tipa i negativne (R=0) ekspresije MMP-9 (Tabela 3).

Od 106 ispitanika u ukupnom uzorku, kod kojih su uočeni pojedini podtipovi perforacije MT, najveću učestalost je pokazalo 38 (35,8%) ispitanika s atik i 29 (27,4%) sa zadnjom-ivičnom perforacijom MT. Utvrđena je statistički značaj-

**Grafikon 1.** Distribucija ispitanika prema podtipu perforacije membrane timpani

na razlika između obje grupe po pitanju podtipa perforacije MT ($\chi^2=12,71$; $p=0,013$, $p<0,05$), gdje je u HHOM grupi bila dominantno zastupljena atik (41,2%), a u HOM zadnja-ivična (42,9%) i subtotalni defekt (33,3%) (Grafikon 1). Kategorijalna logistička regresija je pokazala da oba prediktora imaju statistički značajan uticaj na podtip perforacije MT ($N=105$, $R^2=0,99$, $p<0,01$). Ovaj rezultat implicira da se može očekivati veća vjerovatnoća prisustva atik podtipa perforacije MT kod holesteaoma i umjerene (R=2+) ekspresije MMP-9 (Tabela 4).

Prisustvo retrakcije MT u ukupnom uzorku je uočeno kod 136 (76,4%), a odsustvo kod 42 (23,6%) ispitanika. Razlika u distribuciji ispitanika prema prisustvu retrakcije MT se nije pokazalo statistički značajnom iako je bila relativ-

Tabela 5. Ekspresija MMP-9 i retrakcija membrane timpani

Grupa			Retrakcija membrane timpani			
			da		ne	
			N	%	N	%
HHOM	MMP-9	Negativan (0)	23	71,9%	9	28,1%
		Slabo pozitivan (1+)	19	70,4%	8	29,6%
		Umjereno pozitivan (2+)	25	69,4%	11	30,6%
		Jako pozitivan (3+)	2	100,0%	0	0,0%
HOM	MMP-9	Negativan (0)	37	94,9%	2	5,1%
		Slabo pozitivan (1+)	18	69,2%	8	30,8%
		Umjereno pozitivan (2+)	11	78,6%	3	21,4%
		Jako pozitivan (3+)	1	50,0%	1	50,0%

HHOM - Hronični otitis media s holesteaatomom; HOM - Hronični otitis media;
MMP-9 - Matriks metaloproteinaza 9

no niska ($\chi^2=3,28$, $p=0,07$). U obje grupe su bili najzastupljeniji ispitanici bez prisustva retrakcije MT od kojih je u HHOM grupi 25 (69,4%) imalo umjereno pozitivnu ($R=2+$), a u HOM 37 (94,9%) negativnu ($R=0$) ekspresiju MMP-9 (Tabela 5). Binarna logistička regresija nije pokazala statistički značajan doprinos nijednog od faktora u predikciji uticaja na pojavu retrakcije MT ($\chi^2=7,14$, $p=0,13$).

Diskusija

MMP-9 se produkuje u različitim ćelijama, uključujući ćelije epitela, fibroblaste, keratinocite, osteoblaste, ćelije dendrita, makrofage, granulocite i T-ćelije. MMP-9 ima ključnu ulogu u migraciji inflamatornih ćelija i destruktivnom ponašanju holesteatoma iako nivo MMP-9 u serumu ne mora direktno da odražava opseg lokalne tkivne inflamacije. Sugita i saradnici ističu da bakterijski endotoksini i citokini domaćina imaju sličan destruktivni učinak na epitelni sloj MT. Autori takođe ističu da učinci bakterijskog endotoksina mogu biti posredovani imunskim odgovorom domaćina. MMP i TNF-alfa su prethodno povezani s različitim hroničnim upalnim procesima, posebno onim koji uključuju gubitak fibrozne strome [14-18].

U našem istraživanju, najveću učestalost u HHOM grupi su pokazali ispitanici s prisustvom perforacije MT i visoko pozitivnom ekspresijom MMP-9 ($R=2+$, $3+$). Po pitanju tipa perforacije MT, uočena je statistički značajna razlika, gdje je kod ispitanika HHOM grupe najveću učestalost pokazao ivični, a kod ispitanika HOM centralni tip perforacije MT. Rezultati ekspresije MMP-9 za HHOM grupu su bili relativno izbalansirani ($R=0$, $+1$, $+2$), dok je u HOM grupi zabilježena najveća učestalost negativne ($R=0$) ekspresije MMP-9. Prediktorski model je dokazao da je holesteatom statistički značajan prediktor prisustva ivične perforacije MT. Takođe je dokazano da visoko pozitivna ekspresija MMP-9 ima statistički značajan prediktivni uticaj na prisustvo ivičnog tipa, a negativna ekspresija MMP-9 centralnog tipa perforacije MT.

Po pitanju podtipa perforacije MT, uočena je razlika na nivou statističke značajnosti. Kod ispitanika HHOM grupe najveću učestalost je pokazao atik podtip perforacije MT, a kod ispitanika

HOM zadnji-ivični i subtotalni defekt. Ekspresija MMP-9 za HHOM grupu je pokazala negativan ($R=0$), a za HOM slabo pozitivan ($R=1+$) rezultat. Prisustvo stečenog holesteatoma srednjeg uha i umjereno pozitivna ($R=2+$) ekspresija MMP-9 su se pokazali statistički značajnim prediktorima atik podtipa perforacije MT.

Prema podacima iz literature, kod atikoantralnog tipa HOM, koji najčešće karakteriše prisustvo holesteatoma, najveću učestalost pokazuje ivična perforacija, koja može obuhvatati različite topografske segmente MT. Uobičajen nalaz može da bude i prisustvo retrakcionog džepa, najčešće u području atika ili *pars tensa* MT. U odnosu na podtip perforacije, najveću učestalost pokazuju atik, zadnja-gornja i perforacija koja zahvata sve topografske segmente MT, označena kao subtotalni defekt [19-21].

Aquino i saradnici, sprovodeći epidemiološku studiju holesteatoma srednjeg uha i mastoidnog nastavka, pronalaze prisustvo centralne perforacije MT u niskom procentu od 13% u njihovom uzorku, a ivičnog tipa i atik podtipa u visokom procentu od 73,6%. Autori navode da je prisustvo holesteatoma bilo najčešće u području atika, iako je bilo moguće na bilo kojoj drugoj lokalizaciji. U imunohistohemijskoj studiji, Wilmoth i saradnici dokazuju visoku ekspresiju MMP na MT, stimulisanu od strane TNF-alfa i bakterijskog toksina lipopolisaharida (LPS). Autori ističu da upalne promjene na MT uzrokuju oslobađanje enzima sposobnih za degradaciju ekstracelularnog matriksa što dovodi do nepovratnih patoloških promjena i razvoja holesteatoma. Međutim Skotnicka i saradnici u studiji ispitivanja citokina kod hroničnog sekretornog otitisa u dječijem uzrastu ne pronalaze statistički značajnu povezanost između patoloških promjena na MT i nivoa citokina [22-24].

Razlika u distribuciji ispitanika prema prisustvu retrakcije MT se nije pokazala statistički značajnom iako je pokazala nisku vrijednost ($p=0,070$). U obje grupe su bili najzastupljeniji ispitanici bez prisustva retrakcije MT. Po pitanju ekspresije MMP-9, najveću učestalost u HHOM grupi su pokazali ispitanici s umjereno pozitivnim rezultatom ($R=2+$). Ispitujući ekspresiju MMP i njihovih inhibitora u tkivu holesteatoma, Schönermark i saradnici dokazuju ograničenu ekspresiju MMP-9 i MMP-2 samo na bazalne i suprabazalne

epitelne ćelijske slojeve holestatoma za razliku od mukoznog sloja kavuma timpani i MT [11].

Iako na granici statističke značajnosti, naši rezultati imaju ipak određeni klinički značaj po pitanju potencijalnog uticaja stepena ekspresije MMP na retrakciju i atelektazu MT, što u kasnijem toku predisponira nastanku holestatoma. Wilmoth i saradnici pronalaze da bakterijski endotoksini indukuju ekspresiju TNF-alfa, a potom i MMP u MT što rezultira oslobađanjem enzima sposobnih za razgradnju ekstracelularnog matriksa i nastankom ireverzibilnih patoloških promjena poput retrakcija i atelektaza MT i kasnije holestatoma. Urik i saradnici su takođe u svojoj imunohistohemijskoj studiji dokazali pozitivnu

ekspresiju MMP-9 u svim stadijumima retrakcionog džepa MT, što ukazuje na degenerativni proces u ekstracelularnom matriksu vezivnog tkiva. Rezultati studije idu u prilog teoriji retrakcionog džepa u nastanku holestatoma [25].

Zaključak

Prisustvo stečenog holestatoma srednjeg uha i visoko pozitivna ekspresija MMP-9 čine statistički značajne prediktore prisustva ivičnog tipa i atik podtipa perforacije membrane timpani. Nivoi ekspresije MMP-9 kod stečenog holestatoma srednjeg uha mogu da imaju potencijalni klinički značaj u nastanku ireverzibilnih patomorfoloških promjena na membrani timpani.

Izvor finansiranja. Studija je proizašla iz naučno-istraživačkog projekta pod nazivom: "Značaj ekspresije medijatora inflamacije kod holestatoma srednjeg uha", podržanog od strane Ministarstva za naučnotehnoški razvoj, visoko obrazovanje i informaciono društvo Republike Srpske (br.: 19/6-020/961-68/15).

Etičko odobrenje. Etički komitet Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci je odobrilo ovu studiju.

Sukob interesa. Autori izjavljuju da nemaju sukob interesa.

Founding source. A study was derived from the scientific-research project: "Significance of expression of the inflammatory mediators in middle ear cholesteatoma", supported from the Ministry for Scientific and Technological Development, Higher Education and Information Society of the Republic of Srpska (No. 19/6-020/961-68/15).

Ethical approval. The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, University of Banja Luka approved the study.

Conflicts of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Literatura

1. Kuo CL. Etiopathogenesis of acquired cholesteatoma: prominent theories and recent advances in biomolecular research. *Laryngoscope* 2015;125(1):234–40.
2. Sudhoff H, Tos M. Pathogenesis of attic cholesteatoma: clinical and immunohistochemical support for combination of retraction theory and proliferation theory. *Am J Otol* 2000;21(6):786–92.
3. Karmody CS, Northrop C. The pathogenesis of acquired cholesteatoma of the human middle ear: support for the migration hypothesis. *Otol Neurotol* 2012;33(1):42–7.
4. Gray JD. The chronic ear. The treatment of cholesteatoma in children. *Proc R Soc Med* 1964;57:769–71.
5. Juhn SK, Jung MK, Hoffman MD, Drew BR, Preciado DA, Sausen NJ, et al. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of otitis media and sequelae. *Clin Exp Otorhinolaryngol* 2008;1:117–38.
6. Dennis RG, Whitmire RN, Jackson RT. Action of inflammatory mediators on middle ear mucosa. A method for measuring permeability and swelling. *Arch Otolaryngol* 1976;102(7):420–4.
7. Birkedal-Hansen H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodont Res* 1993;28:500–10.
8. Cui N, Hu M, Khalil RA. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2017;147:1–73.
9. Basset P, Okada A, Chenard MP, Cannan R, Stoll I, Anglard P, et al. Matrix metalloproteinases as stromal effectors of human carcinoma progression: therapeutic implications. *Matrix Biol* 1997;15:535–41.
10. Murphy G, Knauper V. Relating matrix metalloproteinase structure to function: why the "hemopexin" domain? *Matrix Biol* 1997;15:511–18.
11. Schönermark M, Mester B, Kempf H-G, Bläser J, Tschesche H, Lenarz T. Expression of matrix-metalloproteinases and their inhibitors in human cholesteatomas. *Acta Otolaryngol* 1996;116:451–6.
12. Naim R, Sadick H, Schafer C, Hormann K. External auditory canal cholesteatoma: analysis of the integrity of the tissue structure. *Int J Mol Med* 2004;14(4):601–4.
13. Welkoborsky HJ. Current concepts of the pathogenesis of acquired middle ear cholesteatoma. *Laryngorhinootologie* 2011;90(1):38–48.
14. Nam SI, Kwon TK. Dexamethasone inhibits interleukin-1beta-induced matrix metalloproteinase-9 expression in cochlear cells. *Clin Exp Otorhinolaryngol* 2014;7(3):175–80.

15. Olszewska E, Matulka M, Mroczko B, Pryczynicz A, Kemona A, Szmitkowski M, et al. Diagnostic value of matrix metalloproteinase 9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 1 in cholesteatoma. *Histol Histopathol* 2016; 31(3):307–15.
16. Sugita T, Huang CC, Abramson M. The effect of endotoxin and prostaglandin E2 on the proliferation of keratinocytes in vitro. *Arch Otorhinolaryngol* 1986;243(3):211–4.
17. Wysocki AB, Staiano-Coico L, Grinnell F. Wound fluid from chronic leg ulcers contains elevated levels of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9. *J Invest Dermatol* 1993;101:64–8.
18. Mast BA, Schultz GS. Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. *Wound Rep Reg* 1996;4:411–20.
19. Padovan I. Otorinolaringologija 1 Kirurgija uha. Zagreb: Školska knjiga;1982.
20. Chang P, Kim S. Cholesteatoma-diagnosing the unsafe ear. *Aust Fam Physician* 2008;37(8):631–8.
21. Spremo S. Hronične upale srednjeg uha. Banja Luka: Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, 2015.
22. Aquino JE, Cruz Filho NA, de Aquino JN. Epidemiology of middle ear and mastoid cholesteatomas: study of 1146 cases. *Braz J Otorhinolaryngol* 2011;77(3):341–7.
23. Wilmoth JG, Schultz GS, Antonelli PJ. Tympanic Membrane Metalloproteinase Inflammatory Response. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 2003;129(6):647–54.
24. Skotnicka B, Hassmann E. Cytokines in children with otitis media with effusion. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2000;257(6):323–6.
25. Urík M, Hurník P, Žiak D, Machač J, Šlapák I, Motyka O, et al. Immunohistochemical analysis of retraction pocket pars tensa of tympanic membrane in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2019;122:111–6.

Expression of matrix metalloproteinase-9 in acquired middle ear cholesteatoma

Dalibor Vranješ^{1,2}, Slobodan Spremo^{1,2}, Siniša Šolaja³

¹University of Banja Luka, Faculty of Medicine, Banja Luka, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

²University Clinical Center of the Republic of Srpska, The Ear, Nose and Throat Department, Banja Luka, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

³University Hospital Foca, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

Introduction. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) plays one of the key roles in the migration of inflammatory cells and the destructive behavior of acquired middle ear cholesteatoma. The aim of the study was to determine the expression levels of MMP-9 in chronic otitis media, with and without acquired cholesteatoma, as well as to determine the correlation between them and the pathomorphological changes in the tympanic membrane (TM).

Methods. Immunohistochemical study included 178 patients of both sexes, aged 5–75 years, who underwent microsurgical treatment of chronic otitis media (COM) at the Ear, Nose and Throat Department of the University Clinical Center of the Republic of Srpska in Banja Luka from 2015 to 2018. Patients were divided into two groups on the basis of the presence or absence of acquired cholesteatoma: 97 (CCOM) and 81 (COMWC). The samples of the perimatrix of acquired cholesteatoma (n=97) and inflamed middle ear mucosa (n=81) were taken intraoperatively. The presence of retraction and certain types and subtypes of TM perforations were examined by intraoperative exploration. MMP-9 expression levels were determined by immunohistochemical analysis.

Results. In the presence of cholesteatoma and highly positive expression of MMP-9, the marginal type of TM perforation was more likely to occur ($p<0.01$) while in negative expression of MMP-9 in the COMWC group, the central type was more likely to occur ($p<0.01$). There was a higher probability of the presence of attic subtype of TM perforation in patients with cholesteatoma and moderate positive expression of MMP-9 ($p<0.01$). There was not a statistically significant contribution of any of the factors in the prediction of the influence on the occurrence of TM retraction.

Conclusion. The presence of acquired middle ear cholesteatoma and highly positive expression of MMP-9 are statistically significant predictors of the presence of marginal type and attic subtype of TM perforation. Expression levels of MMP-9 may have potential clinical significance in the development of irreversible pathomorphological changes on TM in middle ear cholesteatoma.

Keywords: cholesteatoma, matrix metalloproteinase-9, tympanic membrane

Originalni naučni rad

Sindrom sagorijevanja kod medicinskih sestara-tehničara u jedinicama intenzivnih njega Kliničkog centra Crne Gore

**Dragana Backović,
Dragana Jovanović,
Ljubica Pejakov**

Klinički centar Crne Gore,
Podgorica, Crna Gora

Primljen – Received: 19/05/2020
Prihvaćen – Accepted: 05/06/2020

*Adresa autora:
Dr Dragana Backović, Mr sc. med.
Ulica Avnoja b.b. Zabjelo, 81101 Podgorica,
Crna Gora, +382069465513,
dragana.backovic@kccg.me*

Copyright: ©2020 Backović D, et al. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license.

Kratak sadržaj

Uvod. Sindrom sagorijevanja je veoma onesposobljavajući zdravstveni problem. Često se sagledava kroz faktore emocionalne iscrpljenosti, depersonalizacije i smanjene radne efikasnosti. Koliko nam je poznato, u Crnoj Gori ovaj problem nije ispitivan na medicinskom osoblju.

Metode. U radu je korišćen upitnik o demografskim karakteristikama uzorka i Upitnik sindroma sagorijevanja Kristine Maslač. Kao okosnicu sindroma koristili smo emocionalnu iscrpljenost.

Rezultati. Prikupili smo 59 validnih upitnika. Uzorak čini 45 žena i 14 muškaraca. 12% ispitanika ima sve karakteristike sindroma sagorijevanja, 27% je prenapregnuto (od čega velika većina uz to neefikasno) i dodatnih 10% je neefektivno. Dobili smo značajne povezanosti između postojanja hronične bolesti sa jedne strane i emocionalne iscrpljenosti ($p < 0,000$) i prosječnog ranga skale iscrpljenosti ($p = 0,001$). Takođe, dobili smo povezanost smanjene radne efikasnosti i postojanja hronične bolesti ($p = 0,006$).

Zaključak. Sindrom sagorijevanja je multidimenzionalan problem. Način sagledavanja mjerenih dimenzija diktira i rezultate. Svakako, dobili smo da je veliki dio našeg uzorka u nekoj vrsti problema vezanog za posao (sagorijevanje, prenapregnutost, radna neefektivnost). Značajna povezanost hroničnih bolesti sa emocionalnom iscrpljenošću, koja je veoma učestala, govori o potrebi daljih istraživanja radi dobrobiti medicinskog osoblja i funkcionisanja sistema zdravstva.

Ključne riječi: sindrom sagorijevanja, intenzivna njega, medicinske sestre-tehničari, Crna Gora, hronične bolesti

Uvod

Sindrom sagorijevanja se odnosi na osjećaj tjelesne i umne iscrpljenosti uzrokovane poslom. Ovom sindromu se u današnjoj medicini prilazi na multidimenzionalan način. Često se sagledava i ispituje Upitnikom za mjerenje sagorijevanja Kristine Maslač (MBI - Maslach Burnout Inventory). U ovom instrumentu se sindrom sagorijevanja sagledava kao kompozit koji se sastoji od iscrpljenosti, depersonalizacije i smanjenog ličnog postignuća na poslu. Ispitivanja sagorijevanja su raširena u svijetu, ali nisu tako česta među medicinskom populacijom. Recimo, tek 2012. godine su rađena

nacionalna ispitivanja učestalosti ovog sindroma kod doktora u SAD [1]. Na crnogorskoj populaciji medicinskih sestara-tehničara, koliko znamo, nije ispitivan sindrom sagorijevanja. Poznato je da je rad u jedinicama intenzivnog liječenja veoma stresan [2]. Podaci iz više istraživanja govore da 25-33% medicinskih sestara-tehničara manifestuje sve simptome ovog poremećaja, a takođe i da medicinske sestre-tehničari koji rade na odjeljenju intenzivne njege češće oboljevaju od ovog sindroma, nego ostale medicinske sestre-tehničari [3, 4, 5]. Dodatno, 2006. godine je utvrđeno da medicinske sestre-tehničari koji rade u jedinicama intenzivne njege jesu podložniji Post Traumatskom Stresnom Poremećaju (PTSP) [6]. Ovaj poremećaj nastaje pod uticajem pojedinačnog traumatičnog događaja i ogleda se u izbjegavanju okolnosti koje su dovele do njega, konstantnim nevoljnim prisjećanjem na isti, i povišenoj generalnoj uznemirenosti. Sa druge strane, sindrom sagorijevanja nastaje postepeno, dugotrajnim pretjeranim izgaranjem na poslu, a ogleda se u opštoj iznurenosti, često bezvoljnosti, emocionalnoj iscrpljenosti. Problem ovog sindroma sagorijevanja je dvojak. Njegova pojava utiče na pojedinca i njegovo mentalno i fizičko zdravlje, a sa druge strane utiče na kvalitet njegovog rada i opštu radnu sposobnost. Kroz ove dvije dimenzije provejava činjenica da je sindrom sagorijevanja kumulativno, progresivno i nažalost, uglavnom, ireverzibilno stanje.

Posebno je važno što se u Kliničkom centru Crne Gore (KCCG) liječe najkompleksnija, najteža stanja i najugroženiji pacijenti, sa teritorije cijele države. Tako da u određenom smislu, ovo jeste eksplorativno istraživanje. Prvo zbog toga što se prvi put radi sa medicinskim sestrama-tehničarima, a drugo stoga što se ispituje najkritičniji dio populacije, pri čemu se ispitivanje vrši praktično na čitavoj populaciji medicinskih sestara-tehničara.

Na prvom mjestu, cilj našeg istraživanja je da dobijemo procjenu učestalosti sindroma izgaranja na populaciji medicinskih sestara-tehničara. Nadalje, želimo da ispitamo osnovne parametre koji mogu biti povezani sa ovim sindromom, kao što su lične odlike (pol, starost, indeks tjelesne mase...) i socijalne okolnosti (radno angažovanje,

uslovi rada, tjelesno vježbanje u cilju zdravlja...). Dodatno, pošto smo i zaposleni Kliničkog centra, ličnim opservacijama smo uočili da dobar dio naših kolega, koji radi u jedinici intenzivnog liječenja, boluje od neke hronične ili akutne bolesti. Sa druge strane, nismo primijetili takvu učestalost narušenog zdravlja kod kolega koji rade u drugim dijelovima Kliničkog centra, pa smo htjeli da ispitamo hipotezu o povezanost hroničnih/akutnih bolesti sa sindromom sagorijevanja.

Metode rada

Pošto nemamo veliku populaciju ispitanika, htjeli smo je zahvatiti cjelokupno, pa su podaci prikupljeni od medicinskih sestara-tehničara sa svih odjeljenja intenzivnog liječenja (centralna jedinica intenzivnog liječenja, koronarna jedinica, kardiohirurška, dječija intenzivna jedinica, intenzivna jedinica interne klinike...). Prikupljen je 61 upitnik od ukupno 87 zaposlenih medicinskih tehničara. Dva upitnika su odbačena, jer su ispitanici odgovarali upisivanjem odgovora (da/ne) umjesto rangiranja tvrdnji. Svi ispitanici su upoznati sa ciljevima studije i dali su pristanak da učestvuju. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog komiteta Kliničkog centra Crne Gore.

Za ispitivanje sindroma sagorijevanja je korišćen Upitnik za mjerenje sagorijevanja Kristine Maslač, prilagođen za radnike u pomagačkim profesijama (Maslach & Jackson 1981). Sastoji se od 22 pitanja [7] na koja se odgovara ocjenjivanjem učestalosti svake pojedinačne tvrdnje. Koristi se sedmostepeno mjerenje Likertovom skalom, gdje 0 označava da se tvrdnja nikad ne događa, a 6 znači da se svakodnevno događa. To je veoma često korišćen upitnik u ovoj oblasti istraživanja. Sastoji se iz tri skale: emocionalne iscrpljenosti, depersonalizacije i učinka na poslu. Ovaj upitnik ne posjeduje jedinstveni skor, već se prikazuju rezultati tri pomenute skale i tumače u skladu sa postignutim rezultatima. Visok skor na skali emocionalne iscrpljenosti se ogleda u prisustvu osjećaja iscrpljenosti i istrošenosti usljed obavljanja posla, a nizak u njegovom odsustvu. To je okosnica sindroma sagorijevanja i ujedno glavni, ali ne i jedini kriterijum [8]. Stres na po-

slu, veliki broj interakcija, velika očekivanja od drugih, doprinose da se ljudi na primjer, osjećaju „iskorišćeno na kraju radnog dana“, što je ujedno jedna od stavki na skali iscrpljenosti. Depersonalizacija je druga skala kojim se zapravo mjeri psihološko odvajanje pojedinca od posla koji obavlja i visok skor se ogleda u indiferentnosti prema poslu i otuđenosti od psiholoških stanja pacijenata. Nizak skor podrazumijeva odsustvo ovakvog stanja. Depersonalizacija je odlika sindroma izgaranja koja je snažno vezana za pomaćuće profesije [8]. Treća skala mjeri osjećaj učinkovitosti na poslu. Visoko postignuće odslikava osjećaj efikasnosti radnika u obavljanju svog posla, a nisko, naravno, suprotno.

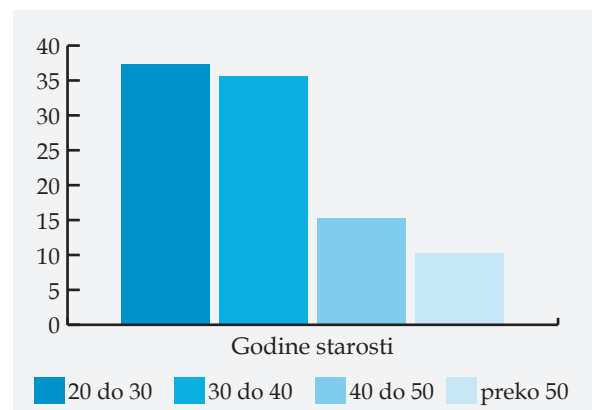
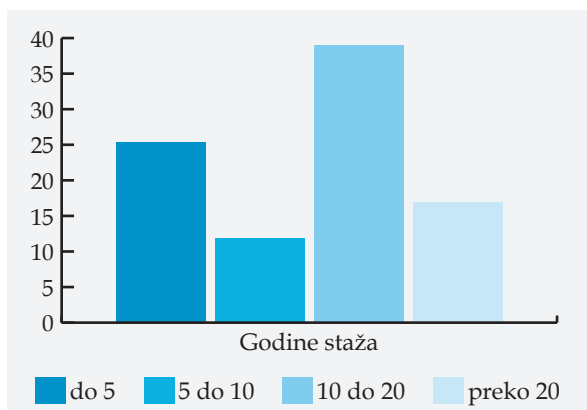
Upitnik za mjerenje sagorijevanja Kristine Maslač je multidimenzionalan i razvijen je kao istraživački, a ne klinički instrument. Shodno tome, i njegova interpretacija je više prožeta istraživačkom nego kliničkom paradigmom. U praktičnom smislu, ne postoji jednodimenzionalni skor koji nekog klasifikuje u dihotomnu kategoriju prisutstva ili odsustva sindroma sagorijevanja. Ovaj instrument se dakle bazira na interpretaciji njegove tri skale. U tom smislu, postoji više modela i kriterijuma procjenjivanja postojanja sindroma [9]. Postoji podjela na visoke, srednje i niske skorove. Odmah treba istaći da je podjela statističke prirode [10]. Skorovi su podijeljeni u tri trećine, kao visoki, srednji i niski. Uopšteno govoreći, najstriktnije gledište verifikacije sindroma sagorijevanja bi bio visok skor na skali iscrpljenosti i depersonalizacije, i nizak skor na profesionalnom postignuću. Međutim, u svakom modelu, emocionalna iscrpljenost je okosnica sindroma

sagorijevanja, iako vjerovatno nije dovoljna za kategorizaciju. Kada postoji nezavisno od drugih dimenzija, visok skor na ovoj skali znači da svakako postoji prenapregnutost („overextended“ profil), i uz visok skor na depersonalizaciji može biti tumačen kao postojanje izgaranja. Međutim, dodajemo da određeni istraživači sagledavaju postojanje sindroma sagorijevanja kada postoje visoki skorovi na skali iscrpljenosti ili na skali depersonalizacije [11].

Ispitanicima je zadat upitnik Kristine Maslač kao i dodatni, kojim su prikupljani demografski podaci (godine, staž, pol, zdravstveno stanje, pitanja u vezi sa radnim obavezama i opšte ekonomsko stanje). Pošto imamo relativno mali uzorak, nakon deskriptivne statistike odmah smo procijenili asimetriju raspodjele Kolmogorov – Smirnovim testom. U analizama smo koristili program za obradu statističkih podataka u socijalnim naukama – SPSS (IBM SPSS Statistics 20), to jest metode deskriptivne statistike, jednofaktorske analize varijanse i hi- kvadrat testa nezavisnosti. Izuzev kvantitativne analize, koristili smo i kvalitativnu analizu u obradi pitanja koje se tiče postojanja hroničnog ili akutnog oboljenja. To pitanje je bilo otvorenog tipa i ispitanici su ručno upisivali eventualnu bolest.

Rezultati

U ispitivanju je učestvovalo 45 žena i 14 muškaraca. U grafikonu 1 je prikazana osnovna podjela ispitanika prema starosti i godinama staža. Generalno, većinu našeg uzorka čini populacija



Grafikon 1. Podjela uzorka prema godinama staža i starosti

Tabela 1. Tri skale MBS-HSS i njihove mjerne karakteristike, srednje vrijednosti rangovanja i presjek učestalosti po skalama prema kategoriji skora (visok, srednji i nizak skor)

Skala	Skjunis (Skewnis)	srednja vrijednost rangovanja izjava	Frekvence skorova		
			H	M	L
Emocionalna iscrpljenost	0,407	2,6	23	8	28
Depersonalizacija	1,138	1,23	9	12	38
Radna efikasnost	-0,811	4,25	24	15	20

do 40 godina. Takođe, većina ispitanika radi na odjeljenju intenzivne njege duže od 10 godina.

U tabeli 1 vidimo podatke o asimetričnosti raspodjele, srednjoj vrijednosti rangova po skalama, ali i učestalost visokih, srednjih i niskih skorova na istim skalama. Prema vrijednostima asimetrije (skjunis) vidimo da su podaci na skali iscrpljenosti i depersonalizacije pomjereni ulijevo, to jest da su pozitivno asimetrični. Skala radne efikasnosti je nasuprot tome pomjerena udesno, to jest negativno asimetrična.

Što se tiče sindroma sagorijevanja prema strogom kriterijumu prisustva visokog skora iscrpljenosti i depersonalizacije, imamo 7 ispitanika ili 12%. Sem njih, imamo 16 ispitanika ili 27% koji su prenapregnuti, to jest emocionalno iscrpljeni. Od tih 16 ispitanika, 13 je radno neefikasno, to jest imaju nizak skor na skali radne efikasnosti, uz to što su emocionalno iscrpljeni. Praktično,

Tabela 2. Zastupljenost problema iz sklopa sindroma sagorijevanja u našem uzorku

Klasifikacija problema	frekvence	procenti
sindrom sagorijevanja	7	12%
Prenapregnutost	16*	27%
Neefektivni	6	10%
Ukupno	29	49%

*od čega nizak skor na radnoj efikasnosti ima 13 ispitanika ili 22% cijelog uzorka

Tabela 3. Rezultati ukrštanja rezultata emocionalne iscrpljenosti i prisustva hroničnih/akutnih oboljenja (frekvence)

	visoki skorovi iscrpljenosti	srednji i niski skorovi
prisustvo oboljenja	11	2
odsustvo	12	34

skoro svi ispitanici koji imaju visok skor na iscrpljenosti, imaju ili visok skor na depersonalizaciji ili nizak na radnoj efikasnosti. Nezavisno od ovih podataka, imamo 6 ispitanika, odnosno 10% sa niskim skorom radne efikasnosti, koji

se klasifikuju kao neefektivni. Drugim riječima, polovina ispitanika (49%) ima nekakav vid disfunkcije u radnoj okolini. Emocionalna iscrpljenost predstavlja ličnu disfunkciju koja se često prelijeva i u privatni život, depersonalizacija predstavlja smanjenu funkcionalnost prema drugima – kroz emocionalno neangažovan ili ciničan odnos, a osjećaj smanjene radne efikasnosti smanjuje radnu motivaciju i učinkovitost. Nažalost, vidimo da se ove disfunkcije često (22%) kombinuju (Tabela 2).

Za potrebe statističkih analiza, grupisali smo u jednu kategoriju sve ispitanike koji su imali visok skor na emocionalnoj iscrpljenosti i u drugu kategoriju one koje imaju srednji i nizak nivo. Njihove demografske karakteristike smo poredili sa ispitanicima koji nemaju visoku iscrpljenost. Dobili smo značajno razlikovanje (Tabela 3) među ispitanicima prema varijabli oboljenja (χ^2 (2, n=59) = 12,2, $p < 0,000$, $fi = 0,5$; korekcija po Jejt-su). Oni koji imaju neko oboljenje imaju znatno češće visoke skorove na skali iscrpljenosti, dok oni bez oboljenja najčešće imaju srednje ili niske skorove.

Slično, dobili smo značajnu razliku u rangovanju emocionalne iscrpljenosti među ispitanicima prema tome da li imaju ili nemaju neko hronično/akutno oboljenje. Man-Vitnijev U test jeste otkrio značajne razlike u rangiranju emocionalne iscrpljenosti kod osoba koje imaju akutno ili hro-

Tabela 4. Prosječni rangovi emocionalne iscrpljenosti u odnosu na postojanje oboljenja

prosječni rangovi emocionalne iscrpljenosti	postojanje oboljenja	prosječni rangovi iscrpljenosti
	da	4,33
	ne	1,77

Tabela 5. Rezultati ukrštanja osjećanja radne efikasnosti i postojanja hroničnog/akutnog oboljenja (frekvence)

	visoki i srednji	niski
postojanje bolesti	4	9
nepostojanje bolesti	35	11

nično oboljenje ($Md=4,33$ $n=13$) i onih koji nemaju ($Md=1,77$ $n=46$, $U=123,5$, $z=-3,211$, $p=0,001$, $r=0,41$). Veći su prosječni rangovi na skorovanju iscrpljenosti kod ispitanika koji imaju neko oboljenje nego kod onih koji nemaju (Tabela 4).

Za potrebe analiza grupisali smo visok i srednji skor na skali radne efikasnosti u jednu kategoriju, a nizak skor u drugu kategoriju. Korišćenjem Fišerovog testa (Fisher's exact test) dobili smo značajnu povezanost ($p=0,006$) osjećaja radne efikasnosti sa postojanjem hroničnog/akutnog oboljenja. Kod ispitanika koji imaju neku bolest češći su niski skorovi, a kod onih koji nemaju nikakvu bolest češći su viši skorovi radne efikasnosti (Tabela 5).

Kvalitativnim pristupom smo razmotrili prisutna oboljenja kod naših ispitanika. Utvrdili smo da su često u pitanju hronična oboljenja (hipotireoza, anemija, čir na želucu, hipertenzija, povišene vrijednosti šećera u krvi, kolitis, ulkus, multipla skleroza...).

Diskusija

Ovo je prvo istraživanje sindroma sagorijevanja medicinskih tehničara u Crnoj Gori. Generalno, za populaciju medicinskih sestara-tehničara je utvrđeno da su pod povećanim rizikom od nastanka ovog sindroma. Postoje oprečni podaci o povezanosti skala koje mjere ovaj problem sa određenim demografskim karakteristikama (starost, bračno stanje, nivo obrazovanja, pol...). U nekim istraživanjima su nađene povezanosti [12], u drugim nisu [13]. U našem istraživanju nismo pronašli povezanost nijedne skale MBI-HSS-a, niti prosječnih rangova skala sa standardnim demografskim karakteristikama (starost, pol, bračno stanje, obrazovanje, broj djece...). Kod medicinskih sestara-tehničara u intenziv-

noj njezi, sindrom sagorijevanja i njegovi derivati (visoki skorovi na pojedinačnim skalama) su učestali. U našem istraživanju, svaki drugi medicinski tehničar na odjeljenju intenzivne njege KCCG ima problem koji bi se mogao povezati sa profesionalnom djelatnošću (ili kroz sagorijevanje i emocionalnu iscrpljenost, 12%, to jest 27% ili kroz osjećaj lične radne neefektivnosti - 10%). Dok kod 49% ispitanika imamo problem iz sklopa sindroma sagorijevanja, a kod 51% se radna efikasnost još uvijek održava.

Prema našim saznanjima, sindrom sagorijevanja je ispitivan u Crnoj Gori dva puta. Jednom je to bilo nacionalno [14], a drugi put međunarodno istraživanje [15]. U ovom drugom slučaju, velika evropska studija radnih uslova je dotakla i pitanje sindroma sagorijevanja. Zbog ekonomičnosti, korišćena je samo jedna stavka („Osjećam se iscrpljeno na kraju radnog dana“), koja prema podacima predstavlja 64% varijanse skale emocionalne iscrpljenosti. Prema ovom istraživanju, Crna Gora je u samom vrhu po zastupljenosti sindroma sagorijevanja. Četvrta je u Evropi. Drugi način računanja, prebrojavanje radnika koji su imali najviše skorove na stavci, donio bi Crnoj Gori osmo mjesto na ovoj listi evropskih zemalja. Visoko na ovoj neslavnoj listi su i druge zemlje Balkana, dok je Turska u svakom načinu sagledavanja – prva. U ovoj studiji, bruto domaći proizvod države negativno korelira sa prisutnim sindromom sagorijevanja. Sa druge strane, broj radnih sati pozitivno korelira sa sindromom sagorijevanja. Smatramo da bi ekonomski boljitak za pojedinca, koji bi nastao povećanjem bruto domaćeg proizvoda, višestruko uticao na smanjenje iscrpljenosti na poslu. U prvom redu bi olakšao svakodnevni život i dao dodatnu socijalnu sigurnost, i eliminisao finansijsku neizvjesnost nastalu usljed ograničene kupovne moći. Taj lagodniji svakodnevni život, uz veću mogućnost raznolikosti korišćenja slobodnog vremena (zbog povećanih plata) i smanjen broj radnih časova, mogao bi donijeti manju svakodnevnu emocionalnu angažovanost i smanjenje strepnje, što bi moglo prevenirati sindrom izgaranja.

Krećući se među ljudima koji će biti ispitanici, primijetili smo da veliki broj osoba ima određene zdravstvene probleme, pa smo odlučili da

ispitamo hipotezu o povezanosti zdravstvenih tegoba sa sindromom sagorijevanja. Dobili smo značajne povezanosti između postojanja emocionalne iscrpljenosti i prosječnog ranga emocionalne iscrpljenosti sa jedne strane, i postojanja hroničnih bolesti sa druge strane. Utvrđujemo da se najčešće radi o pojedinačnoj vrsti hronične bolesti, a rjeđe su u pitanju kombinovane bolesti. Potrebna su dalja istraživanja koja bi sagledala kauzaciju ove povezanosti. Hipotetički, jedna mogućnost bi bila da osobe koje već imaju neke bolesti imaju određenu predispoziciju za nastanak sindroma sagorijevanja. Druga alternativa bi bila da se ove bolesti razvijaju kao posljedica stanja zamorenosti koje nastupa usljed pretjeranog iscrpljivanja na poslu.

Na tragu povezanosti zdravlja sa poslovnom atmosferom, češći su niski skorovi radne efikasnosti kod osoba koje imaju neko hronično oboljenje. Obrnuto, kod ispitanika kod kojih nema neke hronične bolesti, češći su visoki i srednji

skorovi radne efikasnosti. Smatramo da je osjećaj radne efikasnosti povezan sa zdravljem pojedinca.

Zaključak

Trećina naših ispitanika je prema mjernom instrumentu veoma iscrpljeno i ima, ili visok skor na skali depersonalizacije ili nizak skor na skali radne efikasnosti. Nismo dobili značajnu povezanost sa posmatranim demografskim karakteristikama, ali smo dobili značajnu povezanost hroničnih oboljenja sa skalom emocionalne iscrpljenosti i radne efikasnosti. Budući da se sindrom sagorijevanja i njegovi derivati pokazao znatno onesposobljavajući za život i rad pojedinca, preporučujemo da se saznaju dodatne karakteristike populacije medicinskih sestara-tehničara u jedinicama intenzivne njege na području Crne Gore da bi se mogle na toj osnovi napraviti preporuke za prevenciju.

Izvor finansiranja. Autori nisu dobili sredstva namijenjena ovom istraživanju.

Etičko odobrenje. Etički komitet Kliničkog centra Crne Gore odobrio je studiju, a svi ispitanici su dali svoju saglasnost za učešće u studiji. Istraživanje je sprovedeno u skladu sa Helsinškom deklaracijom.

Sukob interesa. Autori izjavljuju da nemaju sukob interesa.

Funding source. The authors received no specific funding for this work.

Ethical approval. The Ethic Committee of the Clinical Center of Montenegro approved the study, and informed consent was obtained from all individual respondents. The research was conducted according to the Declaration of Helsinki.

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interest.

Literatura

- Shanafelt TD, Boone S, Tan L, et al. Burnout and satisfaction with work-life balance among US physicians relative to the general US population. *Arch Intern Med* 2012;172(18):1377-1385.
- Donchin Y, Seagull FJ. The hostile environment of the intensive care unit. *Curr Opin Crit Care* 2002;8(4):316-320.
- Moss M, Good VS, Gozal D, Kleinpell R, Sessler CN. A Critical Care Societies Collaborative Statement: Burnout Syndrome in Critical Care Health-care Professionals. A Call for Action. *Am J Respir Crit Care Med* 2016;194(1):106-113.
- Poncet MC, Toullic P, Papazian L, et al. Burnout syndrome in critical care nursing staff. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175(7):698-704.
- Mealer M, Burnham EL, Goode CJ, Rothbaum B, Moss M. The prevalence and impact of post traumatic stress disorder and burnout syndrome in nurses. *Depress Anxiety* 2009;26(12):1118-1126.
- Mealer ML, Shelton A, Berg B, Rothbaum B, Moss M. Increased prevalence of post-traumatic stress disorder symptoms in critical care nurses. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175(7):693-697.
- Mindgarden.com [homepage on the Internet] International publisher of psychological assessments. Available from <https://www.mindgarden.com/>
- Maslach C, Leiter MP, Schaufeli W. Job burnout. *Annual Review of Psychology* 2001;52:397-422.
- Leiter PM. Burnout as a developmental process: Consideration of models in Professional burnout: recent developments in theory and research. Washington: Taylor & Francis; 1992.p.237-250.
- Maslach C, Leiter PM, Schaufeli W. Measuring burnout. In: Cartwright S, Cooper CL;(ed) *Oxford Handbook of organizational well being*. Oxford University Press; 2009. p: 86-108.

11. Embriaco N, Papazian L, Kentish-Barnes N, Pochard F, Azoulay E. Burnout syndrome among critical care healthcare workers. *Curr Opin Crit Care* 2007;13(5):482-488.
12. Christina M, Jackson ES. The measurement of experienced burnout. *Journal of occupational behavior* 1981;2:99-113.
13. Jaman-Galeković M. Povezanost sindroma sagorijevanja medicinskih sestara sa radnim mjestom i privatnim životom. Diplomski rad. Medicinski fakultet u Osijeku. 2016.
14. Grbović M, Pranjić N, Selmanović S, Brekalo-Lazarević S, Jatić Z. Montenegro special education teaching staff burnout: survey study. *Acta Inform Med* 2011;19(1):49-55.
15. Schaufeli WB. Burnout in Europe: Relations with national economic, governance, and culture. Research unit occupational & organizational psychology and professional learning (internal report). KU Leuven, Belgium; 2018.

Burnout Syndrome in Nurses/Technicians in Intensive Care Units of Clinical Center of Montenegro

Dragana Backović, Dragana Jovanović, Ljubica Pejakov

Clinical Center of Montenegro, Podgorica, Montenegro

Introduction. The Burnout syndrome is a health issue that greatly disables a person. It includes emotional exhaustion, depersonalization and reduced efficiency in the workplace. So far, this issue has not been addressed where medical staff is concerned.

Methods. The Maslach Burnout Inventory – Human Service Survey and Demographic Questionnaire were used. Emotional exhaustion is taken to be the most important aspect of the syndrome.

Results. The sample consisted of data acquired from 59 nurses/technicians, out of which 45 were female and 14 male. 12% of them possessed all of the characteristics belonging to the syndrome, 27% of them were overextended (whereby the majority of them were inefficient), while the additional 10% were ineffective. There was a correlation between the chronic disease, on the one hand, and emotional exhaustion ($p < 0.000$) and average ranks of exhaustion scale, on the other hand ($p = 0.006$). Furthermore, there was a significant correlation between reduced efficiency in the workplace and chronic problems ($p = 0.006$).

Conclusion. The Burnout syndrome is a multidimensional issue. The method of perceiving the measured dimensions influence the obtained results. The data have shown that the majority of the respondents have some kind of problem concerning their job (burnout, being overextended or ineffective). Significant correlation between chronic diseases and emotional exhaustion underlines the need for further research to benefit the medical staff, as well as health system.

Keywords: Burnout syndrome, intensive care unit, nurses/technicians, Montenegro, chronic diseases

Pregledni rad

Ishrana kao faktor rizika za nastanak hroničnih nezaraznih bolesti

**Vesna Lazić¹,
Biljana Mijović²,
Miloš Maksimović³**

¹JZU Institut za javno zdravstvo
Republike Srpske, Regionalni centar
Zvornik, Bosna i Hercegovina

²Univerzitet u Istočnom Sarajevu,
Medicinski fakultet, Foča, Republika
Srpska, Bosna i Hercegovina

³Univerzitet u Beogradu, Medicinski
fakultet Beograd, Institut za higijenu sa
medicinskom ekologijom, Srbija

Primljen – Received: 24/04/2020
Prihvaćen – Accepted: 08/06/2020

Adresa autora:
Dr Vesna Lazić
Specijalista higijene – zdravstvene ekologije
Svetog Save 37/a, 75400 Zvornik, BiH
+ 387 65 597 291, lazicdrvesna@hotmail.com

Copyright: ©2020 Lazić V, et al. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license.

Kratak sadržaj

Hronične nezarazne bolesti predstavljaju bolesti koje nastaju kao odgovor ljudskog organizma na mnogobrojne faktore među kojima su najbitniji ekološki i socio-ekonomski faktori. Svetska zdravstvena organizacija ih klasifikuje na osnovu statističkih podataka o mortalitetu i morbiditetu. Prvu četvorku u klasifikaciji po mortalitetu čine kardiovaskularne bolesti, zatim maligne bolesti, hronične respiratorne bolesti i šećerna bolest. Hronične nezarazne bolesti predstavljaju globalni javnozdravstveni problem, jer su uzrok preko 40 miliona smrti godišnje, od čega je trećina smrti vezana za populaciju starosti od 30 do 69 godina. Faktori rizika za nastanak hroničnih nezaraznih bolesti se dele na metaboličke i faktore životne sredine. Metabolički faktori rizika podrazumevaju postojanje hipertenzije, hiperglikemije, hiperlipidemije i gojaznosti. U faktore rizika životne sredine spadaju: konzumiranje alkohola i duvana, zatim fizička neaktivnost i nepravilna ishrana. Nepravilna ishrana osim što predstavlja rizik za nastanak HNB, uzrok je nastanka i metaboličkih faktora rizika, odnosno hipertenzije i gojaznosti. Svetski autoriteti iz oblasti ishrane su usmereni ka kreiranju preporuka za ishranu kako bi se zaustavio trend porasta, a kasnije i smanjio morbiditet od masovnih zarazanih bolesti.

Ključne reči: hronične nezarazne bolesti, faktori rizika, nepravilna ishrana

Uvod

Hronične nezarazne bolesti (HNB) predstavljaju odgovor ljudskog organizma na mnogobrojne faktore među kojima su najbitniji ekološki i socio-ekonomski faktori modernog sveta. Dobile su prived hronične, jer poslednjih decenija se dramatično povećava kako broj obolelih, tako i smrtnost iz godine u godinu. Svetska zdravstvena organizacija (SZO) u svom dokumentu navodi da su HNB uzrok 41 miliona smrtnih ishoda godišnje globalno [1]. Osim smrtnosti, HNB predstavljaju teret za zdravstvene sisteme širom sveta. Naime, lečenje obolelih od HNB predstavlja najveći materijalni utrošak u odnosu na ostala oboljenja, dok je prevencija jeftinija u pogledu očuvanja kako zdravstvenih sistema tako i zdravlja populacije. Od svih HNB, vodeću poziciju imaju kardiovaskularne bolesti (infarkt miokarda, moždani udar) sa ukupnim učešćem u smrtnosti sa od 17,9 miliona, maligne bo-

lesti sa učešćem od 9 miliona smrtnih slučajeva, hronične respiratorne bolesti sa učešćem od 3,9 miliona smrtnih slučajeva i dijabetes melitus (DM) sa učešćem od 1,6 miliona smrtnih slučajeva [1].

Prema statističkim podacima SZO, žarišta HNB su u nerazvijenim zemljama, kao i u zemljama u razvoju [2]. Naime, prerana smrtnost od HNB u razvijenim zemljama (25%) je skoro dvostruko manja nego u nerazvijenim zemljama (43%) i zemljama u razvoju (47%) [2]. Međutim, upravo nerazvijene zemlje, kao i zemlje u razvoju vode dvostruku bitku. Zahvaljujući značajnom napretku medicine posebno u pogledu prevencije i terapije, dolazi do smanjenja smrtnosti od zaraznih bolesti. Iako se smatralo da su u zemljama u razvoju i razvijenim zemljama zarazne bolesti skoro iskorenjene, nerazvijene zemlje su i dalje žarište pojedinih kako zaraznih bolesti tako i HNB [3]. Razumevanje značaja uloge faktora rizika u nastanku HNB je preduslov za razvijanje efikasnih strategija i pokretanje aktivnosti za unapređenje zdravlja na globalnom nivou sa posebnim osvrtom na nerazvijene zemlje i zemlje u razvoju [4].

Kardiovaskularne bolesti

Kardiovaskularne bolesti (KVB) predstavljaju raznoliku grupu oboljenja srca i krvnih sudova koje prema desetoj reviziji međunarodne klasifikacije bolesti (MKB10) uključuju: bolesti sistema krvotoka, akutnu reumatsku groznicu, hronične reumatske bolesti srca, bolesti uzrokovane povišenim krvnim pritiskom, ishemijske bolesti srca, bolesti srca plućnog porekla i bolesti krvnih sudova pluća, druge bolesti srca, bolesti krvnih sudova mozga, bolesti arterija, malih arterija i kapilara, periferna arterijska bolest, bolesti vena, limfnih sudova i limfnih čvorova, i druge neoznačene bolesti krvotoka [5]. U osnovi KVB je ateroskleroza tako da je borba u prevenciji ateroskleroze u stvari borba protiv nastanka KVB. Kardiovaskularne, zajedno sa cerebrovaskularnim bolestima (CVB), predstavljaju vodeće uzroke obolevanja i umiranja savremenog čoveka. U 2016. godini od bolesti srca i krvnih sudova je umrlo oko 17,9 miliona ljudi, što predstavlja 31% svih smrtnih

ishoda u svetu. Oko 17 miliona preranih smrtnih slučajeva je izazvano HNB, među kojima više od 82% obuhvata nerazvijene zemlje i zemlje u razvoju prema podacima SZO [6]. Predviđa se da će nakon 2020. godine u svetu od posledica KVB umirati oko 25 miliona ljudi godišnje, od čega oko 11 miliona od ishemijske bolesti srca (IBS) [7]. Podaci epidemioloških studija navode da je smrtnost od IBS naročito visoka u zemljama u razvoju, pa može očekivati porast smrtnosti za 137% među muškom i za 120% među ženskom populacijom u narednom periodu [8]. Prema podacima SZO iz 2016. godine u Bosni i Hercegovini smrtnost od KVB iznosila je 53% ukupnog mortaliteta [2].

Epidemiološkim istraživanjima se došlo do zaključka da se faktori rizika za nastanak KVB mogu podeliti na promenljive i nepromenljive faktore rizika [9, 10, 11, 12]. Genetski materijal, pol i dob su nepromenljivi faktori rizika, ali su usko povezani promenljivim rizicima koji uključuju faktore ponašanja (ishrana, fizička aktivnost, konzumiranje duvana i alkohola), biološke faktore (hipertenzija, gojaznost, dislipidemija, hiperinsulinemija) i na kraju društveni faktori koji uključuju interakcije između socioekonomskih, kulturnih i parametara životne sredine [13].

Maligne bolesti

Maligne bolesti podrazumevaju bolesti koje karakteriše nekontrolisano umnožavanje abnormalnih ćelija u bilo kom delu organizma [10]. U skladu sa podacima SZO od malignih bolesti umire 9 miliona ljudi godišnje, odnosno 9,6 miliona u 2018. godini [14]. U Evropskom regionu smrtnost od malignih bolesti iznosi 20%, godišnje više od 3 miliona novootkrivenih slučajeva i 1,7 miliona smrtnih slučajeva godišnje. Istraživanja pokazuju da su maligne bolesti u velikom broju slučajeva preventabilne, čak u trećini [15].

Prema podacima SZO iz 2016. godine u Bosni i Hercegovini maligne bolesti su činile 19% ukupnog mortaliteta [2].

Kao faktor rizika za nastanak malignih bolesti u 40% slučajeva je konzumiranje duvanskih proizvoda i alkohola. Međutim, ako se dodaju

posledice nepravilne ishrane, gojaznosti i nedovoljne fizičke aktivnosti, procenat malignih bolesti povezanih sa nezdravim načinom života raste na 60% [16]. Literatura ukazuje da je čak 30% svih slučajeva malignih bolesti povezano sa lošim prehrambenim navikama, odnosno povećanim unosom prerađevina od mesa, crvenog mesa, alkoholnih pića i soli. Ovaj udeo doseže 70% kod malignih bolesti gastrointestinalnog trakta [17, 18, 19].

Pregledom baze PubMed u periodu od 1980. do 2006. godine sa ključnim rečima kancer, ishrana, fitohemikalije, došlo se do zaključka da je zapadnjačka ishrana bogata rafinisanim skrobnim ugljenim hidratima, šećerima, zasićenim i trans-masnim kiselinama, a siromašna voćem, povrćem, žitaricama celog zrna i omega-3 masnim kiselinama. Brojna istraživanja pokazuju da se u osnovi nastanka malignih bolesti gastrointestinalnog trakta nalazi njegova inflamacija koja je u značajnoj meri povezana sa načinom ishrane [18, 19]. Pretraživanjem i analizom sistematskih pregleda i meta analiza iz tri baze podataka (Pubmed/Medline, EMBASE, Scopus) pri čemu su dobijeni radovi u kojima je bilo obuhvaćeno oko 2 miliona ispitanika, došlo se do zaključka da unos dijetnih vlakana ima protektivno dejstvo i smanjuje rizik od nastanka rektalnog karcinoma [20].

Održavanje telesne težine u preporučenim okvirima individualnog indeksa telesne mase tokom života pokazalo se da može biti jedan od najvažnijih načina zaštite od malignih bolesti. To je verovatno drugi najvažniji faktor u mogućoj prevenciji, odnosno redukciji nastanka malignih bolesti posle izbegavanja konzumiranja duvana. Istraživanja su pokazala da porast telesne težine izračunate preko indeksa telesne mase za 5 kg/m² povećava mortalitet od malignih bolesti za 10% [21].

Diabetes mellitus

Diabetes mellitus (DM) je hronična metabolička bolest koju karakteriše hiperglikemija. Etiološki DM se deli na tip 1 koji prema trenutnim saznanjima nije preventabilan, tip 2 koji je u velikom

procentu preventabilan i gestacijski koji se javlja u trudnoći, ali može kasnije preći u tip 2 [22].

Diabetes mellitus tip 1 (DMT1) se karakteriše razaranjem β ćelija endokrinog pankreasa i posledičnim nedostatkom insulina, i uglavnom pojavom polidipsije, poliurije i polifagije. Terapija se sastoji u davanju insulina parenteralno [22].

Diabetes mellitus tip 2 (DMT2) je rezultat nefikasne upotrebe insulina u ciljnim ćelijama zbog promena na receptorima, odnosno insulinske rezistencije. Gojaznost naročito abdominalnog tipa, fizička neaktivnost i visok unos zasićenih masnih kiselina, sve nezavisno povećavaju rizik od insulinske rezistencije. Ovaj rizik se povećava čak i sa skromnim povećanjem težine unutar normalnih granica (indeks telesne mase >25) [22]. Prema podacima SZO od 65 do 80% novootkrivenih pacijenata sa DMT2 spadaju u grupu predgojaznih i gojaznih. Razvoj DMT2 takođe je povezan sa drugim faktorima, kao što su nasleđe, etnička pripadnost, iskustva i uticaji u ranom životu i socio-ekonomski faktori. Simptomi mogu biti slični onima DMT1, ali su često manje izraženi. Do nedavno je bio viđen kao bolest sredovečnih i starijih ljudi, ali je njegova učestalost eskalirala u svim starosnim grupama, naročito u detinjstvu i adolescenciji [22].

Intolerancija na glukozu (IGT) i poremećaj glikemije našte (IFG) predstavljaju simptome predijabetesa. Osobe sa IGT ili IFG imaju visok rizik od obolevanja od DMT2.

Diabetes mellitus tip 2 je hronična i u velikoj meri preventabilna bolest koja može dovesti do kardiovaskularnih bolesti. Prevencija DMT2 je upravo u pravilnoj ishrani. Oko 60 miliona ljudi u evropskom regionu se bori sa dijabetesom, odnosno 10,3% muškaraca i 9,6% žena >25 godina [23]. Prema podacima SZO u 2016. godini u Bosni i Hercegovini DM je činio 7% ukupnog mortaliteta [2]. Prevalencija DM je u porastu u evropskom regionu, a već je dostigla stope 10–12% stanovništva u nekim njenim državama članicama [23]. Ovo povećanje je snažno povezano sa rastućim trendovima prema prekomernoj težini i gojaznosti, nepravilnoj ishrani, fizičkoj neaktivnosti i socio-ekonomskim problemima društva.

Ishrana i hronične nezarazne bolesti

Ishrana, osim što predstavlja način za unos hranljivih materija u organizam, predstavlja i nacionalno, kulturno, versko i socio-ekonomsko obeležje. Pravilna ishrana u širem smislu podrazumeva ishranu koja omogućava očuvanje i poboljšanje zdravlja. U užem smislu ona predstavlja zadovoljenje ljudskih potreba za energijom i svim nutrijentima kako bi se prevenirao rizik od deficita ili ekscesa - adekvatnost i obezbeđenje unosa nutrijenata kako bi se postiglo optimalno zdravlje i prevencija HNB - optimalnost [24].

Svetski autoriteti u skladu sa statističkim podacima o obolevanju i umiranju od HNB postavljaju ciljeve u ishrani kako bi se sprečio trend porasta navedenih oboljenja. Evropska Unija postavlja populacione ciljeve ishrane (Tabela 1) [25].

Preporuke Američke asocijacije za srce u pogledu ishrane koja bi imala za cilj smanjenje kardiovaskularnog rizika preporučuje optimalan unos voća, povrća, jezgrastog voća, integralnih žitarica i ribe. Takođe, prema tim preporukama za smanjenje kardiovaskularnog rizika neophodno je zasićene masne kiseline zameniti nezasićenim, smanjiti unos soli, mesnih prerađevina, rafiniranih ugljenih hidrata i zaslađenih bezalkoholnih napitaka [26, 27]. Opsežnim istraživanjem baze podataka istraživači su došli do zaključka da je prva od postojećih 10 poruka vezana za primarnu prevenciju upravo vezana za promociju zdravih životnih stilova [27].

Uticaj ishrane na zdravlje ljudi je poznat od davnina. Međutim, tada su se uglavnom borili sa deficitima određenih nutrijenata u ishrani. A danas imamo potpuno drugačiju situaciju. Razvoj prehrambene industrije, poboljšanje životnog standarda i promena životnih stilova je uzrok razvoja bolesti zbog ekscesivnog unosa energije, zasićenih masti i prostih šećera. Nepravilna ishrana je glavni uzrok pojedinih HNB,

posebno kardiovaskularnih i DM. Postoji ubedljiv nivo dokaza da konzumiranje određenih grupa namirnica (voća, uključujući i bobičasto voće, povrća, ribe, hrane sa visokim sadržajem linoleinske kiseline) i kalijuma, kao i nizak do umeren unos alkohola dovodi do smanjenja rizika za nastanak KVB. Verovatan nivo dokaza za smanjenje rizika za nastanak KVB postoji ukoliko se konzumira namirnica sa visokim sadržajem α -linoleinske kiseline i oleinske kiseline, proizvoda od celog zrna žitarica, neslanih orašastih plodova, folata i biljnih sterola [28].

Uticaj ugljenih hidrata (UH) na zdravlje najčešće se objašnjava posredno, preko doprinosa u ukupnom i prevelikom energetsom unosu i njegovom uticaju na pojavu gojaznosti, uticajem na lipidni status (trigliceride), kao i na efekat glikemijske kontrole [10]. Istraživanja su pokazala da hrana visokog glikemijskog indeksa utiče nepovoljno na kontrolu glikemije, što zajedno sa poremećenim lipidnim statusom utiče na zdravlje. Međutim, dijetna vlakna, kao sastavni deo UH, protektivno deluju na digestivni trakt, utiču na smanjenje ukupnog holesterola, poboljšavaju glikoregulaciju, utiču na smanjenje telesne mase. Glavni izvori dijetnih vlakana u ishrani su žitarice od celog zrna, krompir, orašasti plodovi, voće i povrće [29].

Tabela 1. Populacioni ciljevi u ishrani EU

Komponente	Ciljevi
Nivo fizičke aktivnosti	> 1,75 (PAL)
BMI populacioni	21-22 (kg/m ²)
Masti u ishrani:	<30% ukupnog energetskeg unosa
- zasićene masti	<10% ukupnog energetskeg unosa
- trans masti	<2% ukupnog energetskeg unosa
- polinezasićene masti n-6	4-8% ukupnog energetskeg unosa
- polinezasićene masti n-3	2 g linoleinske m.k i 200 mg EPA i DHA
Ugljeni hidrati	>55% ukupnog energetskeg unosa
Šećeri	<5% ukupnog energetskeg unosa
Voće i povrće	>400 g/dan
Folati iz hrane	>400 µg/dan
Vlakna iz hrane	>25 g/dan
NaCl	<6 g/dan
Jod	150 µg/dan; trudnice 200 µg/dan

Preuzeto: Eurodiet core report. Nutrition & Diet for Healthy Lifestyles in Europe. 2001

Uticao masti na zdravlje se objašnjava posredno preko prevelikog energetskeg unosa, direktnog uticaja na lipidni status. Međutim, osim takozvanih loših masnoća koje se unose hranom gde spadaju zasićene i trans-masti, promenom stila života može se povećati unos dobrih masti, odnosno mononezasićenih i polinezasićenih koje imaju pozitivan efekat na zdravlje. Oleinska kiselina bogato sadržana u orašastim plodovima, maslinovom i repicinom ulju je jedina mononezasićena masna kiselina koja ima pozitivan uticaj na zdravlje u pogledu smanjenja nivoa triglicerida i glukoze u serumu. Od polinezasićenih masnih kiselina izdvajaju se omega-3 (alfa linoleinska, eikosapentaenska i dokosaheksaenska) i omega-6 (linolna i arahidonska). Uravnotežen unos omega-3 i omega-6 smatra se esencijalnim u održavanju dobrog zdravlja [30]. Biološki efekti omega-3 masnih kiselina su višestruki, od uticaja na metabolizam proteina i lipida, zatim blagotvornog delovanja na kardiovaskularni sistem do antiinflamatorne uloge [30].

Među antioksidansima koji imaju sposobnost da umanje dejstvo slobodnih radikala i na taj način uspore i/ili zaustave proces ateroskleroze navode se liposolubilni vitamin E i hidrosolubilni vitamin C. Studije koje su se bavile ispitivanjem povezanosti suplementacije vitaminom E i rizika od nastanka različitih kardiovaskularnih neželjenih događaja pokazale su značajno smanjenje pojave obolevanja i u muškoj i u ženskoj populaciji [31].

Sredinom prošlog veka istraživanja o navikama u ishrani su pokazala da je trend povećanog unosa masti povezan sa povećanjem vrednosti holesterola u serumu i kardiovaskularnim rizikom [32]. Framingamska studija je takođe dokazala povezanost između fizičke aktivnosti, navika u ishrani i kardiovaskularnih bolesti. Studija je obuhvatala istraživanje tri generacije stanovnika grada Framingama u pogledu kliničkih ispitivanja i intervju a o životnim navikama. Specifičnost istraživanja Framingamske studije je dovela do rane identifikacije major rizikofaktora za KVB: hipertenzija, hiperholesterolemija, konzumiranje duvana, gojaznost i fizička neaktivnost [33]. U sistematskom istraživanju o navikama u ishrani koje je obuhvatilo 195 zemalja u

periodu od 1995–2017, došlo se do zaključka da je neoptimalni unos integralnih žitarica, voća i soli odgovoran za više od 50% smrtnih slučajeva povezanih sa ishranom, odnosno da je nepravilna ishrana globalno najveći faktor rizika [34].

Gojaznost je multifaktorijska hronična bolest koja se razvija interakcijom genotipa i životne sredine. Trenutna saznanja o nastanku gojaznosti su nepotpuna, ali se zna da uključuje integraciju socijalnih, kulturnih, fizioloških, metaboličkih, genetskih faktora i faktora ponašanja [35].

Klasifikacija stepena gojaznosti vrši se u skladu sa preporukama SZO za vrednosti individualnog indeksa telesne mase (eng. body Mass Index, BMI), koji se izračunava kada se telesna težina izražena u kilogramima podeli sa kvadratom visine izraženo u metrima. U skladu sa preporukama, normalno uhranjene osobe imaju BMI od 18,5 do 24,9 kg/m², predgojaznost obuhvata BMI od 25 do 29,9 kg/m², dok gojaznost BMI veći od 30 kg/m² (36). Međutim, pojedine zemlje Azije kategoriju predgojaznost BMI od 23 do 27,5 kg/m², dok gojaznost BMI >27,5 kg/m² [37].

Uzroci gojaznosti mogu se podeliti na nasledne faktore i faktore životne sredine. Izgleda kao da je brzim razvojem prehrambene industrije došlo do stvaranja obezogenog okruženja, organizam nije imao vremena da se prilagodi ishrani sa većim učešćem zasićenih i trans-masti i prostih šećera, kao i smanjenjem fizičke aktivnosti, odnosno sedanternim načinom života i rada [22, 23, 38].

Sistematska istraživanja su ukazala da promena načina ishrane u pogledu vrste masnih kiselina u korist zasićenih i trans masnih kiselina može dovesti do gojaznosti, dislipidemije, insulinske rezistencije, nealkoholne steatoze jetre i ateroskleroze, dok je ishrana bogata polinezasićenim i mononezasićenim masnim kiselinama poželjna jer dovodi do smanjenja triglicerida u serumu, smanjenja rezistencije na insulin, smanjenje markera nealkoholne steatoze jetre i povećanja lipida visoke gustine (eng. High Density lipoproteins, HDL), koji su se pokazali ateroprotektivnim [39].

Ugljeni hidrati su makronutrijenti čiji povećan unos može dovesti do gojaznosti. Intervencione studije su dokazale da redukcijom hrane

sa prostim šećerima može doći do regulisanja telesne mase. Takođe, eksperimentalne studije su dokazale da se prosti šećeri iz zaslađenih napitaka brže metabolišu i izazivaju glad, te se zaključuje da zaslađeni napici mogu biti uzrok gojaznosti [40].

Kritički pregled literature o gojaznosti i fizičkoj aktivnosti ukazuje da je za gubitak telesne mase efikasniji kada se primene i dijetoterapija i fizička aktivnost, odnosno 8–11% za 6 meseci, dok sama primena fizičke aktivnosti utiče na smanjenje telesne mase za 2–3% tokom 6 meseci [41].

Gojaznost je jedan od najvećih izazova javnog zdravlja 21. veka. Pored toga što uzrokuje različite fizičke i psihičke smetnje, prekomerna težina drastično povećava rizik od razvoja HNB. Prema podacima SZO iz 2016. godine, više od 1,9 milijardi ljudi starijih od 18 godina ima prekomernu telesnu težinu na globalnom nivou, dok je 650 miliona gojazno [36].

Nažalost, gojaznost je sve češći problem i mlađih od 18 godina. Naime, podaci iz 2016. godine ukazuju da je 340 miliona dece uzrasta od 5 do 19 godina gojazno [39]. Takođe, istraživanja su pokazala da je prekomerena telesna težina u detinjstvu povezana sa verovatnoćom pojave gojaznosti i DMT2 u odrasloj dobi [42, 43].

Istraživanja su pokazala da u slučaju malignih bolesti gastro-intestinalnog trakta prekomerena telesna težina nosi od 1,5 do 2,4 puta veći rizik za nastanak [44]. Takođe opservacione studije daju podatak da se u dečijem dobu povećava rizik od nastanka malignih bolesti sa povećanjem BMI 5 kg/m², odnosno daju snažne dokaze o pozitivnoj povezanosti između gojaznosti i rizika od malignih bolesti kod dece [45]. Nakon opsežnih istraživanja Internacionalna agencija za istraživanje karcinoma (International Agency for Research on Cancer, IARC) je došla do zaključka 2015. godine da konzumiranje 50 g mesnih prerađevina dnevno povećava rizik od kolorektalnog karcinoma za 18% i svrstala mesne prerađevine u grupu I-kancerogen za ljude. Takođe, u istom dokumentu svrstava i crveno meso u grupu IIa-mogući kancerogen za ljude zbog povećanog rizika za nastanak kolorektalnog karcinoma, i povezanosti sa nastankom karcinoma pankreasa i prostate [46].

Osim gojaznosti, faktori rizika za nastanak malignih bolesti su konzumiranje alkohola i cigareta. Alkohol je u skladu sa istraživanjima Internacionalne agencije za istraživanje karcinoma svrstan u grupu I-kancerogen za ljude. Istraživanja su pokazala da etanol i njegov metabolit acetaldehid utiču na razvoj karcinoma gornjih delova digestivnog trakta [47].

Gojazni pacijenti imaju 3,5 puta veći rizik da obole od hipertenzije, dok se za 60–70% hipertenzije odraslih može okriviti upravo gojaznost. Rizik od razvoja DMT2 povećava se za 20% pri povećanju BMI od 1 kg/m². Istraživanja su pokazala da rizik od DMT2 ne raste ukoliko je BMI <27,2 kg/m². Međutim ukoliko je BMI u rasponu od 27,2 kg/m² do 29,4 kg/m² rizik se povećava za 100%, odnosno 300% za BMI >29,4 kg/m² [48]. Kao prva terapija DMT2 uvodi se korekcija/modifikacija ishrane i farmakoterapija [49]. Međutim, istraživanje je pokazalo da bi lečenje predijabetesa putem promene stila života u pogledu ishrane i fizičke aktivnosti imalo kao posledicu smanjenje obolevanja od DMT2 [50].

Osim gojaznosti, preveliki unos soli je takođe rizik za nastanak HNB. Visok unos soli putem hrane vremenom dovodi do povećanja krvnog pritiska, odnosno predstavlja rizik za nastanak kardiovaskularnih bolesti [51]. Naučno je dokazan uticaj soli na hipertenziju, te da smanjenje unosa soli i specifičan način ishrane dovode do smanjenja krvnog pritiska do 10 mmHg [52, 53]. Dijetetski pristup ka zaustavljanju hipertenzije (eng. Dietary Approach to Stop Hypertension, DASH) predstavlja specifičan način ishrane bogat voćem, povrćem, integralnim žitaricama, biljnim uljima, ribom, a siromašan u pogledu sadržaja crvenog mesa i mesnih prerađevina, zasićenih masti, prostih šećera i soli za koji postoje dokazi da dovodi do smanjenja hipertenzije do 10 mmHg [53]. Takođe, prva terapija hipertenzije prema kliničkom vodiču za lečenje hipertenzije je upravo korekcija ishrane [54].

Prekomeran unos soli kao jedan od prehrambenih rizika ima veliki uticaj na zdravstvene ishode, jer su istraživanja pokazala da je upravo ovaj prehrambeni rizik odgovoran za oko 3 miliona smrtnih slučajeva u 2017. godini [34]. U cilju smanjenja rizika za nastanak KVB, SZO pre-

poručuje i limitiranje unosa soli na 5 g dnevno (2 g natrijuma). Međutim, podaci o unosu soli govore da se globalno unosi 9–12 g soli dnevno, što predstavlja duplo više od preporučenih vrednosti [55, 56]. Prema procenama, stanovnici Republike Srpske putem belog hleba koji se češće konzumira [57] unesu i do ½ preporučenog unosa soli SZO [58].

Ukoliko HNB posmatramo kroz perspektivu ekonomije, prepoznaju se dve vrste troškova, odnosno zdravstveni i nezdravstveni troškovi obolevanja od HNB. Zdravstveni troškovi podrazumevaju primarnu i sekundarnu zdravstvenu zaštitu, zatim hitnu medicinsku pomoć, medikamente, troškove za osoblje. Prema podacima Evropske unije, zemlje članice su tokom 2015. godine imale utrošak od 7,8% bruto domaćeg proizvoda na zdravstveni sektor. Procenjeno je da je tokom 2015. godine u Evropskoj uniji utrošeno na lečenje od CVD oko 111 milijardi evra godišnje, dok je neformalna nega pacijenata iznosila oko 45 milijardi evra godišnje. Nezdravstveni troškovi podrazumevaju pad produktivnosti povezan sa povećanim morbiditetom i mortalitetom od HNB. Procenjen na utrošak na nezdravstvene troškove obolevanja od HNB iznosi oko 54 milijardi evra godišnje [59]. Procenjeno je da bi implementiranjem određenih intervencija u borbi protiv HNB došlo do smanjenja preranih smrtnih slučajeva od istih za 10% i posledičnom uštedom od oko 400 milijardi \$ [60].

Izvor finansiranja. Autori nisu dobili sredstva namijenjena ovom istraživanju.

Etičko odobrenje. Članak ne sadrži nijednu studiju sa ljudima koju je izveo bilo koji od autora.

Sukob interesa. Autori izjavljuju da nemaju sukob interesa.

Zaključak

Ishrana predstavlja faktor rizika za nastanak HNB koji je preventabilan. Prehrambena industrija je proteklih decenija doživela dramatične promene koje su dovele do uticaja na nutritivnu vrednost namirnica. Ovakve promene neminovno su dovele do izmena navika u ishrani. Žitarice, voće i povrće se u ishrani koriste manje, dok se prednost daje crvenom mesu i mesnim prerađevinama, hrani bogatoj prostim šećerima i slanoj hrani, odnosno hrani koja povećava rizik za nastanak HNB.

Povećana prevalencija gojaznosti naročito u dečijem dobu dovodi do povećanja prevalencije bolesti gde je gojaznost faktor rizika, odnosno kardiovaskularnih i malignih bolesti i dijabetesa. Primordijalna prevencija u pogledu ishrane dece bi u budućnosti dovela do stvaranja zdravih navika u ishrani, a samim tim i smanjenje prevalencije gojaznosti.

Svaka aktivnost usmerena ka rešavanju problema nepravilne ishrane populacije bi trebalo da ima kao rezultat za početak stagniranje pojave gojaznosti kao glavnog faktora rizika za kardiovaskularne bolesti i dijabetesa tip 2, zatim posledično zaustavljanje trenda rasta i postepenog smanjenja obolevanja od pomenutih HNB i smanjenja troškova zdravstvenih sistema globalno.

Funding source. The authors received no specific funding for this work.

Ethical approval. This article does not contain any studies with human participants performed by any of the authors.

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interest.

Literatura

1. WHO.int [homepage on internet]. Geneva: World Health Organization. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/non-communicable-diseases/>. Accessed January 31, 2020.
2. Noncommunicable diseases country profiles 2018. Geneva: World Health Organization; 2018.
3. Boutayeb A. The double burden of communicable and non-communicable diseases in developing countries. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2006;100(3):191–99.
4. Ezzati M, Pearson-Stuttard J, Bennett EJ, Mathers DC. Acting on non-communicable diseases in low- and middle-income tropical countries. *Nature* 2018;559:507–16.
5. Savezni zavod za zaštitu zdravlja. Međunarodna klasifikacija bolesti, X revizija. Beograd: Savremena administracija, 1996.
6. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2014: attaining the nine

- global noncommunicable diseases targets; a shared responsibility. WHO, Geneva, 2015.
7. The global burden of disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries, and risk factors in 1990 and projected to 2020. Cambridge, Harvard School of Public Health on behalf of the World Health Organization and the World Bank, 1996.
8. Moran AE, Forouzanfar MH, Roth GA, Mensah GA, Ezzati M, Flaxman A, et al. The global burden of ischemic heart disease in 1990 and 2010: the Global Burden of Disease 2010 study. *Circulation*. 2014;129(14):1493–501.
9. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Tolonen H, Davidson M, Mendis S, et al. (2003). MONICA monograph and multimedia sourcebook : world's largest study of heart disease, stroke, risk factors, and population trends 1979-2002 / edited by Hugh Tunstall-Pedoe; prepared by Hugh Tunstall-Pedoe ... [et al.] with 64 other contributors for the WHO MONICA Project. World Health Organization.
10. National cancer control programmes: policies and managerial guidelines, 2nd ed. Geneva, World Health Organization, 2002.
11. Maksimović M, Vlajinac H, Radak D, Marinković J, Maksimović J, Jorga J. Relationship between abdominal obesity and other cardiovascular risk factors: cross sectional study of patients with symptomatic carotid disease. *Srp Arh Celok Lek*. 2013;141(7-8):460–65.
12. Diet, physical activity and health. Geneva, World Health Organization, 2001.
13. Joint WHO/FAO. Expert Consultation on Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Geneva 2002 .
14. WHO.int [homepage on internet]. Geneva: World Health Organization. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Accessed February 10, 2020.
15. Pikhart H, Pikhartova J. The relationship between psychosocial risk factors and health outcomes of chronic diseases. A review of the evidence for cancer and cardiovascular diseases. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2015 (Health Evidence Network (HEN) synthesis report.
16. World Cancer research Fund/ American Institute for Cancer Research. Diet, Nutrition, Physical Activity and Cancer.: a Global perspective. Continuous Update Project Expert report. 2018. Available from dietandcancerreport.org
17. Abnet CC, Corley DA, Freedman ND, Kamangar F. Diet and upper gastrointestinal malignancies. *Gastroenterology*. 2015;148(6):1234–43.
18. Béliveau R, Gingras D. Role of nutrition in preventing cancer. *Can Fam Physician*. 2007;53(11):1905–11.
19. Keum N, Giovannucci E. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2019;16(12):713–32.
20. Gianfredi V, Nucci D, Salvatori T, Dallagiacoma G, Fatigoni C, Moretti M, et al. Rectal Cancer: 20% Risk Reduction Thanks to Dietary Fibre Intake. Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2019;11(7):1579.
21. Basen-Engquist K, Chang M. Obesity and cancer risk: recent review and evidence. *M. Curr Oncol Rep* 2011;13:71–6.
22. Classification of diabetes mellitus. Geneva: World Health Organization; 2019. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
23. World Health Organization. Regional office for Europe. Diabetes Data and Statistics available on <http://www.euro.who.int/en/health-topics/noncommunicable-diseases/diabetes/data-and-statistics>
24. Jorga J. Higijena sa medicinskom ekologijom. Beograd. Medicinski fakultet 2014.
25. Eurodiet. Nutrition & Diet for Healthy Lifestyles in Europe Science & Policy Implications. *Journal Public Health Nutrition*. Vol 4.2 (A) and 2 (B). 2001.
26. Stone WT, McPherson M , Darlington LG. Obesity and Cancer: Existing and New Hypotheses for a Causal Connection. *EBioMedicine* 2018;30: 14–28.
27. Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, Buroker BA, Goldberger DZ, Hahn JE, et al. 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2019;74(10):1376–1414.
28. Fats and oils in human nutrition. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1994. (FAO Food and Nutrition Paper, No. 57)
29. Samaan RA. Dietary Fiber for the Prevention of Cardiovascular Disease. Fibers Interaction Between Gut Microflora, Sugar Metabolism, Weight Control and Cardiovascular Health.2017. Los Angeles
30. EFSA (European Food Safety Authority), 2017. Dietary Reference Values for nutrients.Summary Report. EFSA supporting publication 2017, 14(12):e15121. 98 pp.
31. Grosso G. Dietary Antioxidants and Prevention of Non-Communicable Diseases. *Antioxidants (Basel)*. 2018;7(7):94.

32. Keys A, Menotti A, Karvonen MJ, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, et al. The diet and 15 year death rate in the Seven Countries Study. *Am J Epidemiol* 1986;124:903–915.
33. Tsao CW, Vasan RS. Cohort Profile: The Framingham Heart Study (FHS): overview of milestones in cardiovascular epidemiology. *Int J Epidemiol*. 2015;44(6):1800–13.
34. GBD 2017 Diet Collaborators. Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2019;393(10184):1958–1972.
35. National Institutes Of Health. Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults. 2008.
36. WHO.int [homepage on internet]. Geneva: World Health Organization. Available from: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
37. Chooi YC, Ding C, Magkos F. The epidemiology of obesity. *Metabolism*. 2019;92:6–10.
38. Lear SA, Hu W, Rangarajan S, Gasevic D, Leong D, Iqbal R, et al. The effect of physical activity on mortality and cardiovascular disease in 130 000 people from 17 high-income, middle-income, and low-income countries: the PURE study. *Lancet*, 2017;390(10113):2643–54.
39. Silva Figueiredo P, Carla Inada A, Marcelino G, Maiara Lopes Cardoso C, de Cassia Freritas K, de Cassia Avellaneda Guimaraes K, et al. Fatty Acids Consumption: The Role Metabolic Aspects Involved in Obesity and Its Associated Disorders. *Nutrients*. 2017;9(10):1158. doi:10.3390/nu9101158.
40. Van Dam RM, Seidell JC. Carbohydrate intake and obesity. *Eur J Clin Nutr*. 2007;61(1):S75–99.
41. Chin SH, Kahathuduwa CN, Binks M. Physical activity and obesity: what we know and what we need to know. *Obes Rev*. 2016;17(12):1226–44.
42. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 2017;390(10113):2627–42.
43. Final report of the Commission on Ending Childhood Obesity. Geneva: World Health Organization; 2016. <http://www.who.int/endchildhood-obesity/final-report/en/>
44. Eilat-Adar S, Sinai T, Yosefy C, Henkin Y. Nutritional recommendations for cardiovascular disease prevention. *Nutrients*. 2013;5(9):3646–83.
45. Consumption of alcoholic beverages. IARC monographs 100E. 2010.
46. Weihrauch-Blüher S, Schwarz P, Klusmann JH. Childhood obesity: increased risk for cardiometabolic disease and cancer in adulthood. *Metabolism*. 2019;92:147–52.
47. International Agency for Research on Cancer/World Health Organization. IARC Monographs evaluate consumption of red meat and processed meat. Press release N0 240. 2015.
48. Abdelaal M, le Roux CW, Docherty NG. Morbidity and mortality associated with obesity. *Ann Transl Med* 2017;5(7):161.
49. Forouhi NG, Misra A, Mohan V, Taylor R, Yancy W. Dietary and nutritional approaches for prevention and management of type 2 diabetes. *BMJ*. 2018;361:k2234
50. Khan RMM, Chua ZJY, Tan JC, Yang Y, Liao Z, Zhao Y. From Pre-Diabetes to Diabetes: Diagnosis, Treatments and Translational Research. *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(9):546
51. Guideline: Sodium intake for adults and children. Geneva: World Health Organization; 2012. http://www.who.int/nutrition/publications/guidelines/sodium_intake/en/
52. Kotchen TA, Kotchen JM. Nutrition, Diet, and Hypertension. In: Shils ME. et al. *Modern nutrition in Health and Disease*, 10th Ed., Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2010; 1095–107.
53. Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM, Appel LJ, Bray GA, Harsha D, et al. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH Sodium Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 2001;344:3–10. Available on: <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM200101043440101>
54. Whelton PK, Carey RM. The 2017 Clinical Practice Guideline for High Blood Pressure. *JAMA*. 2017;318(21):2073–74. doi:10.1001/jama.2017.18209
55. McCarron DA, Geerling JC, Alderman MH. Urinary sodium excretion measures and health outcomes. *The Lancet*, 2019, 393(10178), 1294–95. doi:10.1016/s0140-6736(19)30232-6.
56. Trieu K, Neal B, Hawkes C, Dunford E, Campbell N, Rodriguez-Fernandez R, et al. Salt Reduction Initiatives around the World – A Systematic Review of Progress towards the Global Target. *PLoS ONE* 2015; 10(7): e0130247.
57. Matović-Miljanović M, Grozdanov J, Božanić V i sar. Istraživanje zdravlja stanovništva Republike Srpske. Izveštaj o rezultatima istraživanja. 2012.

58. Lazić V. Sadržaj soli u belom hlebu u Republici Srpskoj. Specijalistički rad. Banja Luka: Univerzitet u Banjoj Luci; 2016.
59. Wilkins E, Wilson L, Wickramasinghe K, Bhatnagar P, Leal J, Luengo-Fernandez R, et al. European Cardiovascular Disease Statistics 2017. European Heart Network, Brussels.
60. Watkins D, Hale J, Hutchinson B, Kataria I, Kontis V, Nugent R. Investing in non-communicable disease risk factor control among adolescents worldwide: a modelling study. *BMJ Glob Health* 2019;4:e001335.

Nutrition as risk factor for development of chronic non-communicable diseases

Vesna Lazić¹, Biljana Mijović², Miloš Maksimović³

¹PHI Public Health Institute of the Republic of Srpska, Regional Center Zvornik, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

²University of East Sarajevo, Faculty of Medicine, Foca, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

³University of Belgrade, Faculty of Medicine, Belgrade, Institute of Hygiene with Medical Ecology, Serbia

Chronic non-communicable diseases are diseases that arise as a response of the human body to a number of factors, the most important of which are ecological and socio-economic factors. According to the World Health Organization, their classification is based on mortality and morbidity statistics. The top four leading causes of death are as follows: cardiovascular diseases, malignancies, chronic respiratory diseases and diabetes. Non-communicable diseases (NCDs) present a global public health problem, leading to over 40 million deaths a year, whereby the population aged 30 to 69 years account for one third of the total number of deaths. Risk factors for the development of chronic NCDs can be divided into metabolic and environmental ones. Metabolic risk factors include hypertension, hyperglycemia, hyperlipidemia and obesity. Environmental risk factors include: alcohol and tobacco consumption, followed by physical inactivity and unhealthy diet. Unhealthy diet, apart from posing a risk for the development of NCDs, is also the cause of metabolic risk factor development, namely hypertension and obesity. The world nutritional authorities are focused on making dietary recommendations to prevent the rising trend and subsequently reduce morbidity from NCDs.

Keywords: chronic non-communicable diseases, risk factors, unhealthy diet

Pregledni rad

Maladaptivno ponašanje kod osoba sa intelektualnom ometenošću

**Bojana Mastilo,
Slađana Čalasan**

Univerzitet u Istočnom Sarajevu,
Medicinski fakultet, Foča, Republika
Srpska, Bosna i Hercegovina

Primljen – Received: 28/01/2020
Prihvaćen – Accepted: 13/04/2020

Adresa autora:
Viši asistent Bojana Mastilo,
Mr specijalne edukacije i rehabilitacije
Krajiška 23, 73 300 Foča
bojana.mastilo@ues.rs.ba

Copyright: ©2020 Mastilo B & Čalasan S, This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license.

Kratak sadržaj

Cilj ovog rada je da se pregledom dostupne literature omogući bolje razumijevanje prevalencije i oblika maladaptivnog ponašanja, kao i faktora koji su povezani sa ovim ponašanjem kod osoba sa intelektualnom ometenošću.

Maladaptivno ponašanje je ponašanje koje je dovoljno često i/ili dovoljno ozbiljno da ograničava sposobnost funkcionisanja osobe u svakodnevnom životu, učenja novih vještina i sticanja pristupa društvenim resursima. Ono obuhvata niz ponašanja kao što su: fizička agresija prema stvarima ili ljudima, samopovređivanje, stereotipno ponašanje, seksualno neprimjereno ponašanje, uvredljivo ponašanje i dr. Studije naglašavaju velike varijacije u prevalenciji maladaptivnog ponašanja kod osoba sa intelektualnom ometenošću koje se kreću u rasponu od 5,7% do 63,9%. Na pojavu maladaptivnog ponašanja može da utiče više faktora od kojih su značajni: pol, starost, težina IO, dodatna oštećenja, rezidencijalno okruženje, kognitivno-emocionalni faktori, disfunkcija komunikacije i dr. Zajednička karakteristika svih ovih ponašanja je negativan efekat na kvalitet života same osobe i osoblja koje se brine o njima.

Pored psihotropnih lijekova i bihevioralnih metoda, u liječenju maladaptivnog ponašanja se koriste razne psihoterapijske metode, kognitivni i emocionalni treninzi, kreativne terapijske metode i funkcionalna analiza ponašanja. Uslov je da su prilagođene razvojnom nivou individue i njenom načinu komunikacije.

Ključne riječi: maladaptivno ponašanje, intelektualna ometenost, prevalenca, faktori rizika

Pojam i definicija

Maladaptivna ponašanja kod osoba sa intelektualnom ometenošću (u daljem tekstu IO) u stručnoj literaturi se još nazivaju problematična ponašanja, aberantna ponašanja, poremećaji ponašanja i sl. Novija anglosaksonska literatura navodi sintagmu „izazovno ponašanje“ (engl. „challenging behavior“) koje autorke Buha i Gligorović [1] prevode kao „ponašanje koje predstavlja izazov“ i objašnjavaju putem socijalnog modela ometenosti. Autorke ova ponašanja ne posmatraju kao karakteristiku same osobe već kao odgovor na skup različitih faktora (ličnih i kontekstualnih) tako da ona predstavljaju izazov sistemu zbrinjavanja. Time se akcenat stavlja na stručne službe i njihove mogućnosti ublažavanja ovog ponašanja.

Maladaptivno ponašanje kod osoba sa IO je definisano kao ponašanje koje je dovoljno često i/

ili dovoljno ozbiljno da ograničava sposobnost funkcionisanja osobe u svakodnevnom životu, učenje novih vještina i sticanje pristupa društvenim resursima [2]. Emerson [3, 4] sagledava maladaptivna ponašanja kao oblike ponašanja koji se u određenoj kulturi smatraju aberantnim, a koja su takvog intenziteta, učestalosti i trajanja da ugrožavaju zdravlje i fizičku bezbjednost same osobe ili osoba iz njenog okruženja. Ova ponašanja se definišu i kao ponavljani oblici ponašanja koji ometaju učenje i učešće u prosocijalnim interakcijama [5] i direktno ili indirektno umanjuju prava, dostojanstvo i kvalitet života pojedinca [6]. Izraz može da obuhvata niz ponašanja kao što su: fizička agresija prema stvarima ili ljudima, samopovređivanje, stereotipno ponašanje, seksualno neprimjereno ponašanje, uvredljivo ponašanje (kao što je požar ili krađa), manirizme i rituale [7]. Jedna od zajedničkih karakteristika svih ovih ponašanja je njihov negativan efekat koji se ogleda kroz niži kvalitet života individue, negativan uticaj na emocionalno blagostanje članova porodice, osoblja i sugrađana, smanjen pristup uslugama u zajednici i visok nivo potrebe za specijalnim, a samim tim i skupim uslugama [8, 9]. Niži kvalitet života se manifestuje kroz niz restriktivnih mjera i intervencija koje ograničavaju kretanje ili slobodu kao što su: zaključavanje vrata, sprečavanje boravka u određenim životnim prostorima, izdvajanje, umirenje i dugotrajno sediranje, fizičko zlostavljanje i smještanje u ustanove. Kao posljedica ovih ponašanja porodice, njegovatelji i osoblje takođe izvještavaju o nižem kvalitetu života, često navodeći frustraciju, umor, iscrpljenost, izgaranje na radnom mjestu i osjećanje nesposobnosti da obavljaju svoje uloge [4, 10]. Same osobe sa IO pripisuju maladaptivno ponašanje nedostatku strukture i jasnoće u svakodnevnom životu. Često nisu sigurni šta osoblje ili članovi porodice očekuju od njih, ili smatraju da drugi imaju prevelika očekivanja na koja oni ne mogu da odgovore [9].

Cilj ovog rada je da se pregledom dostupne literature omogući bolje razumijevanje prevalencije i oblika maladaptivnog ponašanja kao i faktora koji su povezani sa ovim ponašanjem kod osoba sa IO.

Metod

Uvid u relevantnu literaturu je izvršen pregledom elektronskih baza podataka (EBSCO host, ScienceDirect, ProQuest, Google Scholar, SCI-HUB), kao i publikovane literature dostupne biblioteci Medicinskog fakulteta Foča. Upotrijebljene su ključne riječi: intellectual disability, maladaptive behaviors, challenging behaviors, self-injurious behaviors, aggressive behaviors, stereotype behaviors, prevalence, risk factors. Pregledom su obuhvaćena istraživanja (doktorske disertacije, pregledni radovi, metaanalize, članci i knjige) u kojima su ispitivani, za potrebe ovog rada, relevantni aspekti maladaptivnog ponašanja (prevalenca, oblici i faktori rizika) u populaciji osoba sa IO, različitog nivoa intelektualnog funkcionisanja i svih uzrasnih kategorija, objavljenih u posljednje dvije decenije.

Prevalenca i oblici maladaptivnog ponašanja

Studije naglašavaju velike varijacije u prevalenci maladaptivnog ponašanja kod osoba sa IO koje se kreću u rasponu od 5,7% do 63,9% [11]. Ranija istraživanja navode da se prevalenca maladaptivnog ponašanja kretala između 10-20% sa tim što ima tendenciju rasta tokom puberteta i adolescencije [12]. Jedno njemačko istraživanje koje je obuhvatilo 1629 učenika sa IO osnovnoškolskog i srednjoškolskog uzrasta, pokazalo je da je maladaptivno ponašanje prisutno kod 52% ispitanika [13]. Emerson [3] ističe da se prevalenca maladaptivnog ponašanja kreće između 6,1% u otvorenoj zajednici do 40% u ustanovama za dugotrajni boravak. U dvjema populacionim studijama u Velikoj Britaniji prisustvo maladaptivnog ponašanja je utvrđeno kod 10-15% ispitanika [14, 15], norveška studija navodi prevalencu od 4% [16], Škotska od 22% [11]. Farmer i Aman [17] su u SAD, u studiji o maladaptivnom ponašanju, pronašli ove probleme u više od polovine uzorka, dok Cooper i saradnici [18] navode da prevalenca problema u ponašanju kod osoba sa IO na svim nivoima funkcionisanja iznosi 22,5%. Domaća istraživanja, na populaciji djece sa IO, navode da 42% ispoljava neki oblik maladaptivnog ponašanja. U ovim istraživanjima su

najzastupljenija eksternalizovana problematična ponašanja (38%) [19], dok se kod 26% djece javljaju internalizovane smetnje [20]. Učestalost hiperaktivnih oblika ponašanja kod djece sa lakom IO kreće se u rasponu od 30% [21] do 40% [22]. Dykens [24], kao uzroke varijabilnosti prevalence maladaptivnih ponašanja navodi sljedeće: različiti nivoi intelektualnog funkcionisanja, razlike u tipu uzoraka (ambulantni, hospitalizovani, rezidencijalni), različiti načini procjene (primjena različitih upitnika i skala procjene), razlika u dijagnostičkoj nosologiji (DSC, ICD), različiti načini prikupljanja podataka (putem kliničkih bilješki ili iz računarskih baza podataka).

Kod osoba sa IO maladaptivna ponašanja se ispoljavaju u eksternalizovanoj i/ili internalizovanoj formi [25]. U internalizovana problematična ponašanja spadaju: briga, anksioznost, tuga i socijalno povlačenje [25], dok su najučestalija eksternalizovana problematična ponašanja: agresija, tantrumi, destruktivnost i stereotipije [26–28].

Područje od važnog značaja na polju IO je procjena i tretman tri najčešće vrste maladaptivnog ponašanja: samopovređivanje, agresija i stereotipno ponašanje. Ova tri oblika maladaptivnog ponašanja nisu izolovane vrste ponašanja. Oni se često javljaju zajedno i u komorbiditetu sa psihijatrijskim poremećajima. Na primjer, pojedinci koji pokazuju samopovređivanje takođe pokazuju visoke stope agresije i sve tri vrste maladaptivnog ponašanja su mnogo češće prisutne kod osoba sa komorbidnim psihijatrijskim dijagnozama [29]. Pojedini autori među najozbiljnija maladaptivna ponašanja osoba sa IO izdvajaju agresiju i samopovređivanje [30, 31]. U jednom domaćem istraživanju novijeg datuma Marković i Tomić [23] navode da je kod osoba sa IO najviše zastupljeno stereotipno ponašanje (76,7 %), zatim slijede agresija i samopovređivanje.

Samopovređivanje

Samopovređujuće ponašanje spada u najopasnije maladaptivno ponašanje kod osoba sa IO. Prevalenca ovog ponašanja se kreće između 4 i 23% [11,32,33] i pokazuje tendenciju linearnog rasta sa opadanjem nivoa intelektualnog funkcionisanja, pa je tako najveća učestalost registrovana kod osoba sa dubokom IO. Ovakva prevalenca

je potvrđena i pregledom većeg broja istraživanja realizovanih u Americi i zemljama Zapadne Evrope [33].

Jedna od prvih definicija navodi da ovo ponašanje ima za posljedicu fizičku povredu sopstvenog tijela [34], ali je dalje definisano kao nedostatak namjerne ili samovoljne povrede koja razlikuje ovo ponašanje od ostalih oblika samopovređujućeg ponašanja, kao što su samoponižavanje i suicidalni postupci [29]. Druga komponenta definicije ovih ponašanja ističe da su ona dovoljno ozbiljna da uzrokuju oštećenje tkiva, poput krvarenja ili ožiljaka [35]. Ova ponašanja su idiosinkratična i sastoje se od širokog spektra različitih ponašanja koja se kreću od blagih do opasnih po život. Najčešće se javljaju u sljedećim oblicima: udaranje šakom direktno u glavu ili lice, ujedanje sopstvenog tijela [15], ali i ogrebotine, šamaranje po licu i grizenje usana [36].

Samopovređujuće ponašanje je relativno stabilno tokom vremena [37], a može imati i različitu etiologiju (genetsku, biološku, psihološku, sredinsku ili kombinacije) [38]. Pronađene su veze između ovog ponašanja i određenih sindroma (Prader-Vilijev sindrom, sindrom mačijeg kašlja, sindrom fragilnog x hromozoma) [39], ali i psihijatrijskih stanja (granični poremećaj ličnosti, bipolarni poremećaj, depresivni poremećaj) [40].

Agresivno ponašanje

Agresivnim se smatraju ponašanja koja imaju takav intenzitet, učestalost i trajanje da ozbiljno ugrožavaju fizičku bezbjednost same osobe ili osoba iz njenog okruženja i koja ozbiljno ograničavaju njihovo socijalno funkcionisanje [30]. Ona obuhvataju neka ili sva od navedenih ponašanja: fizičke napade na vršnjake, osoblje i članove porodice, verbalne prijetnje i neprijateljske izjave, prijetee gestove, tantrume, kao i uništavanje imovine [30, 41]. Prema rezultatima pojedinih istraživanja, prevalenca agresivnog ponašanja u populaciji osoba sa IO kreće se u opsegu od 2% do 51,8% [18, 37, 42–44]. Tyrer i saradnici [45] i Crocker i sar. [43] su ispitali prevalencu agresivnog ponašanja kod više od 3 000 osoba sa IO i zaključili da se ona kreće između 14% i 24,4%, dok rezultati nekih studija navode prevalencu od 30% do 60% [15, 46, 47]. Takođe, veća

prevalenca agresivnog ponašanja je zabilježena kod institucionalizovanih ispitanika u odnosu na ispitanike koje žive u otvorenoj zajednici [45, 46, 48]. Bordwiick-Duffy [42] ističe da se kod odraslih osoba sa IO koje žive samostalno ili u porodici učestalost agresije kreće u rasponu od 3% do 9%, a kod osoba koje su institucionalizovane čak do 49%.

U literaturi se navode i različiti subtipovi agresivnog ponašanja. Crocker i sar. [43] navode da su osobe sa lakom i umjerenom IO sklonije verbalnoj agresiji od osoba sa težom IO kod kojih su najzastupljenije forme fizičke agresije. Adams i Allen [49] zaključuju da je kod osoba sa težim oblikom IO najzastupljenija fizička agresija: šamaranje, bacanje predmeta, udaranje, uništavanje okruženja, guranje i čupanje za kosu, dok Matlock i Aman [50] navode pet tipova agresivnog ponašanja (verbalna, fizička, buling, neprijateljska i prikrivena agresija). Iako verbalna agresija i uništavanje imovine može biti izuzetno uznemirujuća za njegovatelje, fizička agresija prema drugima predstavlja teži izazov za one koji pružaju kliničku i svakodnevnu brigu, ali takođe utiče na fizičku sigurnost njegovatelja i okoline [45].

Stereotipno ponašanje

Iako se stereotipno ponašanje smatra jednim od ključnih obilježja poremećaja iz spektra autizma i neophodan kriterijum za postavljanje dijagnoze [51], ovakvo ponašanje, iako manje zastupljeno, je svojstveno i osobama sa IO [52-54]. Takođe, ponašanje se javlja i kao dio prirodnog razvoja kod djece tipične populacije [55], psihijatrijskih poremećaja (npr. šizofrenija, opsesivno-kompulzivni poremećaj) i neuroloških stanja (npr. Parkinsonova bolest, Tourette sindrom) [52]. Stereotipije ili stereotipna ponašanja su definisana kao ponavljajući, besciljni i nenamjerni pokreti koji uključuju njihanje tijela, mahanje rukama, pravljenje grimasa i ljuljanje glavom [56]. Smatra se da je njihanje tijela najrasprostranjeniji oblik stereotipije kod osoba sa IO [57]. U istraživanju na 25 872 osobe sa IO u institucionalizovanom okruženju, Rojahn [58] pronalazi da njih 62% ima neki oblik stereotipije, dok su Bodfish i sar. [52] na uzorku od 34 odrasle osobe sa IO utvrdili da 80% njih ima oblike ovog ponašanja. Nedavne

studije pružile su dokaz da su takva ponašanja multifunkcionalna, ponekad motivisana željom da se smanji anksioznost, dobije pažnja ili željeni objekat ili za željom za bijeg iz previše zahtjevnog okruženja [59].

Stereotipno ponašanje se sagledava i kao prekusor samopovređivanja [60]. Tako, Bernard-Brakova i saradnici [61] obuhvatajući osobe svih nivoa intelektualnog funkcionisanja, kod većine ispitanika (69%) pronalaze da je ovo ponašanje snažan prediktor samopovređivanja. Podaci istraživanja na djeci i adolescentima sa težim oblicima IO su ukazali na značajnu povezanost između učestalosti stereotipnog ponašanja i samopovređivanja [62, 63].

Faktori povezani sa maladaptivnim ponašanjem kod osoba sa IO

Istraživanje Lundqvista [64] je imalo za cilj da ispita prevalencu i faktore rizika za probleme u ponašanju koristeći Skalu problema u ponašanju (Behavior Problems Inventory-BPI). Ovo istraživanje je pokazalo da 62% ispitanika (N = 915) ima probleme u ponašanju (samopovređivanje, stereotipije, agresivno i destruktivno ponašanje), a 18,7% ispoljava ponašanje sa izraženim otporom. Najizraženiji faktori rizika za probleme u ponašanju su težina IO, autizam, poremećaji spavanja, senzorna preosjetljivost, disfunkcija komunikacije, socijalni deficiti i upotreba psihotropnih lijekova. U faktore koji su povezani sa maladaptivnim ponašanjem spadaju i pol, starost, tipovi smještaja i drugi.

U pregledu literature, Koritsas i Iacono [65, 66] definisali su razliku između riziko faktora i uzroka maladaptivnog ponašanja. U riziko faktore spadaju: kontekst, pol, starost, težina IO, dodatna oštećenja i tip smještaja. Međutim, literatura pokazuje neusklađene rezultate za svaki od ovih faktora. Sagledavajući uzroke maladaptivnog ponašanja, isti autori [66] razlikuju tri teorijska pristupa: primijenjenu analizu ponašanja (ABA), biološke faktore i psihijatrijske poremećaje. Složena priroda uzroka maladaptivnog ponašanja navela ih je da sugerišu biopsihosocijalni model koji uzima u obzir veći broj uzroka.

Pol

Istraživanja su pokazala mješovite nalaze u vezi sa polnim razlikama u prevalenci maladaptivnog ponašanja. Smith i saradnici [67] i Holden i Gitlsen [44] navode da nema polnih razlika u prevalenci maladaptivnog ponašanja, dok istraživačka studija Deb i saradnika [68] ističe da su teži problemi u ponašanju povezani sa ženskim polom. Nasuprot tome, Emerson i saradnici [14] i Low i saradnici [15] su identifikovali više muškaraca sa maladaptivnim ponašanjem nego žena, što može odražavati činjenicu da više muškaraca ima IO.

Uzrast

Istraživanja su dovodila u vezu uzrast ispitanika i maladaptivno ponašanje. Emerson i saradnici [14] navode da je 60% osoba sa maladaptivnim ponašanjem bilo uzrasta od 12 do 35 godina i da se prevalenca ponašanja povećava tokom djetinjstva i adolescencije. Longitudinalna studija Richardson i Koller [69] koja je obuhvatila 221 djeteta i adolescenta sa IO nalazi da 65% onih koji su imali ozbiljne bihevioralne probleme u djetinjstvu imaju simptome i u odraslom dobu. Ipak ovi poremećaji imaju tendenciju ublažavanja i smanjivanja simptoma sazrijevanjem što odgovara i osobama tipičnog razvoja [70]. Neki autori smatraju da porastom starosne dobi osobe sa IO ispoljavaju agresivno ponašanje i samopovređivanje kao način manipulisanja i kontrolisanja okruženja [71], dok Smith i saradnici [67,66] izvještavaju da starenjem opada procenat osoba sa teškim problemima u ponašanju. Isto tako, u istraživanju maladaptivnog ponašanja kod osoba sa težim oblicima IO, je utvrđena veća učestalost ovog ponašanja kod djece uzrasta šest do 10 godina u odnosu na ispitanike uzrasta od 11 do 21 godinu [13]. Ovakve razlike u prevalenci se mogu dovesti u vezu sa lošijim adaptivnim vještinama i komunikativnim sposobnostima mlađih ispitanika. Autori takođe zaključuju da niži nivo razvoja receptivnog govora i veća potreba za njegovom predstavljaju faktore rizika za nastanak maladaptivnog ponašanja [13].

Težina IO i dodatna oštećenja

Rezultati studija koje su procenjivale odnos između maladaptivnog ponašanja i nivoa IO su pokazali da su samopovređivanje i stereotipno ponašanje negativno povezani sa intelektualnim funkcionisanjem, tj. veće stope ovih problema su prisutne kod pojedinaca sa nižim nivoom intelektualnog funkcionisanja [12, 36]. Tako, Smit i saradnici [67] navode da se prevalenca maladaptivnog ponašanja povećava sa težinom IO, te da 80% osoba sa dubokom IO pokazuje maladaptivno ponašanje. Emerson i saradnici [14] navode da je maladaptivno ponašanje vezano za adaptivno ponašanje, te da oni koji pokazuju ozbiljnije maladaptivno ponašanje vjerovatno će trebati veći nivo pomoći u hranjenju, odijevanju i kupanju, i imaće ograničeniju receptivnu i ekspresivnu komunikaciju. Slično tome, Holden i Gitlsen [44] su izvijestili da je maladaptivno ponašanje povezano sa oštećenjem komunikacije: na primjer, kod osoba sa izraženim problemima u ponašanju se uočavaju teškoće u započinjanju komunikacije i oni koriste fraze i rečenice koje su manje uobičajene. Pridruženost težih oblika IO i poremećaja iz spektra autizma je prediktivni činilac trajanja ovakvog ponašanja tokom višegodišnjeg vremenskog perioda [72].

Rezidencijalno okruženje

Neka istraživanja naglašavaju da je maladaptivno ponašanje češće i teže kod osoba sa IO koje borave u bolnicama ili ustanovama za dugotrajni boravak nego kod osoba koji žive u otvorenoj zajednici [67]. Navode se i razlozi povećane prevalence u institucionalizovanim grupama. Prvi razlog je taj što maladaptivno ponašanje često vodi ka institucionalizaciji i ako je ono naučeno, onda institucionalizacija može doprinijeti njegovom razvoju [73]. Tirer i saradnici [45] navode je da je agresija češća kod osoba koji žive u ustanovama za grupni smještaj nego kod onih koji žive samostalno. U pregledu američkih studija Kim i saradnici [74] navode da je, u tri od 12 studija, došlo do smanjenja problema u ponašanju kod deinstitutionalizovanih ispitanika u odnosu na ispitanike u instituciji. Bhaumik i grupa saradnika [75] su radili istraživanje koje je imalo za cilj

procjenu promjene agresivnog ponašanja kod odraslih osoba poslije preseljenja iz institucije u otvorenu zajednicu i zaključili da su oblici agresivnog ponašanja smanjeni prelaskom u otvorenu zajednicu. Mastilo i saradnici [76] su kod institucionalizovanih žena sa IO pronašli sve tipove agresivnog ponašanja pri čemu su najviši skoro-vi zabilježeni na subskali neprijateljske agresije kod ispitanica sa lakom IO. Takođe, grupa koja je boravila u instituciji duže od 10 godina je pokazala više izraženo agresivno ponašanje što ide u prilog tvrdnji da se težina ispoljavanja ponašanja povećava sa dužinom boravka u instituciji.

Kognitivno-emocionalni faktori

Ovi faktori takođe imaju značaj u razumijevanju uzroka maladaptivnog ponašanja. Jedan od bitnih činilaca u tom smislu jeste i razvoj osjećanja empatije i krivice zbog neadekvatnog ponašanja. Osjećanje empatije je znatno slabije razvijeno kod osoba sa bihevioralnim smetnjama i ona često ne pokazuju osjećanje krivice zbog ispoljenog ponašanja koje se kosi sa određenim normama i dovodi do povrede imovine ili prava drugih osoba. Emocionalna regulacija je zavisna od procesa socijalizacije, vaspitanja i učenja, tako da poremećaj socijalnog učenja, neadekvatni identifikacioni uzorci i teškoće usvajanja socijalnih normi mogu rezultirati maladaptacijom, što je posebno izraženo kod djece sa IO, prije svega zbog kognitivno-komunikacionih problema, ali i zbog kašnjenja u adaptivnim vještinama i teškoćama uklapanja u socijalnu sredinu [77].

Izvor finansiranja. Autori nisu dobili sredstva namijenjena ovom istraživanju.

Etičko odobrenje. Članak ne sadrži nijednu studiju sa ljudima koju je izveo bilo koji od autora.

Sukob interesa. Autori izjavljuju da nemaju sukob interesa.

Zaključak

Iako maladaptivno ponašanje nije dijagnostički poremećaj, treba ga smatrati načinom komunikacije ili simptomom osnovnog problema, koje često ima neku funkciju za osobu sa IO. Maladaptivno ponašanje ima više oblika od kojih su najzastupljeniji samopovređivanje, agresivno i stereotipno ponašanje, a njihova zajednička karakteristika je negativan efekat na kvalitet života same osobe, ali i osoblja i roditelja koji su uključeni u brigu o ovim osobama.

Prevalenca ovog ponašanja je različita i kreće se od 5,7% do 63,9%, a zavisi od oblika ispoljavanja, nivoa IO, tipova smještaja. Na pojavu maladaptivnog ponašanja može da utiče više faktora od kojih su značajni, pol, starost, težina IO, dodatna oštećenja, rezidencijalno okruženje, lični faktori, komunikacione vještine i dr. Do nedavno se mislilo da se maladaptivna ponašanja osoba sa IO ne mogu liječiti ili da za tretman dolazi u obzir samo psihotropna medikacija i metode biheviorističke modifikacije ponašanja [78]. Danas se zna da kod takve djece i odraslih dolaze u obzir sve metode liječenja koje se primjenjuju kod tipične populacije. Uslov je da te metode budu prilagođene razvojnom nivou individue i njenom načinu komunikacije. To znači da razne psihoterapijske metode, kognitivni i emocionalni treninzi, ali i kreativne terapijske metode mogu poslužiti u suzbijanju maladaptivnih ponašanja ovih osoba [79, 80]. Konsenzus zdravstvenih profesionalaca je da intervencije ne bi trebalo da budu usmjerene na redukciju simptoma već da se fokusiraju na osobu, ponašanje i kontekst kroz multikomponentnu intervenciju od kojih je značajna funkcionalna analiza ponašanja [81].

Funding source. The authors received no specific funding for this work.

Ethical approval. This article does not contain any studies with human participants performed by any of the authors.

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interest.

Literatura

1. Buha N, Gligorović M. Problemi u ponašanju kod osoba sa intelektualnom ometenošću: osnovni pojmovi, učestalost i faktori rizika. *Specijalna edukacija i rehabilitacija* 2013;12(2):203–19
2. Rojahn J, Rowe EW, Sharber AC, Hastings R, Matson JL, Didden R, and Dumont ELM. "The behavior problems inventory-short form for individuals with intellectual disabilities: Part I: development and provisional clinical reference data: behavior problems inventory-S: Part I", *Journal of Intellectual Disability Research* 2012;56(5):527–45.
3. Emerson E. Challenging behaviour. Analysis and intervention in people with severe intellectual disabilities. Cambridge, UK: Cambridge University Press.1995
4. Emerson E, Einfeld S. Challenging Behaviour. Third edn. Cambridge: Cambridge University Press;2011
5. Smith BJ, Fox L. Systems of service delivery: A synthesis of evidence relevant to young children at risk of or who have challenging behavior. Tampa, FL: University of South Florida, Center for Evidence-based Practice: Young Children with Challenging Behavior; 2003.
6. McVilly K. Positive behaviour support for people with intellectual disability: Evidence-based practice, promoting quality of life. Sydney, NSW: Australian Society for the Study of Intellectual Disability; 2002.
7. Ali A, Blickwedel J, & Hassiotis A. Interventions for challenging behaviour in intellectual disability. *Advances in Psychiatric Treatment* 2014;20(3):184–192.
8. Griffith GM, Hutchinson L, & Hastings RP. "I'm not a patient, I'm a person": The experiences of individuals with intellectual disabilities and challenging behavior – A thematic synthesis of qualitative studies. *Clinical Psychology: Science and Practice* 2013;20(4), 469–488.
9. Wolkorte R, van Houwelingen I, Kroezen M. Challenging behaviours: Views and preferences of people with intellectual disabilities. *Journal of Applied Research in Intellectual Disabilities* 2019;32:1421–1427.
10. Hastings RP. Parental stress and behaviour problems of children with developmental disability. *Journal of Intellectual & Developmental Disability* 2002;27(3):149–160.
11. Jones S, Cooper SA, Smiley E, Allen L, Williamson A, Morrison J. Prevalence of, and factors associated with, problem behaviors in adults with intellectual disabilities. *The Journal of Nervous and Mental Disease* 2008;196:678–686.
12. Mc Clintock K, Hall S, Oliver C. Risk markers associated with challenging behaviours in people with intellectual disabilities: a meta-analytic study. *Journal of Intellectual Disability Research* 2003;47(6):405–16
13. Dworschak W, Ratz C, Wagner M. Prevalence and putative risk markers of challenging behavior in students with intellectual disabilities. *Research in Developmental Disabilities* 2016; 58:94–103.
14. Emerson E, Kiernan C, Alborz A, Reeves D, Mason H, Swarbrick R., et al. Predicting the persistence of severe self-injurious behavior. *Research in Developmental Disabilities* 2001; 22:67–75.
15. Lowe K, Allen D, Jones E, Brophy S, Moore K, & James W. Challenging behaviours: prevalence and topographies. *Journal of Intellectual Disability Research* 2007;51(8): 625–636
16. Holden B, Gitlesen JP. A total population study of challenging behaviour in the county of Hedmark, Norway: Prevalence, and risk markers. *Res Dev Disabil* 2006;27(4):456–65.
17. Farmer CA, Aman MG. Aggressive behavior in a sample of children with autism spectrum disorders. *Research in Autism Spectrum Disorders* 2011;5(1):317–323.
18. Cooper SA, Smiley E, Morrison J, Allan L, Williamson A. Prevalence of and associations with mental ill-health in adults with intellectual disabilities. *BJPsych* 2007;190:27–35
19. Brojčin B. Pragmatska kompetencija dece sa lakom mentalnom retardacijom. Doktorska disertacija, Beograd: Univerzitet u Beogradu, Fakultet za specijalnu edukaciju i rehabilitaciju, 2007.
20. Brojčin B, Glumbić N. Internalizovani oblici problematičnog ponašanja kod dece sa lakom intelektualnom ometenošću školskog uzrasta. *Specijalna edukacija i rehabilitacija* 2012;11:3–20.
21. Brojčin B, Glumbić N, Banković S. Hiperaktivni oblici ponašanja kod dece sa lakom intelektualnom ometenošću školskog uzrasta. *Pedagogija* 2009; 64(2):225–235
22. Maćešić-Petrović D, Žigić V. Ponašanje i emocionalno funkcionisanje dece sa intelektualnom ometenošću. U D. Radovanović (Ed.), *Istraživanja u specijalnoj pedagogiji*. Beograd: FASPER, CIDD;2009.p.505–521
23. Marković D, Tomić K. Maladaptivno ponašanje dece sa poremećajima autistinog spektra i dece sa intelektualnom ometenošću. *Specijalna edukacija i rehabilitacija* 2018;17(1): 33–61
24. Dykens E. Annotation: Psychopathology in children with intellectual disability. *Journal of Child Psychology and Psychopathology* 2000;41(4): 407–417
25. Campbell SB. Maladjustment in preschool children: A developmental psychopathology perspective. In K. McCartney K. & D. Phillips (Eds.) *Blackwell Handbook of Early Childhood Development*. Blackwell publishing,2006.p.358–377

26. Strachan R, Shaw R, Burrow C, Horsler K, Allen D, & Oliver C. Experimental functional analysis of aggression in children with Angelman syndrome. *Research in Developmental Disabilities* 2009; 30(1):1095–1106.
27. Swender SL, Matson JL, Mayville SB, Gonzalez ML, & McDowell D. A functional assessment of hand mouthing among persons with severe and profound intellectual disability. *Journal of Intellectual and Developmental Disability* 2006; 31: 95–100
28. Tamaš D, Glumbić N. Faktori problema u ponašanju i tip stanovanja osoba sa intelektualnom ometenošću. *Specijalna edukacija i rehabilitacija* 2015; 14(1):55–74.
29. Minshawi FN. Relationship between problem behaviors, function and adaptive skills in individuals with intellectual disability. *Disertation. Lusiana State University*, 2007.
30. Embregts P, Didden R, Schreuder N, Huitink C, Van Nieuwenhuijzen M. Aggressive behavior in individuals with moderate to borderline intellectual disabilities who live in a residential facility: An evaluation of functional variables. *Res Dev Disabil* 2009;30(4):682–8.
31. Murphy O, Healy O, Leader G. Risk factors for challenging behaviors among 157 children with autism spectrum disorder in Ireland. *Research in Autism Spectrum Disorders* 2009;3(2):474–482.
32. Cooper SA, Smiley E, Allan LM, Jackson A, Finlayson J, Mantry D, & Morrison J. Adults with intellectual disabilities: prevalence, incidence and remission of self-injurious behaviour, and related factors. *J Intellect Disabil Res* 2009;53(3):200–16.
33. Rojahn J, Meier LJ. Epidemiology of Mental Illness and Maladaptive Behavior in Intellectual Disabilities. *International Review of Research in Mental Retardation* 2009;9: 239–287.
34. Tate B, Barroff G. Aversive control of self-injurious behavior in a psychotic boy. *Behaviour Research and Therapy* 1966; 4:281–287.
35. Winchel RM, Stanley M. Self-injurious behavior: A review of the behavior and biology of self-mutilation. *American Journal of Psychiatry* 1991;148:306–317.
36. Rojahn J, & Esbensen AJ. Epidemiology of self-injurious behavior in mental retardation: A review. In S. R. Schroeder, M. L. Oster-Granite, & T. Thompson (Eds.), *Self-Injurious Behavior: Gene-Brain-Behavior Relationship*. Washington, DC: American Psychological Association, 2002
37. Emerson E. *Challenging Behaviour: Analysis and Intervention in People with Severe Intellectual Disabilities*. Cambridge: Cambridge University Press, 2001.
38. Luiselli JK. *The Handbook of High-Risk Challenging Behaviors in People with Intellectual and Developmental Disabilities*. Brookes Publishing, 2012
39. Arron K, Oliver C, Moss J, Berg K, Burbidge C. The prevalence and phenomenology of self-injurious and aggressive behaviour in genetic syndromes. *Journal of Intellectual Disability Research*. 2011;55(2):109–120.
40. Joyce PR, Light KJ, Rowe SL, Cloninger CR, Kennedy MA. Self-Mutilation and Suicide Attempts: Relationships to Bipolar Disorder, Borderline Personality Disorder, Temperament and Character. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry* 2010;44(3):250–257.
41. Amore M, Bertell M, Villani D, Tamborini S, Rossi M. Olanzapine vs. risperidone in treating aggressive behaviours in adults with intellectual disability: a single blind study. *J Intellect Disabil* 2011;55(2):210–8.
42. Borthwick-Duffy SA. Epidemiology and prevalence of psychopathology in people with mental retardation. *J Consult Clin Psychol* 1994;62(5):17–27
43. Crocker AG, Mercier C, Lachapelle Y, Brunet A, Morin D, Roy ME. Prevalence and types of aggressive behaviour among adults with intellectual disabilities. *J Intellect Disabil Res* 2006;50(9):652–61.
44. Holden B, Gitlesen JP. A total population study of challenging behaviour in the county of Hedmark, Norway: Prevalence, and risk markers. *Res Dev Disabil* 2006;27(4):456–65.
45. Tyrer F, McGrother CW, Thorp CF, Donaldson M, Bhaumik S, Watson JM, Hollin, C. Physical aggression towards others in adults with learning disabilities: prevalence and associated factors. *J Intellect Disabil Res* 2006;50(4):295–304.
46. Sigafoos J, Elkins J, Kerr M, Attwood T. A survey of aggressive behaviour among a population of persons with intellectual disability in Queensland. *J Intellect Disabil Res* 1994;38(2):369–8
47. Cohen I, Tsiouris J, Flory M, Kim SY, Freedland R, Heaney G, et al. A Large Scale Study of the Psychometric Characteristics of the IBR Modified Overt Aggression Scale: Findings and Evidence for Increased Self-Destructive Behaviors in Adult Females with Autism Spectrum Disorder. *J Autism Dev Disord* 2010;40(5):599–609
48. Antonacci JD, Manuel C, Davis E. Diagnosis and treatment of Aggression in Individuals with Developmental Disabilities. *Psychiatr Q* 2008;79(4):225–47
49. Adams D, Allen D. Assessing the need for reactive behavior management strategies in children with intellectual disability and severe challenging behaviour. *Journal of Intellectual Disability Research* 2001;45(4):335–43.
50. Matlock ST, Aman MG. Development of the adult scale of hostility and aggression: Reactive/proactive (A-SHARP). *Am J Intellect Dev Disabil* 2011;116(4):130–41

51. Kulage KM, Smaldone AM, Cohn EG. How will DSM-5 affect autism diagnosis? A systematic literature review and meta-analysis. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 2014;44(8):1918–1932.
52. Bodfish JW, Symons FJ, Parker DE, Lewis MH. (2000). Varieties of Repetitive Behavior in Autism: Comparisons to Mental Retardation. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 2000; 30(3):237–243.
53. Rojahn J, Wilkins J, Matson JL, Boisjoli JA comparison of adults with intellectual disabilities with and without ASD on parallel measures of challenging behaviour: Te Behavior Problems Inventory-01 (BPI-01) and Autism Spectrum Disorders-Behavior Problems for Intellectually Disabled Adults (ASD-BPA). *Journal of Applied Research in Intellectual Disabilities* 2010; 23(2):179–185.
54. Schroeder SR, Marquis JG, Reese MR, Richman DM, Mayo-Ortega L, Oyama-Ganiko R, Lawrence . Risk factors for self-injury, aggression, and stereotyped behavior among young children at risk for intellectual and developmental disabilities. *American Journal on Intellectual and Developmental Disabilities* 2014;119(4):351–370.
55. Berkson G, Tupa M. Early Development of Stereotyped and Self-Injurious Behaviors. *Journal of Early Intervention* 2000;23(1): 1–19.
56. Stossel AJ. Stereotyped motor phenomena in neurological disease. In S. J. Cooper and C. T. Dourish (Eds.), *Neurobiology of stereotyped behavior*. New York: Oxford University Press; 1990.p.260–292
57. Berkson G, Gallagher RJ. Control of feedback from abnormal stereotyped behaviors. In M. G. Wade (Ed.), *The development of coordination, control and skill in the mentally handicapped*. Amsterdam: North-Holland;1986.p.7–24
58. Rojahn J. Self-injurious and stereotypic behavior of noninstitutionalized mentally retarded people: Prevalence and classification. *American Journal of Mental Deficiency* 1986; 91:268–276.
59. Ben-Sasson A, Cermak SA, Orsmond GI, Tager-Flusberg H, Carter AS, Kadlec MB, Dunn WW. Extreme sensory modulation behaviors in toddlers with autism spectrum disorders. *The American Journal of Occupational Therapy* 2007;61(5):584–592.
60. Hall S, Oliver C, Murphy G. Early development of self-injurious behavior: An empirical study. *American Journal on Mental Retardation* 2001;106(2):189–199.
61. Barnard BL, Rojahn J, Richman DM, Chesnut SR, Wei T. Stereotyped behaviors predicting self-injurious behavior in individuals with intellectual disabilities. *Research in Developmental Disabilities* 2015;36:419–427.
62. Davies LE, Oliver, C. Self-injury, aggression and destruction in children with severe intellectual disability: Incidence, persistence and novel, predictive behavioural risk markers. *Research in Developmental Disabilities* 2016;49-50:291–301.
63. Oliver C, Petty J, Ruddick L, Bacarese-Hamilton M. Te association between repetitive, self-injurious and aggressive behavior in children with severe intellectual disability. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 2012;42(6):910–919.
64. Lundqvist LO. Prevalence and risk markers of behavior problems among adults with intellectual disabilities: A total population study in Örebro County, Sweden. *Research in Developmental Disabilities* 2013;34(4):1346–1356.
65. Koritsas S, Iacono T. Challenging behaviour and associated risk factors: An overview (part I). *Advances in Mental Health and Intellectual Disabilities* 2012; 6(4):199–214.
66. Koritsas S, Iacono T. Challenging behaviour: The causes (part II). *Advances in Mental Health and Intellectual Disabilities* 2012; 6(5):236–248.
67. Smith S, Branford D, Collacott RA, Cooper SA, McGrother C. Prevalence and cluster typology of maladaptive behaviours in a geographically defined population of adults with learning disabilities. *British Journal of Psychiatry* 1996; 169:219–227
68. Deb S, Thomas M, Bright C. Mental disorder in adults with intellectual disability. The rate of behavior disorder among a community based population aged between 16 and 64 years. *J Intellect Disabil Res* 2001;45(9):506–14.
69. Einfeld SL, Tonge BJ, Gray KM, Taffe J. Evolution of symptoms and syndromes of psychopathology in young people with mental retardation. *International Review of Research in Mental Retardation – Developmental epidemiology of mental retardation and developmental disabilities* 2007; 33:247–265.
70. Wallander JL, Dekker MC, Koot HM. Psychopathology in children and adolescents with intellectual disability: Measurement, prevalence, course and risk. In L. M. Glidden (Ed.), *International Review of Research in Mental Retardation* 2003;36: 93–134.
71. Matson JL, Bamberg JW, Cherry KE, Paclawskyj TJ. A validity study on the Questions About Behavioral Function (QABF) Scale: predicting treatment success for self-injury, aggression, and stereotypies. *Research of Development Disability* 1999; 20(2):163–75.
72. Murphy GH, Beadle-Brown J, Wing L, Gould J, Shah A, Holmes N. (2005). Chronicity of challenging behaviours in people with severe intellectual disabilities and/or autism: A total population sample. *Journal of Autism and Developmental Disorders* 2005; 35(4): 405–418.

73. Rojahn J. Epidemiology and topographic taxonomy of self-injurious behavior. In T. Thompson (Ed.), *Destructive behavior in developmental disabilities*. Thousand Oaks: CASage;1994.p. 49-67
74. Kim S, Larson SA. & Lakin KC. Behavioural outcomes of deinstitutionalization for people with intellectual disabilities: a review of US studies conducted between 1980-1999. *Journal of Intellectual and Developmental Disabilities* 2001;26(1): 35-50
75. Bhaumik S, Watson JM, Devapriam J, Raju LB, Tin NN, Kiani R, Talbott R, Parker R, Moore L, Majumdar SK, Ganghadaran SK, Dixon S, Das gupta A, Barrett M, Tirer F. Brief report: Aggressive challenging behavior in adults with intellectual disability following community resettlement. *Journal of Intellectual Disability Research* 2009;53(3):298-302.
76. Mastilo B, Vuković B, Šeatović S, Čalasan S. Agresivno ponašanje žena sa intelektualnom ometenošću smještenih u instituciji za trajni smještaj. *Biomedicinska istraživanja* 2019; 10(1):47-55.
77. Tomić, K. Poremećaji ponašanja i depresivnost kod djece sa lakom intelektualnom ometenošću. Doktorska disertacija, FASPER, 2014.
78. Sinai A, Tenenbaum A, Aspler S, Lotan M, Morad M, Merrick J. Challenging Behavior and Related Factors in People with Intellectual Disability Living in Residential Care Centers in Israel. *Frontiers in Public Health* 2013; 1:55-67
79. Došen A. Mentalno zdravlje djece sa mentalnom retardacijom. *Medicina* 2005;42(41):101-6.
80. Mastilo, B., Šeatović, S., Malikanović, N. Zdravlje i psihopatološka obilježja kod osoba sa intelektualnom ometenošću. IX Međunarodna naučno-stručna konferencija „Unapređenje kvaliteta života djece i mladih“. Tematski zbornik. Tuzla;2018;p.75-87
81. Gore NJ, Mc Gill P, Toogood S, Allen D, Hughes J C, Baker P, Denne LD. Definition and scope for positive behavioural support. *International Journal of Positive Behavioural Support* 2013; 3(2):14-23.

Maladaptive behavior in people with intellectual disabilities

Bojana Mastilo, Sladjana Čalasan

University of East Sarajevo, Faculty of Medicine, Foca, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

The aim of the study is to provide better understanding of the prevalence and forms of maladaptive behavior, as well as of the factors associated with this behavior in people with intellectual disability, by reviewing the available literature.

Maladaptive behavior is behavior that is common enough and/or severe enough to limit a person's ability to function properly in everyday life, learn new skills, and gain access to social resources. It covers a whole range of behaviors such as: physical aggression towards things or people, self-harm, stereotypical behavior, sexually inappropriate behavior, abusive behavior, etc. Studies highlight considerable variations in the prevalence of maladaptive behavior in individuals with IO ranging from 5.7% to 63.9%. The appearance of maladaptive behavior can be influenced by several factors, the most significant of which are the following: gender, age, severity of IO, additional impairments, residential environment, cognitive-emotional factors, communication dysfunction, etc. A common feature of all these behaviors is the negative effect on the quality of life of the person and the staff caring for them.

In addition to psychotropic drugs and behavioral methods, various psychotherapy methods, cognitive and emotional training, creative therapeutic methods and functional behavior analysis are used in the treatment of maladaptive behavior. The condition is that they are tailored to the individual's developmental level and his or her way of communication.

Keywords: maladaptive behavior, intellectual disability, prevalence, risk factors

Za praksu

Kognitivna niša

**Đorđe Petronić,
Igor Vujović**

Univerzitet u Istočnom Sarajevu,
Filozofski fakultet, Katedra za
psihologiju, Pale, Republika Srpska,
Bosna i Hercegovina

Primljen – Received: 12/02/2020
Prihvaćen – Accepted: 13/04/2020

Adresa autora:
Msr Đorđe Petronić
Vučija Luka 58, 71144 Istočni Stari Grad
065/705-801
djordje.petronic@ffuis.edu.ba

Copyright: ©2020 Petronić Dj & Vujović I. This is an
Open Access article distributed under the terms of the
Creative Commons Attribution 4.0 International (CC
BY 4.0) license.

Kratak sadržaj

U zajedničkoj publikaciji sa Alfredom Raselom Volasom, Čarls Darwin je objasnio teoriju po kojoj se svi živi oblici razvijaju putem prirodne selekcije u kojoj je borba za opstanak imala efekat sličan vještačkoj selekciji koja se primjenjuje u selektivnom uzgoju. Pored podudarnosti gledišta o nastanku živog svijeta, ova dva naučnika imala su i neslaganja. Volas je tvrdio da inteligencija nikada nije mogla nastati kroz prirodnu adaptaciju, nego kao posljedica inteligentnog dizajna (intelligent design). Darwin je insistirao na tome da se ljudska inteligencija u potpunosti može objasniti teorijom evolucije. Ova razlika u gledištima ustvari je manifestacija različitosti u nastojanju da se odgovori na pitanje: “Zašto su ljudi tako pametni?”

U tom kontekstu, osnovni cilj ovog rada je izvršiti pregled literature iz evolucione psihologije i predstaviti objašnjenje evolucije ljudske inteligencije. Drugim riječima, ovim radom nastoji se objasniti zbog čega su ljudi danas u mogućnosti ostvariti takve intelektualne podvige kao što su matematika, nauka, filozofija, pravo itd, imajući u vidu da se ovakve sposobnosti ili talenti ne mogu naći u staništu iz koga su ljudi evoluirali. Rezultati su pokazali da evolucioni psiholozi smatraju da su ljudi tako inteligentni, jer su evoluirali kako bi popunili “kognitivnu nišu”. Kognitivna niša predstavlja način preživljavanja koji karakteriše upravljanje okruženjem posredstvom kognicije i socijalne saradnje.

Ključne riječi: inteligencija, kognitivna niša, evolucija, adaptacija

Koncept kognitivne niše

Pojam “kognitivna niša” prvi su predložili Tooby i DeVore [1] kako bi bez oslanjanja na “egzotične” evolucione mehanizme (inteligentni dizajn¹ i sl.) objasnili konstelaciju zoološki neobičnih osobina modernog čovjeka, Homo sapiensa.

Svoje objašnjenje započinju uobičajenom biološkom postavkom po kojoj organizmi evoluiraju na račun drugih organizama. Tako je praktično svaki izvor hrane, u stvari, dio tijela nekog drugog organizma. Ovaj biološki mehanizam posebno je lako uočiti kod životinja koje su mesojedi i koje

1 Koncept inteligentnog dizajna u suprotnosti je sa konvencionalnim biološkim naukama koje nastoje naučnim metodama objasniti život kroz procese mutacije i prirodne selekcije. Volas nastoji da objasni sljedeći paradoks - pretpostavlja da je mozak praistorijskog (divljeg) čovjeka neznatno inferiorniji po svojoj strukturi i kompleksnosti od mozga današnjeg Evropljanina. Umajući to u vidu, logično je pretpostaviti da bi bio sposoban, pod sličnim uslovima razvoja, ostvariti i slične prosječne rezultate, kao i savremeni čovjek. Ali, mentalni zahtjevi najnižih divljaka su veoma mali, jedva iznad mnogih životinja. Kako je onda taj mozak toliko razvijen, iznad potreba njegovih vlasnika? Prirodna selekcija mogla bi doprinijeti da mozak divljaka bude samo malo bolji od mozga majmuna. Odgovor na ovaj paradoks Volas vidi u intervenciji neke “više inteligencije” koja nas je vještački učinila ljudima [3].

preživljavaju konzumacijom tijela drugih organizama. Međutim, ovaj mehanizam ne ograničava se samo na populaciju mesojeda, jer i životinje koje su biljojedi preživljavaju konzumacijom biljaka, koje su takođe organizmi. Čak i biljke apsorbuju elemente koji su bili u sastavu drugih organizama [1]. Pinker [2] dalje objašnjava da svaki organizam nastoji razviti efikasnu strategiju kojom se nastoji zaštititi od toga da bude pojeđen. Životinje tako razvijaju brzinu ili snagu kako bi pobjegle ili se borile sa predatorom, oklope ili odbrambene manevre kojim se štite od napada itd. Biljke, takođe, ispoljavaju tendenciju ka odbrambenom "ponašanju", najčešće kroz hemijsku odbranu tako što postaju otrovne ili iritantne pri konzumaciji, ili su jednostavno lošeg ukusa. Sa druge strane, životinje koje se hrane biljkama razvijaju svoje mehanizme kojima nastoje da se probiju kroz ovu odbranu tako što teže biti brže i snažnije od svog plijena, ili tako što će razviti imunost na otrovnost ili iritantnost biljaka koje konzumiraju. Ovaj proces kojim se osnažuju kapaciteti za napad kod predatora, kod plijena pokreće mehanizam za ojačavanjem kapaciteta za odbranu. Ova svojevrsna "biološka trka u naoružanju" između predatora i plijena eskalira procesima prirodne selekcije kroz smjenu više generacija.

Tooby i DeVore [1] sugerišu da ljudi koriste kognitivnu nišu u ekosistemu u kojem žive. U biologiji, niša se može definisati kao oblik preživljavanja organizma ili vrste na posebnom mjestu u opštoj ekonomiji prirode i mrežama ishrane [4]. Pojam kognitivne niše [2] predstavlja daljnje proširenje ovog koncepta, a bazira se na ideji da u svakom ekosistemu postoji vjerovatnoća da se jedan organizam probije kroz mehanizme odbrane drugog organizma korišćenjem kognitivnih mehanizama, kao što su *uzročno-posljedično rezonovanje* i *udruživanje radi kooperativnosti*. Drugim riječima, organizam, kako bi se probio kroz odbranu drugih organizma i iskoristio njihove resurse, unapređuje informacije i svoje znanje o svijetu koji ga okružuje. Sa druge strane, udruživanjem sa drugim jedinkama u mogućnosti je da postigne ciljeve koje ga kao samca uveliko prevazilaze. Na taj način organizam se razvija što za posljedicu ima efikasnije prilagođavanje i preživljavanje. Ovi mehanizmi rezonovanja i

udruživanja odvijaju se internalno u mentalnim modelima svijeta, a rukovođeni su *intuitivnim koncepcijama nauke*². Zahvaljujući unapređivanju mentalnih umjesto fizičkih ili hemijskih performansi, ljudi su bili sposobni da izrađuju alate, zamke i oružje, da neutrališu štetne supstance iz otrovnih biljaka, a sintetišu korisne iz ljekovitih ili hranljivih. Udružuju se i sarađuju sa drugim ljudima u različitim aktivnostima, od igre do lova. Ove kognitivne strategije obrazuju se u vrtlogu beskrajnih kombinacija odgovora na podražaje iz lokalne ekologije (sredine). Nastaju mentalnim dizajnom, koriste se, testiraju i koriguju povratnim informacijama za vrijeme životnog vijeka pojedinaca, a ne sporom nasumičnom genetskom mutacijom. Razvoj kognitivnih strategija u odnosu na fizičke ili hemijske je neuporedivo brži, što ljudima daje ogromnu prednost u evolucionoj trci u naoružanju protiv koje se druge životinje ne mogu braniti. Čak i prije aktuelnog antropoidnog masovnog izumiranja, smatra se da su praistorijski ljudi prouzrokovali značajna izumiranja velike faune, jer su se kognitivni mehanizmi ljudi razvili toliko brzo u realnom vremenu da ostali organizmi nisu imali šansu da razviju mehanizme kojima bi se od njih branili [2].

Arheološki podaci nam dokazuju da su ljudi praktikovali lov i sakupljanje mnogo prije nego što je ta aktivnost ustupila mjesto gajenju domaćih životinja i kultura (što smatra da se desilo prije samo 10 000–12 000 godina). Ovu tvrdnju potkrepljuju dokazi u vidu kamenih alata i komplementarnih dokaza o rezovima na kostima, za koje se smatra da datiraju od prije 800 000 godina. Do direktnih dokaza o aktivnom lovu od prije 400 000 godina došlo je i otkrićem artefakata koji su identifikovani kao lovačka koplja zbog svojih izvanrednih svojstava. Na dužini od oko dva metra napravljeni su tako da imaju oblik i raspored težine koplja, što sugeriše da su napravljeni da budu bačeni, za razliku od kopalja za probadanje. Njihova sofisticiranost sugeriše da su oni bili

2 Intuitivne koncepcije nauke (hemije, fizike, psihologije) nastale na temelju svakodnevnog iskustva. Zaključivanje se odvija intuitivnom, umjesto naučnom logikom koju karakteriše skepticizam. To su specifična znanja koja se prenose u obliku narodnog znanja sa jedne generacije na drugu.

napravljeni zahvaljujući dugom periodu kumulativnog kognitivnog razvoja. Ovi dokazi o ubijanju velikih sisara, kao što su nosorozi i slonovi, porijeklo je ovih izrazito homininskih oblika lova i predstavlja nešto što je izvan svega što se vidi kod drugih primata [5].

Teorija kognitivne niše pomaže da se objasne mnoge zoološki čudne karakteristike Homo sapiensa, osobine koje su univerzalne za ljudsku kulturu, ali su jedinstvene ili hiperrazvijene u odnosu na ostatak životinjskog carstva. Tri elementa preko kojih je moguće operacionalizovati kognitivnu nišu su: **tehnološko znanje, kooperacija i gramatički jezik** [2].

Tehnološko znanje

Ljudi, za razliku od drugih vrsta, koriste i zavise od alata koji uključuju više dijelova i zahtijevaju komplikovane metode izrade. Pravljenje ovih alata bilo je moguće zahvaljujući razvoju mehanizama uzročno poljedičnog rezonovanja koji su omogućili anticipaciju efekata manipulacije okolnim svijetom. Alati se koriste u proširenim segmentima ponašanja i stižu se individualnim otkrićem i učenjem od drugih. Služe za hvatanje i ubijanje životinja, prerađivanje hrane (kuvanje, fermentaciju, namakanje, drobljenje kako bi se odstranili otrovi ili povećala dostupnost nutritivnih sastojaka iz hrane), generisanje lijekova iz ljekovitog bilja. Ovo rezonovanje potkrepljeno je intuitivnim teorijama-narodnim razumijevanjem fizike (objekata, supstanci i sila koje djeluju), geometrije (mjesta, puteva i pravaca), biologije (materije koje organizmu daju formu i pokreću ga), psihologije (unutrašnja nematerijalna uvjerenja i želje) [6].

Kooperacija

Udruživanje radi kooperativnosti omogućilo je postizanje svih ciljeva koji su individualno bili nedostižni. Ljudi su naučili da sarađuju sa drugim ljudima: trguju dobrima, obavljaju usluge, razmjenjuju znanja, zajedno podižu djecu, love, sakupljaju plodove i brane se. Ova kooperativnost proširuje se i na ljude izvan krvnog srodstva kroz partnerstvo, koalicije, trgovinske veze i sl. [7].

Evolucija saradnje kroz recipročni altruizam

zahtijeva kognitivne adaptivne mehanizme koji izgleda da su posebno dobro razvijeni kod ljudi. Oni uključuju: kapacitete za raspoznavanje pojedinaca, epizodičku memoriju za njihove akcije, sposobnost klasifikovanja tih akcija u smislu utvrđivanja da li krše reciprocitet osjećanja. Zatim, skup moralnih emocija kao što su empatija, zahvalnost, ljutnja, krivica i povjerenje kojima se podstiče saradnja, nagrađuju reciprocitatori, a kažnjavaju varalice. I na kraju, drajvere kojima se procjenjuje kompetentnost, integritet i velikodušnost drugih ljudi, kao i drajvere kojima se stvara vlastita reputacija za ove osobine [2].

Gramatički jezik

Iako mnoge životinje komuniciraju, ljudi su, izgleda, jedinstveni u upotrebi otvorenog kombinatornog sistema, gramatičkog jezika. Iako svaki jezik mora biti naučen, ljudi imaju posebnu sposobnost sakupljanja, učenja i tvorenja novih riječi i pravila tako da ne zavise od drugih vrsta kao nastavnika (kakav je slučaj sa majmunima). Gramatički jezik ima jasne prednosti u prenosu informacija, jer poruke ne moraju biti dio konačnog repertoara nego mogu da se sastoje od elemenata, što pruža mogućnost neograničenog izražavanja novih poruka. Tako npr. ukoliko pas ujede čovjeka to nije vijest, međutim, ukoliko čovjek ujede psa, e to je vijest. Iz primjera vidimo da nam moć gramatike dozvoljava da prenosimo informacije organizujući poznate riječi u nove kombinacije. Kao i drugi kombinatorni sistemi u biologiji (DNK, RNK), jezik dozvoljava obrazovanje ogromnog broja strukturalnih kombinacija. Broj mogućih rečenica, od kojih svaka prenosi različitu poruku, proporcionalan je broju pozicija u kojima se mogu naći riječi u rečenici. Npr. ukoliko riječi u rečenici mogu da se nađu na deset različitih pozicija, tipičan govornik mogao bi da izgovori barem 10^{20} različitih rečenica [8].

Korisnici jezika mogu da dijele neograničen broj poruka koje se tiču specifičnih događaja (ko je i šta uradio kome, zašto, kada i gdje), generalizovane ekspertize (da bi to postigli, treba uraditi to i to) i fleksibilni socijalni ugovori (ako to uradi tim, ja ću uraditi to i to). Zahvaljujući gramatičkom jeziku moguće je da jedinka koja je izuzetno nadarena ili srećnim slučajem dođe do

određenih spoznaja svoja saznanja prenese na druge jedinke, tako da i one dođu do spoznaje iako nisu imale nikakvog direktnog iskustva sa predmetom spoznaje [9].

Ova tri opisana mehanizma koja su se razvila u toku evolucije prouzrokovala su dalji razvoj osobina koje su tipične samo za ljude ili su u tako velikom stepenu razvijene samo kod ljudi. Ljudska vrsta naselila je staništa širom svijeta. Ljudi imaju produženo djetinjstvo u odnosu na ostale životinje. Razvijaju i njeguju kulturu [2].

Još neke osobine karakteristične za ljude

U određenom stepenu, širok spektar staništa koje naša vrsta iskorištava i raznolikost u načinu ishrane od jednog staništa do drugog mogu biti objašnjeni prirodnom selekcijom gena u lokalnoj populaciji usljed djelovanja ambijentalnih uslova. Međutim, ove adaptacije su slabe u poređenju sa onim što je omogućila ljudska tehnologija. Inuitska kolonizacija visokih geografskih širina olakšana je tjelesnim promjenama i pigmentacijom kože, ali je mnogo više zavisila od kajaka, harpuna, igloa. Ovdje možemo vidjeti koliko se kognitivna niša razlikuje od drugih primjera niša u biologiji [10].

Pored toga, našu vrstu odlikuje produženo djetinjstvo u kojem mlada jedinka uči i sakuplja znanje neophodno za adaptaciju u odrasloj dobi. Ljudsko djetinjstvo produžuje se skoro na cijeli život, jer ljudi jedan veliki dio svog života provode kao djeca, a drugi dio provode kao roditelji, podižući svoju djecu. Ljudske mlade jedinke rađaju se nedovoljno opremljene obrascima i mehanizmima ponašanja za samostalno preživljavanje. Zbog toga dolazi do produženja roditeljstva kako bi roditelji svoju djecu, kroz proces učenja, bili u stanju učiniti u potpunosti funkcionalnim ljudskim bićima. Kao rezultat dugog perioda zavisnosti djeteta, muškarci su prinuđeni da se umjesto traženja prilike za parenje posvete osiguranju opstanka svoje djece. Sve ovo rezultiralo je da ljudi imaju kompleksan i karakterističan sklop seksualnosti. O potomcima se brinu oba roditelja, pa muškarci i žene na duži period ostaju zajedno pri čemu je i vrijeme parenja produženo. Toliko izražena potreba za brigom muškaraca o svojim osjetljivim potomci-

ma jedinstvena je i neobična za sisare [2].

Na kraju, važno je spomenuti i kulturalnu podijeljenost ljudske vrste prema jeziku, običajima, normama ishrane i tako dalje, koja se javlja kao posljedica zavisnosti od učenja informacija (o tehnikama preživljavanja, izrade alata, dogovora oko saradnje, običaja) i produžene roditeljske brige o djeci. Dijeljenje znanja između članova jedne grupe dovodi do njegove akumulacije i ako s vremenom grupe gube kontakt jedna sa drugom, počinju kulturalno sve više da se razlikuju [10].

Evolucija čovjeka i kognitivna niša

S obzirom na očigledne prednosti iskorištavanja okoline korištenjem tehnologije i saradnje, možemo postaviti sljedeća pitanja: Zašto smo samo mi ušli u kognitivnu nišu? Šta je to tako posebno za ljudsku vrstu? Zbog čega je naš majmunoliki predak krenuo stazom koja je rezultirala da se mi danas nalazimo na poziciji na kojoj se nalazimo? Pinker [11] ovo pitanje smatra izuzetno teškim, čak i nemogućim za precizan odgovor, ali ipak iznosi nekoliko pretpostavki.

Prije svega, u javnosti je vrlo često pogrešno shvatanje da je inteligencija konačan cilj evolucije. Ideja da evolucija prirodno usmjerava razvoj organizama ka smjeru u kojem se čovjek razvija je pogrešno shvatanje funkcije prirodne selekcije. Mehanizam prirodne selekcije jednostavno ne funkcioniše po intelektualnim ili moralnim načelima. Zbog toga razvoj inteligencije kakav je karakterističan za čovjeka nije svojstven drugim organizmima [2].

Važno je i shvatiti da inteligencija nije resurs koji ništa ne košta organizam. Pored brojnih prednosti ona ima i nedostatke. Prije svega, inteligencija zahtijeva veliki mozak. Tako veliki mozak ima metaboličke zahtjeve jer zauzima oko 2% mase našeg tijela, a zahtijeva približno 20% od ukupno utrošene glukoze i kiseonika u našem tijelu. Nadalje, zahtijeva specifičnu anatomiju ženske karlice kako bi bilo moguće poroditi potomstvo sa tako velikom glavom. Takođe, bitno je i napomenuti da ovako kompleksan organ nosi i rizik od povreda pri rođenju, oboljenja mozga, genskim mutacijama, povredama mozga i sl. Sada se može postaviti pitanje koje su to okolnosti učinile da korisnosti inteligencije pre-

vazilaze sve zahtjeve i nedostatke koje smo pomenuli. Pretpostavlja se da su homoidni preci, više nego bilo koja druga vrsta, imali splet osobina koje su doprinosile da se dalje ulaganje u inteligenciju isplati [2].

Jedan od faktora za koje se može smatrati da je ovo omogućio je uspravan hod i osjetljivost ruke. Uspravnim hodom ruke su slobodne tako da je bilo moguće inteligenciju prevesti u alate i tehnologiju, što znači da nismo imali samo inteligentne misli nego smo uz pomoć ruku imali mogućnost da uradimo nešto sa njima [12].

Drugi faktor koje je moguće doprinosio evoluciji inteligencije možemo tražiti u ishrani, koja je uključivala meso i druge sastojke bogate proteinima. Meso ne predstavlja samo koncentrisan izvor hranljivih sastojaka za gladni mozak, nego je moguće da je konzumiranje mesa indirektno provociralo razvoj inteligencije jer je potrebno mnogo više pameti da se nadmudri životinja, nego voće ili lišće [12].

Sljedeći faktor za koji se vjeruje da je takođe pridonio je život u grupi. Ovaj način života pruža mogućnost pozitivnih povratnih informacija. Na taj način podstiče se razvoj socijalne inteligencije. Takođe, grupe omogućavaju da se stečene vještine dijele među članovima, dalje usavršavaju i modifikuju. Indirektnu podršku tvrdnji da su faktori koji su obrazloženi doprinijeli evoluciji ljudske inteligencije pružaju komparativne studije koje pokazuju da je veća inteligencija životinjskih vrsta povezana sa veličinom mozga, mesožderstvom, veličinom grupe, produženim djetinjstvom i dužim životnim vijekom [12].

Koevolucija kognicije, jezika i društva

Očigledna međuzavisnost povezuje jezik i znanje. Krajnji proizvod učenja predstavlja vještina preživljavanja koja je kao informacija pohranjena u mozgu. Jezik je sredstvo kojim se ta informacija prenosi na drugi mozak. To znači da sposobnost razmjene informacija putem jezika povećava vrijednost novih znanja i vještina. Jedinka ne mora sama da iskusi pokušaje i greške, srećne okolnosti, udarce ili da ima genijalnost drugih pojedinaca da bi gradila na njihovim otkrićima [13].

Jezik ne samo da umanjuje troškove sticanja vještina nego i uvećava korist. Znanje ne služi

samo za manipulaciju u okruženju, nego može predstavljati resurs za razmjenu sa srođnicima ili saradnicima. Drugim riječima, znanje je "neprikosnoveno dobro" jer se može dijeliti bez gubitaka. Ovo se može objasniti sljedećim primjerom. Ukoliko jedna strana drugoj da ribu, više je neće imati. Međutim, ukoliko jedna strana drugu poduči pecanju, ribu će imati obje strane. Jezik omogućava umnožavanje znanja, jer za nekoliko sekundi daha govornik može slušaocu prenijeti neprocjenjivu korist od novog znanja. Na taj način ljudi mogu trgovati ne samo robom nego znanjem i uslugama [2].

Preko jezika moguće je podstaći saradnju među ljudima, ali jezik se zasniva na saradnji zbog toga što nema koristi u dijeljenju informacija sa protivnicima. Nerazdvojiva usklađenost između jezika, inteligencije, društvenosti, unapređenog roditeljstva, produženog djetinjstva i životnog vijeka, te različitog staništa i izvora hrane sugerise da su ove karakteristike koherentne kao karakterizacija (operacionalizacija) kognitivne niše. S vremenskog odredišta za pretpostaviti je da su se odgovarajuća prilagođavanja postepeno povećavala, počevši od prve vrste hominida koji su imali minimalnu kombinaciju preduslova (bipedalnost, grupni život, omnivorija) koja se usložnjavala kroz vrste koje su pokazivale znakove upotrebljavanja alata, saradnje, govora i ponašanja modernog *homo sapiensa* [13].

Pinker [2] smatra da teorija kognitivne niše ima nekoliko prednosti kao objašnjenje evolucije ljudskog uma. Ona uključuje činjenice o kognitivnim, afektivnim i lingvističkim mehanizmima koji su otkriveni savremenom psihološkom naukom, a ne privlačnim, nejasnim, pseudonaučnim crnim kutijama poput "simboličnog ponašanja" ili "kulture". Konkretnije rečeno, kognitivne adaptacije obuhvataju "intuitivne teorije" fizike, biologije i psihologije, kooperativne adaptacije obuhvataju moralne emocije i mehanizme za pamćenje pojedinaca i njihovih postupaka, dok lingvističke adaptacije obuhvataju kombinatorne alate za manipulaciju gramatičkim, sinaksičkim i fonološkim jedinicama. Teorijom kognitivne niše ne zahtijeva se radikalna revizija teorija evolucije. Iako je upotreba gramatičkog jezika jedinstvena za ljude, a naša inteligencija i društvo izuzetno razvijeni, nije neuobičajeno da prirodna

selekcija razvija jedinstvene i ekstremne osobine (surla kod slona, armadilov oklop i sl.) ukoliko one imaju praktične koristi. A rezonovanje, kooperativnost i komunikacija definitivno imaju praktične prednosti.

Zaključak

Evaluacija ljudskog uma zanimljiva je misterija koja je bila, a i danas je, predmet debate između dva naučnika koja su postavila teoriju evolucije, Darvina i Volasa. Teorija kognitivne niše u duhu je Darwinove koncepcije evolucije. Prema teoriji kognitivne niše homidi su evoluirali u pravcu specijalizacije kognitivne niše koja je definisana kao: uzročno-posljedično rezonovanje, saradnja

sa drugim ljudima i dijeljenje znanja i ugovora kroz gramatički jezik. Elementi ove tročlane adaptacije zajedno su evoluirali sa ostalim osobinama karakterističnim za homide (biroditeljsko staranje, duži životni vijek, duže djetinjstvo itd.).

Iako su adaptacije u kognitivnoj niši očigledne prednosti u bilo kojoj životnoj sredini, one su nedovoljne za formiranje modernih institucija kao što su vlada ili nauka. Tokom istorije i vlastitog obrazovanja ljudi su se prilagodili ovim novijim društvenim tvorevinama kroz proces metaforične apstrakcije, u kojoj su kognitivne šeme i društvene emocije evoluirale tako da je jedan domen podređen i stavljen u službu drugog koji predstavlja sve kompleksniju mentalnu strukturu.

Izvor finansiranja. Autori nisu dobili sredstva namijenjena ovom istraživanju.

Etičko odobrenje. Članak ne sadrži nijednu studiju sa ljudima koju je izveo bilo koji od autora.

Sukob interesa. Autori izjavljuju da nemaju sukob interesa.

Funding source. The authors received no specific funding for this work.

Ethical approval. This article does not contain any studies with human participants performed by any of the authors.

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interest.

Literatura

1. Tooby J. DeVore, I. The Reconstruction of Hominid Behavioral Evolution Through Strategic Modeling. *The Evolution of Human Behavior: Primate Models*, Suny Press; 1987. p.182-237.
2. Pinker S. The cognitive niche: Coevolution of intelligence, sociality, and language. In *the Light of Evolution IV: The Human Condition*, National Academies Press; 2009. p.1-7.
3. Glickman SE. Charles Darwin, Alfred Russel Wallace, and the Evolution / Creation of the Human Brain And Mind. *Gayana*, 2009. p.32-41.
4. Pocheville, A. The Ecological Niche: History and Recent Controversies. *Handbook of Evolutionary Thinking in the Sciences*, Dordrecht: Springer; 2015. p.547-586.
5. Whiten A, Erdal D. The human socio-cognitive niche and its evolutionary origins. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2012;367(1599):2119-29.
6. Kingdon J. *Self-Made Man: Evolution from Eden to Extinction*. John Wiley and Sons, New York; 1993.
7. Trivers R. The evolution of reciprocal altruism. *The Quarterly review of biology* 1971;46(1),35-57.8.
8. Pinker S. Rules of language. *Science*, 1991;253(5019), 530-535.
9. Jackendoff R, Jackendoff RS. *Foundations of language: Brain, meaning, grammar, evolution*. Oxford University Press, USA; 2002.
10. Di Rienzo A. Human population diversity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107(2),8924-8930.
11. Laland KN, Feldman MW. *Niche construction: The neglected process in evolution*. Princeton University Press; 2003.
12. Kreitman M. Methods to detect selection in populations with applications to the human. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2000;1:539-59.
13. Trivers R. The evolution of reciprocal altruism. *Q Rev Biol* 1971;46:35-57.

Cognitive niche

Djordje Petronić, Igor Vujović

University of East Sarajevo, Faculty of Philosophy, Department of Psychology, Pale,
The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

In a joint publication with Alfred Russell Wallace, Charles Darwin presented the theory which stated that all life forms were developed by natural selection in which the fight for survival had the effect similar to artificial intelligence applied to selective breeding. Despite a coincidence of views concerning the origin of life, these two scientists had their disagreements. Wallace argued that intelligence could have never arisen through the process of natural adaptation, but rather as a consequence of intelligent design. On the other hand, Darwin insisted that human intelligence could only be explained by the theory of evolution. This difference in point of views on the matter is a manifestation of the difference in the efforts to answer the question: “Why are people so intelligent?”

In this context, the main aim of the study is to present a literature review concerning evolutionary psychology and to provide an explanation of the evolution of human intelligence. In other words, the study seeks to explain why people are able to accomplish such intellectual exploits as the ones found in mathematics, science, philosophy, law, etc., bearing in mind that such abilities or talents cannot be found in the original human habitat. The results have showed that evolutionary psychologists consider humans to be so intelligent due to the fact that they have evolved to fill the “cognitive niche”. The cognitive niche is a survival mode characterized by managing the environment through mediating cognition and social cooperation.

Keywords: intelligence, cognitive niche, evolution, adaptation

Za praksu

Flinov efekat – generacijski rast koeficijenta inteligencije

**Igor Vujović,
Đorđe Petronić**

Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Filozofski
fakultet, Katedra za psihologiju, Pale,
Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

Primljen – Received: 07/02/2020
Prihvaćen – Accepted: 13/04/2020

Adresa autora:
Msr Igor Vujović
Vujalice 18, 71420 Pale
065/822-577
igor.vujovic86@gmail.com

Copyright: ©2020 Vujović I & Petronić Dj. This is an
Open Access article distributed under the terms of the
Creative Commons Attribution 4.0 International (CC
BY 4.0) license.

Kratak sadržaj

Osamdesetih godina devetnaestog vijeka pažnju javnosti privukla su istraživanja Džejmsa Flina (James Flynn), koji je uočio zanimljivu stvar, a to je da kako vrijeme prolazi ispitanici postižu sve veće skorove na testovima inteligencije. Uočena povećanja su prema njegovim istraživanjima i istraživanjima autora koji su se bavili navedenom tematikom u prosjeku 4,4 boda po dekadi. Ova povećanja varirala su u različitim sredinama, međutim skoro u svakoj državi gdje je rađeno istraživanje, uočena su bodovna povećanja na testovima inteligencije. Osim toga što je uočeno povećanje na testovima inteligencije, potrebno je bilo otkriti razloge koji stoje u pozadini ovakvih rezultata. U okviru ovog rada biće predstavljeni rezultati empirijskih istraživanja koji potvrđuju navedenu pojavu, te neka od mogućih objašnjenja zašto dolazi do nje. Kao mogući razlozi bodovnih povećanja, do sad u literaturi su se uglavnom navodili obrazovanje, izloženost testiranju, ishrana i medicinska njega, smanjenje broja članova u primarnoj porodici i heterozis.

Ključne riječi: Flinov efekat, inteligencija, povećanje koeficijenta inteligencije, neuropsihološka procjena

Uvod

Osamdesetih godina devetnaestog vijeka pažnju javnosti privukla su istraživanja Džejmsa Flina (James Flynn), koji je uočio zanimljivu stvar, a to je da kako vrijeme prolazi ispitanici postižu sve veće skorove na testovima inteligencije. Ova pojava poznata je i kao Flinov efekat. Iako je svoj život posvetio istraživanju navedene pojave, za kovanicu Flinov efekat zaslužni su Herrnstein i Marej (Herrnstein, R. J. and Murray, C) koji su prvi put ovaj termin pomenuli u svojoj knjizi *The Bell Curve* [1]. Što se tiče samog naziva, neki istraživači više vole nazive poput Lin-Flinov efekat, Flinov ili samo FL efekat naglašavajući tako i značaj Lina (Lynn R) istraživača koji je u mnogome doprinio rasvjetljavanju ovog fenomena [2]. Osim toga što je uočeno povećanje na testovima inteligencije, potrebno je bilo otkriti razloge koji stoje u pozadini ovakvih rezultata.

Objašnjavajući Flinov efekat, na jednom od svojih predavanja, Džejms Flin na samom početku postavlja ključno pitanje, a to je: "Da li smo mi suštinski pametniji od svojih predaka?". Odnosno, u šaljivom tonu postavlja pitanje da li su naši preci bili na granici mentalne retardacije, a da li smo mi danas na granici izuzetne nadarenosti, pošto bi rezultati na testovima iz njihovog vremena pokazivali takav rezultat. Odmah nakon toga postavlja pitanje šta bi bilo kada bi vanzemaljac arheolog našao mete za gađanje na našoj planeti. Ako bi našao metu iz 1865, vidio bi da je bilježen jedan po-

godak u minuti, 1898. godine uočio bi da je bilo pet pogodaka u metu, dok bi 1918. godine bilo stotinu pogodaka. Na ovom primjeru pokušava na šaljiv način da objasni kako bi pogrešno bilo pretpostaviti da su se ljudske sposobnosti u ovom vremenskom razdoblju u tolikoj mjeri poboljšale, tj. da se poboljšao vid, motoričke sposobnosti itd. Po analogiji sa navedenim primjerima, Flin smatra da bi pogrešno bilo pretpostaviti da su ljudi za tako kratko vrijeme postali toliko inteligentniji, već da odgovore treba tražiti na drugom mjestu.

Kao što to obično biva, mnoge ideje koje dožive ekspanziju od strane jednog autora, vrlo često su inspirisane ranijim radovima. U ovom slučaju prvi koji je primijetio povećanje koeficijenta inteligencije protokom vremena je Smit (Smith). On je primijetio, istražujući jednu grupu u Honoluluu, da je došlo do povećanja inteligencije u periodu od 14 godina [3]. Sljedeći koji je uočio ovu pojavu jeste Tuddenham (Tuddenham). Do ovog zaključka je došao upoređujući rezultate na testovima američkih vojnika u Prvom i Drugom svjetskom ratu. Povećanja koja je on uočio su od 4,4 boda po dekadi. Njegov značaj se ogleda u tome što je prvi predložio moguće razloge povećanja rezultata na testovima, a to su upoznatost sa testovima, zdravlje, ishrana i stepen obrazovanja. [4]. Ova ideja ostala je netaknuta do 1982. godine kada je ponovo pokrenuta u istraživanjima Lina, dok je poredio rezultate japanske i američke vojske. Punu ekspanziju ova ideja dobija u radovima Džejms Flina, koji je kao što je već pomenuto, od 1984. godine do danas objavio preko stotinu radova na ovu temu.

Objašnjenje Flinovog efekta

Kao što se može uočiti iz napisanog u uvodnom dijelu, Flinov efekat se odnosi na povećanje koeficijenta inteligencije na testovima u različitim vremenskim razdobljima. Sam Flin u svom članku navodi da kada se upoznao sa radovima Smita, nije mogao da vjeruje da ovaj problem nije ranije primijećen od strane naučne javnosti, te da svoj glavni doprinos vidi u iznošenju ovoga problema na naučnu pozornicu, te "bacanje sjenke" na dosadašnje teorije inteligencije [5].

Čitajući novinske članke, uočava se zabuna, jer je ta činjenica senzacionalistički prihvaćena

na kao povećanje inteligencije u odnosu na naše pretke. Možda najbolje objašnjenje Flinovog efekta, kroz prilično ilustrativne primjere dao je sam Džejms Flin, na jednom od svojih predavanja. Ključno pitanje nije da li se bodovi na testovima inteligencije povećavaju, jer je to dokazano u više stotina istraživanja, već je ključno pitanje zašto se to dešava.

Sam Flin, kao uopšten razlog, na početku predavanja navodi da su se ljudski umovi dramatično mijenjali od vremena od kada postoje testovi inteligencije. Flin smatra da su ljudi u vrijeme prvih testova inteligencije bili prvenstveno orijentisani na opipljivi svijet i da su analizirali taj svijet u smislu koliko od njega imaju koristi, dok se današnji ljudi suočavaju sa veoma kompleksnim svijetom. Pod kompleksnim svijetom podrazumijeva oblačenje tog svijeta u klasifikacije, uvođenje apstrakcija koje pokušavamo da učinimo logičnim i toga da hipotetički svijet shvatamo ozbiljno, tj. razmišljamo o onome što bi moglo da bude. Kada govori o porastu bodova na testovima inteligencije, jasno stavlja do znanja da se ne radi o nekoliko odgovorenih pitanja, već da se bodovna razlika kreće u rasponu od 70 do 130. Ovakav podatak, po njegovom mišljenju, upućuje na tektonske promjene u načinu razmišljanja. Obrazlažući ove rezultate, izdvaja dvije ključne stvari, a to je da su ljudi ranije odbijali da klasifikuju svijet, već su se trudili da ga raščlane na dijelove koje su mogli da koriste i odbijali su da zaključuju šta je hipotetično. Kao moguće razloge zašto je došlo do napretka u klasifikacijama pojmova i razvoja hipotetičkog razmišljanja navodi povećan stepen obrazovanja, napredak tehnologije, te promjene u prirodi zanimanja koja sve više zahtijevaju logički način razmišljanja [5].

Bodovna povećanja

U ovom poglavlju biće predstavljena neka od najznačajnijih istraživanja, vezanih uz Flinov efekat, u različitim dijelovima svijeta. Bodovna povećanja na testovima inteligencije, zaokupila su pažnju istraživača u različitim dijelovima svijeta. Pored toga, što su u različitim zemljama dobijana povećanja u većoj ili manjoj mjeri, većina istraživača je pokušavala da postavi različite hipoteze, zašto su u njihovim istraživanjima zabilježeni porasti.

Korisno bi bilo pomenuti i ΔIQ . To je koeficijent koji izražava bodovna povećanja na testovima inteligencije u periodu od deset godina.

Bodovna povećanja u različitim zemljama

Bodovna povećanja se razlikuju od države do države, odnosno, u različitim državama ispitanici bilježe i različita bodovna povećanja na testovima inteligencije. Viliams (Williams) u svom radu navodi nekoliko tipičnih bodovnih povećanja za različite države. SAD bilježe povećanje od 14 bodova za 46 godina (ΔIQ 3), Estonija 12 bodova za 72 godine (ΔIQ 1,65), Japan 19 bodova za 25 godina (ΔIQ 7,7), Argentina 25,30 bodova za 34 godine (ΔIQ 6,91) [2].

Što se tiče rezultata dobijenih na azijskom kontinentu istraživači su dobili veoma slične rezultate u Južnoj Koreji i Japanu. Ovi rezultati se odnose na ispitanike rođene u periodu između 1970. i 1990. godine. Što se tiče Kine, bodovna povećanja su nešto izraženija, oko 4,53 boda za dvadeset i dvije godine [6].

Danski istraživači su proveli veoma opsežno istraživanje na preko 40 000 ispitanika i uočili su da su povećanja najveća na nižim nivoima inteligencije, te su na osnovu toga pretpostavili da su promjene u obrazovanju dovele do viših skorova na testovima inteligencije [7]. Drugi istraživači, kao što su Lin, Hempson, Kolom, Luis-Font, Andres- Puejo pronašli su bodovna povećanja koncentrisana oko nižih IQ nivoa. Ovaj obrazac sugerira da su povećanja povezana sa poboljšanjem uslova života u neindustrijalizovanim zemljama, ruralnim područjima i dijelovima zemalja sa niskim primanjima [2].

Nezaobilazna tema kada se govori o Flinovom efektu jesu istraživanja Artura Jensena, izuzetno kontraverznog naučnika, koji je zagovarao teoriju o g faktoru i o biološkoj uslovljenosti istog. Njegovo pominjanje u kontekstu Flinovog efekta, odnosi se na jedan dio njegovog istraživačkog opusa, kada je primijetio da su apstraktniji subtestovi postizali veća bodovna povećanja u odnosu na ostale i u odnosu na američki ΔIQ . Analizirajući prijemne testove u periodu od 1952. do 1990, primijetio je bodovna povećanja na neškolskim stavkama, a smanjenja na školskim stavkama unutar istog testa [2]. Hipotetički, ovi rezultati

mogli bi da govore u prilog tome da ukoliko bi se držali Katelove podjele na fluidnu i kristalizovanu inteligenciju, dijelovi testa koji upućuju na kristalizovanu inteligenciju opadaju, dok oni dijelovi koji upućuju na fluidnu, rastu.

Zahvaljujući radovima Oleva i Asa Must-a, postoje interesantni podaci iz Estonije. U estonskim studijama subtestovi koji su zahtijevali računske vještine i matematičko mišljenje ostali su nepromijenjeni 60 godina, verbalni subtestovi su pokazali umjerene dobitke, ali postojali su impresivni dobitci u broj-simbol testovima i testovima poređenja [8]. Istraživanja iz Estonije koja su ispitivala podatke u rasponu od 72 godine (1998-2006) pronašli su relativno mali ΔIQ od 1,65. Međutim, kada su analizirali posljednjih osam godina ΔIQ je bio oko tri. Autori su identifikovali nekoliko mogućih uzroka, a to su značajno poboljšanje obrazovanja, bolja ishrana, bolja zdravstvena zaštita i promjene u demografiji (manje porodice) [8].

Hipotetička polazišta o bodovnim povećanjima

Najčešće navođeni uzroci bodovnih povećanja u literaturi su obrazovanje, povećana izloženost testiranju, poboljšanje prehrane i medicinske njege, smanjenje veličine porodice, heterozis.

Obrazovanje kao mogući uzrok povećanja bodova na testovima inteligencije, izuzetno je diskutabilno. Diskutabilnost se posebno ogleda u činjenici da se bodovna povećanja pojavljuju kod djece predškolskog uzrasta. Takođe, ne mogu se zanemariti ni Jensenova istraživanja, koja su pokazala da ispitanici bilježe padove na testovima koji su vezani uz školske predmete. Sa druge strane, istraživanja Ronlunda i Nilsona (Rönnlund and Nilsson), pokazuju da su se godine obrazovanja pokazale kao najznačajniji prediktor bodovnog porasta. Pored obrazovanja, u ovom istraživanju ispitivani su visina (kao marker kvalitativne ishrane) i povećana ulaganja u djecu. Autori teksta smatraju da se obrazovanje pojavljuje kao najizraženiji prediktor kako za fluidnu, tako i za kristalizovanu inteligenciju [2].

Izloženost testiranju je još u ranim radovima Tudenhama pokazana kao jedan od mogućih razloga za povećanje bodova na testovima in-

teligencije. On je smatrao da je razvoj testova između Prvog i Drugog svjetskog rata i češće testiranje ispitanika jedan od mogućih razloga zašto je došlo do bodovnog povećanja. Brend je sugerisao da vremenom ispitanici postaju sve uvježbaniji u zadacima koji mjere brzinu rješavanja, a takođe smatra da ne treba zanemariti i mogućnost pogađanja na zadacima višestrukog izbora. Jensen je takođe iznio zanimljivo poređenje u kojem smatra da uvježbanost u različitim testiranjima, kao i pripreme za testiranja, mogu imati sličan efekat kao test-retest metoda. Flin je odgovarajući na ovakvu vrstu primjedbi izrazio djelimičnu saglasnost sa Jensenom, smatrajući da su ovi faktori bili značajni samo u ranim godinama testiranja. Nakon 1947. smatra da je taj uticaj izuzetno mali iz razloga, jer od tog perioda do danas svi su ispitanici "bombardovani" različitim vrstama testova [2].

Ishrana i medicinska njega su jedan od često navođenih razloga za bodovna povećanja na testovima inteligencije. Lin je radio istraživanja u kojima je pokušao da dokaže uticaj ovih faktora na bodovne dobitke. On je u svojim istraživanjima iz 2009. godine uveo pojam razvojnog koeficijenta (DQ), te je mjerio neke faktore koji su se poboljšali, a to su uspravno držanje glave, pravilno sjedenje, stajanje, skakanje itd. Da bi pokazao značaj ovih faktora za razvoj inteligencije ustanovio je DQs koeficijent koji je mjerio povećanja bodova u razvojnog koeficijentu na svakih deset godina. Kada je uporedio te rezultate dobio je da je porast DQ 3,7 na svakih deset godina, dok je to pratio porast IQ-a od 3,9 na desetogodišnjem nivou. Što se tiče ishrane konkretno, Lin u navedenoj studiji navodi da postoje podaci da je ishrana u dvadesetom vijeku bila siromašna nekim od ključnih supstanci koje su povezane sa razvojem inteligencije. Tu se prije svega misli na željezo, folate i jod. U svojoj studiji navodi podatke koji su direktan pokazatelj da su ove supstance izostajale iz ishrane u dvadesetom vijeku [9].

Smanjenje broja članova u primarnoj porodici takođe je jedan od mogućih razloga za povećanje koeficijenta inteligencije. Lin je u svojim studijama pronašao negativnu korelaciju između koeficijenta inteligencije i broja rođene djece, u smislu da majke sa većim IQ rađaju manji broj djece i obrnuto. Ukoliko uzmemo da se broj dje-

ce u prosjeku smanjio u porodicama, logično je da će biti i manji broj djece sa nižom inteligencijom, samim tim to se mora odraziti na prosječno povećanje koeficijenta inteligencije u dužem vremenskom periodu [10].

Heterozis je u nekim radovima navođen kao mogući uzrok povećanja inteligencije. Ovo objašnjenje u suštini znači da se smatra da je miješanje gena tokom migracija dovelo do povećanja koeficijenta inteligencije u društvu. Zagovornici ovog pristupa svode uticaj spoljašnjih faktora, kao determinantu za razvoj inteligencije na najmanju moguću mjeru i smatraju da se ova povećanja mogu tumačiti genetskim promjenama. Mingroni (Mingroni), recimo, smatra da bi se povećanje prosječne visine prije moglo objasniti ovom pojavom, nego poboljšanjem ishrane. Lin smatra da heterozis ne može značajno uticati na bodovna povećanja iz tri razloga. Prvo, FE porasti su zabilježeni dosta prije migracija u Evropi, tj. 1950. bodovni porasti su bilježeni kako u Evropi, tako i u ostalim dijelovima svijeta i treće, studije koje su izučavale ovu pojavu, pokazale su mali pozitivan efekat na IQ [9].

Kritika Flinovog efekta

Iz svega do sad napisanog o Flinovom efektu, latentno se provlači da su zagovornici Flinovog efekta ujedno i zagovornici ideje da sredinski faktori mogu u određenoj mjeri da determinišu razvoj inteligencije, dok najoštrije kritičari ove pojave, poput Jensena, smatraju da je inteligencija u potpunosti determinisana genetskim faktorom. Ovo svakako ne znači da je Flinovo viđenje porasta inteligencije lišeno određenih nedostaka koji će ukratko biti predstavljeni u ovom poglavlju.

Jedna od mogućih opcija jeste da se bodovni dobici mogu pripisati činjenici da svaki test inteligencije, nakon određenog vremena mora da prođe postupak restandardizacije. Postupak (re)standardizacije podrazumijeva sprovođenje istraživanja na normativnom uzorku kako bi se utvrdile norme unutar različitih starosnih grupa na osnovu kojih se potom izvodi IQ pojedinačnih ispitanika [11]. Teovanović smatra da u situacijama kada se nove generacije ispituju starim testovima, dolazi do privida povećanja koeficijenta inteligencije, samo iz tog razloga. Iako ova

opaska ima smisla, teško je vjerovati da iskusan istraživač kao što je Džejms Flin zanemaruje ovu opštepoznatu činjenicu u svojim radovima. Pored navedenog u svom radu, Teovanović prezentuje istraživanja koja pokazuju naučni sukob Jensena i Flina. Jensen i Rašton su 2005. godine proveli istraživanje u kome su tvrdili da je razlika prosječnih IQ bijelih i crnih Amerikanaca nepromijenjena tokom prethodnih 100 godina i da iznosi ravno 1,1 standardnu devijaciju (odnosno 16,5 IQ jedinica). Reakcija na ovo istraživanje od strane Dikensa i Flina stigla je već 2006. godine kada su proveli istraživanje na reprezentativnim uzorcima crnaca i bijelaca u SAD na četiri testa sposobnosti. Koristeći ove podatke Flin je pokazao da se razlika između crnaca i bijelaca u tom razdoblju od trideset godina smanjila, u prosjeku za 5,52 jedinice [11]. Posmatrajući rezultate ovih istraživanja, osim toga što je Flin dokazao da su Jensenove pretpostavke empirijski neutemeljene, na neki način je pokazao da sredinski faktori poput kvalitetnijeg obrazovanja, poboljšanja ishrane, bolje zdravstvene njege itd. mogu doprinijeti povećanju koeficijenta inteligencije u dužem vremenskom periodu.

Rodžers (Rodgers), u svom radu navodi da pored toga što je pročitao svu dostupnu literaturu o Flinovom efektu i dalje nije siguran šta je Flinov efekat, te kroz određen broj pitanja koja se mogu shvatiti kao kritika, pokušava da rasvijetli stvarnu prirodu FE. Prvo pitanje koje Rodžers postavlja jeste, da li se individualni IQ povećava tokom vremena? Postavljajući ovo pitanje, ujedno i odgovara da ne postoji nijedna studija unutar naučnog opusa Flina i njegovih saradnika koja bi odgovorila na ovo pitanje. Odnosno, po njemu ključno pitanje je da li individualni porast IQ-u uzrokuje Flinov efekat. Drugo pitanje koje postavlja Rodžers jeste da li Flinov efekat funkcioniše unutar porodice. Pošto su holandske studije pokazale značajna bodovna povećanja sinova u odnosu na očeve, postavlja se pitanje da li recimo po ovom obrascu mlađa djeca imaju povećan IQ u odnosu na stariju. Konsultujući različitu literaturu, kako Rodžers navodi, nije pronađena nijedna ozbiljnija studija koja govori tome u prilog. Kao bitnu stvar za razjašnjenje Flinovog efekta Rodžers tvrdi da bi dobro bilo ispitati i razvojiti da li efekat kohorte ili efekat

perioda više doprinosi bodovnim povećanjima. Pod efektom kohorte podrazumijeva neke promjene koje su karakteristične za određenu grupu, recimo srednjoškolce ili studente koji su bili pod uticajem određenih promjena u obrazovanju, a pod efektom perioda podrazumijeva da su promjene nastale posmatrano po jedinici vremena. Jedna od već pominjanih dilema, a podstaknuta radovima Teasdale-a i Owen-a, jeste da li se dobici pojavljuju u svim dijelovima distribucije. Rezultati njihovih istraživanja ukazuju na to da su bodovna povećanja koncentrisana uglavnom oko nižih skorova, što bi moglo da bude od izuzetnog značaja za tumačenje ovog fenomena [12].

Zanimljivu opasku na Flinovo tumačenje bodovnih povećanja na pojedinim subtestovima iznijela je Linda Godfrinson (Linda Gottfredson) u svom radu *Shattering Logic to Explain the Flynn Effect*. Ona postavlja pitanje da li su stvarno mjere i konstrukt koji se mjeri u ovom slučaju isto. Prema njenim riječima "profesor Flinn može da vjeruje da subtest sličnosti mjeri sposobnost "klasifikacije" i da Rječnik provjerava drugačiju kognitivnu vještinu, ali treba da pruži dokaze, a ne puko vjerovanje. Vjerovanje nije razbilo atom. Vjerovanje ne može objasniti Flinn efekat." [13].

Iz svega navedenog u ovom poglavlju koje se tiče kritika tumačenja Flinovog efekta, moglo bi se zaključiti da su zamjerke uglavnom osnovane, međutim ne treba zanemariti činjenicu da je Flinov efekat relativno nedavno došao na "naučnu pozornicu", te da manjkavosti mogu biti često razlog toga, i da bi dobro bilo da budu upotrijebljene u razjašnjavanju navedenog fenomena, da bi u budućnosti možda razumijevanje Flinovog efekta pomoglo rasvjetljavanju cjelokupnog konstrukta inteligencije.

Završna razmatranja

Osnovni cilj ovoga rada jeste da se objasni i obrazloži fenomen Flinov ili Flin-Linov efekat. Iz svega do sada napisanog može se zaključiti da se pod Flinovim efektom podrazumijevaju bodovna povećanja na testovima inteligencije protokom vremenskog perioda. Ovakva postavka uočena je prvi put kada su poređeni testovi američkih vojnika u Prvom i Drugom svjetskom ratu, da bi kasnije bila dokazana u više stotina studija ko-

je su provođene u različitim dijelovima svijeta. Dakle, ta pojava nesumnjivo postoji i dokazana je empirijski.

Naredni korak je rasvijetliti razloge ovih bodovnih povećanja, te dati moguća objašnjenja i hipotetička polazišta. Prije svega, objašnjenja se zasnivaju na teorijama koje podrazumijevaju pretpostavku da spoljašnji uslovi mogu da poboljšaju razvoj inteligencije, i sam Flin pripada ovoj grupaciji teoretičara. Kao mogući razlozi za bodovna povećanja na testovima inteligencije protokom vremena navode se bolja ishrana (bogatija materijama koje su dokazano zaslužne za razvoj intelektualnih sposobnosti), napredak obrazovnog sistema, bolja medicinska njega, izloženost testiranju, heterozis itd.

Dakle, bodovna povećanja su činjenica koja je empirijski dokazana. Međutim, pitanje je da li su u stvari ta bodovna povećanja ujedno i povećanja inteligencije pod uticajem spoljašnjih faktora i koji su to faktori koji su ključni. Da bi se sa sigurnošću odgovorilo na ovo pitanje potrebno je mnogo opsežnije istraživanje, koje uveliko nadilazi format ovog rada. Što se tiče hipotetičkog razmišljanja, ukoliko se priklonimo teoretičarima koji smatraju da spoljašnji uslovi mogu da determinišu razvoj koeficijenta inteligencije kod pojedinca, ne bi bilo nemoguće pretposta-

viti da su se u određenom periodu razvili uslovi koji su pogodovali razvoju inteligencije. Pod tim uslovima prvenstveno se misli na pogodnije uslove za život, te stimulativniju sredinu koja je omogućila pojedincima da potpunije ostvare svoj intelektualni potencijal. U ovom slučaju to se pogotovo odnosi na povećanja u nižim razredima distribucije inteligencije. Sa druge strane, potreba za hipotetičkim i apstraktnim razmišljanjem možda je na neki način „uvježbala“ ispitanike u ovom načinu razmišljanja, a ukoliko se stvarno poboljšao ovakav način razmišljanja, to bi značilo i da se generalni IQ povećao, jer je ovakvo razmišljanje i rezonovanje jedno od osnovnih obilježja inteligencije. Uglavnom, izuzetno bi pogrešno bilo zanemariti ovaj fenomen i odbaciti ga kao nebitan.

Što se tiče praktičnih implikacija ovog efekta, posebno su značajna zapažanja autora Trahan, Stuebing i sar. gdje u svojoj metanalitičkoj studiji potvrđuju do sada navedene rezultate, i upućuju na to da iako prosječna bodovna povećanja od 3 boda uglavnom ne znače ništa, postoje određene situacije gdje ta razlika može uveliko da bude važna za život pojedinca. Njihova preporuka je da se posebno obrati pažnja da ako se koriste stariji testovi ova bodovna razlika kod određivanja prosječnog koeficijenta razlike mora biti uzeta u obzir [14].

Izvor finansiranja. Autori nisu dobili sredstva namijenjena ovom istraživanju.

Etičko odobrenje. Članak ne sadrži nijednu studiju sa koju je izveo bilo koji od autora.

Sukob interesa. Autori izjavljuju da nemaju sukob interesa.

Funding source. The authors received no specific funding for this work.

Ethical approval. This article does not contain any human studies with human participants performed by any of the authors.

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interest.

Literatura

- Herrnstein RJ, Murray C. The bell curve: Intelligence and Class Structure in American Life, The Free Press, New York;1994.
- Williams RL. Overview of the Flynn effect. *Intelligence* 2013;41(6),753-764.
- Smith S. Language and non-verbal test performance of racial groups in Honolulu before and after a fourteen-year interval. *The Journal of General Psychology*, 1942;26(1),51-93.
- Tuddenham RD. Soldier intelligence in World Wars I and II. *American Psychologist*, 1948;3(2),54.
- Flynn J. Why our IQ Levels are Higher than our Grandparents. TED Talk, Long Beach, CA; 2013.
- Liu J, Yang H, Li L, Chen T, Lynn R. An increase of intelligence measured by the WPPSI in China, 1984–2006. *Intelligence*, 2012;40,139–144
- Teasdale TW, Owen DR. Continuing secular increases in intelligence and a stable prevalence of high intelligence levels. *Intelligence*, 1989;13,255–262

8. Must O, Must A, Raudik V. The secular rise in IQs: In Estonia, the Flynn effect is not a Jensen effect. *Intelligence*, 2003;31,461–471
9. Lynn R. What has caused the Flynn effect? Secular increases in the development quotients of infants. *Intelligence*, 2009;37,16–24.
10. Lynn R. *Dysgenics: Genetic deterioration in modern populations*. Westport, CT: Praeger; 1996.
11. Teovanović P. O neinteligibilnosti rasizacije inteligencije. *Anthropology Magazine* 2010;10(2).
12. Rodgers JL. A critique of the Flynn effect: Massive IQ gains, methodological artifacts, or both?. *Intelligence* 1998;26(4),337–356.
13. Gottfredson LS. Shattering logic to explain the Flynn effect. *Cato Unbound*; 2007.
14. Trahan LH, Stuebing KK, Fletcher JM, Hiscock M. The Flynn effect: A meta-analysis. *Psychological bulletin* 2014;140(5),1332.

Flynn effect – generation growth of IQ

Igor Vujović, Djordje Petronić

University of East Sarajevo, Faculty of Philosophy, Department of Psychology, Pale, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

In the 1980-s, the attention of the public was attracted by the research of James Flynn, who noticed something interesting - as the time went by, respondents achieved higher scores in the IQ tests. According to his research, as well as the researches of the authors who were engaged in the subject, the observed increase was 4.4 points per decade on average. These increases varied across different environments, however, in almost every country where research was conducted the point increases in IQ tests were observed. In addition to the observed increases in the IQ tests, it was also necessary to uncover the reasons for such results. The aim of the study is to present the results of the empirical research confirming this phenomenon, as well as to provide some possible explanations related to its occurrence. The relevant literature have singled out education, test exposure, nutrition and health care, reduction in the number of primary family members and heterosis as the possible reasons for the above-mentioned point increases.

Keywords: Flynn effect, intelligence, increase in IQ, neuropsychological assessment

Za praksu

Kardioonkologija - novi izazov u kliničkoj praksi

**Slađana Popović^{1,2},
Srđan Popović^{1,2},
Nikolina Đukić^{1,2},
Jelena Vladičić-Mašić¹,
Olivera Čančar^{1,2}**

¹Univerzitetska bolnica Foča, Centar za
Internu medicinu, Republika Srpska,
Bosna i Hercegovina

²Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Medicinski
fakultet, Foča, Republika Srpska,
Bosna i Hercegovina

Primljen – Received: 06/11/2019
Prihvaćen – Accepted: 05/06/2020

Adresa autora:
Viši asistent, Slađana Popović, Mr sc. med.
Principova 11, 73300 Foča
sladjanacosovic@gmail.com

Copyright: ©2020 Popović S, et al. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license.

Kratak sadržaj

Svjedoci smo svakodnevnog povećanja broja oboljelih od malignih bolesti, a zbog napretka savremene onkološke terapije povećava se i broj preživjelih liječenih od malignih bolesti. Broj godina preživljenja nakon završene onkološke terapije je iz dana u dan sve veći, pa se maligna oboljenja iz kategorije terminalnih bolesti prevode u "hronične bolesti". U ovoj specifičnoj grupi bolesnika, sada se povećava rizik od nastanka kardiovaskularnih bolesti. Novi izazov za kardiologe budućnosti će svakako biti liječenje ove grupe bolesnika. A sada se postavlja pitanje kardiološkog pristupa u liječenju onkoloških bolesnika. Na kardiologu je procjena i prevencija rizika nastanka kardiovaskularnih komplikacija kod onkološkog bolesnika u odnosu na njegovo preegzistentno stanje, kao i na vrstu primijenjene specifične onkološke terapije, njegovo dalje praćenje tokom terapije i nakon završene terapije. Ovo sve implicira da je neophodno stvaranje kardioonkoloških timova u našim ustanovama koje se bave liječenjem ove grupe bolesnika. To svakako dovodi i do potrebe za edukacijom iz nove oblasti koja je intersekcija dvije kliničke discipline, tj. kardiologije i onkologije, i posebna edukacija kardiologa o svim vrstama hemioterapije i njihovim potencijalnim kardiotskičnim efektima. Sa druge strane onkolog mora biti obučan da prepozna bilo kakve rane znakove i simptome kardioloških komplikacija primijenjene terapije i da zatraži dalje kardiološko zbrinjavanje bolesnika. Cilj ovog revijalnog članka je da pomogne u svakodnevnoj praksi doktorima koji liječe ovu grupu bolesnika i da ukaže na potrebu multidisciplinarnog pristupa i stvaranja kardioonkološkog tima za sveobuhvatni, integrativni pristup kompleksnom, kardioonkološkom bolesniku.

Ključne riječi: kardioonkologija, kardiotskičnost, rak, antraciklini, trastuzumab, hemioterapija, radioterapija, ultrazvuk

Uvod

Kardioonkologija se može definisati kao interdisciplinarna grana koja se od nedavno razvija u okviru kardiologije sa ciljem da redukuje kardiovaskularni morbiditet i mortalitet, i poboljša kvalitet života kod osoba liječenih/izličenih od malignih bolesti. Broj uspješno liječenih od malignih bolesti se svakodnevno povećava zahvaljujući napretku terapije u onkologiji. Takođe, kako među starim lijekovima od ranije poznatim i sa poznatim kardiotskičnim efektom [1], i nova imunološka terapija ne može izbjeći izvjesnu kardiotskičnost i tada je upitna potencijalna dobit od primjene novog lijeka naspram njegove značajne nekad i fatalne kardiotskičnosti [2]. Ali je jasno da su neki protokoli hemioterapije manje, a neki više toksični za miokard. I ono što predstavlja problem je svaka-

ko odluka o obustavljanju hemioterapije koja je možda životno spašavajuća, zbog nepovratnog oštećenja miokarda. Još uvijek ne postoje jasne preporuke kada se govori o nivou oštećenja miokarda koji bi doveo do striktno obustave dalje hemioterapije ili radioterapije.

Populacija na našoj planeti je progresivno sve starija, sa time se povećava rizik od obolijevanja od malignih bolesti, takođe kod starije populacije je povećana incidenca kardiovaskularnih oboljenja, tako da zbirno imamo povećanu prevalenciju oba stanja kod populacije. Naravno povećano preživljenje i jedne i druge grupe povećava incidencu i jednog i drugog obolijevanja. Većina izliječenih od malignih bolesti razvije kardiovaskularnu bolest ili umre od nje, više nego od relapsa maligne bolesti. Ono što bi trebalo da bude je da bolesnici izliječeni od malignih bolesti ne umiru od kardiovaskularnih bolesti i njihovih komplikacija. Svakako da bolesnici koji imaju preegzistentne bolesti kardiovaskularnog sistema imaju veći rizik da će razviti komplikacije hemioterapije, kao i radioterapije. Toksičnost i hemio i radioterapije se može razviti i dugi niz godina nakon aplikacije terapije [3]. Neophodni su jasni protokoli praćenja i liječenja ovih bolesnika godinama nakon tretmana.

Ovi, sada se može reći, kardioonkološki bolesnici moraju biti praćeni i od strane onkologa i od strane kardiologa. Najbolji tretman bolesnici će dobiti ukoliko kardiolog i onkolog imaju zajednički integrativni pristup formirajući kardioonkološki tim. Generalno sa porastom incidence malignih bolesti, naročito kod starije populacije, vjerovatnoća da će se bilo koji ljekar u svojoj praksi susresti sa bolesnikom koji ima malignu bolest i kardiovaskularnu bolest je velika.

Kardioonkološki tim bi trebalo da optimizuje i kardiološku i onkološku terapiju tako

- da se kardiotoksičnost svede na minimum, a da se ne kompromituje efikasnost onkološke terapije,
- da detektuje svaki potencijalno kardiotoksični agens i da se naročita pažnja obrati na supkliničke znake i simptome,
- da preveniraju kardiovaskularne komplikacije koje treba predvidjeti pažljivim pregledom prije započinjanja terapije i svako obratiti pažnju na sve komorbiditete.

Zbog toga postoji sve veća potreba za razvojem kardioonkologije kao jedinstvene interdisciplinarne supspecijalizacije ili edukacije čiji cilj bi upravo bila ova sve veća grupa bolesnika i njihovo praćenje kako u toku terapije tako i nakon terapije, imajući u vidu da se efekat pojedinih hemioterapeutika može ispoljiti i nakon 10-20 godina od završetka terapije [4].

Za sada postoje dva zvanična dokumenta iz ove oblasti, a to su iz 2016. godine *European Society of Cardiology (ESC) position paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity* [5] i iz 2017. godine *American Society of Clinical Oncology (ASCO) clinical practice guideline on prevention and monitoring of cardiac dysfunction in survivors of adult cancers* [6]. Takođe postoje i dva starija dokumenta, a to su *ESMO Clinical practical guidelines* iz 2012. [7] i *ASE/EACVI expert consensus* iz 2014. godine [8]. U svim navedenim dokumentima postoje i izvjesna odstupanja u preporukama, npr. *cut off* toksična doza za doxorubicin je bila 500 mg/m² u ESMO preporukama iz 2012, dok preporuke ESC iz 2016. kažu da bi se izbjegla kardiotoksičnost ukupna kumulativna doza mora biti manja od 360 mg/m², dok ASCO iz 2017. kao *cut off* vrijednost uzima 250 mg/m² i na osnovu toga klasifikuje pacijente u grupu sa visokim ili manje visokim rizikom. Ono što je po dosadašnjim saznanjima jasno je da ne postoji jasna granica za kardiotoksičnost antraciklina i da je svaka, pa i manja doza potencijalno kardiotoksična [9].

Prema preporukama ESC-a za praćenja pacijenata u toku hemioterapije, navodi se da praćenje ove grupe pacijenata ultrazvukom ili biomarkerima treba da bude personalizovano prema svakom pacijentu i u odnosu na njegove bazične kardiovaskularne faktore rizika, kao i u odnosu na specifični hemioterapijski protokol, ali svako treba da obuhvati bazični pregled ultrazvukom, tj. prije započinjanja hemioterapije, zatim praćenje u toku hemioterapije i praćenje nakon završetka hemioterapije.

Sa druge strane ASCO vodiči se više odnose na asimptomatske pacijente sa povećanim kardiotoksičnim rizikom i navode da učestalost praćenja treba da odredi ljekar na osnovu kliničke procjene i trenutnog stanja pacijenta.

Kada je u pitanju kardiotoksična terapija i jedni i drugi se slažu u sljedećem:

- Da treba napraviti bazičnu procjenu svih pacijenata prije započinjanja hemioterapije, što se odnosi na procjenu rizika od kardiotoksičnosti i procjena sistolne funkcije, tj. ejeckione frakcije lijeve komore;
- Da se identifikuju svi kardiovaskularni faktori rizika i da se na njih utiče (HTA, pušenje) prije započinjanja terapije;
- Da se razmotre eventualne strategije za kardioprotekciju za pacijente koji su u visokom riziku za kardiotoksičnost;
- Praćenje svih znakova i simptoma srčanog popuštanja za vrijeme trajanja terapije;
- Praćenje i procjena ejeckione frakcije nakon završetka terapije.

Oba dokumenta su saglasna i u tome da ne postoji dovoljno dokaza da se podrži prekidanje ili odlaganje terapije na osnovu biomarkera ili longitudinalnog naprežanja (strain-a).

Definicija kardiotoksičnosti

Kardiotoksičnost je prvi put evidentirana u retrospektivnoj studiji Von Hoff-a [1] koja je objavljena 1979. i tada dostupnim metodama je praćena pojava srčane insuficijencije kod pacijenata koji su bili na terapiji antraciklinima. U ovoj studiji je zaključeno da su pacijenti sa većim kumulativnim dozama antraciklina imali i veći rizik za razvoj kardiotoksičnosti, mada su imali i pet pacijenata sa kumulativnom dozom većom od 1000 mg/m², a koji nisu imali znakove kardiotoksičnosti, što svakako postavlja pitanje da li je problem genetske prirode i povezan sa metabolizmom lijeka, a ne samo sa kumulativnom dozom.

Kardiovaskularne komplikacije, odnosno pojava kardiotoksičnosti pojedinih lijekova zavise prije svega i od prekonicioniranosti pacijenta, odnosno i od postojanja faktora rizika za kardiovaskularne bolesti, kao i od preegzistentnih kardiovaskularnih bolesti koje se aplikacijom hemioterapije mogu pogoršati. Kardiotoksičnost može biti akutna, i to je tip I kardiotoksičnosti i kasni tip ili tip II [10]. Tip I je najčešće izazvan antraciklinima i najčešće ireverzibilan, dok je tip II češće uzrokovan novim biološkim lijekovima. Kardiotoksičnost se može manifestovati kao slabost ili insuficijencija lijeve komore, ali i kao poremećaji ritma, produženje QT intervala, ishemija, plućna

hipertenzija, hipertenzija, miokarditis. Takođe i srčana insuficijencija sa očuvanom ejeckionom frakcijom, tj. dijastolna srčana insuficijencija može biti posljedica kardiotoksičnosti, kao i insuficijencija desnog srca.

Zbog povezanosti faktora rizika za maligne bolesti, a i za kardiovaskularne bolesti [11] teško je zaključiti da li je navedena posljedica po srce, zaista posljedica kardiotoksičnosti ili razvoja nove kardiovaskularne bolesti zbog sveprisutnih faktora rizika ili same maligne bolesti zbog lučenja izvjesnih kaheksina [12]. U tom smislu se govori i o kliničkim i biohumoralnim markerima signifikantnim za oštećenje miokarda izazvano hemioterapijom ili radioterapijom, tj. prouzrokovano liječenjem malignih bolesti.

Posebnu grupu svakako predstavlja grupa bolesnika, tzv. HFpEF, odnosno oni sa dijastolnom srčanom insuficijencijom za koje ne postoji jasno precizirana terapija. Takođe, ona je i dijagnostički izazov, jer ne postoje precizni biohumoralni markeri za identifikaciju ovog stanja.

Kardiotoksičnost, kada se posmatra kao srčana slabost ili kao pad u sistolnoj funkciji srčanog mišića koja se ultrazvučno može iskazati kao ejeckiona frakcija, se definiše na više načina u zavisnosti od izvora definicije, tako da postoje i izvjesne kontroverze po tom pitanju. Uprkos zastupljenoj upotrebi antraciklina, koji se sada koriste u optimizovanim dozama i sa mnogo manjim ukupnim kumulativnim dozama, simptomatska srčana insuficijencija se javlja kod manje od 2,5% pacijenata [13]. Tako prema *The cardiac review and evaluation committee of trastuzumab associated cardiotoxicity* [14], kardiotoksičnost se definiše kao pad ejeckione frakcije, simptomatski pad LVEF za više od 5% ili asimptomatski pad na manje od 55%. Američko udruženje ehokardiografije, kao i evropsko udruženje za kardiovaskularni imidžing [8] definišu kardiotoksičnost na osnovu pada vrijednosti GLS (global longitudinal strain) za 10-15%. FDA kod pacijenata, koji su na terapiji trastuzumabom, definiše kardiotoksičnost kao LVEF pad na manje od 40-45% ili između 40-49 %, ali ako je došlo do pada za više ili jednako 10%, definiše tu grupu bolesnika kao onu koju treba posebno pratiti.

Pretpostavka američkog udruženja za rak [15] (*American cancer society*) je da će do 2024. go-

dine broj preživjelih, a liječenih ili izliječenih od malignih bolesti u SAD biti 19 miliona. Thun MJ [16] i ostali kažu da će ukupna incidenca doseći 23,6 miliona novootkrivenih tumora godišnje u svijetu do 2030. godine.

Prema podacima GLOBOCAN-a za BiH iz 2018. godine, rizik od obolijevanja od maligne bolesti prije 75. godine života je 23,6%, što svakako govori o visokom riziku i prema sadašnjim incidencama broj oboljelih je svakako značajan.

Procjena rizika i prevencija

Bolesnici sa malignim bolestima, kao i kardiovaskularnim bolestima dijele iste faktore rizika [17]. Za sada ne postoje objedinjene zajedničke tablice za procjenu rizika od kardiotoksičnosti prilikom primjene onkološke terapije. Svakako SCORE tablice mogu poslužiti za procjenu opšteg kardiovaskularnog rizika. Svaki pacijent prije započinjanja hemioterapije mora da ima minimalan broj pretraga i da bude klasifikovan po SCORE tablicama za eventualni kardiovaskularni rizik. A minimum neophodnih podataka bi podrazumijevao: 1. Anamnezu i fizikalni pregled, 2. EKG, 3. Bazalni transtorakalni ultrazvuk, 4. Bazalne vrijednosti biomarkera.

Takođe, treba dobro poznavati i karakteristike primijenjene terapije i potencijalnu kardiotoksičnost pojedinačno za svaki primijenjeni lijek. Kada se govori o mjerama prevencije koje je moguće preduzeti u ovoj grupi bolesnika, svakako sve mjere prevencije kardiovaskularnih bolesti i ovdje treba primijeniti kao što su: promocija zdravijeg načina života i usvajanje zdravih navika u ishrani, adekvatna fizička aktivnost, a nadalje identifikacija i striktna kontrola svih kardiovaskularnih faktora rizika, njihovo praćenje prije, za vrijeme i nakon onkološke terapije. U toku terapije treba voditi računa o oblicima lijeka koji se daju naročito za grupu visokorizičnih bolesnika, a to su oni sa većim brojem kardiovaskularnih faktora rizika ili već postojećim kardiološkim oboljenjem (HTA, srčana insuficijencija, ishemijska bolest srca, poremećaji ritma). U SAD se primjenjuje dexrazoxan kod pacijenata sa visokim rizikom za CTRCD (cancer therapy related cardiovascular disease), a koji su na terapiji antraciklinima i njegova upotreba u Evropi je

sa ograničenim indikacijama [5]. Upotreba beta blokatora konkomitantno sa hemioterapijom i to karvedilola i nebivolola, za koje postoje izvjesni dokazi o zaštiti srčanog mišića [18], smanjuju incidencu pojave srčane slabosti za vrijeme terapije trastuzumabom i antraciklinima. Upotreba ACE inhibitora, tj. enalapрила kod pacijenata sa povećanim vrijednostima troponina smanjuje incidencu pada ejekcione frakcije [19]. Takođe je u pojedinim studijama praćen i efekat kombinacije ovih lijekova u kardioprotekciji [20]. Upotreba navedenih lijekova je naročito značajna u grupi bolesnika koji su i prije započinjanja HT imali neko kardiološko oboljenje. Efekat statina je pokazan u nekim retrospektivnim studijama, ali i in vitro, pokazano je da smanjuju oštećenje kardiomiocita, a time i rizik od srčane insuficijencije [21, 22]. Takođe su i u raznim fazama ispitivanja studije sa inhibitorima aldosteronskih receptora [23].

Ezaz G. i drugi [24] su dali tabelu sa procjenom rizika od kardiotoksičnosti koja obuhvata i kardiovaskularne rizike kod bolesnika na terapiji trastuzumabom.

Kao što je naprijed navedeno, ne postoje integrativne tablice u kojima bismo mogli uvrstiti sve oblike HT ili radioterapije, kao i individualne faktore rizika za svakog pacijenta pojedinačno i izračunati potencijalni rizik od razvoja CTRCD (cancer therapy related cardiovascular disease). Postoje za sada pojedinačni protokoli za pojedine vrste terapijskih protokola i nacionalni vodiči pojedinih zemalja.

Praćenje pacijenata u toku terapije

U praćenju bolesnika koji su na potencijalno toksičnoj terapiji potrebno je da postoji stalni nadzor kardiologa, ali se opet postavlja pitanje da li svim bolesnicima treba raditi kardiološki skrining (rano otkrivanje bolesti) u smislu ultrazvuka srca, holter EKG-a i koji pacijenti uopšte zahtijevaju intenzivni monitoring i praćenje. Ono što je bitno je da pojava simptoma vrlo često bude i najraniji znak kod ovih pacijenata kada najčešće postoje i ireverzibilne promjene. Za sada se u praćenju mogu koristiti biomarkeri, i to Troponin I [25] kao prediktor oštećenja kardiomiocita i nastanka srčane insuficijencije. Preporuke bi bile uzimanje uzorka prije započinjanja terapije, tj. bazalne

vrijednosti i potom prije svakog novog ciklusa hemioterapije.

EHO srca je svakako metod izbora za procjenu EF, ali zbog velike inter i intraobserver varijabilnosti, tj. varijabilnosti nalaza od strane različitih ljekara ili varijabilnost pri ponavljanim pregledima od strane istog ljekara, koja ide i do 10% što je svakako i dijagnostički *cut off* za značajno oštećenje miokarda kako je naprijed navedeno, te sama metoda 2D ultrazvuka nije dovoljno senzitivna [8]. Senzitivnija metoda je 3D ultrazvuk koji ima manju varijabilnost, ali je manje dostupan u svakodnevnom radu [26]. Svakako danas prihvaćen i u preporukama za procjenu srčane insuficijencije je globalni longitudinalni strain (naprezanje) koji ima veću senzitivnost, visoku negativnu prediktivnu vrijednost, kao i reproducibilnost, ali uz ograničenja ukoliko su loši eho prozori, i takođe manje je rasprostranjen i dostupan [27]. Novije tehnike bazirane na sličnom metodu, tj. naprezanju ili deformaciji srčanog mišića kao što su 2D speckle tracking mogu registrovati oštećenje miokarda još u prekliničkoj fazi.

Global longitudinal strain (globalno uzdužno naprezanje) – GLS [28] kao ultrazvučna metoda je dostupniji, manje zahtjevan i reproducibilan. Redukcija GLS-a za više od 15% od bazičnih vrijednosti upozorava na značajno oštećenje miokarda. Svakako kombinovanje više metoda, tj. 2D eho, GLS, kao i upotreba biomarkera će značajno povećati senzitivnost i detektovanje pacijenata koji su u riziku.

U toku davanja HT takođe treba pratiti pacijenta u zavisnosti od vrste primijenjene HT. Tako da ultrazvuk srca za pacijente koji su na terapiji antraciklinima treba raditi prije započinjanja, kao i na svaka tri mjeseca u toku terapije. Kada su Trastuzumab i TKI inhibitori u pitanju, biomarkeri bi trebalo da se rade bazalno i prije svakog ciklusa HT. Ukoliko se uoče promjene u smislu pada EF, tada je potrebno raditi GLS i u zavisnosti od daljeg toka bolesti uz konsultaciju kardiologa pratiti intenzivnije bolesnika i eventualno odložiti sljedeći ciklus HT do oporavka srčane funkcije.

Ponovni pregled kardiologa je po svim dostupnim vodičima praktično individualno određen u zavisnosti od vrste primijenjene terapije, kao i stepena primijećenog odstupanja. Moguće

mjere su da se terapija odloži mjesec dana i da se ponovi procjena pacijenta i to na osnovu vrijednosti biomarkera, kao i 2D eho srca i eventualno GLS. Ukoliko dođe do oporavka nastavlja se HT, ukoliko ne, onda se može pregled ponoviti za još mjesec dana uz uključivanje i nekih drugih metoda, npr. NMR srca i novi UZ srca, kao i da se optimizuje terapija u smislu uključivanja kardioprotektivne terapije.

Praćenje pacijenata nakon završetka terapije

Svi pacijenti nakon završetka terapije treba da budu upoznati sa kontrolama i nakon završetka terapije naročito sa kontrolama kardiologa i ultrazvuka srca s obzirom da se kardiotskični efekat može ispoljiti i nakon niza godina od završetka hemioterapije, odnosno radioterapije. Za sada ne postoje jasne preporuke, tj. konsenzus između različitih ekspertskih mišljenja za dinamiku praćenja pacijenata nakon završene terapije. Opet je odgovornost na kardiologu, koji će na osnovu individualnih faktora rizika za svakog pojedinačnog pacijenta, procijeniti dinamiku praćenja. ASE/EACVI konsenzus eksperata predlaže jedan ultrazvučni pregled nakon šest mjeseci od završetka terapije antraciklinima ili trastuzumabom [8], dok European Society of Cardiology position statement [5] uključuje praćenje za jednu i pet godina nakon završetka terapije za pacijente koji su na visokim dozama antraciklina ili one koji su za vrijeme terapije razvili disfunkciju lijeve komore. Zbog nedostatka velikih randomizovanih studija ne postoji ni zvanični dokument kojim bi se kliničari vodili. Iako u klasičnim onkološkim preporukama nije uključen ehokardiografski pregled nakon završetka terapije, ASCO preporuke kažu da treba razmotriti jedan ehokardiografski pregled nakon 6-12 mjeseci od završetka terapije kod pojedinaca koji su u većem riziku od pojave srčane insuficijencije. Prema trenutnim spoznajama dugoročni rizik od pojave novonastale srčane disfunkcije nakon onkološke terapije (antraciklini, trastuzumab ili druge vrste HT), kao i rizik za nastanak simptomatske srčane slabosti kod pacijenata sa asimptomatskom srčanom slabošću za sada nije poznat. Neophodne su studije za nova saznanja

i procjenu odnosa korist/cijena skrininga i preventivne terapije, odnosno primjene mjera primarne i sekundarne prevencije.

Zaključak

Kardioonkologija je nova disciplina koja je praktično intersekcija kardiologije i onkologije. Ne-

ophodno je u budućnosti imati kardioonkološki tim sa zadatkom da omogući završetak optimalne terapije za maligne bolesti, a da se pri tome izbjegnu kardiovaskularne komplikacije, što podrazumijeva proaktivno djelovanje ovog tima sa ciljem prevencije nastanka komplikacija, a ne samo reaktivno, u smislu reagovanja kada komplikacije kardiovaskularnog sistema već nastupe.

Izvor finansiranja. Autori nisu dobili sredstva namijenjena ovom istraživanju.

Etičko odobrenje. Članak ne sadrži nijednu studiju sa ljudima koju je izveo bilo koji od autora.

Sukob interesa. Autori izjavljuju da nemaju sukob interesa.

Funding source. The authors received no specific funding for this work.

Ethical approval. This article does not contain any studies with human participants performed by any of the authors.

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interest.

Literatura:

1. Von Hoff DD, Layard MW, Basa P, Davis HL, Jr., Von Hoff AL, Rozenzweig M, et al. Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Annals of internal medicine*. 1979;91(5):710-7.
2. Wang DY, Salem JE, Cohen JV, Chandra S, Menzer C, Ye F, et al. Fatal Toxic Effects Associated With Immune Checkpoint Inhibitors: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA oncology*. 2018;4(12):1721-8.
3. de Azambuja E, Ameye L, Diaz M, Vandebossche S, Aftimos P, Bejarano Hernandez S, et al. Cardiac assessment of early breast cancer patients 18 years after treatment with cyclophosphamide-, methotrexate-, fluorouracil- or epirubicin-based chemotherapy. *European journal of cancer*. 2015;51(17):2517-24.
4. Lenihan DJ, Cardinale DM. Late cardiac effects of cancer treatment. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2012;30(30):3657-64.
5. Zamorano JL, Lancellotti P, Munoz DR, Aboyans V, Asteggiano R, Galderisi M, et al. [2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines]. *Kardiologia polska*. 2016;74(11):1193-233.
6. Armenian SH, Lacchetti C, Lenihan D. Prevention and Monitoring of Cardiac Dysfunction in Survivors of Adult Cancers: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Summary. *Journal of oncology practice*. 2017;13(4):270-5.
7. Curigliano G, Cardinale D, Suter T, Plataniotis G, de Azambuja E, Sandri MT, et al. Cardiovascular toxicity induced by chemotherapy, targeted agents and radiotherapy: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*. 2012;23 Suppl 7:vii155-66.
8. Plana JC, Galderisi M, Barac A, Ewer MS, Ky B, Scherrer-Crosbie M, et al. Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during and after cancer therapy: a report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *European heart journal cardiovascular Imaging*. 2014;15(10):1063-93.
9. Patane S. Cardiotoxicity: anthracyclines and long term cancer survivors. *International journal of cardiology*. 2014;176(3):1326-8.
10. Herrmann J, Lerman A, Sandhu NP, Villarraga HR, Mulvagh SL, Kohli M. Evaluation and management of patients with heart disease and cancer: cardio-oncology. *Mayo Clinic proceedings*. 2014;89(9):1287-306.
11. Vincent L, Leedy D, Masri SC, Cheng RK. Cardiovascular Disease and Cancer: Is There Increasing Overlap? *Current oncology reports*. 2019;21(6):47.
12. Schafer M, Oeing CU, Rohm M, Baysal-Temel E, Lehmann LH, Bauer R, et al. Ataxin-10 is part of a cachexokine cocktail triggering cardiac metabolic dysfunction in cancer cachexia. *Molecular metabolism*. 2016;5(2):67-78.

13. Wang L, Tan TC, Halpern EF, Neilan TG, Francis SA, Picard MH, et al. Major Cardiac Events and the Value of Echocardiographic Evaluation in Patients Receiving Anthracycline-Based Chemotherapy. *The American journal of cardiology*. 2015;116(3):442–6.
14. Martin M, Esteva FJ, Alba E, Khandheria B, Perez-Isla L, Garcia-Saenz JA, et al. Minimizing cardiotoxicity while optimizing treatment efficacy with trastuzumab: review and expert recommendations. *The oncologist*. 2009;14(1):1–11.
15. Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2016;66(4):271–89.
16. Thun MJ, DeLancey JO, Center MM, Jemal A, Ward EM. The global burden of cancer: priorities for prevention. *Carcinogenesis*. 2010;31(1):100–10.
17. Koene RJ, Prizment AE, Blaes A, Konety SH. Shared Risk Factors in Cardiovascular Disease and Cancer. *Circulation*. 2016;133(11):1104–14.
18. Seicean S, Seicean A, Alan N, Plana JC, Budd GT, Marwick TH. Cardioprotective effect of beta-adrenoceptor blockade in patients with breast cancer undergoing chemotherapy: follow-up study of heart failure. *Circulation Heart failure*. 2013;6(3):420–6.
19. Cardinale D, Colombo A, Sandri MT, Lamantia G, Colombo N, Civelli M, et al. Prevention of high-dose chemotherapy-induced cardiotoxicity in high-risk patients by angiotensin-converting enzyme inhibition. *Circulation*. 2006;114(23):2474–81.
20. Bosch X, Rovira M, Sitges M, Domenech A, Ortiz-Perez JT, de Caralt TM, et al. Enalapril and carvedilol for preventing chemotherapy-induced left ventricular systolic dysfunction in patients with malignant hemopathies: the OVERCOME trial (prevention of left Ventricular dysfunction with Enalapril and carvedilol in patients submitted to intensive Chemotherapy for the treatment of Malignant hemopathies). *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;61(23):2355–62.
21. Hamo CE, Bloom MW, Cardinale D, Ky B, Nohria A, Baer L, et al. Cancer Therapy-Related Cardiac Dysfunction and Heart Failure: Part 2: Prevention, Treatment, Guidelines, and Future Directions. *Circulation Heart failure*. 2016;9(2):e002843.
22. Calvillo-Arguelles O, Abdel-Qadir H, Michalowska M, Billia F, Suntheralingam S, Amir E, et al. Cardioprotective Effect of Statins in Patients With HER2-Positive Breast Cancer Receiving Trastuzumab Therapy. *The Canadian journal of cardiology*. 2019;35(2):153–9.
23. Gulati G, Heck SL, Ree AH, Hoffmann P, Schulz-Menger J, Fagerland MW, et al. Prevention of cardiac dysfunction during adjuvant breast cancer therapy (PRADA): a 2 × 2 factorial, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial of candesartan and metoprolol. *European heart journal*. 2016;37(21):1671–80.
24. Ezaz G, Long JB, Gross CP, Chen J. Risk prediction model for heart failure and cardiomyopathy after adjuvant trastuzumab therapy for breast cancer. *Journal of the American Heart Association*. 2014;3(1):e000472.
25. Cardinale D, Sandri MT, Colombo A, Colombo N, Boeri M, Lamantia G, et al. Prognostic value of troponin I in cardiac risk stratification of cancer patients undergoing high-dose chemotherapy. *Circulation*. 2004;109(22):2749–54.
26. Thavendiranathan P, Rankin K. 3-Dimensional Echocardiography: Moving From Pretty Pictures Toward Patient Outcomes. *JACC Cardiovascular imaging*. 2019;12(10):1927–9.
27. Thavendiranathan P, Calvillo-Arguelles O. Breast Cancer Treatment and Diastolic Dysfunction: Should We Worry About Relaxing in Cardio-Oncology? *JACC Cardiovascular imaging*. 2019.
28. Oikonomou EK, Kokkinidis DG, Kampaktsis PN, Amir EA, Marwick TH, Gupta D, et al. Assessment of Prognostic Value of Left Ventricular Global Longitudinal Strain for Early Prediction of Chemotherapy-Induced Cardiotoxicity: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA cardiology*. 2019.

Cardio-Oncology – New Challenge in Clinical Practice

Sladjana Popović^{1,2}, Srdjan Popović^{1,2}, Nikolina Dukić^{1,2},
Jelena Vladičić-Mašić¹, Olivera Čančar^{1,2}

¹University Hospital Foca, Center for Internal Medicine, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

²University of East Sarajevo, Faculty of Medicine, Foca, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

There is a daily increase in the number of patients with malignant diseases, but with the advances in modern oncology research, the number of survivors treated with malignant diseases is becoming larger and larger. The survival rate after completing oncology therapy is increasing on a daily basis, so that malignant diseases belonging to the category of terminal diseases are now referred to as 'chronic illnesses'. In this specific group of patients, the risk from cardiovascular diseases is increasing nowadays. A new challenge for the future cardiologists will certainly pose the treatment of this group of patients. A cardiological approach in oncological patient treatment is an important issue. The cardiologist focuses on risk stratification and prevention of cardiovascular complications in the oncological patient in relation to his or her pre-existing condition, and in relation to the type of specific oncology therapy applied, and on further follow-up during therapy and after its completion. This implies that it is necessary to create cardio-oncology teams in our institutions treating the oncological patients. There is a considerable need for education in a new field, which presents the intersection between two clinical disciplines, i.e. cardiology and oncology, and for special education of cardiologists concerning all types of chemotherapy and their potential cardiotoxic effects. The oncologist, on the other hand, must be trained to recognize any possible early signs and symptoms of cardiac complications concerning the therapy applied and to seek further cardiac care for the patients. The aim of this review article is to assist the doctors treating this group of patients in their daily practice and to highlight the need for a multidisciplinary approach, as well as the creation of a cardio-oncology team for a comprehensive and integrative approach to a cardio-oncological patient.

Keywords: cardio-oncology, cardiotoxicity, cancer, anthracyclines, trastuzumab, chemotherapy, radiotherapy, ultrasound

Prikaz bolesnika

Endodontska terapija maksilarnog drugog molara sa dva korena – prikaz bolesnika

**Dajana Nogo-Živanović,
Dragan Ivanović,
Tanja Ivanović,
Ivana Simić**

Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Medicinski
fakultet Foča, Republika Srpska, Bosna i
Hercegovina

Primljen – Received: 17/02/2020
Prihvaćen – Accepted: 09/04/2020

Adresa autora:
Doc. dr Dajana Nogo-Živanović
Petra Bojovića, bb, 73 300 Foča,
Republika Srpska
Tel: +387 65 997 264
e-mail: dajana.nogo@gmail.com

Copyright: ©2020 Nogo-Živanović D, et al. This is an
Open Access article distributed under the terms of the
Creative Commons Attribution 4.0 International (CC
BY 4.0) license.

Kratak sadržaj

Uvod. Uspeh endodontskog tretmana zavisi od adekvatne biomehaničke obrade i opturacije celokupnog sistema kanala korena. Najčešći uzrok ne-uspeha endodontskog tretmana su netretirani, neadekvatno obrađeni ili opturirani kanali korena. Najveći broj neuspešnih endodontskih tretmana zabeležen je nakon endodontske terapije maksilarnih molara, zbog kompleksne građe korenskog i kanalnog sistema. Cilj rada je da se prikaže endodontska terapija maksilarnog drugog molara sa dva korena i dva kanala.

Prikaz bolesnika. U radu je prikazana endodontska terapija maksilarnog drugog molara sa dva korena i dva kanala kod pacijenta starosti 32 godine. Nakon analize preoperativnog radiograma, trepanacije pulpne komore i formiranja pristupnog kaviteta, lokalizovana su dva otvora korenskih kanala. Sprovedena je biomehanička obrada, nakon čega su u istoj poseti kanali definitivno opturirani gutaperka poenima i silerom.

Zaključak. Iako maksilarni drugi molari najčešće poseduju varijacije u pogledu broja korenskih kanala u bukalnim korenovima, prilikom endodontske terapije treba imati na umu i postojanje ređih anatomo-morfoloških varijacija, kao što je prisustvo dva korena i dva kanala.

Ključne reči: endodontska terapija, morfologija kanala, maksilarni drugi molar

Uvod

Osnovni cilj endodontske terapije je adekvatna hemomehanička obrada celokupnog kanalnog sistema uz adekvatnu trodimenzionalnu hermetičku opturaciju [1]. Kompleksna morfologija kanalnog sistema, kao i postojanje brojnih varijacija u broju korenova i korenskih kanala, predstavljaju svakodnevni izazov pri dijagnostikovanju i terapiji endodontskih oboljenja [2]. Najčešći uzrok ne-uspeha endodontskog tretmana su netretirani, neadekvatno obrađeni ili opturirani kanali korena, što za posledicu ima perzistiranje infekcije u korenskim kanalima [3]. Najveći broj neuspešnih endodontskih tretmana zabeležen je nakon endodontske terapije maksilarnih molara [4, 5] zbog kompleksne građe korenskog i kanalnog sistema [6].

Najčešće, maksilarni drugi molari poseduju tri korena i tri kanala, ili tri korena i četiri kanala (2 kanala u meziobukalnom korenu i po jedan kanal u distobukalnom i palatinalnom korenu) [7, 8, 9]. Silva i saradnici [10] su na osnovu CBCT analize (cone beam computed tomography) 620 maksilarnih molara izvršili njihovu klasifikaciju, pri čemu maksilarni drugi molari poseduju sedam različitih varijacija kanalnog sistema, za razliku od maksilarnih prvih molara gde je uočeno postojanje pet

varijacija kanalnog sistema. Ovi autori navode da maksilarni drugi molari najčešće imaju tri korena i tri kanala u 45,09% slučajeva ili tri korena i četiri kanala (dva kanala u meziobukalnom korenu) u 34,32% slučajeva. Jedna od ređih varijacija je postojanje dva korena (bukalni i palatinalni) sa po jednim kanalom i njihova učestalost je iznosila 3,92% [10].

U radu je prikazan slučaj anatomske varijacije maksilarnog drugog molara sa dva korena i dva kanala i njegova endodonska terapija.

Prikaz bolesnika

Pacijent star 32 godine upućen je na odeljenje za Bolesti zuba i endodonciju Medicinskog fakulteta u Foči, radi sprovođenja endodontskog lečenja maksilarnog drugog molara (#17), u okviru predprotetske pripreme za izradu fiksne protetske nadoknade u gornjoj vilici. Nakon kliničkog pregleda i prikupljanja anamnestičkih podataka, postavljena je dijagnoza hroničnog ireverzibilnog zapaljenja pulpe.

Etički odbor Medicinskog fakulteta u Foči odobrio je studiju. Ispitanik je upoznat sa celokupnom procedurom sprovođenja endodontske terapije, nakon čega je dao pisanu saglasnost za učešće u studiji. Istraživanje je sprovedeno u skladu sa etičkim principima koji se zasnivaju na Helsinškoj deklaraciji.

Analizom preoperativnog radiograma uočen je neobičan morfološki izgled korenskog sistema zuba sa dve izražene periodontalne linije, sa nejasnim senkama kanala i bez periapikalnih rasvetljenja (Slika 1).

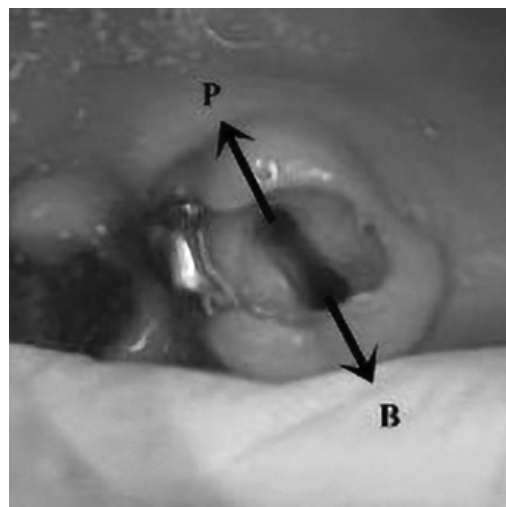
Posle obezbeđivanja suvog polja rada, operativno područje, uključujući i kunicu zuba, je dezinfikovano 2% rastvorom hlorheksidina, nakon čega je aplikovan lokalni anestetički rastvor (4% artikain sa adrenalinom 1:100 000; Septanest; Septodont, Francuska), uklonjen je privremeni ispun i formiran pristupni kavititet.

Kliničkim ispitivanjem dna pulpne komore uočeni su orificijumi dva kanala lokalizovana bukarno i palatinalno, na krajevima razvojne brazde (Slika 2).

Nakon ispitivanja inicijalne prohodnosti K turpijom # 10 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Švajcarska), uz pomoć apeks lokatora (Raypex



Slika 1. Dijagnostički radiogram zuba 17



Slika 2. Klinički prikaz pristupnog kaviteta i lokalizacije u bukarni (B) i palatinalni (P) korenski kanal zuba 17

5, VDW, Minhen, Nemačka), određena je radna dužina kanalne preparacije na kojoj će se vršiti biomehanička obrada, irigacija i definitivna op-turacija kanala korena. Kanali korena su instrumentisani Gates-Glidden svrdlima (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Švajcarska) i K turpijama (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Švajcarska) kru-nično-apeksnom tehnikom. Nakon svakog instru-



Slika 3. Definitivna opturacija zuba 17 sa dva korenska kanala

menta kanali su irigirani sa po 2 ml 1% rastvora NaOCl (Semikem, Sarajevo, BiH), a nakon završene celokupne hemomehaničke obrade, finalno irigirani sa 2 ml 17% rastvora EDTA (Pulpdent EDTA Solution; Pulpdent, Watertown, MA) u trajanju od dva minuta i posušeni sterilnim papirnim poenima (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Švajcarska). Nakon toga, određeni su glavni gutaperka poeni i kanali su opturirani pastom Syntex (Syntex, Ceramed, Poljska) koristeći modifikovanu monokonu tehniku (Slika 3). S obzirom da kod pacijenta nije bila prisutna postoperativna osetljivost nakon endodontskog tretmana, upućen je na odeljenje Stomatološke protetike, Medicinskog fakulteta u Foči, kako bi se pristupilo izradi fiksne protetske nadoknade u gornjoj vilici.

Izvor finansiranja. Autori nisu dobili sredstva namijenjena ovom istraživanju.

Etičko odobrenje. Etički odbor Medicinskog fakulteta u Foči odobrio je studiju, a svi ispitanici su dali svoju saglasnost za učešće u studiji. Istraživanje je sprovedeno u skladu sa Helsinškom deklaracijom.

Sukob interesa. Autori izjavljuju da nemaju sukob interesa.

Diskusija

U literaturi su opisane brojne anatomske varijacije maksilarnih drugih molara, a prisustvo dva korena i dva kanala smatra se jednom od ređih varijacija, koja se češće javlja kod maksilarnih drugih molara u odnosu na maksilarne prve molare [10]. Do danas nije u potpunosti razjašnjen način nastanka ove varijacije, ali se pretpostavlja da ona nastaje kao posledica poremećaja u Hertwigovoj epitelnoj ovojnici u toku razvoja zuba. Pokazano je da učestalost brojnih anatomo-morfoloških varijacija može da zavisi i od genetske i rasne pripadnost [11].

U ovom radu je prikazana endodontska terapija maksilarnog drugog molara sa dva korena i dva korenska kanala. Silva i saradnici [10] su u svom istraživanju pronašli da pored dve najčešće grupe maksilarnih drugih molara sa tri korena i tri ili četiri kanala, maksilarni drugi molari poseduju još pet različitih varijacija, što ukazuje da ova grupa zuba poseduje značajno složeniji kanalni sistem u poređenju sa maksilarnim prvim molarima. Iako je incidenca dva korena sa po jednim kanalom maksilarnog drugog molara veoma mala, u toku endodontske terapije treba imati na umu i postojanje ove varijacije [10].

Zaključak

Pažljiva analiza preoperativnog radiograma je jedan od važnih koraka u dijagnostikovanju anatomo-morfoloških varijacija korenskog sistema. U slučajevima kada analiza retroalveolarnog radiograma ili lokalizacija ulaza u korenske kanale nakon formiranja pristupnog kaviteta ukažu na postojanje anatomo-morfoloških varijacija korenskog i kanalnog sistema, indikovana je upotreba CBCT snimanja, kako bi se dobile korisne informacije neophodne za uspešno izvođenje endodontske terapije [12].

Funding source. The authors received no specific funding for this work.

Ethical approval. The Ethics Committee of the Faculty of Medicine in Foča approved the study and informed consent was obtained from all individual respondents. The research was conducted according to the Declaration of Helsinki.

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interest.

Literatura

1. Vertucci FJ. Root canal anatomy of the human permanent teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1984;58:589-99.
2. Fakhari E, Shokraneh A. A maxillary second molar with two separate palatal roots: A Case Report. *J Dent* 2013;14(2): 87-9.
3. Nair PR, Sjögren U, Krey G, et al. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod* 1990;16:580-8.
4. Smadi L, Khraisat A. Detection of a second mesio-buccal canal in the mesiobuccal roots of maxillary first molar teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;103:77-81.
5. Hartwell G, Appelstein CM, Lyons WW, Guzek ME. The incidence of four canals in maxillary first molars – a clinical determination. *J Am Dent Assoc* 2007;138:1344-6.
6. Vertucci FJ, Haddix JE, Britto LR. Tooth morphology and access cavity preparation. In: Cohen S, Hargreaves KM, ed. *Pathways of the Pulp*, 9th ed. St. Louis: Mosby Elsevier; 2006. p. 203.
7. Zhang R, Yang H, Yu X, et al. Use of CBCT to identify the morphology of maxillary permanent molar teeth in a Chinese subpopulation. *Int Endod J* 2011;44:162-9.
8. Zheng QH, Wang Y, Zhou XD, et al. A cone-beam computed tomography study of maxillary first permanent molar root and canal morphology in a Chinese population. *J Endod* 2010;36:1480-4.
9. Neelakantan P, Subbarao C, Ahuja R, et al. Cone-beam computed tomography study of root and canal morphology of maxillary first and second molars in an Indian population. *J Endod* 2010;36:1622-7.
10. Silva EJ, Nejaim Y, Silva AL, et al. Evaluation of root canal configuration of maxillary molars in a Brazilian population using cone-beam computed tomographic imaging: an in vivo study. *J Endod* 2014;40:173-6.
11. Skidmore AE, Bjørndal AM. Root canal morphology of the human mandibular first molar. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1971;32:778-84.
12. Ball RL, Barbizam JV, Cohenca N. Intraoperative endodontic applications of cone-beam computed tomography. *J Endod* 2013;39:548-57.

Endodontic treatment of maxillary second molar with two roots – a case report

Dajana Nogo-Živanović¹, Dragan Ivanović¹, Tanja Ivanović¹, Ivana Simić¹

¹University of East Sarajevo, Faculty of Medicine, Foca, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

Introduction. The success of endodontic treatment depends on the adequate biomechanical preparation and obturation of the entire root canal system. The untreated or poorly debrided/obtured root canals are among the most frequent causes of endodontic treatment failure. The endodontic treatment of maxillary molar has the highest failure rates due to the complexity of their root canal anatomy. The aim of the study is to present the endodontic treatment of maxillary second molar with two roots and two canals.

Case report. The clinical case report presents the endodontic treatment of maxillary second molar with two roots and two canals in a patient, aged 32 years. After the analysis of preoperative diagnostic radiograph, opening the pulp chamber and access cavity preparation, two canal orifices were localized. After the biomechanical preparation, root canals were obturated with the Gutta-percha points and sealer during the same visit.

Conclusion. Although maxillary second molar most commonly varies in terms of the number of root canals in the buccal roots, less common variations in anatomical and morphological traits, such as the presence of two roots and two canals, should be considered during endodontic treatment.

Keywords: endodontic treatment, root canal morphology, maxillary second molar

Prikaz bolesnika

Déjà vu fenomen kao simptom temporalno lobarne epilepsije kod osmogodišnje djevojčice – prikaz bolesnika

**Goran Popović¹,
Ranka Mirković²,
Dejan Bokonić²,
Biljana Milinković¹,
Tatjana Gavrilović-Elez¹**

¹Univerzitetska bolnica Foča, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

²Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Medicinski fakultet Foča, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

Primljen – Received: 19/04/2020
Prihvaćen – Accepted: 02/06/2020

Adresa autora:
Viši asistent, Goran Popović
Njegoševa 21, 73 300 Foča, BiH
popovicgoran_pop@yahoo.com
+387 65 970 894

Copyright: ©2020 Popović G, et al. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license.

Kratak sadržaj

Uvod. Već viđeno (franc. déjà vu) je fenomen koji doživi dvije trećine svih ljudi. Međutim, ovaj fenomen se može javiti i u sklopu aure kod temporalne lobarne epilepsije. Smatra se da u njegovom nastanku veliku ulogu ima hipokampus, odakle potiču pražnjenja kod ovog tipa epilepsije. Neki autori smatraju da kod ovih pacijenata déjà vu fenomen nije aura već ponekad može značiti napad sâm po sebi.

Metod. U ovom prikazu slučaja je opisana osmogodišnja djevojčica sa ponovljenim krizama svijesti.

Prikaz bolesnika. Cilj ovog rada je bio prikazati slučaj osmogodišnje djevojčice koja je imala tri krize svijesti, glavobolju u čeonom dijelu i déjà vu fenomen u više navrata. Djevojčici je po prijemu uzeta anamneza, urađen fizikalni pregled i ostale dijagnostičke pretrage. Na učinjenom EEG snimku nađena je povećana elektrokortikalna epileptička aktivnost iznad desne frontotemporalne regije. U terapiju su uključeni antiepileptički lijekovi (karbapin) koja dovodi do kontrole napada.

Zaključak. Potrebno je misliti na temporalnu lobarnu epilepsiju kod djece koja imaju déjà vu fenomene.

Glavne riječi: kriza svijesti, déjà vu, dijete, epilepsija, EEG

Uvod

Već viđeno (franc. déjà vu - DV) je fenomen koji doživi dvije trećine svih ljudi. Spada u grupu de-realizacionih sindroma zajedno sa déjà vécu (već doživljeno), déjà entendu (već slušano) i jamais vu (nikad viđeno). Na osnovu druge klasifikacije "već viđeno" spada u iluzije pamćenja [1]. Ovaj fenomen budi posebno interesovanje jer se javlja kod 97% zdravih ljudi i često je povezan sa uznemirenošću i poremećajima spavanja. Međutim, ovaj fenomen se može javiti u sklopu aure kod temporalne lobarne epilepsije, zatim može biti povezana sa šizofrenijom, Charles Bonnet-ovim sindromom i drugim bolestima [2, 3]. Déjà vu je bila povezana sa epilepsijom temporalnog režnja, a kliničke studije ukazuju na to da se kod mnogih pacijenata manifestuje jednostavnim parcijalnim napadima. DV se javlja kod 10% pacijenata koji imaju temporalnu lobarnu epilepsiju (TLE) [4]. U različitim studijama koje se bave istraživanjima déjà vu epilepsije napravljen je napredak u razumi-

jevanju ove epilepsije s kognitivnog i neuropsihološkog stajališta. Dėjà vu fenomen je prvi opisao u svojoj studiji Hughlings-Jackson's [5] u 19. vijeku kao "stanje sanjarenja". Nastaje zbog pogrešnog osjećaja poznavanja, koji nije u skladu s trenutnom kognitivnom obradom. Pacijenti imaju osjećaj da nešto sa čime se prvi put susreću su već nekada vidjeli. Autozomno dominantna forma temporalne lobarne epilepsije se ispoljava sa fokalnim napadima praćenim afazijom i poremećajima sluha, ponekad sa simptomima DV, a bez afazije ili poremećaja sluha. Više od 50% pacijenata sa TLE ima mutaciju gena LGI1 [6]. Uglavnom se smatra da TLE praćena sa DV fenomenom nastaje zbog disfunkcije parahipokampalne regije i gornjeg temporalnog girusa u blizini peririnalnog i entorinalnog korteksa kao mjesta iskustva dėjà vu [7]. Postoji još uvijek dosta polemika među kliničarima da li se DV može smatrati simptomom TLE. Jedan dio istraživača navodi da se DV može manifestovati kao prosti i kompleksni parcijalni napad ili kao aura sekundarno izazvanih kloničko toničnih napada [8].

Cilj ovog rada je bio prikazati slučaj djevojčice koja je imala tri krize svijesti, glavobolju u čeonom dijelu i dėjà vu fenomen u više navrata sa karakterističnim promjenama na EEG-u.

Metoda

U ovom prikazu slučaja je opisana osmogodišnja djevojčica sa ponovljenim krizama svijesti koja je praćena tokom tri godine. Slučaj sadrži detaljne anamnestičke podatke, rezultate fizikalnog pregleda i različitih dijagnostičkih pretraga sa posebnim akcentom na promjene na EEG nalazu u odnosu na kliničku sliku.

Prikaz slučaja

Djevojčica stara 8 godina dolazi na pregled zbog ponovljenih kriza svijesti. Prvo dijete iz prve trudnoće, koja je održavana. Majka je pila Dabroston zbog krvarenja. Porod u terminu, spontan, prednjačeća glavica. Dijete odmah proplakalo, nije plavilo i reanimirano. AS: 9, PTM 3550 g, PTD 51 cm. Odmah prihvatila dojk. Zbog novorođenačke žutice bila je na fototerapiji nekoliko dana. Dojena je dva mjeseca, nakon toga je

hranjena Aptamilom. Rani psihomotorni razvoj je bio uredan. Odličan je učenik. Alergiju na hranu i lijekove nije imala. Često pravi grimase očima. Redovno vakcinisana. Bolovala Varicellu. Imala je više puta upale ušiju u prve tri godine života. Zbog urođenih deformiteta stopala (pes equinovarus) još uvijek ide na fizikalnu terapiju. Povrede i padove nije imala. Majčin ujak i tetka su liječeni od epilepsije. Negiraju ostala hronična i degenerativna oboljenja u porodici.

Prva kriza svijesti kod djevojčice se desila 14.08.2017. godine. Tokom kupovine u prodavnici djevojčica se požalila na mučninu, bol u stomaku, duple slike i glavobolju. Izgubila je svijest i pala. Bila je mlitava. Nije bilo trzaja ekstremiteta. U licu je bila veoma blijeda, usne i nokti su joj bili modri. Oči su bile zatvorene, a pesnice su bile stisnute. Nije bilo pjenice na ustima, popuštanja sfinktera, niti ugriza jezika. Sve je trajalo 2-3 minute. Nakon toga je i dalje bila blijeda, ali nije bila pospana. Hospitalizovana je na dječijem odjeljenju bolnice u Zvorniku odakle je otpuštena pod dijagnozom kolapsa. Druga kriza svijesti se desila 21.11.2017. godine. U toku tuširanja majka je primijetila da djevojčica ne odgovara, oči su bile otvorene, pogled je bio usmjeren u jednom pravcu, u licu je bila veoma blijeda, a usne su bile modre. Zbog mlitavosti majka ju je pridržala da ne padne. Nije bilo pjenice na ustima, tragova ugriza i nije se umokrila. Ovaj put je epizoda trajala 4 minuta. Odvedena je u hitnu pomoć. Tokom 10-15 minuta je bila veoma usporena, majka je imala utisak kao da teško govori. Otpuštena je iz hitne pomoći bez dijagnoze. Pola sata nakon dolaska kući se ponašala uobičajeno. Majka navodi da djevojčica često tokom igre za stvari koje uradi ima osjećaj kao da ih je ranije uradila i da povremeno zna šta će se desiti. Nakon ove epizode krize svijesti je urađen EEG koji je bio uredan, kao i MRI mozga na kojem nisu nađene patološke promjene. Treća kriza svijesti se javila godinu dana od druge krize, 24.11.2018. godine. Nakon završene fizikalne terapije stopala, u igraonici je propljedadila. Bolio je stomak, imala je mučninu. Naglo je omilitavila, pričala je usporeno. Žalila se na peckanje dlanova i vrhova prstiju. U licu je bila blijeda, oči su joj bile otvorene, pogled usmjeren u jednom pravcu. Usne i nokti su bili modri. Trzaje ekstremiteta,

pjenice na ustima kao i popuštanje sfinktera nije imala. Sve je trajalo 2-3 minuta. Nakon ove epizode tokom 15 minuta nije mogla da stoji, žalila se da joj je glava teška. Hospitalizovana u bolnici Zvornik odakle je poslata na KBC Banja Luka, dječija klinika gdje joj je urađen EEG snimak koji je bio uredan.

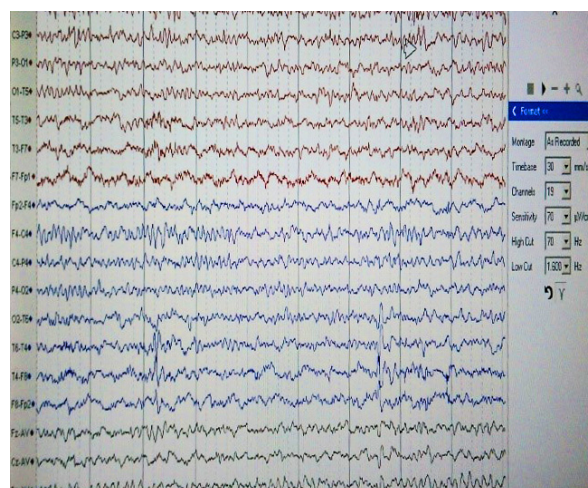
Od 2017. godine ima česte glavobolje u čeonom predjelu koje su od prije pola godine svakodnevne. Glavobolje su jake, javljaju se tokom cijelog dana u naletima, noću je ne bude. Glavobolje nisu praćene povraćanjem i mučninom. Buka i svjetlost ne pogoršavaju glavobolju. Vid uredan. Od septembra 2018. godine ima fenomen Déjà vu koji je majci opisala prvi put nekoliko dana prije dolaska na naše odjeljenje. Fenomeni se ispoljavaju tokom časa u školi kada učiteljica nešto predaje, djevojčica ima osjećaj da je to već čula i ponekad zna šta će učiteljica reći. Majka je navela da je primijetila u posljednje vrijeme da se djevojčica odmah ne odaziva kada je zove.

Prvi put je hospitalizovana na Dječijem odjeljenju UB Foča 04-11.02.2019. godine. Djevojčica je tada detaljno obrađena. Pregledana od strane oftalmologa, kardiologa i psihologa. Svi nalazi su bili u fiziološkim granicama i u skladu sa uzrascu. Urađen je EEG snimak u snu 09.02.2019. godine na kojem je nađena povišena epileptička elektrokortikalna aktivnost iznad FCP regija.

Na prijemu djevojčica je bila uzrasta 8 godina i 4 mjeseca, TT 36 kg, TV 143 cm, afebrilna, svjesna, komunikativna, orijentisana u vremenu prostoru i prema ličnostima.

Neurološki nalaz: nalaz na kranijalnim nervima je bio uredan. GMS donjih i gornjih ekstremiteta očuvana. Romberg, Mingazini i sve fine neurološke probe su bile uredne. Tetivni refleksi su živahni, simetrični, patološki se ne izazivaju. Meningealni znaci negativni. Ostali fizikalni nalaz po sistemima je bio uredan.

16.02.2019. godine ponovljen je EEG nalaz u budnom stanju. Osnovna aktivnost je dobro izražena, srednje voltaže, iregularna mješovita (dominira 8 do 9 cps, subdominira 10 cps i pojedinačnih 7 cps) u granicama normalnog za uzrast. U toku HV iznad desne FT regije registruje se fokalna specifična elektrokortikalna epileptička aktivnost (šiljak - spor talas kompleks) lakog stepena izraženosti, bez kliničkog korelata (Slika 1).



Slika 1. Šiljak – spor talas kompleksi iznad desne fronto-temporalne regije kod osmogodišnje djevojčice

Na kraju hospitalizacije odlučeno je da se sačekava sa uvođenjem terapije. Majci dat savjet da vodi dnevnik u kojem će da bilježi sve promjene kod djevojčice (glavobolje, DV fenomene i epizode odsutnosti). Dat savjet za ORL pregled sa timpanometrijom i za prevenciju napada.

Kontrolni pregled urađen 20.03.2019. godine. Od prethodnog pregleda u više navrata imala fenomene DV (da će se nešto desiti, odnosno da ono što je urađeno je već viđeno). Takođe imala povremene glavobolje koje su bile rjeđe nego ranije. Neurološki nalaz je bio uredan kao i ostali fizikalni nalazi po sistemima. Urađen kontrolni EEG nalaz u kojem je nađena povišena elektrokortikalna epileptička aktivnost iznad desne TPO regije, lakog stepena izraženosti.

U terapiju postepeno uveden Karbapin tbl 200 mg 2x1 tbl uz prethodnu kontrolu krvne slike i osnovnih biohemijskih nalaza koji su bili uredni.

Na sljedeći kontrolni pregled dolazi 03.08.2019. godine. Tokom jula 2019. godine u dva navrata imala tegobe. Prvi put je imala utisak da se prilikom gledanja slika pomiče lijevo-desno u trajanju od par sekundi. Bila je svjesna, nije imala slabosti i nije padala. Drugi put je imala utisak kao da će „slike početi da se pomjeraju i da će pasti, ali se nije desilo“. Bila je blijeda i sve opisano je trajalo 2-3 minuta. Redovno uzimala terapiju. U početku uzimanja terapije smjenjivali su se periodi tuge i nervoze, povremeno je bila agresivna. Kontrolni nivo karbamazepina u krvi je bio ispod donje granice referentnih vrijednosti 22,3 (25,4-50,8).

Na pregledu se ponaša uobičajeno, a posljednjih nekoliko dana se umokri u krevet. Unazad nekoliko mjeseci nema glavobolje. Neurološki nalaz i ostali fizikalni nalazi po sistemima uredni. Na kontrolnom EEG snimku koji je rađen u budnom stanju osnovna aktivnost dobro izražena, srednje voltaže, iregularna mješovita (dominira 9 cps, subdominira 7 do 8 cps) u granicama normalnog za dob. U toku HV se u nekoliko navrata registruje u manjim grupama generalizovana, nespecifična, neritmična Theta aktivnost. Nema jasne diferencijacije strana, niti epi-grafo elemenata. Terapija Karbamazepinom je povećana na 2x1,5 tbl. a 200 mg.

Nakon mjesec dana nivo lijeka je ponovo kontrolisan, i bio je uredan. Od tada do danas, dijete je dobro, bez kriza svijesti i bez DV fenomena. Redovno uzima terapiju.

Diskusija

Osnovni mehanizam u patogenezi TLE je gubitak inhibitornih GABA – ergičnih interneurona lociranih u Cornu Ammonis 1 ili CA 1 regionu hipokampusa. Ovaj region mozga je najosjetljiviji na hipoksična oštećenja. S obzirom da je hipokampus stanica za ulaz novih informacija u mozak, ovaj gubitak inhibicije može dovesti do brzih i boljih kognitivnih sposobnosti. Ulazne informacije u hipokampusu (koji je primarna stanica u tzv. Papezovom krugu za memoriju) lakše će se prenositi u moždani korteks pri čemu gubitak pomenute inhibitorne kontrole kod pacijenata sa TLE može biti uzrok njihove genijalnosti. Neki genijalni stvaraoci (Dostojevski, van Gog, japanski naučnik i biolog Minakata Kumagusu i Jovanka Orleana) su imali različite kliničke manifestacije TLE što ukazuje da različite strukture nervnog sistema imaju ulogu u patogenezi TLE. Dostojevski je imao periode euforije, van Gog periode bijesa i tuge, Kumagusu DV fenomen, a Jovanka Orleana slušne halucinacije i periode euforije [9]. Što se tiče genske etiologije, postoje dva tipa epilepsije temporalnog reznja koje se nasljeđuju autozomno dominantno: familijarna epilepsija s napadima iz mezijalnog dijela temporalnog reznja i familijarna epilepsija s napadima iz lateralnog dijela temporalnog reznja. Familijarna epilepsija s napadima iz mezijalnog dijela

temporalnog reznja je udružena sa poremećajem strukture mozga koji se manifestuje kao skleroza hipokampusa. Receptor za interleukin – IL1 β , proinflamatorni citokin je veoma eksprimiran u hipokampusu. Moguće je da genski polimorfizam IL1 β povećava sklonost razvoju skleroze hipokampusa, febrilnih konvulzija i TLE, kao i polimorfizam GABA- receptora. Prodinorfin je genski produkt gena PDYN koji ima antikonvulzivni učinak i, vjerovatno, učestvuje u modulaciji sklonosti razvoju TLE. Mutacija PDYN povećava rizik za pojavu febrilnih konvulzija i teškog oblika TLE. Familijarna epilepsija s napadima iz lateralnog dijela temporalnog reznja uzrokovana je mutacijom gena LGI1 na hromozomu 10q 22-24. Gen LGI1 (inaktivirani činilac glioma 1 bogat leucinom) učestvuje u regulaciji rasta, adhezije i migracije ćelija. LGI1 se još naziva i epitempin. Moguće je da mutacija LGI1 uzrokuje diskretne poremećaje migracije neurona u prvoj i drugoj vijuzi temporalnog reznja, pa time i epileptogenezu [10].

Glavno pitanje koje se postavlja jeste uloga i značaj DV fenomena u temporalnoj epilepsiji. Dosta autora smatra da je DV neurološki analog konvulzivnih pražnjenja koji se javljaju u psihoaktivnim zonama [1]. Spatt i saradnici su predstavili hipotezu da su hipokampus i prefrontalna regija mozga odgovorne za prepoznavanje novih informacija i njihovo povezivanje sa prethodnim iskustvima [11]. Parahipokampalna regija koordiniše funkciju ovih poređenja i poremećaj u ovim strukturama dovodi do fenomena da nova informacija izgleda poznato. Zaključeno je da DV nastaje zbog oštećenog kontakta između struktura neokorteksa i medijalnog temporalnog lobusa kada slabi uticaj korteksa, npr. tokom spavanja ili umora. EEG nalazi kod pacijenata i zdravih ljudi ukazuju na mogućnost pojave dvije vrste DV fenomena, patoloških i fizioloških [12]. Brazdil i saradnici su u svojoj studiji dokazali metodom morfometrije da postoji razlika u strukturi mozga kod pacijenata koji imaju DV fenomen i koji ga nemaju. Oni su pokazali da u nekim subkortikalnim strukturama-meziotemporalnim ima manje sive moždane mase kod pacijenata koji imaju DV fenomen [13]. Razlika između zdravih osoba i pacijenata sa epilepsijom koji imaju DV fenomen je u tome što se promjene kod zdravih

dešavaju u malim ograničenim zonama hipo-kampalne regije koji ne dovode do pražnjenja koja se vide na EEG i imaju klinički korelat. Kod bolesnih dolazi do masivnog pražnjenja neurona u ovoj regiji koja dovodi do parcijalnih psihogenih konvulzija. Vlasov i saradnici su naveli da se promjene koje dovode do DV fenomena uglavnom javljaju u desnoj hemisferi. Na EEG su vidljivi šiljak talas kompleksi u trajanju od 8 sec. praćeni sporim ritmom. Autori navode da je moguće da promjene ne nestaju specifično u jednoj hemisferi već da je problem u interakciji između hemisfera. PET i SPECT studije su dokazale da postoje oblasti sa smanjenim metabolizmom u temporalnom lobusu [12, 14, 15]. TLE neuroni najviše pogođeni u CA1 i CA3 zoni i zoni girusa dentatusa. Ekstahipokampalne zone, piriformna zona, amigdala i entorinalni korteks, koji su odgovorni za stvaranje DV fenomena, su takođe uključeni u cijeli proces. Model oštećenja i umiranja neurona i sinaptička reorganizacija predstavlja fundamentalni mehanizam u nastanku epilepsije. Reorganizacija neuralnih mreža u DV odgovornim zonama može dovesti do pojave fenomena i bez patoloških procesa u ovim oblastima [16]. Pacijent prikazan u našem slučaju ima promjene na EEG-u koje su lokalizovane u temporalnoj regiji u desnoj hemisferi što odgovara prikazu jednog dijela autora [6]. Promjene na EEG-u su javljaju po tipu talas-šiljak

kompleksa i praćene su sporim ritmom što je po opisu jednog dijela autora karakteristično za temporalnu epilepsiju. U kliničkoj slici kod djevojčice čiji slučaj je prikazan, pojavljuju se simptomi karakteristični za afekciju temporalne regije uz prisutne DV fenomene (nove događaje vidi kao već viđene, ima pomjeranja slika i osjećaj da će nešto desiti). Kod našeg pacijenta DV fenomeni se više pojavljuju kao manifestacije epilepsije, a ne kao aura prije epi napada.

Zaključak

DV često prati simptomatske fokalne epilepsije, ali može biti prateći simptom svih tipova epilepsija i ispoljava se u sastavu jednostavnih parcijalnih napada ili kao dio generalizovanih epi napada. Važan kriterijum za postavljanje dijagnoze TLE je dinamika DV fenomena koji često rastu u frekvenciji i trajanju uz pojavu negativnih emocija kod pacijenta. Na EEG-u, DV počinje u temporalnom lobusu sa talas šiljak-talas kompleksima koji se nastavljaju sporom aktivnošću. Naš pacijent je imao promjene na EEG-u tipične za DV u desnoj temporalnom lobusu. Napadi su bili parcijalni kompleksni. Nakon uvođenja Karbamazepina došlo je do kontrole napada. Djevojčica uzima i dalje terapiju, njen psihomotorni razvoj je uredan. Potrebno je misliti na temporalnu lobarnu epilepsiju kod djece koja imaju déjà vu fenomene.

Literatura

1. Illman IR, Butler C, Souchay C, Moulin CJ. Déjà experiences in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res Treat* 2012;5395–97.
2. Brown AS. A review of the déjà vu experience. *Psychol Bull*, 2003;129(3):393–413.
3. Warren-Gash C, Zeman A. Short report: is there anything distinctive about epileptic déjà vu? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2014;85:143–147.
4. Palmini A, Gloor P. The localizing value of auras in partial seizures: a prospective and retrospective study. *Neurology* 1992;42:8018–08.
5. Hughlings-Jackson J. On a particular variety of epilepsy (“intellectual aura”), one case with symptoms of organic brain disease. *Brain*. 1888;11(2):179–207.
6. Striano P, Gambardella A, Coppola A, et al. Familial mesial temporal lobe epilepsy (FMTLE): a clinical and genetic study of 15 Italian families. *J Neurol* 2008;205:16–23.
7. Guedja E, Aubert S, McGonigal A, et al. Déjà-vu in temporal lobe epilepsy: metabolic pattern of cortical involvement in patients with normal brain MRI. *Neuropsychologia* 2010;48(7):2174–81.
8. Ide M, Mizukami K, Suzuki T, Shirashi H. A case of temporal lobe epilepsy with improvement of clinical symptoms and single photon emission computed tomography findings after treatment with clonazepam. *Psychiatry Clin Neurosci* 2000;54(5):595–597.

9. Taghipour M, Derakhshan N, Saffarian A. At eternity's gate: temporal lobe epilepsy and the genius of Vincent van Gogh. *Psychiatria Danubina* 2019;31(3):374–376.
10. Barišić N i suradnici. *Pedijatrijska neurologija. Medicinska naklada*; 2009.
11. Spatt JM. Déjà vu: possible parahippocampal mechanisms. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2002;14(1):6–10.
12. Vlasov PN, Chervyakov AV. The value of déjà vu phenomenon in healthy people. *Neurol neuropsychiatry psychosom* 2009;1(2):53–56.
13. Brázdil M, Marečka R, Urbánka T et al. Unveiling the mystery of déjà vu: the structural anatomy of déjà vu. *Cortex* 2012;48(9):1240–1243.
14. Bartolomei F, Barbeau E, Gavaret M. et al. Cortical stimulation study of the role of rhinal cortex in déjà vu and reminiscence of memories. *Neurology* 2004;63(14):858–864.
15. Takeda Y, Kurita T, Sakurai K, T. et al. Persistent déjà vu associated with hyperperfusion in the entorhinal cortex. *Epilepsy Behav* 2011;21(2):196–199.
16. Ben-Ari Y, Crepel V, Represa A. Seizures beget seizures in temporal lobe epilepsies: the boomerang effects of newly formed aberrant kainatergic synapses. *Epilepsy Curr* 2008;8(3):68–72.

Déjà vu phenomenon as symptom of temporal lobe epilepsy in eight-year-old girl – a case report

Goran Popović¹, Ranka Mirković², Dejan Bokonjić²,
Biljana Milinković¹, Tatjana Gavrilović-Elez¹

¹University Hospital Foca, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

²University of East Sarajevo, Faculty of Medicine, Foca, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

Introduction. Déjà vu (franc. Déjà vu) is a phenomenon experienced by two thirds of all people. However, this phenomenon can follow aura during the temporal lobe epilepsy. It is believed that it originates from hippocampus, which plays a major role in generating epileptic discharges. Some authors emphasize that in these patients déjà vu phenomenon is not an aura but rather it sometimes refers to the attack itself.

Method. In this case report, an eight-year-old girl suffering from repeated crisis of consciousness is described.

Case report. The aim of the study was to present the case of an eight-year-old girl who underwent three crisis of consciousness, headache behind the forehead as well as the repeated déjà vu phenomenon. The girl was hospitalized, after which medical history was taken and physical examination, as well as other diagnostic tests, were performed. EEG recording revealed an increased electrocortical epileptic activity above the right fronto-temporal region. An antiepileptic therapy (Karbapin) leading to attack control was introduced.

Conclusion. It is necessary to give temporal lobe epilepsy in children with déjà vu phenomenon serious consideration.

Keywords: crisis of consciousness, déjà vu, child, epilepsy, EEG

Prikaz slučaja

Orbitalne komplikacije akutnog rinosinuzitisa kod dece - prikaz slučaja

**Ljiljana Krstanović^{1,2},
Siniša Šolaja^{1,2},
Vladimir Turuntaš^{1,2}**

¹Univerzitetska bolnica Foča, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

²Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Medicinski fakultet, Foča, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

Primljen – Received: 21/05/2020
Prihvaćen – Accepted: 29/05/2020

Adresa autora:
Asistent Ljiljana Krstanović,
Mlade bosne 4, 73300 Foča
+38765/350-520
ljiljanakrstanovic85@gmail.com

Copyright: ©2020 Krstanović Lj, et al. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license.

Kratak sadržaj

Uvod. Akutni rinosinuzitisi (ARS) predstavljaju hetoregenu grupu zapaljenskih oboljenja sluzokože nosa i pneumatskih šupljina u kostima lica i lobanje. Rinosinuzitis je najčešća bolest u Sjedinjenim Američkim Državama. Procenjeno je da preko 30 miliona stanovnika godišnje ambulantno poseti lekara zbog ovog stanja, kao i da prosečno svaka šesta odrasla osoba oboli od ARS. Među svim komplikacijama ARS, preko 91% su orbitalne komplikacije (engl. orbital complications-OC) sa prosečnom prevalencom 6% i većom incidencom kod dece u odnosu na odrasle.

Prikaz bolesnika. Dvanaestogodišnji dečak, u pratnji majke, je zbog naglo nastalog, crvenog i bolnog otoka oba očna kapka levog oka, bola u levom oku i povišene temperature do 38,5°C hitno upućen u otorinolaringološko odeljenje Univerzitetske bolnice Foča. Nakon urađene laboratorijske i CT imidžing dijagnostike, pregleda oftalmologa i stacionarnog kliničkog nalaza nakon 36h od ordinirane parenteralne trojne antibiotske terapije, pacijent je upućen u ustanovu tercijarnog tipa radi daljeg lečenja. Isto je sprovedeno konzervativno, tokom šest dana hospitalizacije.

Zaključak. Inicijalno lečenje orbitalnih komplikacija u dečijem uzrastu je konzervativno. Lečenje treba započeti empirijski, trojnom antibiotskom terapijom. Izbor antibiotika i protokoli lečenja u pedijatrijskoj populaciji još uvek nisu usaglašeni. Ali, ako nakon 36-48h od započetog konzervativnog lečenja klinički odgovor izostaje, bez obzira na stadijum orbitalne komplikacije, hiruško lečenje je apsolutno indikovano.

Ključne reči: akutni rinosinuzitis, orbitalne komplikacije, deca, lečenje

Uvod

Akutni rinosinuzitisi (engl. Acute Rhinosinusitis-ARS) su grupa zapaljenskih oboljenja sluzokože nosa i pneumatskih šupljina u kostima glave. Preko 30 miliona stanovnika godišnje u Sjedinjenim Američkim Državama poseti lekara zbog ovog stanja, a prosečno svaka šesta odrasla osoba oboli [1]. Predškolska deca godišnje mogu imati 14 epizoda virusnih infekcija gornjeg disajnog puta, a čak 5-10% se komplikuje ARS [2,3].

Među svim komplikacijama ARS, preko 91% su orbitalne komplikacije (engl. orbital complications-OC) sa prosečnom prevalencom 6% i većom incidencom kod dece u odnosu na odrasle [2].

U ovom radu ćemo predstaviti slučaj pacijenta kojeg smo hospitalno lečili zbog orbitalne komplikacije ARS.

Prikaz slučaja

Dvanestogodišnji pacijent u pratnji majke, nakon ambulantnog oftalmološkog pregleda i urađene klasične radiografije sinusa (Slika 1) u regionalnom Domu zdravlja, zbog naglo nastalog, crvenog i bolnog otoka oba očna kapka levog oka, bola u levom oku i povišene temperature do 38,5°C, hitno upućen u Otorinolaringološko odeljenje Univerzitetske bolnice Foča, gde je i primljen. Navedene tegobe su nastale na dan prijema.

Dva dana pre, pacijent je imao osećaj zapušnosti nosa uz purulentnu sekreciju, slivanje sekreta iz nosa niz zadnji zid ždrebla, kašalj sa iskašljavanjem gusto-belog sekreta, čeonu glavobolju koja se intenzivirala pri saginjanju glave i subfebrilnu temperaturu (do 37,5°C). Koristio je antibiotik iz grupe Cefalosporina I generacije. Slične tegobe nije imao ranije. Majka je negirala postojanje alergija, mogućnost traume ili ujeda insekta.

Pri kliničkom pregledu uočen je bolan i hiperemičan edem oba očna kapka levog oka, sužena rima oculi i hemoza konjunktive. Meka tkiva levog obraza su bila lako edematozna i hiperemična uz istostranu bolnu osetljivost izlazišta oba orbitalna nerva, a u projekciji čeonih sinusa perkutorno bolna osetljivost. Endonazalno obostrano imao je purulentan sadržaj uz edem i hiperemiju sluzokože nosa. Orofaringoskopski je bio izražen postnazalni drip. Ostali klinički otorinolaringološki nalazi bili su uredni. Objektivno, pacijent je



Slika 1. Klasični radiografski snimak paranazalnih sinusa. Smanjena transparentnost svih sinusa sa nivoom tečnosti u levom frontalnom sinusu (crvena strelica)

bio dobrog opšteg stanja, bez neuroloških simptoma i znakova intrakranijalne proširenosti patološkog procesa.

Nalaz oftalmologa na prijemu ukazivao je na očuvan motilitet desnog oka, dok je levo oko zaostajalo u motilitetu pri pogledima na gore i levo (Slike 2a i 2b). Nalaz na prednjem segmentu oka, očnom dnu i očni pritisak su bili uredni obostrano. Pri egzofthalmometriji protruzija levog bulbosa po Hertelu je iznosila 20 mm, basis



Slika 2a. Ispitivanje motiliteta bulbosa pri oftalmološkom pregledu - zaostajanje motiliteta levog oka pri pogledu u levo. Prisutan otok donjeg i gornjeg kapka levog oka



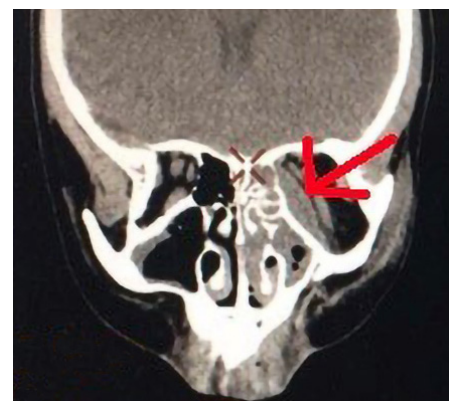
Slika 2b. Ispitivanje motiliteta bulbosa pri oftalmološkom pregledu - zaostajanje motiliteta levog oka pri pogledu ka gore. Prisutan otok donjeg i gornjeg kapka levog oka



Slika 3a. Kompjuterizovana tomografija paranazalnih sinusa (CT PNS) i orbita sa kontrastom - koronarni presek, levostrani pansinuzitis sa vretenastom promenom veličine 33x9x23mm uz medijalni zid orbite (crvena strelica)



Slika 3b. Kompjuterizovana tomografija paranazalnih sinusa (CT PNS) i orbita sa kontrastom - mediasagitalni presek leve orbite, crvenim crticama označena inflamirana heterogena kolekcija (apsces)



Slika 3c. Kompjuterizovana tomografija paranazalnih sinusa (CT PNS) i orbita sa kontrastom - aksijalni presek, uz medijalni zid leve orbite vretenasta inflamirana kolekcija (crvena strelica)

110 mm (desni bulbus 17 mm). U terapiji je propisana suspenzija (Tobramicin sa Dexametasonom) u levo oko.

Na prijemu, bris nosa nije uzorkovan jer je pacijent već koristio antibiotik. U laboratorijskim analizama su uočene povišene vrednosti zapaljenskih parametara koje su sugerisale da je u pitanju bakterijska infekcija (dvocifreno ubrzana sedimentacija u prvom satu uz leukocitozu sa skretanjem diferencijalne krvne slike u levo). Vrednosti C-reaktivnog proteina u serumu su iznosile 96mg/L (referentne vrednost C reaktivnog proteina do 6mg/L).

Na kompjuterizovanoj tomografiji (engl. computed tomography-CT) sinusa i orbita sa kontrastom bili su evidentni znaci levostranog pansinuzitisa sa gustim sadržajem u istim. Uz medijalni zid orbite detektovana je vretenasta promena veličine 33x9x23 mm koja je pokazivala inflamatorne i apscedirajuće CT karakteristike (Slike 3a, 3b i 3c). Ostali nalazi na CT snimku su bili uredni.

U toku hospitalizacije, pacijentu je ordinirana parenteralna trojna antibiotska terapija (Cefalosporini III generacije, Aminoglikozidi i Metronidazol) uz ostalu simptomatsku i lokalnu endonazalnu dekonjestivnu terapiju. S obzirom na stacionaran klinički nalaz 24 sata od hospitalizacije, doneta je odluka da se dalje lečenje nastavi u ustanovi tercijarnog nivoa. Po prijemu u istu, na osnovu konzilijarne odluke (otorinolaringolog, pedijatar i infektolog), doneta je odluka o reviziji

antibiotske terapije (antibiotik iz grupe aminoglikozida zamenjen je antibiotikom iz grupe glikopeptida) i daljem konzervativnom tretmanu. Isti je sproveden tokom narednih šest dana. Na otpustu je došlo do potpune regresije kliničkog nalaza, a laboratorijski parametri su bili u referentnim vrednostima.

Diskusija

U našem radu smo predstavili dečaka sa kliničkim i radiološkim znacima II i početnim znacima III stadijuma OC leve orbite (prema Chendlerovoj klasifikaciji OC), sekundarno nastali usled ARS. Bolest je nastala u periodu zime, a prethodila joj je akutna infekcija gornjih respiratornih puteva.

Klasifikacija orbitalnih komplikacija ARS je osnovana 1937. godine od strane Huberta i do danas je pretrpela nekoliko revizija. Smith i Spencer su 1948, a zatim Chandler i saradnici 1970. godine, publikovali novu podelu koja klasifikuje težinu komplikacije, ali ne i fazu bolesti [2, 4]. Chendlerova podela OC obuhvatala je 5 stadijuma: I - inflamatorni otok očnih kapaka, II - orbitalni celulitis, III - subperiostealni apscis, IV - orbitalni apscis i V - tromboza kavernoznog sinusa. Prvi stadijum je kasnije od strane Monoleya preimenovan u preseptalni celulitis. Chandlerovu klasifikaciju su 1977. modifikovali Mortimore i Wormald nazivajući je "sistem klasifikacije bolnice Groote Schuur". Konačno, Velasco e Cruz i saradnici su dali podelu OC na orbitalni celu-

litis, subperiostealni apsces i orbitalni apsces [4, 5]. Ipak, Chendlerov i Monoleyov sistem klasifikacija su i danas najčešće primenjivani u praksi.

U pedijatrijskoj populaciji OC akutnog rinosinuzitisa su najčešće u uzrastu od 9-15 godina, naročito u zimskim mesecima kada je veća učestalost i infekcija gornjeg respiratornog trakta [3, 6, 7]. Preseptalni i orbitalni celulitis se češće javljaju kod dece nego kod odraslih, sa predominacijom preseptalnog celulitisa skoro tri puta u odnosu na orbitalni celulitis [8]. Za razliku od orbitalnog celulitisa, koji je više zastupljen među muškim polom, preseptalni celulitis pokazuje podjednaku polnu distribuciju [7]. Orbitalni celulitis je skoro uvek sekvela sinuzitisa, i to najčešće infekcija "ipsilateralnog" etmoiditisa, dok se preseptalni celulitis češće javlja udružen sa infekcijama kože [8]. U odnosu na novorođenčad, deca u uzrastu između 9-15 godina imaju 13 puta veću verovatnoću da razviju OC. Razlog predominacije muškog pola nije u potpunosti poznat. U literaturi dominira hipoteza o povećanoj vaskularizaciji diploičnih kostiju u odnosu na ženski pol [2]. Međutim, prognoza ove bolesti kod dece je bolja u odnosu na odrasle. Brza dijagnostika i adekvatno lečenje su prediktor ishoda i sprečavanja pogubnih posledica koje mogu da rezultiraju trajnim slepilom i intrakranijalnom propagacijom [8].

Preseptalni i orbitalni celulitis su najčešće uzrokovani gram negativnim aerobnim (bakterije iz grupe Streptokoka i Stafilokoka) i gram pozitivnim anaerobnim mikroorganizmima (*Actinomyces species*, *Haemophilus influenzae* i *Eikenella corrodens*). Među najzastupljenijim uzročnicima subperiostealnog i orbitalnog apscesa su predstavnici aerobne i anaerobne (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.* i *Haemophilus influenzae*) ili orofaringealne flore (najčešće *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium*, *Bacteroides* i *Prevotella species*) [9]. U razvijenim zemljama, poslednjih decenija beleži se trend manje incidence OC kod novorođenčadi i dece uzrasta ispod 9 godina, što se objašnjava imunizacijom heptavalentnom pneumokoknom vakcinom i vakcinacijom protiv *Haemophilus influenzae* tip b [2, 7, 9]. Ovaj trend korelira sa povećanjem incidence *Staphylococcus aureus* kao i metilicinske rezistentog *Staphylococcus aureus* (MRSA) ne samo kod OC,

već i kod rinosinuzitisa uopšte. Takođe, sa ovim u vezu dovodi se i porast slučajeva uzrokovanih *Streptococcus milleri* (*Streptococcus anginosus* grupe) i *Staphylococcus pyogenes* [9].

OC su uglavnom posledica invazije upalnog procesa iz sinusa u orbitalnu šupljinu [10]. Patogeneza rinosinusogenih komplikacija u literaturi nije u potpunosti razjašnjena do kraja. Kao mogući mehanizmi upale orbitalne šupljine opisani su kongenitalne i druge dehiscencije u koštanom zidu laminae papiracea, erozija zida sinusa usled sekundarne nekroze kosti, hematogena diseminacija putem brojnih gornjih i donjih oftalmičnih valvularnih vena, kao i anatomske razlike uslovljene uzrastom [10, 11]. Za razliku od odraslih, kod kojih OC nastaju kao posledica akutnog frontalnog rinosinuzitisa, kod dece uglavnom nastaju tokom akutnog etmoiditisa zato što se razvoj forontalnih (i maksilarnih sinusa) završava sa 10-12 godina, dok je etmoidalni labirint dobro razvijen i pneumatizovan još na rođenju. Lamina papiracea je tanja i poroznija kod dece, a vene koje iz etmoida polaze kroz orbitu mogu doprineti hematogenoj diseminaciji u antero i retrogradnom smeru. Pored toga, nosna šupljina kod dece je uža, a sluzokoža gracilna. Sve su to razlozi koji doprinose većoj učestalosti OC u pedijatrijskoj populaciji [10, 12].

Pored ovog, u literaturi su opisani i drugi patogenetski mehanizmi: širenja infekcije iz susjednih anatomske strukture, kožna ili orbitalna trauma, oftalmološka hirurgija, ujed insekta ili kožna oboljenja [7].

Periorbitalni celulitis se klinički prezentuje jednostranim bolnim i crvenim otokom očnih kapaka. Osoba ima očuvan vid i može bezbolno da pomera oko. Postseptalnu zahvaćenost karakteriše progredirajući edem i bol u oku pri pokretima, oslabljen vid, duple slike i egzoftalmus. Prisustvo hemoze znak je širenja infekcije u adneksne oke. Iako su proptoza i oftalmoplegija snažni prediktori progresije bolesti, CT sinusa ne može uvek diferencirati orbitalni celulitis od apscesa. S druge strane, u Chendlerovom stadijumu III kod čak 50% slučajeva OC proptoza i oftalmoplegija mogu da izostanu. Stoga, većina autora predlaže komplementarnost kliničkog i radiološkog nalaza [12].

U literaturi ne postoje utvrđene smernice

za lečenje OC u pedijatrijskoj populaciji. Za inicijalnu procenu i trijažu pacijenata predlaže se multidisciplinarni pristup. Međutim, ne postoje univerzalni algoritmi za svaki stadijum OC koji bi se odnosili specifično na svakog pacijenta, kao ni jasno definisane indikacije za konzervativni ili hiruški tretman [8].

Generalni konsenzus za inicijalno lečenje preseptalnog i postseptalnog orbitalnog celulitisa kod dece je konzervativni tretman. Lečenje treba započeti empirijskom primenom trojne antibiotike terapije [8]. Izbor kombinacije antibiotika u literaturi nije usaglašen, najčešće se lečenje započinje primenom antibiotika iz grupe cefalosporina III generacije (Ceftriaxon) sa Metronidazolom uz Amoxicilin sa Klavulonatskom kiselinom, ili Vankomicin sa Ceftriaxonom i Piperacilin-tazobactamom [9].

Indikacije za hiruško lečenje subperiostealnog apscesa varijaju. Podaci iz literature sugerišu da subperiostealni apsces kod dece nije apsolutna indikacija za hitno hiruško lečenje [8], naročito kod mlađih i kod apscesa <0,5 cm. Jabarin i saradnici su nedavno opisali da mališani u odma-

krom stadijumu OC imaju visok nivo pozitivnog odgovora na konzervativni tretman u poređenju sa decom iz odrasle grupe [5].

Ipak, ako su sve mere u konzervativnom lečenju sprovedene adekvatno, a klinički odgovor izostaje nakon 36-48h od započinjanja konzervativnog tretmana, hiruška intervencija je apsolutno indikovana bez obzira o kom stadijumu OC je reč. Pre izvođenja hiruške intervencije treba razmotriti ponavljanje radiološkog imidžinga [8].

Zaključak

Dakle, OC akutnog sinuzitisa su oboljenja ozbiljne patologije koja i u eri potentnih antibiotika doprinose povećanju stope morbiditeta u dečijoj populaciji i narušavanju kvaliteta života. Imajući u vidu nepredvidiv tok, mogućnost gubitka vida i životnu ugroženost, rana dijagnoza, agresivno lečenje i multidisciplinarni pristup su ključni u smanjenju fatalnih posledica.

Potpisana saglasnost roditelja za fotografisanje i objavljivanje u naučnom radu.

Izvor finansiranja. Autori nisu dobili sredstva namijenjena ovom istraživanju.

Etičko odobrenje. Etički komitet Medicinskog fakulteta u Foči odobrio je studiju, a svi ispitanici su dali svoju saglasnost za učešće u studiji. Istraživanje je sprovedeno u skladu sa Helsinškom deklaracijom.

Sukob interesa. Autori izjavljuju da nemaju sukob interesa.

Funding source. The authors received no specific funding for this work.

Ethical approval. The Ethic Committee of the Faculty of Medicine in Foča approved the study, and informed consent was obtained from all individual respondents. The research was conducted according to the Declaration of Helsinki.

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interest.

Literatura

1. Coudert A, Ayari-Khalfallah S, Suy P, Truy E. Microbiology and antibiotic therapy of subperiosteal orbital abscess in children with acute ethmoiditis. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2018;106:91–5.
2. Levy DA, Pecha PP, Nguyen SA, Schlosser RJ. Trends in complications of pediatric rhinosinusitis in the United States from 2006 to 2016. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2020;128:109695.
3. Schollin Ask L, Hultman Dennison S, Stjärne P, Granath A, Srivastava S, Eriksson M, et al. Most preschool children hospitalised for acute rhinosinusitis had orbital complications, more common in the youngest and among boys. *Acta Paediatrica*. 2017;106(2):268–73.
4. Çelik M, Kaya K-H, Yegin Y, Olgun B, Kayhan F-T. Anatomical Factors in Children with Orbital Complications Due to Acute Rhinosinusitis. *Iranian journal of otorhinolaryngology*. 2019;31(106):289.
5. Jabarin B, Marom T, Gavriel H, Eviatar E, Pitaro J. Orbital complications secondary to acute rhinosinusitis in toddlers: A unique age group. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2019;121:46–9.
6. Gupta S, Sharma S. Orbital Cellulitis: Defining Multidisciplinary Approach as the Need of the Hour. *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*. 2019;71(4):464–9.
7. Santos JC, Pinto S, Ferreira S, Maia C, Alves S, da Silva V. Pediatric preseptal and orbital cellulitis: a 10-year experience. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2019;120:82–8.

8. Wong SJ, Levi J. Management of pediatric orbital cellulitis: a systematic review. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 2018;110:123–9.
9. Mahalingam S, Hone R, Lloyd G, et al. The management of periorbital cellulitis secondary to sinonasal infection: a multicenter prospective study in the United Kingdom. *Int Forum Allergy Rhinol* 2020;10:726-737.
10. Tachibana T, Kariya S, Orita Y, Nakada M, Makino T, Haruna T, et al. Factors that prolong the duration of recovery in acute rhinosinusitis with orbital complications. *Acta oto-laryngologica*. 2019;139(1):52–6.
11. Al-Salam P. Prevalence of orbital complications in acute rhinosinusitis. *Int J of Multidisciplinary and Current research*. 2016;4.
12. Torretta S, Guastella C, Marchisio P, Marom T, Bosis S, Ibba T, et al. Sinonasal-related orbital infections in children: a clinical and therapeutic overview. *Journal of clinical medicine*. 2019;8(1):101.

Orbital complications of acute rhinosinusitis in children - case study

Ljiljana Krsmanović^{1,2}, Siniša Šolaja^{1,2}, Vladimir Turuntaš^{1,2}

¹University Hospital Foca, Bosnia and Herzegovina, The Republic of Srpska

²University of East Sarajevo, The Faculty of Medicine, Foca, The Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

Introduction. Acute rhinosinusitis (ARS) encompasses a heterogeneous group of inflammatory disorders affecting nasal mucosa and paranasal sinuses. Rhinosinusitis is the most common condition in the United States. It is estimated that over 30 million people annually visit the doctor due to this condition, while every sixth adult suffers from ARS. Among all ARS complications, over 91% are orbital complications (OC) with an average prevalence of 6% and a higher incidence in children compared to adults.

Case report. Twelve-year-old boy, accompanied by his mother, was urgently referred to the Department of Otorhinolaryngology at the University Hospital in Foca due to a sudden red and painful left periorbital edema, pain in the left eye and a fever reaching 38.5°C. After laboratory and CT scan diagnostics, an ophthalmologic examination and inpatient clinical findings after 36 hours of parenteral triple antibiotic therapy, the patient was referred to a tertiary-type institution for further treatment. The same procedure was performed conservatively during the hospitalization within 6 days.

Conclusion. The initial treatment of orbital complications in children is conservative. Treatment should be started empirically, using triple antibiotic therapy. The choice of antibiotics and treatment protocols among pediatric population have not been agreed yet. If 36–48 hours after the beginning of the conservative treatment, there is lack of the clinical response, surgical treatment is absolutely indicated, regardless of the stage of orbital complication.

Keywords: acute rhinosinusitis, orbital complications, children, treatment

UPUTSTVO AUTORIMA

„**Biomedicinska istraživanja**“ je časopis Medicinskog fakulteta Foča, Univerziteta u Istočnom Sarajevu, sa otvorenim pristupom, dvostrukom slijepom recenzijom, koji izlazi dva puta godišnje. Časopis objavljuje originalne naučne radove, prethodna ili kratka saopštenja, preglede literature, prikaze bolesnika, radove iz istorije medicine, radove za praksu, edukativne članke, komentare na objavljene članke i pisma uredništvu iz svih oblasti medicine, stomatologije, specijalne edukacije i rehabilitacije i zdravstvene njege.

Otvoreni pristup časopisu *Biomedicinska istraživanja* omogućava slobodan, besplatan i neograničen onlajn pristup svim člancima odmah poslije njihovog onlajn objavljivanja. Korisnici mogu besplatno da preuzmu, čitaju, kopiraju i štampaju kompletne tekstove svih radova.

Uslovi. Časopis „Biomedicinska istraživanja“ objavljuje samo one radove koji nisu ranije objavljeni u cjelosti ili djelimično, osim u obliku sažetka, i koji nisu istovremeno podnijeti za objavljivanje nekom drugom časopisu.

Radovi se štampaju na srpskom ili engleskom jeziku sa kratkim sadržajem na srpskom i engleskom.

Sve prispjele rukopise procjenjuje jedan od urednika i dva nezavisna recenzenta koji su stručnjaci iz oblasti iz koje je rad. Recenzija je dvostruko slijepa. Ukoliko recenzenti predlože izmjene i dopune teksta, kopije recenzije se dostavljaju autorima s molbom da unesu tražene izmjene i odgovore na primjedbe recenzenata. Ako autor dostavi izmijenjen i dopunjen rukopis prema primjedbama recenzenata, urednik ga može poslati recenzentima radi ponovne procjene. Konačnu odluku o prihvatanju rada za štampu donisu glavni i odgovorni urednik..

Etika. Kada se izvještava o eksperimentu na ljudima potrebno je naglasiti da li je ispitivanje sprovedeno u skladu sa etičkim standardima nacionalnog ili institucionalnog komiteta za eksperimente na ljudima, kao i sa Helsinškom deklaracijom iz 1975, revidiranom 2000. i 200. godine, a dostupne na <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html> Obavezna je i saglasnost nadležnog etičkog komiteta. Rukopisi o humanim medicinskim istraživanjima ili istorijama bolesti treba da sadrže izjavu o pristanku ispitivanih osoba.

Kod eksperimenata na životinjama naznačiti da li su poštovani principi zaštite životinja iz nacionalnih propisa i zakona.

Izjava o sukobu interesa. Uz rukopis se prilaže izjava svih autora kojom se izjašnjavaju o svakom mogućem interesu, ili izjava da nemaju sukob interesa. Ova napomena treba da se doda na kraju rada, prije spiska literature. Ako ne postoji sukob interesa autori treba da navedu: autori izjavljuju da nemaju sukob interesa. Za dodatne informacije o različitim vrstama sukoba interesa vidjeti na internet stranici Svjetskog udruženja urednika medicinskih časopisa (*World Association of Medical Editors – WAME*; <http://www.wame.org>) pod „Politika izjave o sukobu interesa“.

Autorstvo. Sve osobe koje su navedene kao autori rada treba da se kvalifikuju za autorstvo. Svaki autor treba da je učestvovao dovoljno u radu na rukopisu kako bi mogao da preuzme odgovornost za cjelokupan tekst i rezultate iznesene u radu. Autorstvo se zasniva samo na: bitnom doprinosu koncepciji rada, dobijanju rezultata ili analizi i tumačenju rezultata; planiranju rukopisa ili njegovoj kritičkoj reviziji od znatnog intelektualnog značaja; završnom dotjerivanju verzije rukopisa koji se priprema za štampanje. Sve druge koji su doprinijeli izradi rada, a koji nisu autori rukopisa, trebalo bi navesti u zahvalnici s opisom njihovog rada, uz pisani pristanak.

Provjera na plagijarizam. Svi prijavljeni rukopisi se podvrgavaju provjeri na plagijarizam. Plagijarizam se definiše u slučaju kada se u članku reprodukuje neki drugi rad sa sličnošću od najmanje 25% i bez navođenja izvora. Ako se otkrije plagijarizam, autori će biti pozvani da ovu tvrdnju opozovu, a ako rad nije objavljen da tekst koriguju. U slučaju da dokazi autora ne budu zadovoljavajući, ili autori ne urade zadovoljavajuću korekciju, rad će biti povučen, a autori kažnjeni tako što u periodu koji odredi Uređivački odbor neće moći da objavljuju radove u časopisu.

Dostavljanje rukopisa

Rukopis rada i svi prilozi dostavljaju se elektronskom poštom na adresu: biomedicinskaistrazivanja@yahoo.com

Opšta pravila

Tekst rada pisati kratko i jasno na srpskom jeziku, latinicom ili na engleskom jeziku. Skraćenice koristiti izuzetno i to samo za veoma duge nazive hemijskih supstancija ili za nazive koji su poznati kao skraćenice (npr. AIDS, DNK, itd), a svaku skraćenicu treba objasniti pri prvom pojavljivanju u tekstu. Ne mogu se skraćivati nazivi simptoma i znakova, kao i imena bolesti, anatomske ili histološke osobenosti. Koristiti mjere metričkog sistema u skladu sa Internacionalnim sistemom jedinica, a za lijekove generička imena, dok se uređaji označavaju trgovačkim nazivima, pri čemu je ime i mjesto proizvođača u zagradi.

Tekst rada kucati u programu za obradu teksta *Word*, sa dvostrukim proredom, isključivo fontom *Times New Roman* i veličinom slova 12. Sve margine podesiti na 25 mm, veličinu stranice na A4, a tekst kucati sa lijevim poravnanjem i uvlačenjem svakog pasusa za 10 mm, bez dijeljenja riječi. Stranice numerisati redom u okviru donje margine počev od naslovne strane.

Podaci o korištenoj literaturi u tekstu se označavaju arapskim brojevima u uglastim zagrada, npr. [3,4] i to onim redoslijedom kojim se pojavljuju u tekstu.

Za izradu grafičkih priloga koristiti standardne grafičke programe za *Windows*, iz programskog paketa *Microsoft Office (Excel)*. Kod kompjuterske izrade grafika treba izbjegavati upotrebu boja i sjenčenje pozadine.

Obim rukopisa. Obim rukopisa (ne računajući kratak sadržaj i spisak literature) za pregledni rad može iznositi najviše 12 strana, za originalni rad 10 strana, za članke iz istorije medicine, saopštenja, članke za praksu i prikaze bolesnika 6 strane, a za pismo 2 strane.

Priprema rada. Radove pripremati u skladu sa Vankuverskim dogovorom (V izdanje, revizija iz 1997) postignutim na inicijativu Međunarodnog komiteta urednika medicinskih časopisa (*International Committee of Medical Journals Editors*) *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals*: www.icmje.org - http://www.icmje.org/urm_full.pdf

Naslovna strana. Na posebnoj stranici, prvoj stranici rukopisa, treba navesti sljedeće:

- naslov rada bez skraćenica,
- puna imena i prezimena autora bez titula, indeksirana brojevima,
- zvanični naziv ustanova u kojima autori rade, mjesto i državu i to redoslijedom koji odgovara indeksiranim brojevima autora,
- kratak naslov,
- na dnu stranice navesti ime i prezime autora sa kojim će se obavljati korespondencija, njegovu adresu, kontakt telefon i e-mail adresu,
- na ovoj stranici, po želji autora, navesti izvore finansiranja kao i izjave zahvalnosti.

Kratak sadržaj i ključne riječi. Uz originalni naučni rad, saopštenje, pregledni i rad iz istorije medicine treba priložiti na posebnoj stranici kratak sadržaj do 250 riječi. Kratak sadržaj originalnog rada i saopštenja treba da ima sljedeću strukturu: uvod, metod rada, rezultati (ako je moguće navesti brojčane podatke i njihovu statističku značajnost) i zaključak. Kratak sadržaj prikaza bolesnika treba da ima uvod, prikaz bolesnika i zaključak. Kratak sadržaj preglednih radova i radova iz istorije medicine ne treba da bude struktuisan.

Na kraju kratkog sadržaja nabrojati ključne riječi ili kraće fraze (3 do 5) bitne za brzu identifikaciju i klasifikaciju članka. *Medical Subject Headings – MeSH* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh>) treba koristiti za izbor ključnih riječi.

Kratak sadržaj na engleskom jeziku. Na posebnoj stranici otkucati naslov rada, puna imena i prezimena autora, nazive ustanova i zatim kratak sadržaj sa ključnim riječima na engleskom jeziku, ukoliko je rad napisan na srpskom jeziku. Za radove napisane na engleskom jeziku osim kratkog sadržaja na engleskom jeziku potreban je i kratak sadržaj na srpskom jeziku.

Struktura rada. Svi podnaslovi se pišu boldovano. Originalni rad treba da ima sljedeće podnaslove: Uvod, Metode rada, Rezultati, Diskusija, Zaključak, Literatura. Pregled literature čine: Uvod, odgovarajući podnaslovi, Zaključak, Literatura. Autor preglednog rada mora da navede i autocitate (reference u kojima je bio prvi autor ili koautor rada) radova publikovanih u časopisima sa recenzijom. Prikaz bolesnika čine: Uvod, Prikaz bolesnika, Diskusija, Literatura. Ne treba koristiti imena bolesnika ili inicijale, brojeve istorije

bolesti, naročito u ilustracijama. Prikazi bolesnika ne smiju imati više od sedam autora.

Tabele. Svaka tabela treba da je na posebnoj stranici. Tabele se označavaju arapskim brojevima prema redosljedu navođenja u tekstu. Naslov tabele prikazuje njen sadržaj i kuca se iznad tabele. Korištene skraćenice u tabeli obavezno objasniti u legendi tabele.

Slike (fotografije). Priložiti samo kvalitetno uređene fotografije u crno-bijeloj tehnici i to u originalu i svaku na posebnoj stranici. Naslov slike otkucati, takođe, na posebnoj stranici.

Crteži (šeme, grafikoni). Priložiti samo kvalitetno urađene crteže uz obavezno dostavljanje podataka na osnovu kojih su urađeni. Grafikoni treba da budu urađeni u programu Excel. Naslove grafikona i legendu za svaki crtež napisati na posebnom listu, a grafikone označiti arapskim brojevima po redosljedu navođenja u tekstu.

Ako je bilo koja tabela, slika ili fotomikrogram već prethodno objavljen, autori su odgovorni za dobijanje pisane dozvole za reprodukciju (štampanu i onlajn) od drugih izdavača i autora, a ta dozvola mora da se priloži uz propratno pismo.

Zahvalnica. Navesti sve one koji su doprinijeli stvaranju rada a ne ispunjavaju mjerila za autorstvo, kao što su osobe koje obezbjeđuju tehničku pomoć, rukovode odjeljenjem koje obezbjeđuje opštu podršku. Finansijska i materijalna pomoć u obliku sponzorstva, stipendija, poklona, opreme, lijekova i drugog treba, takođe, da bude navedena.

Literatura. Kuca se na posebnoj stranici, s dvostrukim proredom, sa arapskim brojevima prema redosljedu navođenja u tekstu. Broj referenci ne bi trebalo da bude veći od 30, osim u preglednom radu u kome je dozvoljeno da ih bude do 50. Oko 80% citata treba da budu originalni radovi, a ostalo mogu da budu knjige, poglavlja u knjigama ili pregledni radovi. Većina citiranih naučnih članaka ne treba da bude starija od pet godina, a citiranje sažetaka treba izbjegavati.

Reference se citiraju prema tzv. Vankuverskim pravilima (Vankuverski stil). Koristiti skraćene nazive časopisa po ugledu na „Index Medicus”. Navode se imena najviše šest autora, a ako ih je više, iza šestog se dodaje „i saradnici”, odnosno „et al.” ukoliko je referenca napisana na engleskom jeziku.

Primjeri citiranja:

Članak u časopisu:

Jasselon J, Kuser BY, Wier MR. Hepatitis B surface antigenemia in a chronic hemodialysis program. Am J Kidney Dis 1987;9(6):456 – 61.

Poglavlje u knjizi:

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. The genetic basis of human cancer. New York: Mc-Graw-Hill; 2002. p. 93 – 113.

Knjiga:

Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

Članak s kongresa ili sastanka:

Vuković B, Šeguljev Z. Virusni hepatitis – aktuelan epidemiološki problem. Dani preventivne medicine. 1998, Niš. Zbornik rezimea. Niš: Institut za zaštitu zdravlja; 1998; p. 51 – 64.

Disertacija:

Radosavljević V. Faktori rizika za nastanak malignih tumora mokraćne bešike. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, 1999.

Članak za časopis u elektronskom formatu:

Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. Am J Nurs [serial on the Internet]. 2002 Jun; 102(6):[about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm> Accessed August 12, 2002

web stranica na internetu:

Cancer-Pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>. Accessed Jul 9, 2002

Prpratno pismo. Uz rukopis, obavezno priložiti pismo koje treba da sadrži: izjavu da rad prethodno nije publikovan i da nije istovremeno podnjet za objavljivanje u nekom drugom časopisu, da su rukopis pročitali i odobrili svi autori koji ispunjavaju kriterijume za autorstvo, kao i izjavu o nepostojanju sukoba interesa. Takođe je potrebno dostaviti kopije svih dozvola za: reprodukovanje prethodno objavljenog materijala, upotrebu ilustracija i objavljivanje informacija o poznatim ljudima ili imenovanje ljudi koji su doprinijeli izradi rada.

Prvi otisak se šalje autoru za korespondenciju na uvid i korekciju štamparskih grešaka. Korekcije treba izvršiti u roku od 48 sati. Ako je neophodno da se ovo vrijeme produži zbog dostavljanja otiska svim autorima, o tome treba obavijestiti uredništvo.

Errata se odnosi na greške u objavljenom članku koje je učinio autor, uredništvo ili izdavač. Čim je članak objavljen onlajn, greška može da se koriguje samo objavljivanjem „Erratum“. *Biomedicinska istraživanja* će objaviti erratum sa jasnim navođenjem rada u kom je greška učinjena, a ni odštampana ni elektronska verzija originalnog članka neće biti izmijenjena.

Povlačenje članka. Članak može biti povučen zbog ozbiljnih grešaka ili povreda etičkih principa kao što su izvođenje zaključaka na pogrešnoj kalkulaciji ili logičkim greškama, pogrešni rezultati zbog kvara na instrumentima, falsifikovani ili fabrikovani rezultati. Povlačenje članka može da zahtjeva autor(i), institucija, sponzor, urednik, izdavač. Koautore članka koji se povlači treba obavijestiti o problemu i zahtjevu za povlačenje. Povlačenje odobrava glavni urednik u konsultaciji sa uređivačkim odborom.

Napomena o povlačenju objavljuje se uz navođenje naslova rada, imena autora i razloga za povlačenje. Povučeni rad dobija oznaku „Povučen“.

Pretplata na časopis. Časopis objavljuje samo radove svojih pretplatnika. Da bi rad bio objavljen u časopisu „Biomedicinska istraživanja“, svi autori moraju biti pretplatnici na časopis. Uz rukopis rada prihvaćenog za objavljivanje treba dostaviti kopije uplatnica za pretplatu za godinu u kojoj se rad objavljuje. Inostrani autori nisu dužni da budu pretplatnici časopisa.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Biomedicinska istraživanja, a peer reviewed, open access, bi-annual journal of Faculty of Medicine Foča, University of East Sarajevo, publishes original scientific articles, previous and short communications, literature reviews, case reports, history of medicine pieces, articles for practitioners, educative articles, comments on articles already published and letters to the editors from all areas of medicine, dentistry, special education and rehabilitation and nursing.

Open access. Open access model of *Biomedicinska istraživanja* provides immediate and free access to all articles as soon as they are published online. Users are free to download, read, copy, distribute and print the full texts of these articles.

There is no article submission fee, no article processing fee and no fee to access the published papers.

Conditions. The journal publishes only those papers that have not been published previously in whole or partly, except in abstract form and it is not under consideration for publication elsewhere.

Papers are printed in Serbian or English with short abstracts in both Serbian and English.

All manuscripts are subject to independent and editorial review. Upon submission, each manuscript is evaluated by one of the editors and the manuscript passing the editor's review is sent for double-blind peer review by at least two independent expert referees. Remarks and suggestions of reviewers, if any, are sent to the author for manuscript revision. If the authors are asked to resubmit the manuscript with changes and response to comments, the editor may send the revised manuscript and author's responses to the reviewers for further review. The final decision on publishing the paper will be made by Editor-in-Chief in consultation with Editorial Board members.

Ethics. When reporting experiments on human subjects, authors should indicate whether the procedures followed and were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional and national) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000 and 2004, available at <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>. Consent of the competent ethical committee is obligatory, as well. Manuscripts with human medical research, or patient case history should contain a statement that the subject's written consent was obtained.

When reporting experiments on animals, authors should indicate whether the institutional and national guide for the care and use of laboratory animals was followed.

Conflict of interest statement. Authors are required to disclose any sponsorship or funding arrangements relating to their research and all authors should disclose any possible conflicts of interest. This note should be added in a separate section before the reference list. If no conflict exists, authors should state: The authors declare no conflict of interest. For additional information on different types of conflict of interest, see World Association of Medical Editors (WAME, www.wame.org) policy statement on conflict of interest.

Authorship. All individuals listed as authors should be qualified for authorship. Every author should have participated sufficiently in writing the article in order to take responsibility for the whole article and results presented in the text. Authorship is based only on: crucial contribution to the article conception, obtaining results or analysis and interpretation of results; design of manuscript or its critical review of significant intellectual value; final revision of the manuscript being prepared for publication. All other individuals having contributed to the preparation of the article shall be mentioned in the Acknowledgment section, with description of their activities, and their written consent.

Plagiarism Policy. *Biomedicinska istraživanja* has a strict policy against plagiarism. We define plagiarism as a case in which a paper reproduces another work with at least 25% similarity and without citation. If evidence of plagiarism is found before/after acceptance or after publication of the paper, the author will be offered a chance for rebuttal. If the arguments are not found to be satisfactory, the manuscript will be retracted and the author sanctioned from publishing papers for a period to be determined by Editorial Board.

Submission

Manuscripts should be submitted by e-mail to the following e-mail address: biomedicinskaistrazivanja@yahoo.com

General Guidelines

The text of articles should be typed succinctly in Serbian Latin or in English. Abbreviations should be used only exceptionally and for very long names of chemical substances or for names with known abbreviations such as AIDS, DNA etc. The names of symptoms and signs cannot be shortened as well as the names of diseases with anatomical or histological specificity. Use metric units (SI) and generic medicine names, and the appliances should be marked by trade names while the name and place of the manufacturer should be in the brackets.

The text should be typed in Word, double-spaced, only in Times New Roman 12 pt font, size A4 with 2.5 cm margins and with left alignment and each paragraph should be 10mm indented, without division of words. Pagination begins from the title page on the bottom margin.

Cited bibliographical references are to be marked with Arabic numerals in square brackets e.g. [3,4] in their order of appearance in the text.

Use standard graphic programmes for Windows, Microsoft Office (Excel), to design graphic attachments. Avoid colouring and shading of the background in computer graph design.

The Length of Papers. The length of papers (excluding the abstract and references) must not exceed 12 pages for review articles, 10 pages for original scientific articles, 6 pages for history of medicine pieces, communications, articles for practitioners and case reports, 2 pages for letters.

Preparations of the Papers. The papers should be prepared in accordance with the Vancouver agreement (V Edition, review from 1997) which was initiated by the International Committee of Medical Journals Editors. *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals*: www.icmje.org - http://www.icmje.org/urm_full.pdf

Title Page. The title page of the manuscript should include:

- A title of the paper without abbreviations
- Full names and surnames of the authors without titles indexed by numbers
- Official name of the institutions where the authors work and the place in order which matches indexed numbers of the authors
- Name and surname of the author responsible for correspondence, his address, telephone numbers and e-mail address should be at the bottom of the page
- If the author wishes so, this page may include sources of support and acknowledgements.

Abstract and Key Words. Original scientific articles, previous and short communications, articles for practitioners, case reports, review and history of medicine pieces must include an abstract on a separate sheet of paper, not exceeding 250 words. The abstract of original article and communication should have following structure: aims, methods, results (if possible, state specific data and their statistical significance) and conclusion. The abstract of case report should have introduction, case outline and conclusion. The abstract of review and history of medicine articles do not have to be structurized.

At the end of abstract, key words or shorter phrases (3 to 5) which are important for fast identification and classification of an article should be provided. *Medical Subject Headings – MeSH* (<http://www.nlm.nih.gov/mesh>) are to be used for selection of the keywords.

Abstract in English. On a separate sheet of paper print the title of the paper, full names and surnames of the authors, names of institutions, abstract and key words in English if the paper is written in Serbian. For papers written in English, it is necessary to provide an abstract in Serbian besides the abstract in English.

Structure of the article. All section headings should be in boldface. Original articles shall have the following section headings: Introduction, Methods, Results, Discussion, Conclusion and References. The review article includes: Introduction, corresponding section headings, Conclusion, and References. The author of a review article should cite auto-citations (references of which he was the author or co-author of the paper) of papers published in peer-reviewed journals. The case report should consist of: Introduction, Case outline, Discussion and References. No names of patients, initials or numbers of medical records, particularly in illustrations, should be mentioned. Case Reports should not have more than seven authors.

Tables. Each table should be on a separate sheet. They are to be numbered in Arabic numerals in their order of appearance in the text. The title of a table should show its contents and be printed above the

table. Abbreviations used in the tables must be explained in the footnotes.

Graphs. Submit only high-quality drawings made in Excel. Data used in graphs and diagrams must be provided. The titles of the graphs and footnotes for each drawing should be written on a separate page and indexed by Arabic numerals in order of their appearance in the text.

Figures (Photographs). Submit only original high-quality black-and-white photographs on a separate page. The title of the figure should be printed on a separate page, too.

If any tables, illustrations or photomicrographs have been published elsewhere, written consent for re-publication (in print and online) must be obtained by the author from the copyright holder and the author(s) of the original article, such permission being detailed in the cover letter.

Acknowledgment. List all those individuals having contributed to preparation of the article but having not met the criteria of authorship, such as individuals providing technical assistance, assistance in writing the paper or running the department securing general support. Financial and all other support in the form of sponsorship, grants, donations of equipment and medications, etc., should be mentioned, too.

References. It is printed on a separate sheet of paper, double-spaced, in Arabic numerals in order of their appearance in the text. The number of references should not exceed 30 except in review article where up to 50 is allowed. The majority of the cited articles should not be older than five years. Abstracts should be avoided as references.

References are cited according to so-called Vancouver rules (Vancouver style). Use abbreviated names of journals according to Index Medicus. The names of first six authors are to be listed. If there are more than six after the sixth add 'et al.'

Citation Examples

Journals article:

Jasselon J, Kuser BY, Wier MR. Hepatitis B surface antigenemia in a chronic hemodialysis program. *Am J Kidney Dis* 1987;9(6):456-61.

Chapters in a book:

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. *The genetic basis of human cancer*. New York: McGraw-Hill; p.93-113.

Books:

Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA *Medical microbiology*. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

Articles from a congress or meeting:

Vuković B, Šeguljev Z. Virusni hepatitis – aktuelan epidemiološki problem. *Dani preventivne medicine*. 1998, Niš. Zbornik rezimea. Niš: Institut za zaštitu zdravlja; 1998; p. 51-64.

Dissertations:

Radosavljević V. Faktori rizika za nastanak malignih tumora mokraćne bešike. *Doktorska disertacija*. Univerzitet u Beogradu, 1999.

Journal articles in electronic format:

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet]. 2002 Jun; 102(6):[about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm> Accessed August 12, 2002

Web pages on the Internet:

Cancer-Pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>. Accessed Jul 9, 2002

Cover letter. The cover letter should be enclosed with the manuscript, which includes the following: statement that the paper has never been published and concurrently submitted for publication to any other journal; statement that the manuscript has been read and approved by all authors who have met the criteria of authorship; and conflict of interest statements. In addition, the authors shall submit the following copies of all permits for: reproduction of formerly published material, use of illustrations and

publication of information on known people or disclosure of the names of people having contributed to the work.

Cover letter. The cover letter should be enclosed with the manuscript, which includes the following: the statement that the paper has never been published and concurrently submitted for publication to any other journal; the statement that the manuscript has been read and approved by all authors who have met the criteria of authorship; and conflict of interest statements. In addition, the authors shall submit the following copies of all permits for: reproduction of formerly published material, use of illustrations and publication of information on known people or disclosure of the names of people having contributed to the work.

Proofs. An electronic proof is sent to the corresponding author. Only typographical errors should be corrected. Corresponding authors are strongly advised to circulate proofs among all their co-authors so that all those who have contributed to the paper have the opportunity to check it carefully. The corrected proof should normally be returned within 48 hours but please do contact the Editorial Office for an extension if you are circulating proofs to your co-authors.

Errata. Errata refer to errors introduced into the article by the author(s), editorial office or the publisher. Once an article has been published online, mistakes can be corrected only by publishing an erratum. *Biomedicinska istraživanja* will publish errata to communicate necessary corrections to such errors. Once published, the erratum will be linked to the original paper, but neither the print or electronic versions of the original paper will be amended.

Retractions. Articles may be retracted because of major errors or breaches of ethics such that an article's conclusions may have been based upon faulty logic or computation, its data may have been obtained through poor instrumentation, or it may have been derived from falsified or fabricated data. Retractions may be requested by the article author(s), academic or institutional sponsor, editor or publisher. The Retraction will be assigned to the editor-in-chief of the journal, the editor who handled the paper and the Editorial Board will be consulted, too.

Co-authors listed on the original paper should be made aware of the problems with the paper and the pending retraction request. Notices of retraction will be published containing information about the original article title, author list, and the reason for the Retraction. Retracted articles will be accompanied by the related Retraction notice and will be marked as "Retracted".