

Acta

Medica

Croatia

Vol. 69 2015.
Broj 2
Zagreb

UDC 61 • AMCREF 69 (2)
73-120 (2015)
ISSN 1330-0164



ACTA MEDICA CROATICA

GLASILO AKADEMIJE MEDICINSKIH ZNANOSTI HRVATSKE
Journal of the Academy of Medical Sciences of Croatia,
Praška 2/III
10000 Zagreb
Croatia

Urednica – Editor-in-Chief
NASTJA KUČIŠEC-TEPEŠ

Gošća urednica – Guest Editor
ASJA STIPIĆ MARKOVIĆ

Tajnik – Editorial Assistant
ILIJA KUZMAN

Tehnička urednica – Editor
DUNJA BERITIĆ-STAHULJAK

Urednički odbor – Section Editors
Iva Alajbeg, Marko Banić, Nikolina Bašić Jukić, Iva Dekaris, Marko Duvnjak, Josip Djelmiš, Alenka Gagro, Josipa Kern, Petar Kes, Dragutin Košuta, Ratko Matijević, Zvonko Rumboldt, Adriana Vince

Predsjednica Uredničkog savjeta – Chief Council
JASNA LIPOZENČIĆ

Urednički savjet – Editorial Council
Mladen Belicza (Zagreb), Eugeniya Cividini (Zagreb), Theodor Dürrigl (Zagreb), Vladimir Goldner (Zagreb), Hans Georg Fassbender (Mainz), Olga Jelić (Slavonski Brod), Tatjana Jeren (Zagreb), Vjekoslav Jerolimov (Zagreb), Anica Jušić (Zagreb), Eduard Klain (Zagreb), Luka Kovačić (Zagreb), Jan Murker (München), Vasilije Nikolić (Zagreb), M. William Novick (Memphis), Vlado Oberiter (Zagreb), Željko Reiner (Zagreb), Danijel Rukavina (Rijeka), Melita Valentić-Peruzović (Zagreb), Pietro Vajlo (Napoli), John Wallwork (Cambridge), Ljiljana Zergollern-Čupak (Zagreb), Željko Zupancić (Zagreb)

Adresa Uredništva – Address of the Editorial Board
ACTA MEDICA CROATICA
Akademija medicinskih znanosti Hrvatske
Praška 2/III
10000 Zagreb, Hrvatska
Tel/fax: +385 1 46 40 586; E-mail: amzh@zg.t-com.hr

Časopis se tiska pet puta godišnje. Naručuje se neposredno od Uredništva. Godišnja pretplata u zemlji iznosi za ustanove 350,00 kn, za pojedince 150,00 kn, a uplaćuje se na broj računa 2360000-1101481831. Pretplata u inozemstvu iznosi protuvrijednost US \$ 150.- koju treba uplatiti na račun Privredna banka Zagreb, d.d. No. 70310998200-137182; Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, 10 000 Zagreb, Praška 2/III, Hrvatska (za Acta Medica Croatica).

The Journal is published five times a year. Orders can be placed directly to our Editorial Office. The annual subscription in the country for institutions 350.00 kn, for individuals 150.00 kn to be paid to the account No. 2360000-1101481831; abroad: the equivalent of US \$150.- to be paid to our foreign currency bank account "Privredna banka Zagreb, d.d." No. 703109982800-137182; Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, 10 000 Zagreb, Praška 2/III, Hrvatska (for Acta Medica Croatica).

Lektor – Language Editor
Antonija Redovniković

Omotna stranica – Cover design
Ivan Picelj

Tisak – Printed by
Business View, 10000 Zagreb, Croatia
Tiska se u 500 primjeraka – Printed in 500 copies



acta medica croatica

The Journal of the Academy of Medical Sciences of Croatia
Acta Med. Croatica • Vol. 69 No. 2 • pp 73-120, Zagreb, May 2015.

Table of Contents

Leading Article

75 Croatian guidelines for *in vitro* diagnosis of IgE mediated hypersensitivity

A. Stipić Marković, I. Ivković-Jureković, S. Dodig, I. Batišta, R. Zrinski Topić, M. Barberić, I. Topalušić, Ž. Bukovec Megla, V. Žžić

Original Paper

97 Tromboprophylaxis in patients with nonvalvular atrial fibrillation admitted in University Hospital Split, Croatia, due to ischaemic stroke in relation to thromboembolic and bleeding risk

I. Cvitković, I. Božić, V. Carević, K. Čaljkušić, A. Marović, I. Lušić, D. Fabijanić

Review

107 Noninvasive ventilation in the postoperative period

V. Nesek Adam, D. Tonković, E. Grizelj Stojčić, V. Mršić, M. Matolić, D. Marin

Clinical Observation

111 What should be known about psoriatic arthritis?

T. Kehler, L. Čabrijan

117 Obituary

Professor Luka Kovačić, MD, PhD

M. Belicza

120 Notes for Contributors

acta medica croatica

Časopis Akademije medicinskih znanosti Hrvatske

Acta Med. Croatica • Vol. 69 Br. 2 • Str. 73-120, Zagreb, svibanj 2015.

Sadržaj

Uvodnik

75 Hrvatske smjernice za *in vitro* dijagnostiku preosjetljivosti posredovane IgE protutijelima

A. Stipić Marković, I. Ivković-Jureković, S. Dodig, I. Batišta, R. Zrinski Topić, M. Barberić, I. Topalušić, Ž. Bukovec Megla, V. Žižić

Izvorni rad

97 Tromboprofilaksa u bolesnika s nevalvularnom atrijskom fibrilacijom hospitaliziranih u Kliničkom bolničkom centru Split zbog ishemijskog moždanog infarkta u odnosu na tromboembolijski rizik i rizik krvarenja

I. Cvitković, I. Božić, V. Carević, K. Čaljkušić, A. Marović, I. Lušić, D. Fabijanić

Pregled

107 Neinvazivna ventilacija u perioperacijskom razdoblju

V. Neseć Adam, D. Tonković, E. Grizelj Stojčić, V. Mršić, M. Matolić, D. Marin

Kliničko zapažanje

111 Što treba znati o psorijatičnom artritisu?

T. Kehler, L. Čabrijan

In memoriam

117 Prof. dr. sc. Luka Kovačić

M. Belicza

119 Upute autorima

acta medica croatica

Časopis Akademije medicinskih znanosti Hrvatske
Acta Med Croatica • Vol. 69 Br. 2 • Str. 73-120 • Zagreb, svibanj 2015.
The Journal of the Academy of Medical Sciences of Croatia

Indexed/abstracted in:
Biosis Previews
Cancerlit
Embase/Excerpta Medica
Health Planning and Administration
Medline/Index Medicus
Toxline
Ebsco



HRVATSKE SMJERNICE ZA *IN VITRO* DIJAGNOSTIKU PREOSJETLJIVOSTI POSREDOVANE IgE PROTUTIJELIMA

ASJA STIPIĆ MARKOVIĆ, IRENA IVKOVIĆ-JUREKOVIĆ¹, SLAVICA DODIG²,
IRENA BATIŠTA³, RENATA ZRINSKI-TOPIĆ², MONIKA BARBERIĆ³, IVA TOPALUŠIĆ,
ŽELJKA BUKOVEC MEGLA⁴ i VESNA ŽIŽIĆ⁵

Klinički bolnica Sveti Duh, Odjel za kliničku imunologiju, pulmologiju i reumatologiju, Referentni centar za kliničku alergologiju, ¹Klinika za dječje bolesti Zagreb, Odjel za pulmologiju, alergologiju, imunologiju i reumatologiju, ²Dječja bolnica Srebrnjak, Odjel za kliničko-laboratorijsku dijagnostiku, Referentni centar za kliničku alergologiju djece, ³Klinička bolnica Sveti Duh, Imunološki laboratorij, ⁴Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Klinika za onkologiju i nuklearnu medicinu, Endokrinološki laboratorij i ⁵Klinika za dječje bolesti Zagreb, Zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Hematološki laboratorij, Zagreb, Hrvatska

In vitro dijagnostika alergijskih bolesti temelji se na određivanju koncentracije ukupnih i specifičnih IgE antitijela u serumu, koncentraciji IgG antitijela, plazmatske triptaze, eozinofilnog kationskog proteina te testu aktivacije bazofilnih leukocita. Upotreba *in vitro* dijagnostičkih testova mora biti temeljena na korelaciji anamneze, kliničke slike te *in vivo* provokativnih testova. Kliničko značenje povišene serumske koncentracije ukupnih IgE antitijela u dijagnostici alergijskih bolesti jest ograničena, budući da se ona susreće i u drugim nealergijskim bolestima. Povišene koncentracije specifičnih IgE protutijela, zajedno s pozitivnom anamnezom, indikativne su za klinički značajnu alergijsku bolest. Preporučena laboratorijska metoda za određivanje koncentracije IgE protutijela u serumu jest fluoroenzimimunokemijska metoda. Povišene serumske koncentracije IgG protutijela nemaju dokazanu ulogu u dijagnostici alergije na hranu, a mogu poslužiti u procjeni uspješnosti specifične imunoterapije na alergene kukaca te procjeni rizika razvoja anafilaksije uzrokovane ovom skupinom alergena. Povišena koncentracija serumske triptaze (podtip β), indikator je degranulacije mastocita uzrokovane specifičnim alergenom. Porast koncentracije eozinofilnog kationskog proteina (EKP) nastupa tijekom kasne faze alergijske reakcije te se može koristiti u praćenju alergijskih i drugih upalnih stanja u kojima eozinofili imaju glavnu ulogu. Test aktivacije bazofilnih (BAT) leukocita temelji se na određivanju staničnih razlikovnih obilježja, CD 63 i CD203c metodom protočne citometrije. BAT je koristan u dijagnostici alergija na alergene kukaca, nutritivnih te medikamentnih alergija. Alergološka dijagnostika temeljena na ekstraktima alergena može se koristiti u monosenzibiliziranih bolesnika s jasnom kliničkom slikom te u bolesnika kojima se planira prepisati samo simptomatska terapija. U suvremenoj su kliničkoj praksi razvijenih zemalja mnogo češći polisenzibilizirani bolesnici s kompleksnom simptomatologijom te sumnjom na križnu reaktivnost. Kod ovih se bolesnika preporuča koristiti molekularnu alergološku dijagnostiku.

Ključne riječi: IgE, serumska triptaza, eozinofilni kationski protein, test aktivacije bazofila, molekularna alergološka dijagnostika

Adresa za dopisivanje: Prof. dr. sc. Asja Stipić Marković, prim., dr. med.
Odjel za kliničku imunologiju, pulmologiju i reumatologiju
Klinika za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta
Sveučilišta u Zagrebu
Klinička bolnica Sveti Duh
Sveti Duh 64
10 000 Zagreb, Hrvatska
E-pošta: asjastipic90@gmail.com

1. UVOD

Znakovi današnjeg vremena pokazuju kakvom se vanjskom okruženju obrambeni sustav čovjeka mora prilagodavati kako bi održao integritet organizma. Živimo s činjenicom da je onečišćenje zemlje dovelo do pitanja fizičkog opstanka čovjeka. Veličina problema može se

približiti mogućnostima ljudske spoznaje slikom kolone kamiona napunjenih otpadom, koji godišnje proizvede glavni grad Hrvatske, koja se proteže od Zagreba do Rijeke (200.000 tona otpada). Dakle, s jedne strane način života u civilizaciji s obiljem antigenskih determinanti, a s druge postupno eliminiranje biološke raznolikosti (organizmu osobito važnih bakterijskih

populacija s kojima egzistira u suživotu), razlog su promjena imunološkog sustava koje rezultiraju bolestima, između ostalog i pandemijskim razmjerima prevalencije alergijskih bolesti. Svi profili stručnjaka koji se bave dijagnostikom i liječenjem alergijskih bolesti danas trebaju prihvatiti principe održivog razvoja, što znači poštovati nove znanstvene spoznaje temeljene na dokazima. Na nacionalnoj razini treba uvesti principe racionalizacije, između ostalog i harmonizaciju dijagnostičke metodologije, kako bi se zaključci o stanju bolesnika mogli uspoređivati među svim regijama zemlje i inozemstva.

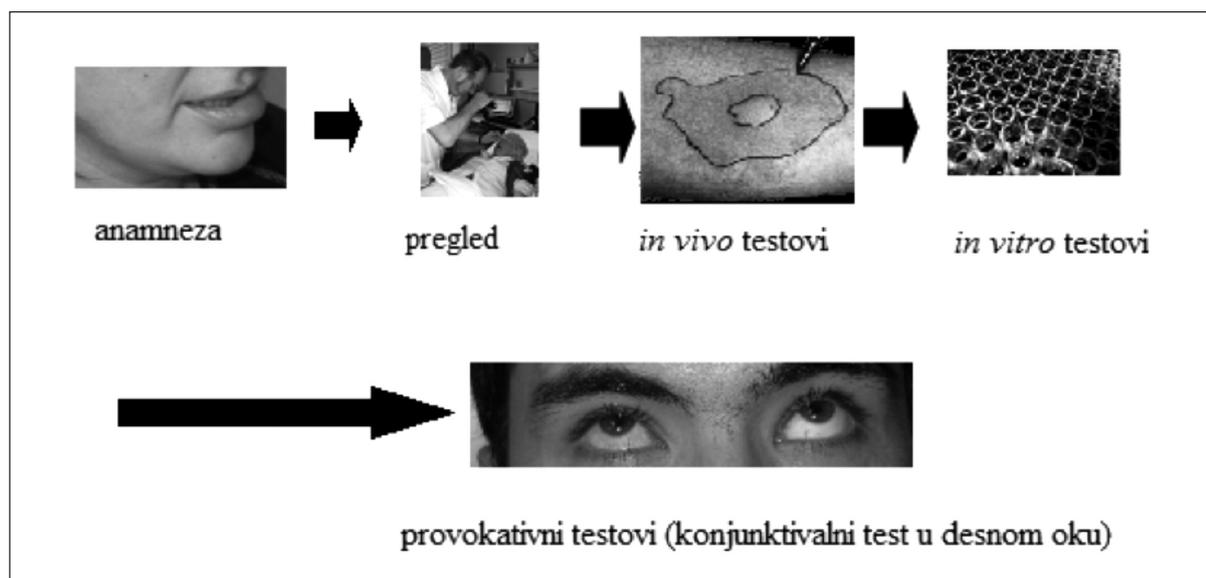
Važnost standardizacije i harmonizacije *in vivo* i *in vitro* alergološke dijagnostike

Točnost i pouzdanost dijagnostičkih postupaka koji vode ispravnoj dijagnozi bolesti, a time i izboru odgovarajućeg terapijskog modaliteta, direktno i u potpunosti su ovisni o primijenjenim laboratorijskim i kliničkim metodama, koje prema dobroj kliničkoj i laboratorijskoj praksi nužno trebaju biti standardizirane i reproducibilne. U hrvatskoj alergološkoj praksi principi standardizacije implementirani su u području tehnike kožnog testiranja, pribora za kožno testiranje, čitanja kožne reakcije i interpretacije, još od simpozija "Standardizacija dijagnostičkih postupaka u alergologiji i kliničkoj imunologiji" održanog u Zagrebu 1983. godine (1). Također se intenzivno radilo na standardizaciji alergenskih pripravaka Imunološkog zavoda u Zagrebu te je proizveden nacionalni standard za alergen *Dermatophagoides pteronyssinus* i kućni standard za alergen *Ambrosia elatior* (2,3). Alergenima je određena potentnost *in vitro* testom RAST inhibicije ali i *in*

vivo biološkom standardizacijom (4-7). Krovna europska alergološka udruga, Europska akademija za alergologiju i kliničku imunologiju, objavila je 2012. godine standardizirane preporuke za kožno testiranje ("Praktični vodič za kožni test inhalacijskim alergenima") (8) i profesionalnim alergenima (9), a prethodno, 2009. godine prijedlog harmonizacije ubodnog kožnog testa inhalacijskim alergenima (SPT, od engl. *skin prick test*, kožni test ubodom) (10,11). Smjernice objavljuju i nacionalna udruženja alergologa i kliničkih imunologa (12). Hrvatsko društvo za alergologiju i kliničku imunologiju je u cilju ujednačavanja kožnog testiranja u zemlji organiziralo dva edukacijska tečaja "Vještina izvođenja i interpretacije kožnih testova za procjenu IgE preosjetljivosti", a sudionicima su podijeljeni certifikati o osposobljenosti (13,14). U području standardizacije *in vitro* dijagnostike u Hrvatskoj su definirane vrijednosti ukupnog IgE za djecu i odrasle 2006. godine (15).

Dijagnostički postupnik u alergologiji

In vitro alergološka dijagnostika u kliničkoj praksi rijetko se koristi kao prvi dijagnostički korak, već je indicira i definira alergolog u skladu s kompetencijama koje mora posjedovati, a koje su definirane Preporukama Svjetske alergološke organizacije - WAO (od engl. *World Allergy Organisation*), čiji član je i Hrvatsko društvo za alergologiju kliničku imunologiju (16-18). Dijagnostički postupak se nakon uzimanja podataka u anamnezi i kliničkog pregleda započinje kožnim testiranjem kojim se izabiru alergeni za *in vitro* dijagnostiku (sl. 1).



Sl. 1. Algoritam dijagnostičkog postupka u alergologiji

Uloga alergologa je u predanalitičkoj fazi obratiti pozornost na vrijeme uzorkovanja. Vrijednosti ukupnog i specifičnog IgE (sIgE), te eozinofilnog kationskog proteina (EKP) u krvi ovise o tome radi li se o preosjetljivosti na cjelogodišnje ili sezonske alergene. Kod preosjetljivosti na sezonske alergene, vrijednosti IgE i EKP više su u vrijeme polinacije (4-6 tjedana nakon vrhunca polinacije, koncentracije su sIgE maksimalne, a zatim se smanjuju). Također, ne preporuča se određivati koncentraciju sIgE 6 mjeseci prije sezone, budući da je koncentracija sIgE znatno niža (19,20). Kod određivanja sIgE na alergene otrova opnokrilaca ili alergene lijekova, koncentracije se sIgE izrazito smanjuju s vremenom (21-23).

Postupnik *in vitro* dijagnostike u alergijskim bolestima

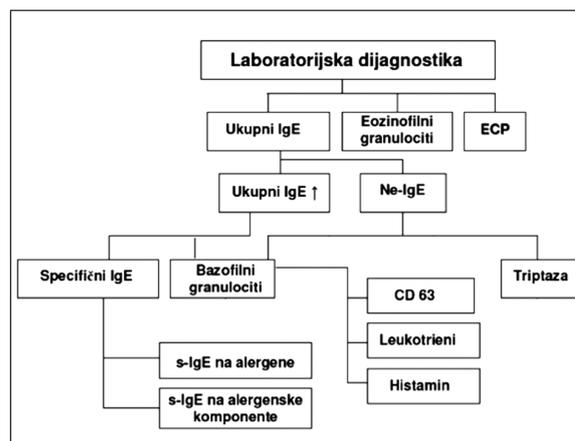
Otkriće imunoglobulina E (IgE) (Ishizaka i Johansson, 1968), omogućilo je razvoj alergološke laboratorijske dijagnostike. U Zagrebu se već 1971. godine određivao titar IgE u imunološkom laboratoriju Bolnice Sve-ti Duh (24,25). Danas, određivanje koncentracije ukupnih i alergen-specifičnih IgE protutijela čini osnovu laboratorijske alergološke dijagnostike (sl. 2) (26).

Pri tome je, osim standardizacije laboratorijskih postupaka i opreme, kritično važna standardizacija alergenskih ekstrakata. Alergen mora imati definiranu potentnost *in vitro* i *in vivo*, određenu koncentraciju odabranih glavnih alergena, a izvor alergena ne smije biti kontaminiran drugim izvorima. Projektom CREATE, financiranim od Europske Unije, 2008. godine predložen je model razvoja sveobuhvatnog panela međunarodnih referentnih preparata, kojima bi se harmonizirala alergološka dijagnostika (27). Dokazano je da su tri rekombinantna alergena rBet v 1, rPhl p5a i rDer p 2 strukturno identični prirodima i izazivaju izvrstan IgE odgovor, pa mogu biti certificirani referentni materijal. Druga skupina alergogenih proteina (rPhl p5b, rOle e1, rDer p 1, rDer f 1 i rDer f 2), kandidati su za certificirane referentne alergogene proteine nakon malih poboljšanja. Protein rPhl p 1 nije pogodan i ne može se koristiti kao referentni alergen.

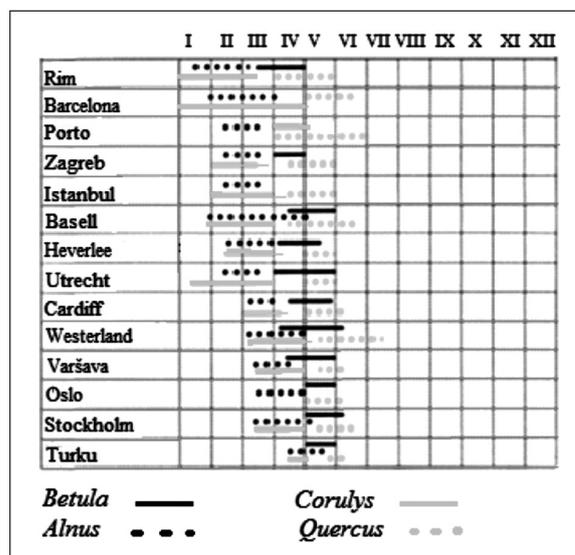
Koncentracija pojedinih inhalacijskih alergena varira ovisno o dobu godine, kako se vidi i na polenskim kartama (19,20,28) (sl. 3).

1.4. Alergološka *in vitro* dijagnostika u Republici Hrvatskoj

Danas u Republici Hrvatskoj postoji 12 laboratorija koji se bave *in vitro* dijagnostikom alergijskih bolesti, u manjem ili većem obimu (sl. 4).

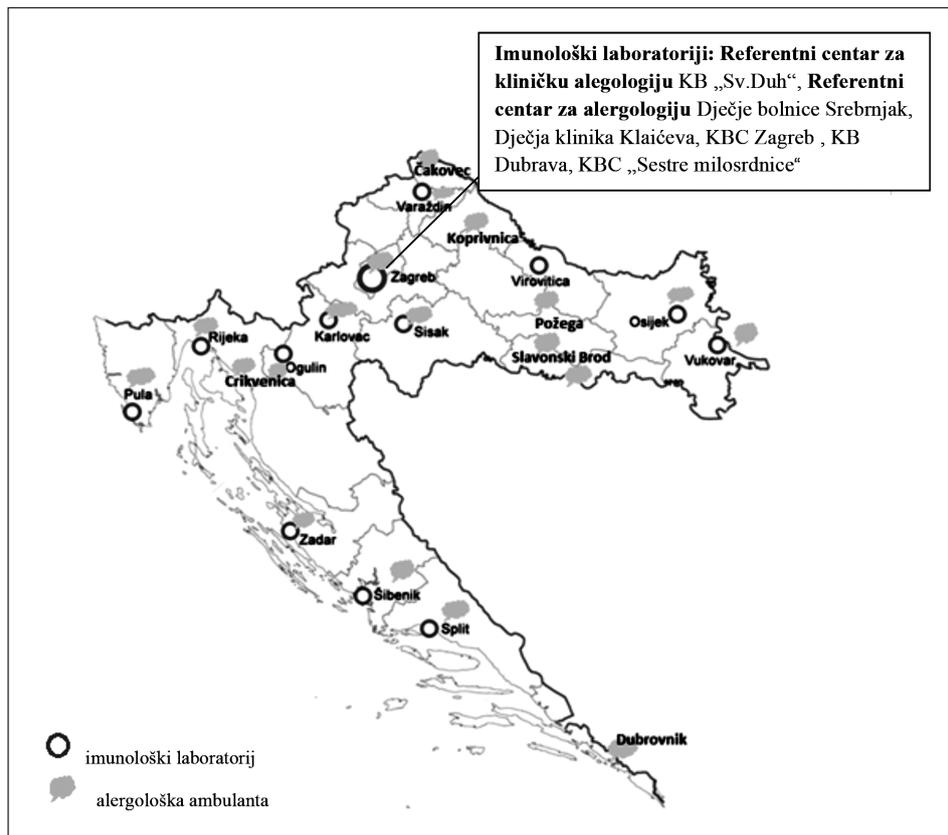


Sl. 2. Laboratorijski dijagnostički postupak kod alergijskih bolesti (preuzeto iz Dodig S. Laboratorijska dijagnostika alergija. *Pediatr Croat* 2012; 56(Supl. 1): 90-6. (26)

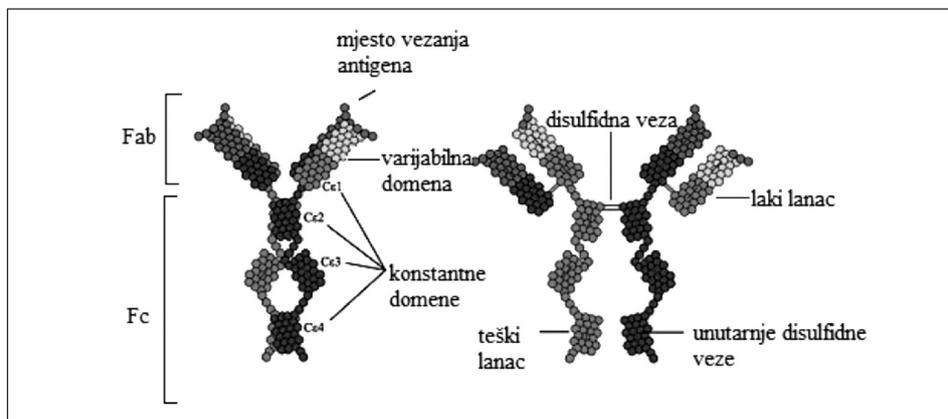


Sl. 3. Peludna karta cvjetanja stabala i trava u Zagrebu i gradovima Europe

Alergološka *in vitro* dijagnostika izvodi se u više ustanova i gradova, a alergoloških ambulanti ima značajno više u odnosu na 1990. godinu, kada ih je bilo registrirano samo 9 u 40 zdravstvenih ustanova (29). Prednosti laboratorijskih metoda su manja invazivnost (minimalna neugoda za ispitanika i bez rizika od neželjenih reakcija) te mogućnost da nadopune provokacijske testove ili ih zamijene (u osoba s dermatografizmom ili patološkim kožnim promjenama). Nedostatak tih metoda jest nemogućnost testiranja imunološke reaktivnosti ciljnih organa.



Sl. 4. Imunološki laboratoriji i alergološke ambulante u gradovima Hrvatske



Sl. 5. Struktura IgE protutijela, prikaz sprijeda i bočno

2. IMUNOGLOBULIN E

2.1. Obilježja imunoglobulina E

Od svih imunoglobulina u krvi, IgE je zastupljen u najmanjoj količini (4,1 ug/kg), budući da je gotovo sav vezan uz receptor na membrani stanica. Molekula humanog IgE građena je od četiri lanca, dva laka κ ili λ i dva teška ϵ (sl. 5). Svaki laki i teški lanac sadrži dva dijela: konstantni i varijabilni dio. Funkcionalno gledano, postoje dvije regije IgE: Fab, na koju se veže antigen te

Fc regija, kojom se IgE veže za receptore na membrani mastocita i bazofilnih granulocita (sl. 5) (30). Vezno mjesto za alergen naziva se paratop, duljine je 2 nm, dubine i širine 1 nm. Paratop uključuje varijabilne dijelove i lakog i teškog lanca (crveno). Oko 15-20 aminokiselina paratopa prepoznaju konformacijsku strukturu alergenske molekule (epitop).

Fc regija je dimer s tri domene Cε2, Cε3, Cε4. Tim fragmentom molekula IgE se usidri u membranu stanica (transmembranski dio), a dijelom ulazi u unutrašnjost



Tablica 1.

Podatci o sintezi i katabolizmu IgE (preuzeto iz Dodig S. *Imunokemija*, 2014)(30)

	Zdravi	Alergije	Mijelom IgE	Hiper-IgE
Cirkulacija	4,1 µg/kg < 117 kIU/L	stupanj senzitivacije	1,7 g/kg	
Sinteza	3,8 µg/kg/dan			>20x veća
T ½	1,8 dana	4,3 dana	5,1 dan	5,8 dana
Katabolizam	intra- i ekstravaskularno	ekstravaskularno usporava se		

1kIU = 2,4 µg/L, 100 kIU/L = 240 µg/L

stanica (intracelularni dio) koji služi kao prijenosnik signala. IgE je asimetrična i pokretljiva molekula za hvaljujući asimetrično nabranim Cε2 domenama Fc-fragmenta koje su ključne za senzibilizaciju. IgE se uglavnom sintetizira u tonzilama, adenoidnom tkivu, sluznici bronha, gastrointestinalnog trakta i peritoneuma. Sinteza IgE je sporija, a katabolizam brži od katabolizma drugih imunoglobulina. Poluživot slobodnog IgE u serumu iznosi 1,8 dana, a vezanog na stanice 14 dana. U osoba s povećanom serumskom koncentracijom IgE, katabolizam protutijela se smanjuje kako se smanjuje udio ekstravaskularnog (vezanog na stanice) IgE (tablica 1) (30). U zdravih osoba katabolizam intra- i ekstravaskularnog IgE jest uravnotežen.

Molekula IgE u svom sastavu sadrži oko 8,3 % ugljikohidrata, koji su odgovorni za križnu reaktivnost u reakciji preosjetljivosti na specifični alergen. Povećana koncentracija ukupnog i specifičnog IgE u bolesnika s alergijskim bolestima posljedica je imunološke reakcije posredovane limfocitima Th2 fenotipa (Th, od engl. *T helper*, pomoćnički limfocit T) koji proizvode proalergijske citokine (dominantno IL-4). IgE protutijela u sindromu hiper-IgE i kod bolesnika s IgE mijelomom posljedica su poremećaja regulacije sinteze i proliferacije B limfocita.

2.1.1. IgE receptori

Dvije su vrste receptora za IgE; receptori visokog afiniteta (FcεRI), te receptori niskog afiniteta za IgE (FcεRII; CD23). FcεRI, građen kao tetramer (lanci αβγ2), smješten je na membrani mastocita i bazofila (31). Gustoća receptora na membrani bazofila korelira s koncentracijom IgE u serumu, a isti su podaci dobiveni *in vitro* za mastocite (32). IgE svojim se Fc krajem veže za α podjedinicu FcεRI. Vezanje IgE na receptor dovodi do unutarstanične signalizacije aktivnošću kinaza vezanih uz β i γ podjedinice FcεRI, čime dolazi do aktivacije bazofila i mastocita te njihove degranulacije (33).

FcεRII (CD23), receptor niskog afiniteta za IgE, smješten je na membrani B i T limfocita, Langerhanovih

stanica, makrofaga, monocita, trombocita i eozinofila. Njegova je ekspresija također pojačana prisutnošću većih količina IgE u cirkulaciji. CD23 sudjeluje u modulaciji diferencijacije B limfocita, aktivacije monocita i prezentacije antigena, vežući se za antigen te prelazeći u citoplazmu stanice (tzv. solubilni, sCD23). Kod bolesnika s atopijom, pojačana je ekspresija CD23 na membrani B limfocita (34-36).

3. DEFINICIJE OSNOVNIH ALERGOLOŠKIH POJMOVA

3.1. Alergen

Alergeni su antigeni proteinskog sastava, inače bezopasne tvari koje induciraju alergijsku reakciju samo u preosjetljivih ljudi.

3.2. Izvor alergena

Izvor alergena mogu biti razne čestice, tkiva, hrana ili organizmi (npr. mačja dlaka, *D. pteronyssinus*, mlijeko, *Aspergillus fumigatus*, pelud itd.).

3.3. Alergenski ekstrakt

Alergenski ekstrakt je nepročišćena smjesa alergenskih i drugih proteina, polisaharida i lipida, dobivena ekstrakcijom iz prirodnih izvora, npr. zrna polena.

3.4. Alergenska komponenta

Alergenska komponenta je molekula (protein ili glikoprotein), identificirana pomoću specifičnog IgE (sIgE) antitijela. Alergenska komponenta može se izolirati iz prirodnog izvora (prirodni, pročišćeni alergen) ili se može proizvesti rekombinantnom DNA tehnologijom (rekombinantni alergen).





3.5. Epitop

Epitop je mjesto prepoznavanja i vezanja antitijela na ciljnu molekulu.

3.6. Kompletni alergen

Kompletni alergeni su nutritivni alergeni rezistentni na toplinu i probavne enzime, sposobni izazvati senzibilizaciju (primarni alergeni).

3.7. Sastav kompletnog alergena

Kompletni alergen je mješavina više proteina od kojih su mnogi inertni. Trodimenzionalni proteini relevantni su za indukciju sinteze IgE-a.

3.8. Glavni alergen (od engl. major allergen)

Glavni alergen je onaj alergen koji je najčešće prepoznat, tj. senzibilizira veliki broj bolesnika (prepoznaje ga >50 % IgE protutijela velikog broja seruma).

3.9. Sporedni alergeni (od engl. minor allergens)

Alergeni koje prepozna manje od 50 % IgE protutijela u velikom broju seruma.

3.10. Inkompletni alergen

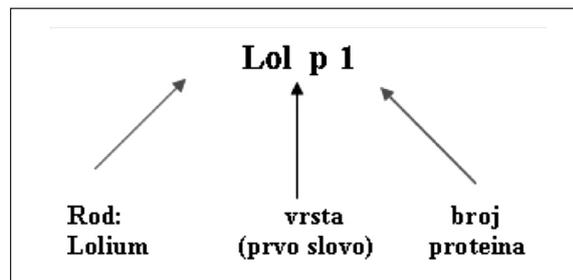
Inkompletni alergen izaziva alergijsku reakciju samo u prethodno senzibiliziranog bolesnika, budući da samostalno ne može dovesti do senzibilizacije (sekundarni alergen). Organizam je prethodno senzibiliziran inhalacijskim ili kontaktnim putem nekim strukturno sličnim kompletnim alergenom (križna reaktivnost). Inkompletni alergeni neotporni su na toplinu i probavne enzime.

3.11. Križna reaktivnost

Križna reaktivnost posljedica je vezanja specifičnih IgE protutijela na strukturno slične epitope različitih alergena. Najčešće se radi o križnoj reaktivnosti između:

- alergenskih molekula čiji su izvor srodne prirodne vrste (npr. alergeni trava)
- alergenskih molekula koje pripadaju istoj obitelji proteina (npr. između alergena Bet v1 polena breze i alergena Mal d1 jabuke)

80



Sl. 6. Nomenklatura alergena

3.12. Kosenzibilizacija

Primarna, istodobna senzibilizacija na alergene iz različitih izvora, koja nije rezultat križne reaktivnosti.

3.13. Križno reaktivne ugljikohidratne determinante

Ugljikohidratni dijelovi glikoproteina, visoko križno reaktivni sa sIgE protutijelima.

3.14. Nomenklatura alergena

Nomenklatura alergena preporučena je od Odbora za nomenklaturu Međunarodnog udruženja imunoloških društava Svjetske zdravstvene organizacije (WHO/IUIS, od engl. *World Health Organization/International Union of Immunological Societies*). Alergenski protein dobiven iz alergenskog ekstrakta označava se početnim slovima roda, prvim slovom vrste i brojem proteina prema njegovoj učestalosti izazivanja senzibilizacije, kako je prikazano na primjeru alergena iz ekstrakta trave *Lolium perenne* (višegodišnji ljulj) (sl. 6).

Početkom 2000. godine počelo je organizirano prikupljanje informacija o svim poznatim alergenim molekulama u okviru organizacije Alergome. Od tada do danas u toj bazi prikupljena je velika količina podataka, ali i prošireno djelovanje prikupljanjem informacija o izvorima alergena te o organizmima i molekulama koje se vežu uz IgE bez razvijanja alergijske reakcije. Baza je prikupila podatke iz 27 371 članka objavljenog u stručnoj i znanstvenoj literaturi.

3.15. Potentnost alergena

Potentnost alergena jest ukupna alergogena aktivnost proizvedenog ekstrakta. Potentan je onaj alergenski ekstrakt koji u preosjetljivoj osobi izaziva pozitivnu reakciju u koži. *In vitro* se dokazuje sposobnošću blokiranja specifičnog IgE (izražava se u jedinicama inhibi-



cije RAST-a). *In vivo* se dokazuje titracijskim kožnim testovima u skupini osoba preosjetljivih na određeni alergen, a izražava se, ovisno o proizvođaču, biološkim jedinicama (BU/mL, od engl. *Biologic Unit*; AU/mL, od engl. *Allergen Unit*).

4. TEMELJNI *IN VITRO* TESTOVI U DIJAGNOSTIČKOM PROCESU

Određivanje koncentracije ukupnog (uIgE) i specifičnih IgE (sIgE) središnji su dijagnostički testovi u alergologiji. Imunološki testovi, općenito, otkrivaju reakciju antigen-antitijelo (Ag-At). S obzirom da je reakcija antigen-antitijelo visoko specifična, pogodna je za dijagnostiku, jer će IgE antitijelo reagirati samo s alergenom koji je izazvao njegovu sintezu. Pokazatelji da se u laboratorijskom mediju zbila reakcija Ag-At mogu biti različiti biljezi koji se vežu za antitijelo. Ako je biljeg enzim, pokreće se reakcija sa supstratom, ako je biljeg izotop, može se detektirati radioaktivnost, dok se kod fluorogenih molekula otkriva fluorescencija. Različiti imunološki testovi dobili su ime prema biljegu za dokaz reakcije (37).

Napredak u alergološkoj *in vitro* dijagnostici je otkrivanje križne reaktivnosti IgE antitijela prema alergenskim proteinima (komponentama) alergenskih ekstrakata iz različitih izvora. Takva dijagnostika, tzv. komponentna dijagnostika (od engl. *component resolved diagnosis*) olakšava odabir specifične imunoterapije i praćenje kliničkog tijeka bolesti. Osim testova koji određuju koncentracije IgE antitijela, u alergološkom, dijagnostičkom postupku koriste se i testovi koji mjere koncentraciju biljega eozinofilne aktivacije, kao što je eozinofilni kationskog proteina (EKP), glavni bazični protein (engl. MBP, *Major Basic Protein*), eozinofilna peroksidaza (engl. EPO, *Eosinophil Peroxidase*), neurotoksin deriviran iz eozinofila (engl. EDA, *Eosinophil Derived Neurotoxin*) i eozinofilni protein X (engl. *Eosinophil Protein X*), koncentraciju IgG4 te triptaze u plazmi/serumu. Testovi određivanja aktivacije bazofila

(BAT, od engl. *Basophil Activation Test*) i koncentracije histamina i leukotrijena koriste se u posebnim indikacijama, a u rutinskoj praksi alergološke dijagnostike u Hrvatskoj još nisu zaživjeli (26).

Iako visoka koncentracija alergen specifičnih IgE antitijela ukazuje na veću vjerojatnost kliničke reakcije, neki alergeni uzrokuju pojavu simptoma i pri nižim koncentracijama sIgE (skladišni proteini, lipidni transferni proteini - LTP).

Specifična IgE senzibilizacija može se uspostaviti na samo jedan ili na više alergena:

- Monosenzibilizacija je preosjetljivost na jedan izvor alergena ili srodne izvore alergena (npr. alergeni grinja)
- Polisenzibilizacija je preosjetljivost na dva ili više izvora alergena

4.1. Određivanje ukupnih i specifičnih IgE protutijela

U krvi bolesnika određuje se koncentracija ukupnih i specifičnih IgE protutijela. Povišena koncentracija ukupnog IgE može ukazivati na atopijsku etiologiju, međutim, za potvrdu dijagnoze potrebno je odrediti razinu specifičnih IgE protutijela budući da uIgE može biti povišen i u raznim nealergijskim stanjima (37). S obzirom na to da je koncentracija IgE protutijela krvi i kod izrazito senzibiliziranih bolesnika niska, a glavni alergeni sadrže velik broj alergenskih komponenti, imunološki testovi moraju biti visoko osjetljivi i specifični, te imati dovoljno velik kapacitet vezanja svih prisutnih IgE protutijela (38). Kod interpretacije rezultata testova, u svrhu postavljanja točne dijagnoze, potrebno je znati domete testova, tj. njihovu dijagnostičku učinkovitost. To osim osjetljivosti i specifičnosti, uključuje i pozitivnu te negativnu predvidljivu vrijednost, kako je prikazano na tablici 2. Titar IgE antitijela izražava se u internacionalnim jedinicama po litri (U/L). Testovi određivanja IgE kalibriraju se prema WHO IgE standardu 75/502 (39)..

Tablica 2.

Dijagnostička djelotvornost određivanja ukupnog i specifičnog IgE

Analit	Osjetljivost (%)	Specifičnost (%)	PPV (%)	NPV (%)
uIgE	97,1	93,3	94,5	96,6
Phadiatop, odrasli	70,8	90,7	72,6	89,9
Phadiatop, djeca	65,0	100,0	100,0	93,0
sIgE, djeca s astmom*	100,0	96,7	97,3	100,0
EKP, djeca s astmom	97,4	100,0	100,0	96,8

PPV - pozitivna predvidljiva vrijednost; NPV - negativna predvidljiva vrijednost; *djeca preosjetljiva na alergen grinje *Dermatophagoides pteronyssinus*

(Preuzeto iz Dodig S. *Knjiga sažetaka sa simpozija HDAKI, Zagreb, 2014*)(32)

Tablica 3.

Vrijednosti uIgE u dječjoj dobi.

Dob/godine	<1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
uIgE(kU/L)	20,2	30,4	38,6	57,0	57,2	65,4	73,0	82,6	76,4	98,4	102,6	104,8	101,4	97,4	97,2	105,2	100,0

(Preuzeto iz Dodig S. Laboratorijska dijagnostika alergija. Paediatr Croat 2012; 56 (Supl 1): 90-96.)(26)

4.1.1. Ukupni IgE

Najstariji test za određivanje ukupnog IgE bio je radioimunosorbentni test - RIST (od engl. *Radio Immuno Sorbent Test*). Zadnjih 30-ak godina koristi se fluoroenzimimunokemijska metoda, u kojoj se detekcijska protutijela obilježavaju enzimom odnosno fluorokromima, a na kraju reakcije mjeri se završna fluorescencija. Normalnom koncentracijom ukupnog IgE smatraju se vrijednosti manje od 122 kU/L.

4.1.1.1. Ukupni IgE u djece

Posebnu pozornost potrebno je obratiti vrijednostima ukupnog IgE u dječjoj dobi. S rastom djeteta dolazi do porasta koncentracije IgE antitijela u krvi (40). U dojenačkoj dobi, koncentracije IgE antitijela izrazito su niske. Oko 9. godine života poprimaju vrijednosti koje se u odnosu na odraslu dob značajnije ne mijenjaju (tablica 3) (26). Temeljem određivanja ukupnog IgE ne mogu se striktno odijeliti bolesnici s atopijom od onih bez atopije. Primjerice, oko 5 % djece bez simptoma alergijske bolesti ima ukupni IgE iznad gornje granice za dob (15). S druge strane, djeca s koncentracijom ukupnog IgE >1000 kU/L, uvijek imaju i povećanu koncentraciju sIgE na neki alergen. Tako visoke koncentracije ukupnog IgE najčešće imaju bolesnici s atopijskim dermatitisom, astmom, cjelogodišnjim alergijskim rinitisom te sezonskim alergijskim dermatitisom (40). Zrinski Topić i sur. pokazali su da u djece mlađe od šest godina, niske vrijednosti uIgE (<10kU/L) nisu pouzdane za isključivanje alergijske senzibilizacije, te je sIgE mnogo bolji pokazatelj (41). Iako poviše-

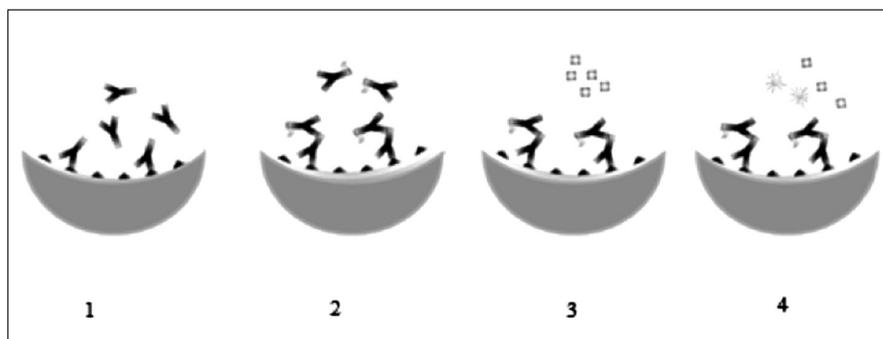
ne vrijednosti ukupnog IgE dobro koreliraju s pojavom astme, nemaju veliko značenje u probiru bolesnika s alergijskim bolestima ili procjeni težine bolesti. Dodig i sur. su 2006. godine u Hrvatskoj definirali vrijednosti ukupnog IgE za djecu i odrasle (15).

4.1.2. Specifični IgE

Najstarija metoda za određivanje sIgE je RAST (od engl. *Radio Allergo Sorbent Test*). U metodi su kao obilježivači korišteni radioaktivni izotopi. Od početne metode nastale su njene poboljšane varijante, primjenom drugih nosača (trodimenzionalnih polimera, biočipova), standardiziranih alergenskih ekstrakata i rekombinantnih alergena, te osjetljivijih obilježivača (enzima i fluorokroma) detekcijskih protutijela (npr. ImmunoCAP).

Danas se, kao i za ukupni IgE, najčešće primjenjuje metoda na hidrofilnom polimernom nosaču - immunoCAP za određivanje specifičnih IgE antitijela. Ovom je metodom moguće odrediti koncentraciju IgE protutijela specifičnih za više od 500 alergena. Alergeni su kovalentno vezani na hidrofilni polimerni nosač uklopljen u kapsulu (Immuno CAP). Alergeni reagiraju sa sIgE protutijelima iz seruma bolesnika. Nakon ispiranja, dodaju se anti-IgE protutijela obilježena beta-galaktozidazom. Dodavanjem 4-metilumbileferil-beta galaktozida, dolazi do pojave fluorescencije koja je proporcionalna koncentraciji sIgE antitijela u krvi. U odnosu na celuloznu podlogu, hidrofilni polimerni nosač može vezati oko tri puta više sIgE protutijela (sl. 7) (37).

Sl. 7. Načelo fluoroenzimimunokemijske sendvič metode za određivanje specifičnog IgE u serumu. 1. Aklergen je vezan na čvrstom polimernom nosaču te reagira s IgE-om iz seruma; 2. Nakon ispiranja dodaje se protutijelo obilježeno enzimom/fluorokromom, 3. Dodaje se supstrat enzima; 4. Reakcija se zaustavlja i mjeri završna fluorescencija



Koncentracija sIgE protutijela izražava se razredima (I-VI) ili koncentracijom sIgE (kIU/L) (tablica 4). Iako postoji mogućnost određivanja specifične senzibilizacije prema mješavini alergena (sezonski inhalacijski alergeni, alergeni hrane), zbog određenog broja lažno pozitivnih i lažno negativnih rezultata, bolju dijagnostičku vrijednost ima određivanje sIgE prema specifičnom alergenu (42). Pozitivna sIgE antitijela prema mješavini alergena upućuju na senzibilizaciju na barem 1 prisutan alergen, dok negativan rezultat ne isključuje senzibilizaciju (43-45). Isto tako, pozitivna sIgE protutijela samostalno ne znače dijagnozu alergijske bolesti, budući da više od 20 % bolesnika s pozitivnim sIgE protutijelima u krvi nema kliničke simptome (46,47). U većine bolesnika s klinički manifestnom alergijom sIgE protutijela su pozitivna. Izrazito visoka koncentracija sIgE povećava vjerojatnost pojave simptoma u bolesnika izloženog alergenu, iako nije utvrđena korelacija između koncentracije sIgE i težine simptoma (48).

Koncentracija sIgE ovisi o uzročnom alergenu. Najbolju dijagnostičku vrijednost ima određivanje sIgE protutijela na inhalacijske alergene, manju prema

alergenima hrane, a najmanju prema alergenima beta-laktamskih antibiotika te alergenima otrova opnokrilaca (26). Primjerice, čak i vrlo niske vrijednosti sIgE (>0,35 kU/L) na alergene brašna, jaja ili inhalacijske alergene, u djece mlađe od 2 godine ukazuju na rizik pojave alergije u kasnijoj dobi, dok sIgE protutijela na proteine kravljeg mlijeka nisu povezana s kasnijim komplikacijama niti pri koncentracijama sIgE 0,70-3,50 kU/L (49). Određivanje sIgE na nutritivne alergene može pokazati i lažno niže vrijednosti ako se radi o labilnim alergenima, dok je za otkrivanje preosjetljivosti na alergen otrova ose potrebna visoko osjetljiva metoda s granicom detekcije sIgE od 0,10 kU/L (50). U procjeni alergije na otrov opnokrilaca treba oprezno tumačiti rezultate kožnog testa i sIgE, naročito ako je prošlo puno vremena od kliničke reakcije. Reproducibilnost ponavljanih testova nakon 2 i 6 tjedana od uboda za oba se testa pokazala lošom (51).

Iako su manje osjetljivi, testovi mjerenja koncentracije sIgE imaju veću specifičnost od kožnog testa. Nekoliko je situacija u kojima određivanje sIgE ima prednost pred kožnim testom, a odnose se na bolesnike u kojih bi kontakt s alergenom mogao izazvati tešku anafilaktičku reakciju, nesuradljive bolesnike, prisutne generalizirane kožne promjene ili izraženi dermatografizam, te nemogućnost prekida terapije koja utječe na pozitivnost kožnog testa (antihistaminici, triciklički anti-depresivi, sistemski glukokortikosteroidi) (52-54). U ostalim se slučajevima dijagnoza mora temeljiti na korelaciji anamneze i fizikalnog statusa, kožnih testova i određivanja sIgE te eventualnoj primjeni provokacijskih testova (55). Najbolji su primjer alergijske reakcije na hranu, kod kojih s obzirom na dob i vrstu alergena, postoji tendencija određivanja granične koncentracije sIgE pri kojoj se očekuje klinička reakcija (tablica 5). Ipak, oko 50 % bolesnika reagira i kod nižih koncentracija sIgE, stoga anamneza i na njoj temeljena odluka o provođenju provokacijskih testova, ostaje vrlo važna u dijagnostici nutritivne alergije (56).

Tablica 4.

Razredi koncentracija specifičnih IgE protutijela

Normalne vrijednosti IgE ≤ 122 kU/L			
Razredi specifičnih IgE antitijela (CAP RAST):			
I	razred	0,35-0,70	kU/L
II	razred	0,71-3,50	kU/L
III	razred	3,51-17,50	kU/L
IV	razred	17,51-50,0	kU/L
V	razred	50,1-100	kU/L
VI	razred	>100	kU/L

Tablica 5.

Granične vrijednosti sIgE na nutritivne alergene, njihova osjetljivost i specifičnost u predviđanju kliničke reakcije.

Alergen	Granična vrijednost kIU/L	Osjetljivost	Specifičnost	PPV %	NPV %
Bjelanjak jajeta	7	61	95	98	38
Djeca <2 god	2			95	
Mlijeko	15	57	94	95	53
Djeca <2 god	5			95	
Kikiriki	14	57	100	100	36
Riba	20	25	100	100	89
Soja	30	44	94	73	82
Brašno	26	61	92	74	87

PPV - pozitivna prediktivna vrijednost, NPV - negativna prediktivna vrijednost

(Preuzeto iz Dodig S. Laboratorijska dijagnostika alergija. Paediatr Croat 2012; 56 (Supl 1): 90-96) (26)

4.2. Preporuka za metodu određivanja IgE u RH

Većina imunoloških laboratorija u Republici Hrvatskoj, kao i u drugim zemljama (od srednjoeuropskih zemalja, laboratoriji u Beču, Grazu, Zürichu, Berlinu), za *in vitro* dijagnostiku koriste fluoroenzimoinmunokemijsku (FEIA) metodu (ImmunoCAP) (57). Ova se metodologija smatra zlatnim standardom određivanja ukupnog i specifičnog IgE (sIgE) (58).

Na temelju dokaza iz literature te preporuka međunarodnih udruženja, a s ciljem harmonizacije *in vitro* dijagnostike na teritoriju RH, Hrvatsko društvo za alergologiju i kliničku imunologiju preporuča da ova metodologija i nadalje ostane dominantna u laboratorijskoj alergološkoj dijagnostici (59).

Naime, studija Lamberta i sur. pokazala je kako je mjerenje sIgE metodom FEIA (ImmunoCAP) izrazito točna metoda, s ponovljivim rezultatima mjerenja, pouzdanima u dijagnostici i terapiji alergijskih bolesti (60). Iako su se na tržištu pojavile i druge imunokemijske metode (kemiluminiscentne imunokemijske metode, CLIA, primjerice Immulite), istraživanja su pokazala da njihovi rezultati nisu usporedivi s rezultatima dobivenima metodom FEIA (ImmunoCAP) za sve alergenske ekstrakte. Nekoliko je studija uspoređivalo rezultate mjerenja sIgE ImmunoCAP i Immulite metodama (61,62). Studija Wang i sur. iz 2008. godine utvrdila je da mjerenje sIgE na alergene jajeta, mlijeka, kikirikija, mačje dlake, breze te *Dermatophagoides farinae* metodom CLIA, Immulite pokazuje veće vrijednosti u odnosu na metodu FEIA, ImmunoCAP (63). U studiji Szecsija i sur. iz 2011. godine, metoda CLIA, Immulite pokazala je 62 % više vrijednosti sIgE na alergene jajeta (f1), breze (t3), mačje (e1) i pseće dlake (e5), u odnosu na FEIA, ImmunoCAP. Još značajnija razlika dobivena je za rekombinantne alergene (Gal d 1, Bet v 1, Fel d 1 te Can f 1). S druge strane, pri manjim vrijednostima sIgE-a, Immulite u usporedbi s ImmunoCAP metodom pokazuje manji izmjereni rezultat. Također, Immulite pokazuje veće vrijednosti sIgE u odnosu na ukupni IgE za sva četiri alergena (64). Rezultati studija upućuju na to da dvije metode međusobno ne koreliraju. Koncentracije sIgE u djece s alergijom na proteine jajeta mjerene FEIA metodom dobro koreliraju s kliničkom prezentacijom bolesti te bi istodobno uvođenje drugih metoda otežalo dijagnostiku i kliničku procjenu bolesnika (65). Metodom FEIA može se odrediti sIgE prema većem broju alergena (i nativnih i rekombinantnih) nego metodom CLIA. Usporede li se te dvije metode za određivanje koncentracije ukupnog IgE-a, može se zaključiti kako je gornja granica linearnosti mjerenja kod FEIA značajno veća (5000 kIU/L) nego kod metode CLIA (2000 kIU/L), što zahtijeva dodatna razrjeđivanja uzorka da bi se dobio točan - kvantitativni rezultat. To u konačnici poskuplje pojedinačnu ana-

lizu. Veoma je važan i podatak o prozonskom učinku (*hook effect*) kod ovih dviju metoda, kao uzroku lažno negativnih rezultata. Proizvođači reagensa upozoravaju da prozonski učinak kod metode FEIA nastaje kod koncentracije veće od 153 000 kIU/L, a kod metode CLIA prozonski učinak nastaje već kod koncentracije od 13 000 kIU/L. Opasnost je da se kod potonje metode dobije rezultat unutar referentnih intervala (npr. < 120 kIU/L), unatoč izrazito povećanoj koncentraciji ukupnoga IgE (>13 000 kIU/L). Za praksu je također važno da kod metode FEIA kalibriranje unutar sistema traje 6 mjeseci, dok je kod metode CLIA svakih 14 dana potrebno kalibrirati, što povećava troškove analize. Konačno, rezultate navedenih istraživanja prihvatile su brojne krovne institucije, poput *National Institute of Allergy and Infectious Diseases* (SAD, 2010.) (66), *National Institute for Health and Clinical Excellence* (NICE, Velika Britanija, 2011.) (67), *PRACTAL* (europska skupina stručnjaka za astmu u djece) (68), *Američka akademija za alergologiju i kliničku imunologiju* (2008.) (69), Južnoafričko alergološko društvo (70).

4.3. Biočip tehnologija

Biočip tehnologija (engl. *microarray technology*, tehnologija na mikropostroju) omogućuje istodobno određivanje sIgE protutijela prema velikom broju alergena, koristeći jednu pločicu s panelom vezanih alergena te vrlo malu količinu seruma. Moguće je koristiti ekstrakte ili komponente alergena, a komercijalno je dostupan test ISAC (*ImmunoCAP Immuno-Solid Phase Allergen Chip*, Phadia). Test se temelji na reakciji alergena (panel od oko 112 alergena) s IgE protutijelima. Nastalom kompleksu dodaju se fluorescirajuća anti IgE protutijela, a intenzitet fluorescencije mjeri se laserski. Rezultati se izražavaju ISAC standardiziranim jedinicama (71). Izmjerene koncentracije sIgE dobivene biočipom dobro koreliraju s onima određivanima ImmunoCAP-metodom, iako je za male koncentracije sIgE klasični ImmunoCAP osjetljiviji. Također je uočena veća vremenska varijabilnost rezultata dobivenih metodom ISAC u odnosu na ImmunoCAP. Stoga se metodologija ISAC ne preporuča u kliničkom praćenju bolesnika, već u dijagnostici polisenzibiliziranih bolesnika, posebno onih kod kojih se sumnja na križnu reaktivnost (72-76).

4.4. Određivanje specifičnih IgG protutijela

Metodologija određivanja IgG protutijela analogna je ImmunoCAP-metodi. Temelji se na reakciji IgG antitijela iz seruma pacijenta sa specifičnim alergenima kovalentno vezanima za podlogu. Nakon ispiranja, dodaju se anti-IgG antitijela (ili antitijela specifična za IgG4 podskupinu) te se mjeri aktivnost nastalog kompleksa,

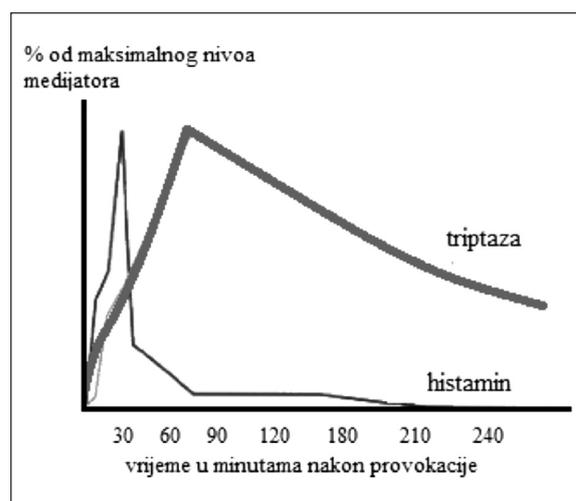
koja je proporcionalna koncentraciji specifičnih IgG protutijela (37). Alergen specifična IgG antitijela mogu se pojaviti zbog ekspozicije organizma alergenima iz okoliša ili kao posljedica specifične imunoterapije. Pojedina su istraživanja dokazala prisutnost IgG antitijela specifičnih za neke nutritivne alergene, no njihova povezanost s alergijom na hranu nije dokazana. Stoga se navedene testove ne preporuča koristiti u dijagnostici reakcija preosjetljivosti na hranu (77). Također je pokazano da za vrijeme i nakon specifične imunoterapije na alergene otrova opnokrilaca, dolazi do porasta IgG protutijela. Koncentracija IgG protutijela skromno korelira sa smanjenjem rizika anafilaksije nakon uboda opnokrilca (78). Uloga IgG protutijela nije dokazana za specifičnu imunoterapiju drugim vrstama alergena (26).

4.5. Triptaza

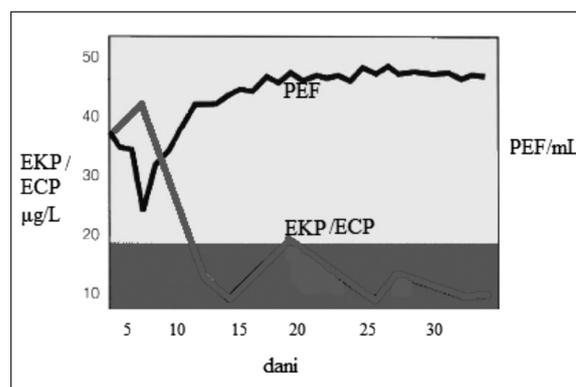
Enzim triptaza (neutralna serinska esteraza) u velikim je količinama pohranjen u sekretornim granulama mastocita. Oslobađa se nakon vezanja IgE protutijela za receptore na membrani mastocita, zajedno s histaminom i ostalim vazoaktivnim medijatorima. Smatra se biljgom aktivacije mastocita. Iako je poznato nekoliko oblika ovog enzima (I, I α , III β , T), klinički su najznačajnije α i β triptaza. S obzirom na to da se α triptaza spontano luči iz mastocita, određivanje omjera α i β triptaze daje klinički važnu informaciju o aktivaciji mastocita pod utjecajem specifičnog alergena. Triptaza je enzimatski aktivna isključivo tvoreći kompleks s heparinom. Nakon njihovog razdvajanja, prelazi u monomerni oblik te gubi enzimatsku aktivnost. Mjerenje triptaze preporuča se provesti 15 min do 3 sata nakon anafilaktičke reakcije. Ukazuje na ranu fazu alergijske reakcije. Nakon 12-24 sata, njena se koncentracija u krvi vraća na normalu (sl. 8). Koncentracija α triptaze povećana je kod bolesnika s mastocitozom. Normalna koncentracija triptaze iznosi manje od 13 $\mu\text{g/L}$. Triptaza se također određuje fluoroenzimoimunotestom - ImmunoCAP (79-84).

4.6. Eozinofilni kationski protein

Eozinofilni kationski protein (EKP) bazični je protein smješten u granulama eozinofilnih granulocita, molekularne mase 18,5 - 22 kDa. Porast koncentracije EKP moguće je detektirati u serumu, nazalnom sekretu i sputumu tijekom kasne faze alergijske reakcije (6-24 sata nakon ekspozicije alergenu), u kojoj dominantnu ulogu imaju eozinofili (85-93). EKP također se određuje fluoroenzimoimunotestom - ImmunoCAP. EKP, kao produkt degranulacije eozinofilnih granulocita ukazuje na akutnu izloženost alergenu, odnosno intenzitet alergijske upale (sl. 9). Koncentracija EKP >20



Sl. 8. Kretanje koncentracije triptaze i histamina u krvi nakon provokacije alergenom



Sl. 9. Kretanje koncentracije EKP-a u serumu u usporedbi s vrijednostima PEF-a u kasnoj fazi alergijske reakcije (PEF, od engl. Peak Expiratory Flow, vršni protok u ekspiriju)

$\mu\text{g/L}$ ima visoku prediktivnu vrijednost za razvoj astme u male djece, kod koje se za vrijeme respiracijske infekcije razvije bronhopneumonija (4). EKP se može koristiti za praćenje učinkovitosti protuupalne terapije alergijskih bolesti (95). Ipak, zbog mnogih je predanalitičkih interferencija dijagnostička vrijednost EKP-a ograničena (96). Normalne vrijednosti EKP manje su od 16 $\mu\text{g/L}$.

4.7. Test aktivacije bazofilnih leukocita

Temelj testa aktivacije bazofilnih leukocita (BAT, od engl. *Basophil Activation Test*) jest degranulacija, potaknuta vezanjem specifičnih IgE antitijela za receptore na membrani stanica. Aktivacijom i degranulacijom bazofilnih leukocita dolazi do ekspresije CD63

i CD203c staničnih obilježja na njihovoj membrani. CD63 molekule smještene su u lizosomima zajedno s histaminom, stoga koncentracija histamina korelira s ekspresijom CD63. Ekspresija CD63 (alternativno CD 203c) molekula određuje se metodom protočne citometrije (97,99). Stupanj aktivacije bazofilnih leukocita izražava se na dva načina: 1) *bazofilnom reaktivnošću*, tj. brojem aktiviranih stanica nakon izlaganja optimalnoj koncentraciji alergena, te 2) *bazofilnom osjetljivošću*, odnosno koncentracijom alergena pri kojoj je 50 % stanica aktivirano. Kod negativnog je testa aktivacije bazofila zabilježeno oko 10 % *non-respondera* u dječjoj te oko 5 % u odrasloj populaciji. Značenje testa aktivacije bazofila za kliničkog alergologa sastoji se u sljedećem:

1. Pomoć u dokazivanju preosjetljivosti na uzročni alergen
2. Praćenje tijeka alergijske bolesti
3. Procjena stupnja težine alergijske bolesti.

Najčešće korišteni alergeni u testu aktivacije bazofilnih leukocita jesu poleni, otrovi insekata, grinja, neki alergeni hrane (mlijeko, kikiriki) te neki lijekovi (npr. rukoronij, kortikosteroidi, beta laktamski antibiotici). Najveće značenje BAT- a jest u dijagnostici preosjetljivosti na otrove insekata, u cilju identifikacije klinički značajnog alergena (99,101). Nadalje, BAT se koristi u dijagnostici alergija na lijekove (beta-laktamske antibiotike, kinolone te nesteroidne antireumatike, mišićne relaksanse, kontraste i pirazolone) (102-104). Naročito je koristan za lijekove za koje ne postoji drugi specifični test (opijati, albumini, metilprednizolon, antihistaminici). Kod alergije na hranu (kikiriki, mlijeko), koristi se u praćenju uspješnosti specifične imunoterapije te procjeni rizika i težine reakcije, smanjujući potrebu za izvođenjem oralnih testova provokacije hranom (103,106). U praćenju tijeka alergijske bolesti, test je koristan u praćenju uspješnosti anti-IgE terapije (107), specifične imunoterapije (105), prirodnog smanjenja preosjetljivosti na alergene hrane (108) te procjeni stupnja težine alergijske reakcije na alergene kukca (99,101). Test je koristan u dijagnostici kronične urtikarije (109).

6. POSLIJEANALITIČKA FAZA

Poslijeanalitička faza podrazumijeva tumačenje nalaza za koje je potrebno poznavati referentne vrijednosti, predanalitičke i analitičke čimbenike te patofiziologiju alergijskih bolesti. Poseban problem je križna reaktivnost te lažno pozitivni rezultati sIgE, uzrokovani specifičnom reaktivnošću prema ugljikohidratnim determinantama (110). Problem križne reaktivnosti rješava se primjenom komponentne alergološke dijagnostike, dok

bolesnici s visokim sIgE zbog reaktivnosti prema ugljikohidratnim komponentama nemaju kliničke simptome (111,112). Tablica 6 sažeto prikazuje preporuke za *in vitro* dijagnostiku s obzirom na vrstu alergena.

7. DIJAGNOSTIKA ALERGENSKIM EKSTRAKTIMA

Ekstrakti alergena mješavine su alergena i raznih drugih proteina i polisaharida, dobiveni iz prirodnih izvora. Sastav proteina u ekstraktu određuje se tehnikama razdvajanja proteina u gelu (elektroforeza i srodne tehnike (sl. 10).

7.1. Potentnost alergenskog ekstrakta

U ekstraktu alergena nalaze se proteini koji senzibiliziraju velik broj seruma bolesnika - glavni ili *major* alergeni, te sporedni (*minor*) alergeni, prepoznati u manje od 50 % velikog broja seruma. Potentnost alergenskog ekstrakta određuje se *in vivo* i *in vitro*. *In vivo* potentnost alergena izražava se biološkim jedinicama (BU/mL), a određuje koncentracijom ekstrakta koji izazove urtikiju. *In vitro* potentnost ekstrakta određuje se blokadom IgE antitijela specifičnih za alergene iz ispitivanog seruma, a iskazuje stupnjem inhibicije RAST-a.

7.2. Standardizacija alergenskog ekstrakta

Proizvodnja kvalitetnih ekstrakata alergena nužna je u dijagnostici i specifičnoj imunoterapiji alergijskih bolesti. Istraživanja su pokazala da se kvaliteta ekstrakata razlikuje među različitim proizvođačima (120,121). S obzirom na moguću varijabilnost ekstrakata alergena, za pouzdanu dijagnostiku i terapiju, potrebna je njihova standardizacija (122). U postupku standardizacije alergena preporuča se koristiti adekvatan, nekontaminirani izvor alergena. Primjerice, pokazano je da su izvori alergena za *D. pteronyssinus* prikupljeni u različitim dijelovima svijeta pokazali različit stupanj IgE senzibilizacije (123). Danas se za izražavanje potentnosti ekstrakata koristi više različitih jedinica potentnosti alergenskog ekstrakta (tablica 7).

Kod standardizacije alergena preporuča se odrediti glavni alergen te izmjeriti njegovu koncentraciju. Reakcijom alergena sa sIgE iz velikog broja seruma RAST inhibicijom najčešće se u ekstraktu identificiraju glavni alergeni. Međutim, dio alergena se ne prepoznaju, a njihov omjer ostaje nepoznat. Određivanje koncentracije glavnog alergena u ekstraktu smatra se ključnim za provođenje supkutane specifične imunoterapije (125,126).

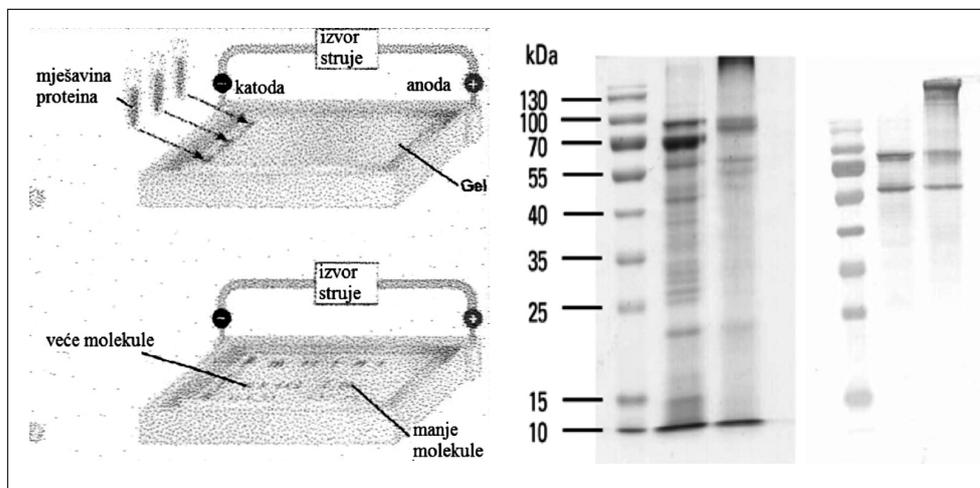
Tablica 6.

Laboratorijska dijagnostika prema vrsti alergena

VRSTA ALERGENA	PREPORUKE ZA <i>IN VITRO</i> DIJAGNOSTIČKU METODU
1. INHALACIJSKI ALERGENI	1. slgE <ul style="list-style-type: none"> • slgE na inhalacijske alergene dobro korelira s kliničkom slikom (26) • koncentracija slgE najviša je u sezoni polenacije (19,20) • preporuča se određivanje pojedinačnih, a ne grupnih inhalacijskih alergena (42,58) • panel inhalacijskih alergena ima visoku negativnu prediktivnu vrijednost u djece s bronhopneumonijama pa se može koristiti u određivanju fenotipa astme (113)
1. NUTRITIVNI ALERGENI	1. slgE <ul style="list-style-type: none"> • ne preporuča se određivanje preosjetljivosti na panele nutritivnih alergena (ISAC) ako za to ne postoji anamnestička podloga. Lažno pozitivni rezultati mogu potaknuti uvođenje nepotrebnih dijetnih restrikcija • kod bolesnika s orofaringealnim alergijskim sindromom, preporuča se odrediti slgE na križno reaktivne alergene (114) 2. BAT Kod nekih alergena (npr. kikiriki), BAT može pridonijeti procjeni težine alergijske reakcije te uspješnosti specifične imunoterapije (105-108)
3. LIJEKOVI*	1. slgE <ul style="list-style-type: none"> • testovi slgE dostupni su za lijekove velike molekulske mase (heterologni antiserum, inzulin, streptokinaza), a od manjih molekula, za penicilin. Za penicilin je specifičnost visoka, a osjetljivost niska (115-117) 2. BAT <ul style="list-style-type: none"> • koristan je u dijagnostici alergije na beta laktamske antibiotike, kinolone te nesteroidne antireumatike (100-102) • preporuča se koristiti za lijekove za koje ne postoji slgE (opijati, albumini, metilprednizolon, antihistaminici)
4. OTROVI OPNOKRILACA*	1. slgE <ul style="list-style-type: none"> • loše korelira s kliničkom slikom • u 30 % slučajeva javlja se lažna dvostruka pozitivnost na alergene ose i pčele (118,119) 2. RAST inhibicija 3. BAT <ul style="list-style-type: none"> • BAT može pridonijeti procjeni težine reakcije za vrijeme specifične imunoterapije te pomoći u diferenciranju alergena uzročnika u nejasnim slučajevima (99,103,104)
5. LATEKS*	1. slgE 2. BAT (26)

* Koncentracija slgE izrazito se smanjuje s vremenom proteklom od alergijske reakcije, preporuča se odrediti slgE 2-3 tjedna nakon incidenta, maksimalno unutar 6 mjeseci (26)

Sl. 10. Elektroforeza proteina. Proteine u ekstraktu razlikujemo prema veličini molekule





Tablica 7.

Različite jedinice kojima se definira potentnost alergenskog ekstrakta

Mjerna jedinica potentnosti alergena	Definicija mjerne jedinice
Omjer mase sirovine i volumena otapala	g/mL
Proteinsko dušična jedinica (PNU, od engl. protein- nitrogen unit)	0,01 µg protein-dušika
Jedinica ekvivalentna histaminu u testu ubodom (HEP, od engl. <i>Histamine Equivalent Prick</i>)	10 HEP odgovaraju koncentraciji alergena koja uzrokuje urtikiju jednake veličine kao 10 mg/mL histamin dihidroklorida u testu ubodom
Biološka jedinica (BU, od engl. <i>Biological Unit</i>)	Odgovara 1/1000 HEP u <i>prick</i> testu
Bioekvivalentna alergenska jedinica (BAU, od engl. <i>Bioequivalent Allergen Unit</i>)	Koncentracija otopine koja uzrokuje eritem sume ortogonalnih promjera 50 mm u intradermalnom testu

Pripremljeno prema Jeong KJ i sur. Optimization of allergen standardization. *Yonsei Med J* 2011; 52(3):393-400. (124)

8. DIJAGNOSTIKA ALERGENSKIM KOMPONENTAMA

Poteškoće u standardizaciji alergenskih ekstrakata dovele su do razvoja dijagnostike alergenskim komponentama, molekularne (MAD, od engl. *Molecular Allergy Diagnosis*) ili komponentne (CAD, od engl. *Component Resolved Diagnosis*) dijagnostike. Molekularna dijagnostika omogućava određivanje senzibilizacije bolesnika na molekularnoj razini, a umjesto alergenskih ekstrakata koristi pročišćene alergene iz prirodnih izvora ili proizvedene rekombinantnom DNA tehnologijom. Molekularna alergološka dijagnostika u kliničkoj se praksi koristi u posebnim indikacijama, definiranim smjernicama Svjetske alergološke organizacije (*WAO-ARIA-GALEN consensus document on molecular-based allergy diagnosis, 2013.*) (127). Za *in vitro* molekularnu dijagnostiku trenutno je dostupno oko 130 pročišćenih ili kloniranih molekula alergena s poznatom trodimenzionalnom strukturom.

Molekularnu dijagnostiku moguće je provesti na *singleplex* pločici (pločica za jedan analit), gdje se analizira jedan alergen te na pločici koja omogućuje testiranje velikog broja alergena (*multiplex* - milijun analita, *lowplex* i *mid-plex* - 10 do 1000 analita po jednom testu) i dijagnostiku križne reaktivnosti (biočip, *microarray* tehnologija).

8.1. Klinička primjena molekularne alergološke dijagnostike

8.1.1. Križna reaktivnost

Mnogi su proteini strukturno vrlo slični, te se prema strukturi svrstavaju u nekoliko glavnih obitelji (tablica 8), koje su izrazito konzervirane među različitim prirodnim vrstama. Kod nekih bolesnika, alergen specifi-

čna IgE protutijela zbog strukturne se sličnosti epitopa vežu na proteine iz različitih izvora alergena, što se naziva križnom reaktivnošću (tablica 9).

Molekularna dijagnostika omogućuje razlikovanje primarne senzibilizacije od križne reaktivnosti te povećava pouzdanost pretrage. Primjer je alergijska reakcija na kikiriki, kod koje se Ara h 2 smatra primarnom senzibilizirajućom molekulom, a Ara h 8 jest biljeg križne reaktivnosti između kikirikija i peluda drveća *Fagales* (128,129).

Poseban problem je križna reaktivnost između inhalacijskih i nutritivnih alergena. Križno su reaktivni inkompletni nutritivni alergeni (PR-10 i profilin), povezani s oralnim alergijskim sindromom, dok kompletni nutritivni alergeni, otporni na toplinu i probavne enzime (skladišni proteini, lipidni transferni proteini), mogu dovesti do systemske reakcije. MAD omogućuje detekciju primarnog senzibilizirajućeg alergena čime se izbjegavaju nepotrebni testovi oralnog opterećenja hranom i dijetne restrikcije te omogućuje ispravno propisivanje specifične imunoterapije (130,131). Mnogi ekstrakti alergena u svom sastavu sadrže križno reaktivne ugljikohidratne determinante. MAD omogućuje određivanje sIgE na MUXF (tip križno reaktivnih ugljikohidratnih determinanti) radi isključivanja klinički beznačajne reaktivnosti na križno reaktivne ugljikohidratne determinante glikoziliranih alergena (132).

8.1.2. Procjena rizika i težine alergijske reakcije

Procjena rizika i težine alergijske reakcije, osobito na nutritivne alergene, još je jedno područje primjene molekularne dijagnostike. Hrana sadrži molekule alergena, od kojih su neke otporne na zagrijavanje i probavne enzime (kompletni alergeni), dok druge nisu (inkompletni alergeni). Inkompletni alergeni uzrokuju



Tablica 8.

Glavne skupine proteina.

Obitelj proteina	Svojstva proteina	Članovi obitelji
PR-10 proteini (Bet v1 homologni)	neotporni na toplinu	pelud stabala, voće, povrće, orašasti plodovi
Profilini (Bet v2 homologni)	visoko križno reaktivni	pelud stabala, trava, korova, voće, povrće, orašasti plodovi
nsLTP	otporni na toplinu i probavu	voće, povrće, orašasti plodovi, pelud korova
Skladišni proteini	otporni na toplinu i probavu povezani s teškim sistemskim reakcijama	mahunarke, orašasti plodovi, sjemenke,
Tropomiozini	otporni na toplinu	grinje, rakovi, insekti

nsLTP, nespecifični lipidni transferni protein

Tablica 9.

Glavne skupine križno reaktivnih alergena

KRIŽNA REAKTIVNOST MEĐU RAZNIM PROTEINIMA			
Pelud -pelud	Pelud-biljni NA	Biljni NA-biljni NA	Pelud-biljni NA- lateks
- Ole e1 homolozi - polkalcini - pektat liaza - poligalakturonaza	- profilini - PR-10 proteini (homologni s Bet v1) - nsLTP - TLP	- skladišni proteini - ns LTP - TLP	- profilin - beta-1,3-glukanaza - heveinu slični proteini

Preuređeno prema Luengo i sur. Component resolved diagnosis: When should it be used? Clinical and translational allergy 2014;4:28; NA- nutritivni alergeni ; TLP, protein sličan taumatinu ; nsLTP, nespecifični lipidni transferni protein (130)

lokalni alergijski odgovor (oralni alergijski sindrom), dok kompletni alergeni mogu uzrokovati teže sistemske reakcije. Identifikacija alergena na koji je bolesnik senzibiliziran, poput biomarkera omogućuje predviđanje težine reakcije, savjetovanje bolesnika o izbjegavanju alergena te nepotrebnih oralnih provokacijskih testova (133).

Težina alergijske reakcije na nutritivni alergen ovisi o tipu senzibilizacije (sl. 11), afinitetu vezanja IgE za alergen, karakteristikama i količini alergena te prisutnosti kofaktora (134). Primjerice, Mal d 1 (PR-10) jabuke, homologan Bet v 1 alergenu polena breze izaziva samo oralni alergijski sindrom, dok Mal d 3 (nsLTP, primar-

ni alergen jabuke) može izazvati teže reakcije. Ipak, u literaturi je opisana anafilaksija zbog senzibilizacije na Mal d1, vjerojatno stoga što tip reakcije ne ovisi samo o senzibilizirajućem alergenu (135,136).

Pregled alergogenih komponenti nutritivnih alergena iz istog izvora s različitim potencijalom razvoja teških sistemskih reakcija na hranu prikazan je na tablici 10.

8.1.2. Propisivanje specifične imunoterapije uz pomoć molekularne alergološke dijagnostike

U većine bolesnika senzibiliziranih na jedan ili nekoliko inhalacijskih alergena bez preklapanja polenacijskih sezona pravilna se dijagnoza može postaviti primjenom ekstrakata alergena. Iako je većina bolesnika senzibilizirana na glavne alergene polena (npr. Ole e1, Bet v1), u nekim je regijama glavni senzibilizirajući alergen onaj koji se inače smatra sporednim alergenom (npr. Ole e 7 i Ole e 9). MAD može pomoći identificiranju alergena uzročnika senzibilizacije, što je ključno u prepisivanju SIT, posebice stoga što su komercijalni ekstrakti standardizirani samo za glavne alergene (137,138). Sličan je primjer alergen Can f 5 iz prostate psa na koji je senzibilizirano oko 37 % bolesnika, a koji je u ekstraktu alergena pseće dlake slabo zastupljen (139). Polisenzibilizacija na inhalacijske alergene u Eu-



Sl. 11. Rizik sistemske reakcije na nutritivne alergene ovisan o vrsti proteina

Tablica 10.

Alergene komponente iz istog izvora i rizik sistemskih reakcija

Izvor alergenske molekule	Molekule visokog rizika	Molekule niskog rizika
<ul style="list-style-type: none"> • kikiriki • lješnjak • orah • soja • voće iz roda Rosaceae • žitarice 	Ara h 1, 2, 3, 9 Cor a 8, 9 Jug r 1, 2, 3 Gly m 5, 6 Pru p 3, Mal d 3 Tri a 14, Tri a 19	Ara h 8, profilin, CCD Profilin, CCD Profilin, CCD Profilin, CCD Pru p 1, Mal d 1, profilin, CCD Profilin, CCD

Preuzeto iz Canonica GW et al. A WAO-ARIA-GA2LEN consensus document on molecular based allergy diagnostics. World Allergy Org J 2013;6:17; CCD- križno reaktivna ugljikohidratna determinanta 129

ropi vrlo je raširena. MAD ima ulogu u prepoznavanju najvažnijeg alergena uzročnika tegoba te prepisivanju ispravnog ekstrakta alergena za SIT. Kliničke su studije pokazale da je SIT jednim inhalacijskim alergenom kod polisenzibiliziranih bolesnika sigurna i učinkovita, pod uvjetom da se radi o najvažnijim senzibilizirajućem alergenima (140). MAD se također preporuča u dijagnostici alergija na otrove opnokrilaca u svrhu otklanjanja rizika lažno pozitivnog sIgE zbog križne reaktivnosti prema ugljikohidratnim antigenim determinantama te međusobne križne reaktivnosti (141).

8.1.3. Molekularna dijagnostika u tretmanu anafilaksije

Preporuča se MAD provesti u bolesnika sa sumnjom na anafilaksiju potaknutu različitim kofaktorima. Kod anafilaksije potaknute vježbanjem preporuka je odrediti sIgE na omega-5-glijadin, a kod anafilaksije uzrokovane povrćem, orašastim plodovima i žitaricama, naročito u južnoj Europi, sIgE na nespecifične transferne proteine i omega-5-glijadin, kao potencijalne kofaktore (142). Kod sumnje na anafilaksiju uzrokovanu crvenim mesom, preporuča se odrediti sIgE na galaktozu (α gal) (143). Također, smatra se da ISAC biočip tehnologija u molekularnoj dijagnostici ima mjesto u obradi idiopatske anafilaksije (144)..

8.1.4. Molekularna dijagnostika u alergiji na lateks

Kod bolesnika preosjetljivih na lateks, klinički su relevantni alergeni Hev b1, 3, 5 i 6, dok senzibilizacija na Hev b 8 ne dovodi do simptoma, te nije potrebno izbjegavanje materijala koji sadrže lateks. Uloga senzibilizacije na lateks i križne reaktivnosti na nutritivne alergene u sindromu lateks-voće nije razjašnjena (145,146).

8.1.5. Preporuke za primjenu molekularne dijagnostike

U bolesnika kojima se preporuča samo simptomatska terapija, monosenzibiliziranih bolesnika te onih s jasnom kliničkom slikom MAD ne daje značajno više informacija u odnosu na tradicionalne dijagnostičke testove. U suvremenoj su kliničkoj praksi razvijenih zemalja mnogo češći polisenzibilizirani bolesnici s kompleksnom simptomatologijom te sumnjom na križnu reaktivnost. Kod tih se bolesnika preporuča koristiti molekularnu dijagnostiku. Rutinska primjena MAD posebice se preporuča u bolesnika preosjetljivih na više inhalacijskih alergena te alergene hrane (uključujući različite kliničke manifestacije bolesti: OAS, anafilaksija, astma, ekcem).

ZAKLJUČCI

1. Molekularna dijagnostika alergijskih bolesti najkorisnija je u odabiru specifične imunoterapije, procjeni križne reaktivnosti te procjeni težine alergijske reakcije u bolesnika preosjetljivih na različite alergene.
2. Rutinska primjena molekularnih metoda preporuča se u polisenzibiliziranih bolesnika, bolesnika s nejasnom kliničkom slikom ili lošim odgovorom na primijenjenu terapiju.
3. Nema jasne koristi od primjene molekularne alergološke dijagnostike u bolesnika koji su senzibilizirani na jedan alergen te imaju jasnu kliničku sliku (147).



LITERATURA

1. Čvorišćec B, Sket-Janković N, Stipić A, Batišta I. Metode kožnog testiranja i kriteriji za procjenu kožnih reakcija. U: Standardizacija dijagnostičkih postupaka u alergologiji i kliničkoj imunologiji, Zagreb: Zbor liječnika Hrvatske, 1983, 36-52.
2. Treščec A, Kolevska T, Čvorišćec B i sur. Characterisation and partial purification of an Croatian national standard Dermatophagoides pteronyssinus allergen extract. Allergy 1993; 48: 454-9.
3. Kljaić-Turkalj M, Treščec A, Branović K i sur. Standardization of in-house reference extract of Ambrosia elatior (short ragweed pollen) and comparison with the international standard. Period Biol 1996; 98: 225-30.
4. Stipić-Marković A. Određivanje biološke aktivnosti polena korova Ambrosia elatior metodom titracionog kožnog testa. (magistarski rad). Zagreb: Sveučilište u Zagrebu; 1987, str.100.
5. Stipić-Marković A, Sket-Janković N, Čvorišćec B, Matijević Lj, Tuđman Z, Dekaris D. Reevaluation by biological standardization of known allergenic potency of a Dactylis glomerata extract. Period Biol 1986; 88: 198-9.
6. Sket-Janković N, Stipić-Marković A, Čvorišćec B i sur. Estimation of the allergenic activity of Dactylis glomerata pollen extract by inhibition of RAST assay. Period Biol 1986; 88: 195-7.
7. Stipić-Marković A, Sket-Janković N, Čvorišćec B. Određivanje potentnosti pripravka alergena Ambrosia elatior kožnim testiranjem i inhibicijom radioalergosorbentnog testa. Lijec Vjesn 1992; 114: 536.
8. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C i sur. Practical guide to prick tests in allergy to aeroallergens. Allergy 2012; 67: 18-24.
9. Van Kampen V, de Blay F, Folletti I i sur. EAACI position paper: skin prick testing in the diagnosis of occupational type I allergies. Allergy 2013; 68: 580-4.
10. Heinzerling LM, Burbach GJ, Edenharter G i sur. GA(2)LEN skin test study I: GA(2)LEN harmonization of skin prick testing: novel sensitization patterns for inhalant allergens in Europe. Allergy 2009; 64:1498-1506
11. Burbach GJ, Heinzerling LM, Edenharter G i sur. GA(2)LEN skin test study II: clinical relevance of inhalant allergen sensitizations in Europe. Allergy 2009; 64: 1507-15.
12. Rueff F, Bergmann KC, Brockow K i sur. Skin tests for diagnostics of allergic immediate-type reactions. Guideline of the German Society for Allergy and Clinical Immunology. Pneumologie 2011; 65: 484-95.
13. Zbornik radova Godišnjeg sastanka alergologa i kliničkih imunologa Hrvatske. Handout-i tečaja "Vještina izvođenja i interpretacije kožnog testa za procjenu IgE preosjetljivosti". Zagreb, 22-24. studeni 2012.
14. Zbornik radova Godišnjeg sastanka alergologa i kliničkih imunologa Hrvatske s tečajevima kožnog testiranja i plućne funkcije, Zagreb, 28-29. studeni, 2014.
15. Dodig S, Richter D, Benko B i sur. Cut-off values of total serum IgE between nonatopic and atopic children in North-West Croatia. Clin Chem Lab Med 2006; 44: 639-47.
16. Popov TA, Ledford D, Lockey RF i sur. Maintenance of skills, competencies and performance in allergy and clinical immunology: time to lay the foundation for a universal approach. World Allergy Organ J 2012; 5: 45-51.
17. Kanceljak Macan B. Koje su kompetencije kliničkog alergologa? Zbornik radova simpozija "Bez alergena nema dijagnostike i liječenja alergijskih bolesti", Zagreb, 2009, str. 29-31
18. Potter PC, Warner JO, Pawankar R, Kaliner MA, Del Giacco S, Rosewasser L. Recommendations for Competency in Allergy Training for Undergraduates Qualifying as Medical Practitioners. A Position Paper of the World Allergy Organization. WAO J 2009; 2: 150-4.
19. Di Gioacchino M, Cavallucci E, Di Stefano F i sur. Influence of total IgE and seasonal increase of eosinophilic cationic protein on bronchial hyperreactivity in asthmatic grass-sensitized farmers. Allergy 2000; 55: 1030-4.
20. Špehar M, Zovko V, Šegulja D, Zrinski Topić R, Dodig S. Examination of seasonal difference in serum interleukin-17 and interleukin-5 concentrations in ragweed-sensitized children. Aerobiologia 2012; 28: 99-105.
21. Ono T, Yoshida M, Nakazono N. Immunologic reactivity on one year follow-up of subjects without allergy to Hymenoptera stings. Asian Pac J Allergy Immunol 1997; 15: 81-8.
22. Romano A, Mayorga C, Torres Mj i sur. Immediate allergic reactions to cephalosporins: cross-reactivity and selective responses. J Allergy Clin Immunol 2000; 106: 1177-83.
23. Goldberg A, Confino-Cohen R. Timing of venom skin tests and IgE determinations after insect sting anaphylaxis. J Allergy Clin Immunol 1997; 100: 182-4.
24. Čvorišćec B, Lipozenčić J, Stipić Marković A, Paleček I. Kronološki osvrt na razvoj alergologije i kliničke imunologije u Hrvatskoj. Acta Med Croatica 2011; 65: 75-85.
25. Sket-Janković N, Valinger Z, Treščec A. Imunokemija: radioimunotest, enzimimunotest i srodne tehnike. U: Dekaris D, Čulo F i sur. (ur.). Klinička imunologija u nas. Zagreb: JAZU, 1990, 98-108.
26. Dodig S. Laboratorijska dijagnostika alergija. Paediatr Croat 2012; 56 (Suppl 1): 90-6.
27. van Ree R, Chapman MD, Ferreira F i sur. The CREATE project: development of certified reference materials for allergenic products and validation of methods for their quantification. Allergy 2008; 63: 310-26.
28. Yman L. Botanical relation and immunological cross-reactions in pollen allergy. 2nd Edition. Uppsala, Sweden: Farmacia diagnostics AB, 1982.
29. Čvorišćec B, Buneta D, Lipozenčić J, Kanceljak-Macan B, Stipić Marković A. Imunodijagnostički postupci in vivo. U: Dekaris D, Čulo F i sur. Klinička imunologija u nas. Zagreb: JAZU, 1990, 98-108.
30. Dodig S. Imunokemija, Zagreb: Medicinska naklada, 2014.
31. MacGlashan D Jr. IgE receptor and signal transduction in mast cells and basophils. Curr Opin Immunol 2008; 20: 717-23.
32. Rivera J, Fierro NA, Olivera A, Suzuki R. New insights on mast cell activation via the high affinity receptor for IgE. Adv Immunol 2008; 98: 85-120.





33. Gilfillan AM, Rivera J. The tyrosine kinase network regulating mast cell activation. *Immunol Rev* 2009; 228: 149-69.
34. Rosenwasser LJ, Meng J. Anti-CD23. *Clin Rev Allergy Immunol* 2005; 29: 61-72.
35. Weskamp G, Ford JW, Sturgill J i sur. ADAM10 is a principal 'shedase' of the low-affinity immunoglobulin E receptor CD23. *Nat Immunol* 2006; 7: 1293-8.
36. Tantisirra KG, Silverman ES, Mariani TJ, Xu J, Richter BG, Klanderman BJ. FCER2: a pharmacogenetic basis for severe exacerbations in children with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 1285-91.
37. Batišta I, Stipić Marković A, Čvorišćec B. Dijagnostika alergijskih bolesti *in vitro*. *Biochem Med* 1996; 6: 213-21.
38. Lopata A. Laboratory methods in allergology. *Curr All Clin Imm* 2006; 19: 152-4.
39. Johansson SGO, Yman L. *In vitro* assays for immunoglobulin E. *Clin Rev Allergy* 1988; 6: 93-139.
40. Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD. IgE, mast cells, basophils and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 73-80.
41. Zrinski Topić R, Dodig S, Živčić J, Raos M. Allergen specific immunoglobulin E in children under 6 years old with total immunoglobulin E below 10 kU/L. *Lab Med* 2011; 42: 158-60.
42. Johansson SGO. ImmunoCAP. Specific IgE test: an objective tool for research and routine allergy diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn* 2004; 4: 273-9.
43. Johansson SGO, Yman L. *In vitro* assays for immunoglobulin E. *Clin Rev Allergy* 1988; 6: 93-139.
44. Merrett J, Merrett TG. RAST atopy screen. *Clin Allergy* 1978; 8: 235-40.
45. Ownby DR, Anderson JA, Jacobs GL i sur. Development and comparative evaluation of a multiple-antigen RAST as a screening test for inhalant allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 73: 466-72.
46. Bousquet J, Anto J, Bachert C, Bousquet PJ, Colombo P, Cramer R. Factors responsible for differences between asymptomatic subjects and patients presenting and IgE sensitization to allergens: a GA-2LEN project. *Allergy* 2006; 61: 671-80.
47. Cramer R. The crux with a reliable *in vitro* and *in vivo* diagnosis of allergy. *Allergy* 2013; 68: 393-4.
48. Matsui EC, Sampson HA, Bahnson HT. Allergy, Allergens and Environmental Exposures. Allergen-Specific IgE as a Biomarker of Exposure Plus Sensitization in Inner-City Adolescents With Asthma. *Allergy* 2010; 65: 1414-22.
49. Kotaniemi-Syrjänen A, Reijonen TM, Romppanen J, Korhonen K, Savolainen K, Korppi M. Allergen-specific immunoglobulin E antibodies in wheezing infants: the risk for asthma in later children. *Pediatrics* 2003; 111: 255-61.
50. Guerti K, Bridts CH, Stevens WJ, Ebo DG. Wasp-venom-specific IgE: Towards a new decision threshold? *J Invest Allergol Clin Immunol* 2008; 18: 316-23.
51. Graif Y, Confino-Cohen R, Goldberg A. Reproducibility of skin testing and serum venom specific IgE in Hymenoptera venom allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006; 96: 24-9.
52. Yunginger JW, Sweeney KG, Sturner WQ i sur. Fatal food-induced anaphylaxis. *JAMA* 1988; 260: 1450-2.
53. Sampson HA, Mendelsohn L, Rosen JP i sur. Fatal and near-fatal anaphylactic reactions to food in children and adolescents. *N Engl J Med* 1992; 327: 380-4.
54. Bousquet J, Michel F-B. *In vitro* methods for study of allergy. Skin tests, techniques and interpretation. In: Middleton E Jr, Reed CE, Ellis EF, eds. *Principles and Practice in Allergy: In vivo Methods of Study of Allergy. Skin and Mucosal Tests, Techniques and Interpretation*. 4th ed. St Louis, MO: Mosby Year Book; 1993, 573.
55. Motala C. Position statement of Allergy Society of South Africa. Interpretation of specific IgE concentrations and skin-prick testing in the evaluation of food allergy. *Curr Allergy Clin Immunol* 2006; 19: 118.
56. Sampson HA. Utility of food specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 891-6.
57. Dodig S, Batišta I. Laboratorijska dijagnostika alergija i sigurnost bolesnika. *Medix* 2013; 106: 212-16.
58. Wall KM et al. Phadiatop – An atopy test with optimal allergen composition for most geographical regions. *JACI* 2014; 133: 44.
59. Dodig S. Što smatramo zlatnim standardom laboratorijske dijagnostike? Stipić Marković A, ur. *Knjiga sažetaka sa simpozija. Godišnji sastanak Hrvatskog društva za alergologiju i kliničku imunologiju s tečajevima kožnog testa i plućne funkcije, Zagreb, 2014.*
60. Lambert C, Sarrat A, Bienvenu F i sur. The importance of EN ISO 15189 accreditation of allergen-specific IgE determination for reliable *in vitro* allergy diagnosis. *Allergy* 2015; 70: 180-6.
61. Hamilton RG, Mudd K, White MA, Wood RA. Extension of food allergen specific IgE ranges from the ImmunoCAP to the IMMULITE systems. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2011; 107: 139-44.
62. Williams PB, Portnoy J. Comparing specific IgE values of 2 different assays. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2011; 107: 550.
63. Wang J, Godbold JH, Sampson HA. Correlation of serum allergy (IgE) tests performed by different assay systems. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1219-24.
64. Szecsi PB, Stender S. Comparison of Immunoglobulin E Measurements on IMMULITE and ImmunoCAP in Samples Consisting of Allergen-Specific Mouse-Human Chimeric Monoclonal Antibodies towards Allergen Extracts and Four Recombinant Allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2013; 162: 131-4.
65. Ando H, Moverare R, Kondo Y i sur: Utility of ovomucoid-specific IgE concentrations in predicting symptomatic egg allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 583-8.
66. Guidelines for the Diagnosis and Management of Food Allergy - NIAID-Sponsored Expert Panel Report; National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIH); December 2010
67. www.guidance.nice.org.uk/CG116 guidelines. Food allergy in children and young people: Diagnosis and assessment of food allergy in children and young people in primary care and community settings, 2011





68. Bernstein L, Li JT, Bernstein DI, Hamilton R, Spector SL, Tan R. Allergy Diagnostic Testing: An Updated Practice Parameter. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008;100 Suppl 3: 1-148.
69. http://www.allergysa.org/ALLSA_Newsletter/2014-09-01. Inhalant allergy testing in South Africa. A New diagnostic Approach.
70. Bacharier LB, Boner A, Carlsen KH i sur. The European Pediatric Asthma Group. Diagnosis and treatment of asthma in childhood: a PRACTAL consensus report. *Allergy* 2008; 63: 5-34.
71. Hiller R, Laffer S, Harvanegg C i sur. Microarrayed allergen molecules: diagnostic gatekeeper for allergy treatment. *FASEB J* 2002; 16: 414-16.
72. Melioli G, Bonifazi F, Bonini S i sur. The ImmunoCAP ISAC molecular allergology approach in adult multi-sensitized Italian patients with respiratory symptoms. *Clin Biochem* 2011, 44: 1005-11.
73. Gadisseur R, Chapelle JP, Cavlier E: A new tool in the field of *in vitro* diagnosis of allergy; a preliminary results in the comparison of ImmunoCAP 250 with the ImmunoCAP ISAC. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49: 277-80.
74. Wohrl S, Vigl K, Zehetmayer S i sur. The performance of a component-based allergen microarray in clinical practice. *Allergy* 2006; 61: 633-9.
75. Cabrera Freitag P, Gokikoetxea MJ, Gamboa PM, Martinez Aranguren R, Beorlegui C, Fernandez J. A study of the variability of the *in vitro* component based microarray ISAC CDR 103 technique. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2011; 21: 414-15.
76. Twaroch T. Carrier bound Alt a 1 peptides without allergenic activity for vaccination against *Alternaria alternata* allergy. *Clin Exp All* 2012; 42: 966-97.
77. Duff Hogan A, Schwartz LB. Markers of mast cell degranulation. *Methods* 1997; 13: 43-52.
78. Lin RY, Schwartz LB, Curry A i sur. Histamine and tryptase levels in patients with acute allergic reactions: an emergency department-based study. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106: 65-71.
79. Foster B, Schwartz LB, Devouassoux G i sur. Characterization of mast-cell tryptase-expressing peripheral blood cells as basophils. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 287-93.
80. Schwartz LB, Yunginger JW, Miller J i sur. Time course of appearance and disappearance of human mast cell tryptase in the circulation after anaphylaxis. *J Clin Invest* 1989; 83: 1551-55.
81. Schwartz LB, Sakai K, Bradford TR i sur. The alpha form of human tryptase is the predominant type present in blood at baseline in normal subjects and is elevated in those with systemic mastocytosis. *J Clin Invest* 1995; 96: 2702-10.
82. Jogie-Brahim S, Min HK, Fukuoka Y i sur. Expression of alpha-tryptase and beta-tryptase by human basophils. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 1086-92.
83. Moqbel R, Barkaus J, Bradley BL i sur. Application of monoclonal antibodies against major basic protein (MBK-13) and eosinophil cationic protein (EG1 and EG2) for quantifying eosinophils in bronchial biopsies from atopic asthma. *Clin Exp Allergy* 1992; 22: 265-73.
84. Zweiman B, Atkins PC, Moskovitz A i sur. Cellular inflammatory responses during immediate, developing, and established late-phase allergic cutaneous reactions: effects of cetirizine. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 341-7.
85. Jordan TR, Rasp G, Pfrogner E i sur. An approach of immunoneurological aspects in nasal allergic late phase. *Allergy Asthma Proc* 2005; 26: 382-90.
86. Ronchi MC, Piragino C, Rosi E i sur. Do sputum eosinophils and ECP relate to the severity of asthma? *Eur Respir J* 1997; 10: 1809-13.
87. Shields MD, Brown V, Stevenson EC i sur. Serum eosinophilic cationic protein and blood eosinophil counts for the prediction of the presence of airways inflammation in children with wheezing. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 1382-9.
88. Ferguson AC, Vaughan R, Brown H i sur. Evaluation of serum eosinophilic cationic protein as a marker of disease activity in chronic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95: 23-8.
89. Joseph-Bowen J, de Klerk N, Holt PG i sur. Relationship of asthma, atopy and bronchial responsiveness to serum eosinophil cationic proteins in early childhood. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 1040-5.
90. Koh YY, Kang H, Kim CK. Ratio of serum eosinophil cationic protein/blood eosinophil counts in children with asthma: comparison between acute exacerbation and clinical remission. *Allergy Asthma Proc* 2003; 24: 269-74.
91. Yu J, Yoo Y, Kim do K i sur. Bronchial responsiveness and serum eosinophil cationic protein levels in preschool children with recurrent wheezing. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 94: 686-92.
92. Hyvärinen MK, Kotaniemi-Syrjänen A, Reijonen TM, Piippo-Savolainen E, Korppi M. Eosinophil activity in infants hospitalized for wheezing and risk of persistent childhood asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 2010; 21: 96-103.
93. Dodig S. Current laboratory diagnosis of allergy. *Rad Medical Sciences* 2008; 32: 117-28.
94. Zrinski Topić R, Dodig S. ECP - current concepts and controversies. *Biochem Med* 2011; 21: 111-21.
95. Hausmann OV, Gentinetta T, Bridts CH, Ebo DG. The basophil activation test in immediate-type drug allergy. *Immunol Allergy Clin North Am* 2009; 29: 555-66.
96. Glaumann S, Nopp A, Johansson SGO, Borres MP, Nilsson C. Oral peanut challenge identifies an allergy but the peanut allergen threshold sensitivity is not reproducible. *PLoS One* 2013; 8: e53465.
97. Hoffmann HJ, Frandsen PM, Christensen LH, Schiøtz PO, Dahl R. Cultured Human Mast Cells Are Heterogeneous for Expression of the High-Affinity IgE Receptor FcεRI. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;157: 246-50.
98. Dodig S. Interferences in quantitative immunochemical methods. *Biochem Med* 2009; 19: 50-62.
99. Korosec P, Erzen R, Silar M, Bajrovic N, Kopac P, Kosnik M. Basophil responsiveness in patients with insect sting allergies and negative venom-specific immunoglobulin E and skin prick test results. *Clin Exp Allergy* 2009; 39: 1730-7.
100. Eberlein B, Krischan L, Darsow U, Ollert M, Ring. Double positivity to bee and wasp venom: improved diagnostic procedure by recombinant allergen-based IgE testing and basophil activation test including data about cross-reactive





- carbohydrate determinants. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 155-61.
101. Eržen R, Košnik M, Silar M, Korošec P. Basophil response and the induction of a tolerance in venom immunotherapy: a long-term sting challenge study. *Allergy* 2012; 67: 822-30.
102. Gamboa P, Sanz ML, Caballero MR i sur. The flow-cytometric determination of basophil activation induced by aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) is useful for *in vitro* diagnosis of the NSAID hypersensitivity syndrome. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1448-57.
103. Sanz ML, Gamboa PM, Antepara I i sur. Flow cytometric basophil activation test by detection of CD63 expression in patients with immediate-type reactions to betalactam antibiotics. *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 277-86.
104. Torres MJ, Padial A, Mayorga C i sur. The diagnostic interpretation of basophil activation test in immediate allergic reactions to betalactams. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1768-75.
105. Zidarn M, Košnik M, Šilar M, Bajrović N, Korošec P. Sustained effect of grass pollen subcutaneous immunotherapy on suppression of allergen-specific basophil response; a real-life, nonrandomized controlled study. *Allergy* 2015; 70: 547-55.
106. Santos AF, Du Toit G, Douiri A i sur. Distinct parameters of the basophil activation test reflect the severity and threshold of allergic reactions to peanut. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135: 179-86.
107. Nopp A, Johansson SGO, Ankerst J i sur. Basophil allergen threshold sensitivity: a useful approach to anti-IgE treatment efficacy evaluation. *Allergy* 2006; 61: 298-302.
108. Wanich N, Nowak-Węgrzyn A, Sampson HA, Shreffler WG. Allergen-specific basophil suppression associated with clinical tolerance in patients with milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 789-94.
109. Kang MG, Song WJ, Park HK. Basophil Activation Test with Food Additives in Chronic Urticaria Patients. *Clin Nutr Res* 2014; 3: 9-16.
110. Nicolaou N, Custovic A. Molecular diagnosis of peanut and legume allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2011; 11: 222-8.
111. Voskresensky Baričić T, Dodig S. Birch pollen associated peanut allergies in children. *Aerobiologia* 2013; 29: 85-93.
112. Akkerdaas JH, Wensing M, Knulst AC i sur. How accurate and safe is the diagnosis of hazelnut allergy by means of commercial skin prick test reagents? *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 132: 132-40.
113. Fiocchi A, Besana R, Ryden AC i sur. Differential diagnosis of IgE mediated allergy in young children with wheezing or eczema symptoms using a single blood test. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004; 93: 328-33.
114. Sampson HA, Aceves S, Bock SA i sur. Food allergy: A practice parameter update—2014. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134: 1016-25.
115. Blanca M, Mayorga C, Torres MJ i sur. Clinical evaluation of Pharmacia CAP System RAST FEIA amoxicilloyl and benzylpenicilloyl in patients with penicillin allergy. *Allergy* 2001; 56: 862-70.
116. Fontaine C, Mayorga C, Bousquet PJ i sur. Relevance of the determination of serum-specific IgE antibodies in the diagnosis of immediate beta-lactam allergy. *Allergy* 2007; 62: 47-52.
117. Bernstein ID, Blessing-Moore J, Cox L, Lang MD; Nicklas RA. Drug Allergy: An Updated Practice Parameter. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2010; 105: 73e1-e78.
118. Egner W, Ward C, Brown DL, Ewan PW. The frequency and clinical significance of specific IgE to both wasp (*Vespula*) and honey-bee (*Apis*) venoms in the same patient. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 26-34.
119. Jappe U, Raulf-Heimsoth M, Hoffmann M, Burow G, Hubsch-Muller C, Enk A. *In vitro* hymenoptera venom allergy diagnosis: improved by screening for cross-reactive carbohydrate determinants and reciprocal inhibition. *Allergy* 2006; 61: 1220-9.
120. Curin M, Reininger R, Swoboda I, Focke M, Valenta R, Spitzauer S. Skin prick test extracts for dog allergy diagnosis show considerable variations regarding the content of major and minor dog allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 154: 258-63.
121. Morrow KS, Slater JE. Regulatory aspects of allergen vaccines in the US. *Clin Rev Allergy Immunol* 2001; 21: 141-52.
122. Burazer L, Milovanovic K, Milovanovic M, Vuckovic O, Velickovic TC, Gavrovic-Jankulovic M. Impact of Dermatophagoides pteronyssinus mite body raw material on house dust mite allergy diagnosis in a Serbian population. *Med Vet Entomol* 2011; 25: 77-83.
123. May JC, Sih JT, Miller JR, Seligmann EB Jr. Optimization of parameters in protein nitrogen unit precipitation procedure for allergenic extracts. *J Allergy Clin Immunol* 1979; 63: 87-97.
124. Yeong KJ, Hong SC, Lee JS, Won Park J. Optimization of allergen standardization. *Yonsei Med J* 2011; 52: 393-400.
125. Turkeltaub PC, Rastogi SC, Baer H, Anderson MC, Norman PS. A standardized quantitative skin-test assay of allergen potency and stability: studies on the allergen dose-response curve and effect of wheal, erythema, and patient selection on assay results. *J Allergy Clin Immunol* 1982; 70: 343-52.
126. Ibarrola I, Sanz ML, Gamboa PM i sur. Biological characterization of glutaraldehyde-modified *Parietaria judaica* pollen extracts. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 303-9.
127. Kaul S, Lüttkopf D, Kastner B i sur. Mediator release assays based on human or murine immunoglobulin E in allergen standardization. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 141-50.
128. Ferreira F, Briza P, Inführ D i sur. Modified recombinant allergens for safer immunotherapy. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2006; 5: 5-14.
129. Canonica GW, Ansotegui IJ, Pavenkar R i sur. A WAO-ARIA- GA2LEN consensus document on molecular based allergy diagnostics. *World Allergy Org J* 2013; 6: 1-17.
130. Luengo O, Cardona V. Component resolved diagnosis. When should it be used? *Clinical and translational allergy* 2014; 4: 28-37.
131. Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. *Clin Exp Allergy* 2010; 40: 1442-60.
132. Asarnej A, Nilsson C, Lidholm J i sur. Peanut component Ara h 8 sensitization and tolerance to peanut. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 468-72.





133. Katelaris CH. Food allergy and oral allergy syndrome. *Curr Opin Allergy Immunol* 2010; 10: 246-51.
134. Ebo DG, Hagendorens MM, Bridts CH, De Clerck LS, Stevens WJ. Sensitization to cross reactive carbohydrate determinants and the ubiquitous protein profilin: Mimickers of allergy. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 137-44.
135. Wölbing F, Biedermann T. Anaphylaxis: Opportunities of stratified medicine for diagnosis and risk assessment. *Allergy* 2013; 68: 1499-1508.
136. Asero R, Pravettoni V, Anaphylaxis to plant foods and pollen allergens in patients with lipid transfer protein syndrome. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2013; 13: 379-85.
137. Röseler S, Balakirski G, Plange J i sur. Anaphylaxis to PR-10 proteins (Bet v1 homologues). *Hautarzt* 2013; 64: 890-2.
138. Barber D, De La Torre F, Feo F i sur. Understanding patient sensitization profiles in complex pollen areas: a molecular epidemiological study. *Allergy* 2008; 63: 1550-8.
139. Barber D, De La Torre F, Feo F i sur. Degree of olive pollen exposure and sensitization patterns. Clinical implications. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2007; 17: 11-16.
140. Curin M, Reininger R, Swoboda I, Focke M, Valenta R, Spitzauer S: Skin prick test extracts for dog allergy show considerable variations regarding the content of major and minor dog allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 154: 258-63.
141. Calderon MA, Cox L, Casale TB, Moingeon P, Demoly P. Multiple allergen and single allergen immunotherapy strategies in polysensitized patients: looking at the published evidence. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 929-34.
142. Müller U, Schmidt Grendelmeier P, Hausmann O, Helbling A. IgE to recombinant allergens Api m1, Ves v1, Vesv 5 distinguish double sensitization from cross reaction in venom allergy. *Allergy* 2012; 67: 1069-73.
143. Cardona V, Luengo O, Garriga T, Labrador Horrillo M, Sala Cunil A, Izquierdo A. Co factor enhanced food allergy. *Allergy* 2012; 67: 1316-18.
144. Tripathi A, Commins SP, Heymann PW, Platts Mills TA. Delayed anaphylaxis to red meat masquerading as idiopathic anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2014; 2: 259-65.
145. Heaps A, Carter S, Selwood C, Moody M, Unsworth J, Deacock S. The utility of the ISAC Allergen Array in the investigation of idiopathic anaphylaxis. *Clin Exp Immunol* 2014; 177: 483-90.
146. Ott H, Schroder C, Raulf Heinsoth M i sur. Microarrays of recombinant Hevea brasiliensis proteins: a novel tool for the component resolved diagnosis of natural rubber latex allergy. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2010; 20: 129-38.
147. Sanchez-Monge R, Blanco C, Lopez-Torres G i sur. Differential allergen sensitization patterns in chestnut allergy with or without associated latex fruit syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 705-15.

SUMMARY

CROATIAN GUIDELINES FOR *IN VITRO* DIAGNOSIS OF IgE MEDIATED HYPERSENSITIVITY

A. STIPIĆ MARKOVIĆ, I. IVKOVIĆ-JUREKOVIĆ¹, S. DODIG², I. BATIŠTA³, R. ZRINSKI-TOPIĆ²,
M. BARBERIĆ³, I. TOPALUŠIĆ, Ž. BUKOVEC MEGLA⁴ and V. ŽIŽIĆ⁵

Sveti Duh University Hospital, Department of Clinical Immunology, Pulmonology and Rheumatology, Referral Center for Clinical Allergology, ¹Zagreb Children's Hospital, Department of Clinical Immunology, Allergology, Pulmonology and Rheumatology, ²Srebrnjak Children's Hospital, Department of Clinical and Laboratory Diagnosis, Referral Center for Clinical Allergology in Childhood, ³Sveti Duh University Hospital, Laboratory of Immunology, ⁴Sestre milosrdnice University Hospital Center, Clinical Department of Oncology and Nuclear Medicine, Laboratory of Endocrinology and ⁵Zagreb Children's Hospital, Department of Laboratory Diagnosis, Zagreb, Croatia

In vitro diagnostic procedure in allergology includes determination of serum levels of total and allergen specific IgE antibodies, allergen specific IgG antibodies, plasma tryptase, eosinophil cationic protein (ECP) and basophil activation test (BAT). *In vitro* tests should be used according to clinical history, physical examination, and *in vivo* methods for allergy testing. Clinical relevance of elevated total IgE in allergy diagnosis is modest, since it can be caused by other conditions. Elevated serum levels of allergen specific IgE antibodies, together with positive medical history, are indicative of clinically relevant allergy. A recommended laboratory method for total and specific IgE concentration measurement is the sandwich-type fluoroimmunoassay ImmunoCAP, considered as an ideal immunoassay. Serum levels of allergen specific IgG antibodies have no proved clinical relevance in food allergy diagnosis. They can be useful to monitor venom immunotherapy success, as well as to estimate the risk of venom induced anaphylaxis. Elevated plasma tryptase (subtype β) level is an indication of mast cell activation caused by specific allergen. It





should be obtained within 4 hours after an anaphylactic episode. Elevated level of ECP can be detected in patient blood during late phase of allergic reaction. It can be used to monitor patients with chronic allergenic and inflammatory conditions in which eosinophils play a central role. BAT includes measurement of CD 63 (cluster of differentiation) and CD 203 antigens of the molecular surface by flow cytometry. It is useful in the diagnosis of venom, food and drug allergy, estimation of severity of allergic disease and natural tolerance to allergens. *In vitro* tests based on allergen extracts can be used for *in vitro* diagnosis in monosensitized patients with clear medical history and symptomatic treatment. Molecular allergy diagnosis should be performed in special clinical indications such as diagnosis of cross reactivity, prescription of specific immunotherapy (especially in polysensitized patients with complex symptoms), diagnosis of idiopathic or cofactor induced anaphylaxis, latex allergy, and assessment of the risk of allergic reaction to specific allergen.

Key words: IgE, plasma tryptase, eosinophil cationic protein, basophil activation test, molecular allergy diagnosis



TROMBOPROFILAKSA U BOLESNIKA S NEVALVULARNOM ATRIJSKOM FIBRILACIJOM HOSPITALIZIRANIH U KLINIČKOM BOLNIČKOM CENTRU SPLIT ZBOG ISHEMIJSKOG MOŽDANOG INFARKTA U ODNOSU NA TROMBOEMBOLIJSKI RIZIK I RIZIK KRVARENJA

IVANA CVITKOVIĆ, IVONA BOŽIĆ¹, VEDRAN CAREVIĆ², KREŠIMIR ČALJKUŠIĆ³, ANTON MAROVIĆ³, IVO LUŠIĆ³ i DAMIR FABIJANIĆ²

Privatna kardiološka ordinacija "dr Rakić", Split, Klinički bolnički centar Split, ¹Klinika za unutarnje bolesti, ²Zavod za bolesti srca i krvnih žila i ³Klinika za neurologiju, Split, Hrvatska

Cilj rada bio je procijeniti usklađenost propisivanja tromboprolifakse u bolesnika s nevalvularnom atrijskom fibrilacijom (nAF) prigodom prijama na liječenje zbog ishemijskog moždanog infarkta sa smjernicama Europskog kardiološkog društva za tromboprolifaksu u bolesnika s nAF. U presječno retrospektivno istraživanje je uključeno 327 bolesnika [143 (44 %) muškaraca] s nAF, liječenih zbog ishemijskog moždanog infarkta. Tromboembolijski (TE) rizik procijenjen je sustavom CHA₂DS₂-VASc, a rizik krvarenja sustavom HAS-BLED. Prije doživljenog ishemijskog moždanog infarkta 98,2 % bolesnika pripadalo je skupini velikog tromboembolijskog rizika. Od tog broja tromboprolifaksu je primjenjivalo samo 179 (55 %) bolesnika: 65,5 % bolesnika primjenjivalo je acetilsalicilnu kiselinu, 30,5 % varfarin, a 4 % klopidogrel. Raniji tromboembolijski incident nezavisno je korelirao s primjenom (OR 2,5; 95% CI 1,4-4,5; p=0,003), a neregulirana arterijska hipertenzija s neprimjenjivanjem (OR 0,47; 95% CI 0,25-0,88; p=0,019) varfarina. Od 55 bolesnika koji su ishemijski moždani infarkt doživjeli unatoč primjeni varfarina, u 83,7 % bolesnika vrijednosti protrombinskog indeksa prilikom prijama su bile niže od terapijskih.

Autori zaključuju da tromboprolifaksa u bolesnika s nAF hospitaliziranih zbog ishemijskog moždanog infarkta nije bila sukladna njihovom tromboembolijskom riziku i trenutnim smjernicama Europskog kardiološkog društva.

Ključne riječi: ishemijski moždani infarkt, atrijska fibrilacija, tromboprolifaksa

Adresa za dopisivanje: Prof. dr. sc. Damir Fabijanić, dr. med.
Zavod za bolesti srca i krvnih žila
KBC Split
Spinčićeva 1
21 000 Split, Hrvatska
E-pošta: damir.fabijanic@st.t-com.hr

UVOD

Nevalvularna atrijska fibrilacija (nAF) se kao trajni srčani ritam nalazi u oko 1-2 % opće populacije (1,2). Povezana je sa značajno većom učestalosti tromboembolijskih incidenata, češćim hospitalizacijama, smanjenom kvalitetom života i većom smrtnošću (1,2). Ishemijski moždani infarkti su u bolesnika s nAF 5-7 puta češći nego u bolesnika u sinusnom ritmu (3). U odnosu na ishemijske moždane infarkte u bolesnika bez nFA, obilježeni su značajno težim kliničkim tijekom, većom tjelesnom onesposobljenošću i češćim smrtnim ishodom (3).

Trajna primjena antikoagulansa smanjuje godišnji relativni rizik tromboembolijskih događaja u bolesnika s nAF za 60-85 % (4,5). Istodobno, primjena antikoagulansa u dijelu bolesnika rezultira neželjenim učincima, napose potencijalno smrtonosnim moždanim krvarenjem. Stoga su, u cilju što točnijeg prepoznavanja povišenog tromboembolijskog rizika s jedne i rizika krvarenja s druge strane, na znanstveno utemeljenim dokazima, preporučena dva sustava vrjednovanja navedenih rizika: sustav procjene tromboembolijskog rizika CHA₂DS₂-VASc (od engl. *Congestive heart failure, Hypertension, Age ≥75, Diabetes mellitus, Stroke, Vascular disease, Age 65-74, Sex category*) i sustav procje-



ne rizika krvarenja HAS-BLED (od engl. *Hypertension, Abnormal liver and renal function, Stroke, Bleeding, Labile INR, Drugs or alcohol*) (6-8). Oba su sustava dio smjernica za postupanje s bolesnicima s AF izdanih od Europskog kardiološkog društva u listopadu 2010. godine (6). Uvažavajući dvije osnovne suprotnosti - težinu tromboembolijskog rizika i opasnost od krvarenja uzrokovanog lijekovima - u tim su smjernicama izneseni jasni kriteriji za primjenu tromboprofilakse u bolesnika s nAF.

Cilj istraživanja bio je procijeniti usklađenost primjene tromboprofilakse u bolesnika s nAF prije doživljenog ishemijskog tromboembolijskog moždanog infarkta sa smjernicama Europskog kardiološkog društva za tromboprofilaksu u bolesnika s nAF.

ISPITANICI I POSTUPCI

Ispitanici

U istraživanje su uključeni bolesnici s nAF hospitalizirani zbog ishemijskog moždanog infarkta u Klinici za neurologiju Kliničkog bolničkog centra Split, u razdoblju od 1. studenoga 2010. (datum objavljivanja novih smjernica Europskog kardiološkog društva za prevenciju i postupanje s bolesnicima s AF) do 31. prosinca 2011. godine (6). Istraživanje je provedeno sukladno načelima Helsinške deklaracije, a odobreno je od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu. Za ovu vrstu istraživanja etičko povjerenstvo nije zahtijevalo informirani pristanak bolesnika.

Postupci

Za sve bolesnike uključene u istraživanje analizirani su antropometrijski, klinički i laboratorijski parametri, opis kojih je dan u tekstu koji slijedi.

Kliničko-antropometrijski parametri

Analizirani su podatci o spolu, dobi (god), ranijim bolestima i/ili čimbenicima srčano-žilnog rizika (arterijska hipertenzija, šećerna bolest, preboljeli infarkt miokarda, periferna arterijska bolest), preboljelom moždanom infarktu ili prolaznom ishemijskom napadaju, liječenju zbog krvarenja u središnjem, probavni ili spolno-mokraćni sustav te liječenju zbog otrovanja varfarinom. Također su analizirani podatci o primjeni antikoagulanasa (varfarin) i/ili antiagregansa (acetilsalicilna kiselina, klopido-grel) do prijma bolesnika te primjeni lijekova i hrane s djelovanjem na farmakokinetiku antagonista vitamina K, napose primjena nesteroidnih antireuma-

tika (NSAR) i konzumiranje alkohola. Količina NSAR koja je mogla utjecati na farmakokinetiku varfarina te tako remetiti stabilnost protrombinskog indeksa određena je kao tjedni unos ≥ 2 njihove dnevno definirane doze. Farmakokinetički značajnim unosom alkohola smatrao se dnevni unos alkohola ≥ 14 g (odgovara dnevnom unosu većem od 148 mL vina, 355 mL piva ili 44 mL standardnog alkoholnog pića).

Laboratorijski parametri

U svih bolesnika analizirane su serumske vrijednosti glikemije (mmol/L), kreatinina ($\mu\text{mol/L}$) i protrombinskog indeksa iskazanog INR-om te aktivnost alanin aminotransferaze (ALT; j/L) i aspartat aminotransferaze (AST; j/L).

Čimbenici tromboembolijskog rizika

Čimbenici tromboembolijskog rizika određeni su prema sljedećim kriterijima: 1) arterijska hipertenzija - arterijski tlak $>140/90$ mm Hg zabilježen u najmanje dva uzastopna mjerenja tijekom hospitalizacije ili predhospitalna primjena antihipertenziva; 2) šećerna bolest - glikemija natašte $>6,9$ mmol/L ili glikemija $>11,0$ mmol/L zabilježena u bilo koje vrijeme, odnosno primjena inzulina i/ili peroralnih hipoglikemika prigodom uključivanja u istraživanje; 3) kongestivno popuštanje srca - podatak o ranijem liječenju zbog srčanog zatajivanja ili postojanje kliničkih (galop 3. tona, inspiratorni hropčići nad plućima, zastoje vratne vene, edemi donjih udova, izljevi u prsištu i/ili slobodna tekućina u trbušnoj šupljini), radioloških (zastojni hilusi, pleuralni izljevi) ili ehokardiografskih (istisna frakcija lijeve klijetke ≤ 40 %) pokazatelja srčanog popuštanja zabilježenih tijekom hospitalizacije.

Čimbenici rizika krvarenja

Čimbenici rizika krvarenja određeni su prema sljedećim kriterijima: 1) oštećenje jetrene funkcije - ranije poznata kronična bolest jetre (steatohepatitis, ciroza jetre, kronični B ili C hepatitis) ili porast aktivnosti jetrenih transaminaza (AST i/ili ALT) 3 puta veći od gornje granice referentnog raspona; 2) oštećenje bubrežne funkcije - kronično popuštanje bubrežne funkcije koje zahtijeva dijalizu, stanje nakon transplantacije bubrega ili serumski kreatinin >200 $\mu\text{mol/L}$; 3) nestalan protrombinski indeks - INR >4 zabilježen prilikom prijma na liječenje ili podatak o ranijem bolničkom liječenju zbog izrazito povišenog INR; 4) neregulirana arterijska hipertenzija - arterijski tlak $\geq 160/100$ mm Hg prigodom hospitalizacije, neovisno o primjeni antihipertenzivnog liječenja.





Statistička obrada podataka

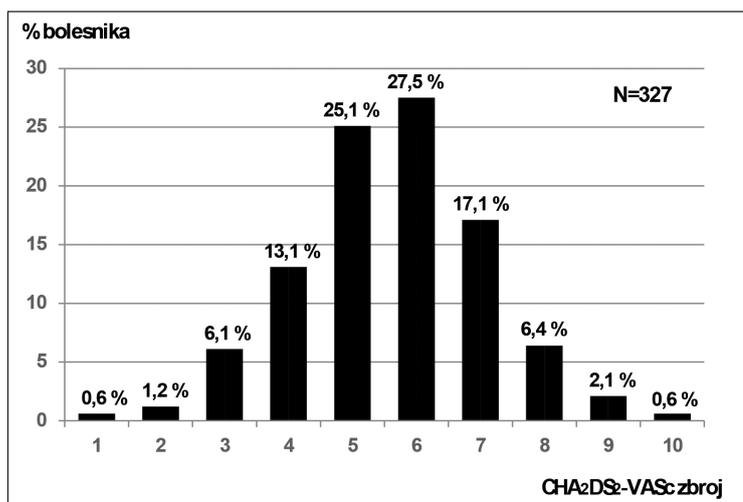
Kategoričke varijable prikazane su kao proporcije, a kontinuirane kao aritmetička sredina i standardna devijacija ($X \pm SD$). U testiranju razlika između kontinuiranih varijabla korišten je neparametrijski Studentov test, a kategoričkih varijabla χ^2 -test ili Fisherov test. Multivarijantnom analizom (logistička regresija) procijenjena je nezavisna povezanost niza kliničkih varijabla, primjerice dobi, spola, ranijeg moždanog infarkta, arterijske hipertenzije, ranijeg krvarenja u središnji živčani ili probavni sustav (nezavisne varijable) s primjenom antikoagulanasa ili antiagregacijskih sredstava (zavisne varijable). Rezultati su izraženi kao vrijednost p , uz izračunavanje omjera rizika (OR; engl. *odds ratio*) i 95%-tnog raspona pouzdanosti (CI; engl. *confidence interval*). Razina statističke značajnosti određena je kao $p < 0,05$. U obradi podataka je primijenjen statistički program SPSS Statistics (verzija 14.0, SPSS Inc, Chicago, SAD).

REZULTATI

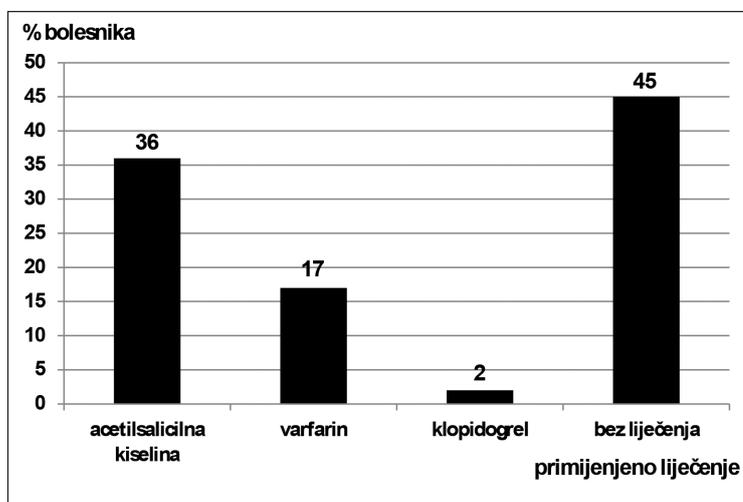
Zbog ishemijskog moždanog infarkta liječeno je 1.367 bolesnika. U istraživanje je uključeno 327 (23,9 %) bolesnika s trajnom nAF, 184 (56 %) žena prosječne dobi 81 (min-maks: 56-99) godina i 143 (44 %) muškaraca prosječne dobi 77 (min-maks 51-99) godina.

Prema sustavu procjene tromboembolijskog rizika CHA_2DS_2-VASc , u trenutku prijma, 321 bolesnik (98,2 %) pripadao je skupini velikog, 4 (1,2 %) skupini umjerenog, a 2 (0,6 %) bolesnika skupini malog tromboembolijskog rizika (sl. 1).

Prije doživljenog ishemijskog moždanog infarkta tromboprofilaksu je primjenjivalo tek nešto više od polovine ispitanika [179 (55%)], 117 (36 %) ih je primalo acetilsalicilnu kiselinu, 55 (17 %) varfarin i 7 (2 %) klopidogrel (sl. 2).



Sl. 1. Bolesnici s ishemijskim moždanim infarktom i trajnom nAF svrstani prema vrijednostima zbroja CHA_2DS_2-VASc .



Sl. 2. Tromboprofilaksa u bolesnika s nAF i ishemijskim moždanim infarktom u trenutku prijma.



Od 179 bolesnika koji su dobivali tromboprofilaksu, 177 (98,8 %) ih je pripadalo skupini velikog tromboembolijskog rizika, dok su preostala 2 bolesnika pripadala skupinama umjerenog i malog tromboembolijskog rizika. Među bolesnicima s velikim tromboembolijskim rizikom, 116 (65,5 %) ih je koristilo acetilsalicilnu kiselinu, 54 (30,5 %) varfarin, a 7 (4 %) klopidogrel ($p < 0,001$). Od preostalih 2 bolesnika, bolesnik s malim tromboembolijskim rizikom primao je acetilsalicilnu kiselinu, a bolesnik s umjerenim rizikom varfarin.

Od 148 bolesnika koji prije doživljenog ishemijskog moždanog infarkta nisu primjenjivali tromboprofilaksu, 144 (97,3 %) pripadala su skupini velikog tromboembolijskog rizika, 3 (2,02 %) bolesnika skupini umjerenog, a 1 (0,68 %) bolesnika skupini malog tromboembolijskog rizika.

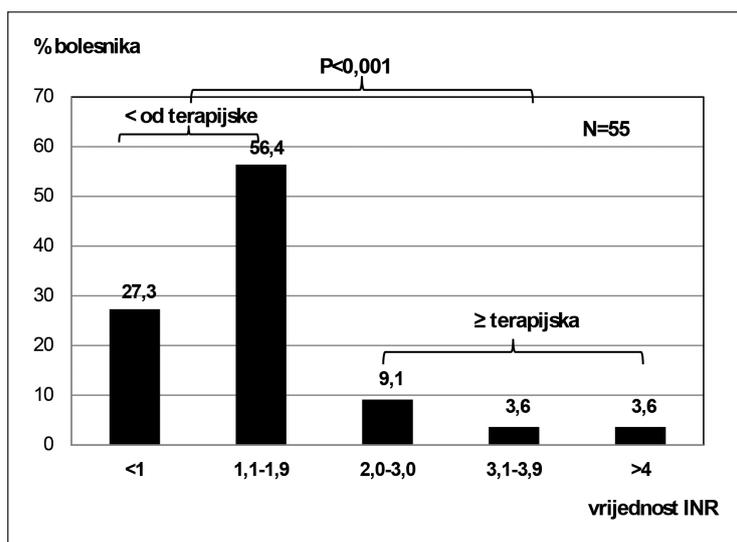
Pedeset i pet bolesnika (17 % od ukupnog, odnosno 31 % od broja bolesnika koji su koristili tromboprofilaksu), 1 iz skupine umjerenog i 54 iz skupine velikog tromboembolijskog rizika, je ishemijski moždani infarkt doživjelo unatoč primjeni varfarina. Vrijednosti INR ispod terapijskih imalo je 46 (83,7 %) bolesnika, 9 (16,3 %) u terapijskim ili vrijednostima nešto višim od terapijskih ($p < 0,001$). Naime, u 15 (27,3 %) bolesnika zabilježene su vrijednosti INR ≤ 1 , u 31 (56,4 %) bolesnika vrijednosti su bile u rasponu od 1,1 do 1,9, u 5 (9,1 %) u rasponu od 2 do 3, u 2 (3,6 %) bolesnika od 3,1 do 3,9, a u 2 (3,6 %) bolesnika vrijednosti INR-a su bile ≥ 4 (sl. 3). Dakle, 9 (16,3 %) bolesnika koji su primjenjivali varfarin ishemijski moždani infarkt povezan s nAF doživjelo je uz INR ≥ 2 . Prosječni INR u skupini bolesnika s INR 1,1-1,9 bio je 1,39. Pritom je 11 (35,5 %) bolesnika imalo INR 1,5-1,9.

Prema sustavu vrednovanja HAS-BLED, 187 (57 %) bolesnika je imao mali, a 140 (43 %) bolesnika veliki rizik krvarenja. Tromboprofilaksu je primjenjivalo 70 (37,4 %) bolesnika s malim i 109 (77,9 %) s velikim rizikom krvarenja. Pritom je varfarin koristilo 39 (55,7 %) bolesnika s malim i 16 (14,7 %) bolesnika s velikim rizikom krvarenja, acetilsalicilnu kiselinu 29 (41,4 %) bolesnika s malim i 88 (80,1 %) s velikim rizikom krvarenja, a klopidogrel 2 (2,9 %) bolesnika s malim i 5 (5,2 %) s velikim rizikom krvarenja ($p < 0,001$; sl. 4).

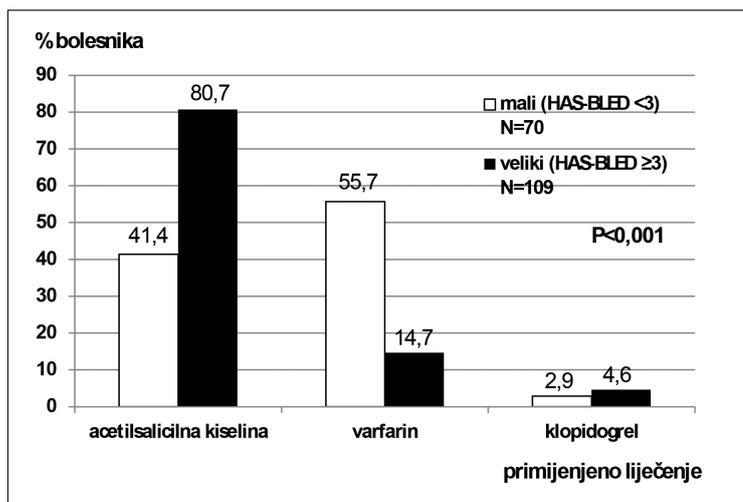
Usporedbom bolesnika s velikim tromboembolijskim rizikom koji su prije doživljenog ishemijskog moždanog infarkta primjenjivali antikoagulanse s bolesnicima iste skupine tromboembolijskog rizika koji ih nisu koristili, u potonjih je zabilježen značajno veći udio bolesnika s velikim rizikom krvarenja prema sustavu HAS-BLED (47 % prema 26 %; $p = 0,024$) te značajno veći broj bolesnika s neregularnom arterijskom hipertenzijom (46 % prema 29 %; $p = 0,002$). Istodobno, u skupini bolesnika koji su prije doživljenog ishemijskog moždanog infarkta primjenjivali varfarin, zabilježen je značajno veći broj bolesnika s prethodnim tromboembolijskim komplikacijama (47 % prema 26 %; $p = 0,002$; tablica 1).

Prosječan zbroj CHA₂DS₂-VASc između skupina bolesnika koji su ili, pak, nisu primjenjivali varfarin, nije se statistički razlikovao ($4,98 \pm 1,56$ prema $4,54 \pm 1,48$; $p = 0,065$). Istodobno, prosječan zbroj HAS-BLED bio je statistički značajno veći u skupini bolesnika koji nisu primjenjivali varfarin ($2,16 \pm 0,81$ prema $2,42 \pm 0,86$; $p = 0,024$).

Logističkom regresijom u koju su kao nezavisne varijable uključeni dob, spol, arterijska hipertenzija, šećer-



Sl. 3. Vrijednosti protrombinskog indeksa iskazanog INR-om u bolesnika koji su ishemijski moždani infarkt doživjeli tijekom primjene varfarina.



Sl. 4. Primjena tromboprofilakse u odnosu na rizik krvarenja procijenjen sustavom HAS-BLED.

Tablica 1.

Raspodjela čimbenika tromboembolijskog rizika i rizika krvarenja u bolesnika hospitaliziranih zbog ishemijskog moždanog infarkta u odnosu na primjenu varfarina.

Čimbenici rizika	Broj (%) bolesnika		P
	Varfarin da 55 (100)	Varfarin ne 272 (100)	
Dob ≥75 godina	37 (67)	189 (69)	0,746
Dob 65-74 godina	15 (27)	63 (23)	0,514
Ženski spol	32 (58)	152 (56)	0,754
Kongestivno zatajivanje srca	15 (27)	91 (33)	0,462
Arterijska hipertenzija	41 (74)	209 (77)	0,715
Šećerna bolest	20 (36)	77 (28)	0,233
Raniji tromboembolijski događaji	26 (47)	72 (26)	0,002
Periferna arteriopatija	21 (38)	80 (29)	0,261
Koronarna bolest	6 (11)	34 (12)	0,918
Neregulirana hipertenzija	16 (29)	126 (46)	0,018
Oštećena funkcija jetre	0	13 (5)	-
Oštećena funkcija bubrega	3 (5,5)	9 (3,3)	-
Krvarenje iz probavnog ili spolno-mokraćnog sustava	3 (1,1)	1 (1,8)	-
Nestalan INR	7 (13)	0	-
Povećani dnevni unos alkohola	29 (10,7)	2 (3,6)	0,171
Primjena NSAR	2 (3,6)	18 (6,6)	0,594
CHA ₂ DS ₂ -VASc zbroj > 2	54 (98)	267 (98)	1
HAS-BLED zbroj > 3	16 (29)	124 (46)	0,024

INR – od engl. International Normalized Ratio; NSAR – nesteroidni antireumatici

na bolest, kongestivno popuštanje srca, podatak o ranijem krvarenju, neregulirana arterijska hipertenzija, zbroj CHA₂DS₂-VASc, zbroj HAS-BLED, samo je prethodno preboljeli tromboembolijski događaj nezavisno korelirao s primjenom varfarina (OR 2,5; 95% CI 1,4-4,5; p=0,003), dok je neregulirana arterijska hipertenzija (OR 0,47; 95% CI 0,25-0,89; p=0,019) pozitivno korelirala s njegovim neprimjenjivanjem.

RASPRAVA

Osnovno opažanje prikazanog istraživanja je da bolesnici s nAF koji su hospitalizirani zbog ishemijskog moždanog infarkta, antiagregacijsku i antikoagulantnu zaštitu prije doživljenog incidenta nisu primjenjivali sukladno smjernicama stručnih društava. Unatoč velikom tromboembolijskom riziku, prije doživljenog





ishemijskog moždanog infarkta antikoagulanse je primjenjivalo tek 17 % bolesnika s nAF. Istodobno, unatoč velikom tromboembolijskom riziku i nepostojanju objektivnih razloga protiv primjene antikoagulansa, najčešći oblik tromboprofilakse bila je primjena manje učinkovite acetilsalicilne kiseline.

Primjena tromboprofilakse u odnosu na tromboembolijski rizik

Metaanaliza istraživanja u kojima je učinkovitost varfarina uspoređivana s placebom, pokazala je 62 %-tno smanjenje relativnog rizika za pojavu tromboembolijskih komplikacija i 26 %-tno smanjenje ukupne smrtnosti u bolesnika s nAF štićenih varfarinom (4). Štoviše, u bolesnika štićenih varfarinom koji su trajno ostvarivali terapijske vrijednosti protrombinskog indeksa tromboembolijski rizik smanjen je za čak 85 % (5). Istodobno je metaanaliza istraživanja koja su uspoređivala tromboprofilaktičku učinkovitost acetilsalicilne kiseline u odnosu na placebo, u aktivno štićenih bolesnika zabilježila 22 %-tno smanjenje relativnog rizika za pojavu tromboembolijskih komplikacija (9). Neposrednom usporedbom varfarina i acetilsalicilne kiseline pokazana je značajno veća učinkovitost varfarina; tromboembolijski rizik u bolesnika s nAF štićenih varfarinom bio je za 39 % manji u odnosu na tromboembolijski rizik bolesnika štićenih acetilsalicilnom kiselinom (10).

Nedovoljna primjena antikoagulansa u cilju prevencije tromboembolijskih komplikacija u bolesnika s nAF godinama je prisutan javnozdravstveni problem i u razvijenim zemljama svijeta. Unatoč jasnim znanstvenim dokazima i preporukama stručnih društava u većini sličnih istraživanja primjena varfarina je zabilježena u 7-55 % bolesnika s apsolutnom indikacijom i nepostojanjem jasne kontraindikacije za primjenu antikoagulansa (11-13). Poput naših bolesnika, i u razvijenim zemljama svijeta oko 85 % bolesnika s nAF koji dožive ishemijski moždani infarkt prethodno nije primjenjivalo antikoagulanse (11-13). Štoviše, u tim je istraživanjima većina bolesnika u tromboprofilaktičke svrhe primjenjivala acetilsalicilnu kiselinu u dnevnoj dozi 75-100 mg (11-13).

Nepridržavanje preporuka stručnih društava u spomenutim je istraživanjima tumačeno iskustvenim stavom liječnika da unatoč višegodišnjem trajanju nAF i neprimjenjivanju varfarina značajan dio bolesnika nikad ne doživi tromboembolijsku komplikaciju, napose ishemijski moždani infarkt (3,14,15). Stoga se u strahu od neželjenih učinaka antikoagulansa, prehrambenih ograničenja i potrebe učestalog određivanja protrombinskog indeksa, značajan dio liječnika i bolesnika s nAF u primarnoj prevenciji ishemijskog moždanog in-

farkta ne odlučuje na primjenu varfarina i u slučajevima kad tromboembolijski rizik značajno nadmašuje možebitne posljedice njegove primjene (14,15).

Rezultati prikazanog, i niza ranijih istraživanja sukladni su opažanjima istraživanja provedenog na Klinici za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Split tijekom 2011. godine (16). U tom je istraživanju tek 46 % bolesnika s nAF svrstanih u skupinu velikog tromboembolijskog rizika pri otpustu s liječenja dobilo preporuku za primjenu antikoagulansa. Preostalim je bolesnicima savjetovana primjena manje učinkovitih antiagregacijskih sredstava. Dakako, ni u tom istraživanju u bolesnika s velikim tromboembolijskim rizikom koji nisu dobili preporuku za primjenu varfarina nisu zabilježeni jasni razlozi protiv njegove primjene (16).

Promatrani profilom čimbenika rizika bolesnici s nAF čine izrazito raznovrsnu skupinu s velikim rasponom rizika za tromboembolijske komplikacije. Stoga su u cilju što točnije procjene pojedinačnog tromboembolijskog rizika i lakše odluke o izboru najprimjerenije tromboprofilakse, čimbenici prepoznati u nizu kliničkih istraživanja ugrađeni u sustav procjene poznat pod nazivom CHA₂DS₂-VASc (6,7). Taj sustav omogućuje liječnicima jednostavnu, brzu i relativno točnu prosudbu pojedinačnoga tromboembolijskog rizika, time i bolje prepoznavanje bolesnika koji zahtijevaju antikoagulantnu zaštitu. Tromboembolijski rizik iskazuje se zbrojem od 1 do 9, pri čemu se vjerojatnost tromboembolijskog događaja progresivno povećava sa 1,3 % godišnje u bolesnika s CHA₂DS₂-VASc zbrojem 1, do 15,2 % godišnje u bolesnika sa zbrojem 9 (6,7). Svi bolesnici sa zbrojem ≥ 2 čine skupinu velikog tromboembolijskog rizika u kojoj je primjena antikoagulantnih sredstava obvezna (6,7).

Značenje dviju sastavnica sustava procjene CHA₂DS₂-VASc dodatno je naglašeno. Naime, najznačajnijim pretkazateljima tromboembolijskih komplikacija u bolesnika s nAF označeni su dob ≥ 75 godina i prethodni tromboembolijski događaj. Te su značajke bolesnika u sustavu procjene tromboembolijskog rizika označene s po 2 boda. Stoga, postojanje već jednog od navedenih dvaju čimbenika rizika, unatoč nepostojanju drugih sastavnica sustava procjene CHA₂DS₂-VASc, svrstava bolesnike u skupinu velikog rizika i nalaže prednost primjene antikoagulansa (6,7).

Dobrobit primjene antikoagulansa u bolesnika starije dobi pokazali su rezultati niza kliničkih istraživanja. Metaanaliza 11 kliničkih istraživanja, uključujući i istraživanje BAFTA (od engl. *The Birmingham Atrial Fibrillation Treatment of the Aged Study*), pokazala je izrazitu premoć antikoagulansa u odnosu na acetilsalicilnu kiselinu i placebo u smanjenju ishemijskih moždanih infarkta u ukupnoj skupini i podskupini bo-





lesnika ≥ 80 godina (4). Zanimljivo je opažanje te meta-analize da se učinkovitost varfarina nije značajno mijenjala s povećanjem dobi bolesnika dok se, istodobno, učinkovitost acetilsalicilne kiseline povećanjem dobi značajno smanjivala. Štoviše, učinak acetilsalicilne kiseline u bolesnika ≥ 80 godina bio je jednak učinku placebo (4). Razvidno je da tromboprolifaktička primjena acetilsalicilne kiseline u bolesnika visoke životne dobi nije znanstveno utemeljena. Stoga rezultati našeg istraživanja prema kojima visoka životna dob, unatoč nepostojanju drugih kontraindikacija, nije doprinosila odluci o primjeni antikoagulanasa u bolesnika s nAF, upućuju na vjerojatnost da se liječnici ne pridržavaju ili ne poznaju smjernice stručnih društava.

Istraživanje Yu i sur. pokazalo je da je preboljeli ishemijski moždani infarkt najjači čimbenik u prilog odluke o propisivanju antikoagulantnih sredstava (17). Razvidno je da i liječnici i bolesnici prilikom donošenja odluke o primjeni tromboprolifakse najviše uvažavaju upravo taj podatak te da se za primjenu varfarina odlučuju u strahu od možebitnog ponavljanja tromboembolijskog događaja s težim kliničkim posljedicama. U tom slijedu, i u našem je istraživanju preboljeli tromboembolijski događaj pozitivno korelirao s predhospitarnim propisivanjem antikoagulanasa.

Najznačajnija mjera za sprječavanje tromboembolijskih komplikacija u bolesnika s nAF je trajna primjena antikoagulantnih sredstava uz održavanje terapijskih raspona protrombinskog indeksa. Najučinkovitije vrijednosti protrombinskog indeksa u cilju sprječavanja moždanih infarkta i istodobnog izbjegavanja lijekovima uzrokovanih moždanih krvarenja izražene su INR-om u rasponu od 2 do 3 (6). Uz INR < 2 rizik ishemijskog moždanog infarkta se značajno povećava (6). U našem je istraživanju 35,5 % bolesnika koji su prije doživljenog moždanog infarkta primjenjivali varfarin imalo INR u rasponu od 1,5 do 1,9 što smatramo potvrdom opažanja da subterapijske vrijednosti INR ne pružaju primjerenu zaštitu od tromboembolijskih komplikacija (6). Dakako, primjena antikoagulanasa nema potpunu – 100 %-tnu – učinkovitost. Očekivano je stoga da će određeni postotak bolesnika doživjeti tromboembolijski incident unatoč terapijskim rasponima protrombinskog indeksa. U našem smo istraživanju pojavu ishemijskog moždanog infarkta zabilježili u 16,4 % bolesnika s INR ≥ 2 . Jedan od mogućih uzroka nepotpune zaštite je nestalnost INR-a, koja u razdobljima između dvaju mjerenja može biti i izvan terapijskih raspona; takve vrijednosti protrombinskog indeksa nekad potraju dovoljno dugo za nastajanje ugruška. Također, istodobno postojanje više čimbenika rizika, razmjerno njihovom broju i jačini, povećava protrombotski potencijal pa u određenom postotku bolesnika ugrušak nastaje i u slučaju trajno prisutnih terapijskih raspona protrombinskog indeksa (18).

U svezi s tim opažanjima značajno je da moždane infarkte nastale u bolesnika s terapijskim vrijednostima INR karakterizira bolji klinički tijek i ishod u odnosu na moždane infarkte nastale tijekom uzimanja acetilsalicilne kiseline ili u bolesnika koji nisu primjenjivali tromboprolifaksu (5). Težina ishemijskog moždanog infarkta je pritom negativno povezana s vrijednostima INR u trenutku njegovog nastajanja. Naime, u istraživanjima u kojima je težina moždanog oštećenja procjenjivana magnetnom rezonancijom, u bolesnika koji su doživjeli ishemijski moždani infarkt uz vrijednosti INR od 2 do 3 zabilježen je manji akutni i konačni volumen moždanog oštećenja (5). Moguće tumačenje ovih opažanja, u bolesnika s terapijskim vrijednostima protrombinskog indeksa, su manja veličina embolusa, pojačana rana spontana fibrinoliza i smanjeno širenje tromba (5). Značajno je, također, da primjena varfarina praćena terapijskim ili vrijednostima INR većim od terapijskih, nije rezultirala većom učestalosti prijelaza ishemijskih u hemoragijske infarkte (5).

Naši rezultati da je prilikom nastajanja ishemijskog moždanog infarkta 83,7 % bolesnika liječenih varfarinom imalo vrijednosti INR niže od terapijskih, sukladni su rezultatima Gladstonea i sur. prema kojima 90 % bolesnika koji su doživjeli ishemijski moždani infarkt unatoč uzimanju antikoagulanasa u trenutku nastajanja moždanog infarkta nije imalo primjerene vrijednosti protrombinskog indeksa (19). Štoviše, sistematskim pregledom 67 istraživanja o primjeni antikoagulanasa u bolesnika s nAF je pokazano da su bolesnici koji uzimaju varfarin gotovo 50 % vremena njegove primjene izvan terapijskih raspona (20). Procjenjuje se da su vrijednosti protrombinskog indeksa niže od terapijskih u Ontariju odgovorne za oko 11 % svih tromboembolijskih incidenata u bolesnika s nAF; prosječno 1 od 10 tromboembolijskih događaja može se izbjeći boljim provođenjem antikoagulantne zaštite (21). U tom slijedu je pokazano da se kvaliteta antikoagulantne zaštite može značajno poboljšati otvaranjem specijaliziranih ambulanti za praćenje i edukaciju bolesnika te unaprjeđenjem samopraćenja primjenom uređaja za izvanbolničko (kućno) određivanje vrijednosti protrombinskog indeksa. Tim se mjerama vrijednosti protrombinskog indeksa održavaju u terapijskim rasponima tijekom dvostruko više vremena u odnosu na primjenu standardnih postupaka (22).

Primjena tromboprolifakse u odnosu na rizik krvarenja

Većina istraživanja je pokazala da je najčešći uzrok neprimjenjivanja antikoagulanasa u bolesnika s nAF strah od životno ugrožavajućeg krvarenja u probavni, spolno-mokraćni te, napose, u središnji živčani sustav (23). Zato je u cilju brze procjene rizika krvarenja i prepoznavanja bolesnika s možebitnom kon-





traindikacijom za primjenu antikoagulansa oblikovan jednostavan bodovni sustav poznat pod akronimom HAS-BLED (6,24). Preklapanja nekih sastavnica tog i sustava CHA₂DS₂-VASC rezultiraju najvećim zbrojevima, time i najvećom opasnosti od krvarenja, upravo u bolesnika s velikim tromboembolijskim rizikom što, dakako, može biti razlog neprimjenjivanja antikoagulansa i primjenjivanja manje učinkovitih antiagregacijskih sredstava.

U tom slijedu za naglasiti je da su posljedice mogućeg krvarenja uzrokovanog primjenom antikoagulansa i posljedice tromboembolijskih komplikacija uzrokovanih njegovim neprimjenjivanjem u značajnom nesrazmjeru. Godišnji rizik za smrtonosna krvarenja u bolesnika koji trajno primjenjuju varfarin procjenjuju se na 0,6 %, za velika nesmrtonosna krvarenja na 3 % te za mala, životno neugrožavajuća krvarenja na 9,6 % (6,24). Istodobno se moždani infarkt sa smrtnim ishodom ili trajno onesposobljavajućim posljedicama bilježi u 2,2 % do 15,2 % bolesnika s velikim tromboembolijskim rizikom (6). Također, vrijednosti zbrojeva CHA₂DS₂-VASC i HAS-BLED nisu jednako značajne prigodom odlučivanja o tromboprofilaktičkoj primjeni antikoagulansa. Povećanje tromboembolijskog rizika (CHA₂DS₂-VASC zbroja) značajno umanjuje utjecaj rizika krvarenja (HAS-BLED zbroja) na tu odluku, čak i u skupini bolesnika s velikim rizikom krvarenja. Naime, vjerojatnost i težina moždanog infarkta koje obilježavaju veće vrijednosti zbroja CHA₂DS₂-VASC, značajno nadvladavaju vjerojatnost i težinu mogućeg krvarenja pa i u slučaju vrijednosti zbroja HAS-BLED >3. Primjerice u bolesnika sa zbrojem CHA₂DS₂-VASC ≥6 godišnji rizik ishemijskog moždanog infarkta je ≥10 %, dok je istodobno rizik životno ugrožavajućeg, napose, moždanog krvarenja <1 % (6). Stoga u tek neznatnog broja bolesnika rizik krvarenja i njegovih posljedica značajno nadvladava tromboembolijski rizik i jasna je kontraindikacija za primjenu antikoagulansa; u toj su skupini, primjerice, bolesnici koji su tijekom uzimanja varfarina doživjeli teško, životno ugrožavajuće, moždano krvarenje.

Osobiti utjecaj na povećanje rizika intrakranijskog krvarenja imaju intenzitet antikoagulantnog učinka (INR >3,5 je, napose u starijih od 80 godina, praćen 5 puta većim rizikom), neregulirani arterijski tlak i nestalnost protrombinskog indeksa (10,25). Velika klinička istraživanja i njihove metaanalize pokazale su da subterapijske vrijednosti protrombinskog indeksa (INR <2) nisu praćene manjom učestalošću krvarenja u odnosu na terapijske vrijednosti, niti u podskupini bolesnika ≥80 godina, zbog čega takve vrijednosti protrombinskog indeksa nisu preporučljive u sprječavanju tromboembolijskih događaja u bolesnika s nAF (10,25).

Značenju koje liječnici pridaju kvaliteti reguliranja arterijskog tlaka prilikom izbora tromboprofilakse u bolesnika s nAF svjedoče i rezultati našeg istraživanja prema kojem je neregulirani arterijski tlak jedan od 2 nezavisna pretkazatelja nepropisivanja antikoagulansa prigodom prijma bolesnika s nAF i ishemijskim moždanim infarktom.

Bitan čimbenik u prevenciji tromboembolizama, ali i varfarinom uzrokovanog krvarenja, je i vrijeme u kojem je vrijednost protrombinskog indeksa održavana u terapijskim rasponima. Istraživanje ACTIVE-W (od engl. *Atrial Fibrillation Clopidogrel Trial With Irbesartan for Prevention of Vascular Events*) pokazalo je da je za prevenciju oba – s uzimanjem varfarina povezana – događaja, bitno održavanje terapijskih vrijednosti INR tijekom najmanje 58-71 % vremena njegove primjene (26). Nestalne vrijednosti protrombinskog indeksa (skokovi INR ≥3,5) uz slabo kontrolirane vrijednosti arterijskog tlaka najčešći su uzrok intrakranijskih krvarenja u bolesnika na antikoagulantnoj zaštiti (26).

U našem istraživanju bolesnici s većim rizikom krvarenja bili su podjednako raspoređeni u skupinama koje su ili nisu primjenjivale antikoagulantnu zaštitu pa su, unatoč opažanju da je HAS-BLED zbroj u skupini bolesnika kojima antikoagulantna zaštita nije bila propisana bio statistički značajno veći od istog zbroja u skupini bolesnika koji su te lijekove primjenjivali, obje skupine bolesnika imale prosječne vrijednosti zbroja HAS-BLED <3. Statistička raščlamba, štoviše, nije pokazala povezanost ove varijable s odlukom o primjenjivanju antikoagulansa, temeljem čega zaključujemo da se prilikom odlučivanja o načinu tromboprofilakse liječnici nisu vodili rizikom krvarenja procijenjenim sustavom HAS-BLED.

Na kraju ističemo i neka od potencijalnih ograničenja našeg istraživanja. Zbog retrospektivnog oblika istraživanja nije bilo moguće procijeniti utjecaj bolesnika na odluku o izboru tromboprofilakse, niti može bitne oscilacije vrijednosti INR-a prije doživljenog ishemijskog moždanog infarkta. Ipak, smatramo da ti nedostatci nisu utjecali na ispunjenje postavljenih ciljeva, niti na ispravnost zaključaka prikazanog istraživanja. Također, u razdoblju obuhvaćenom istraživanjem u Hrvatskoj se nisu propisivali novi oralni antikoagulansi (primjerice dabigatran, rivaroksaban, apiksaban), što je osnovni razlog da ni u jednog od bolesnika uključenih u istraživanje nije zabilježena primjena tih lijekova. Učestalost primjene novih antikoagulansa i njihov utjecaj na pojavnost ishemijskog moždanog infarkta treba, stoga, procijeniti budućim istraživanjima.





ZAKLJUČAK

Najveći postotak bolesnika s ishemijskim moždanim infarktom i nAF, unatoč velikom tromboembolijskom riziku i malom riziku krvarenja, prije hospitalizacije zbog ishemijskog moždanog infarkta nije primjenjivao antikoagulanse. Istodobno, većina bolesnika koji su moždani infarkt doživjeli tijekom primjene antikoagulansa, prigodom nastajanja moždanog infarkta nije imala terapijske vrijednosti protrombinskog indeksa. Izgledno je, stoga, da tromboprolifaksa u bolesnika s nAF hospitaliziranih zbog ishemijskog moždanog infarkta nije bila sukladna njihovom tromboembolijskom riziku i trenutnim smjernicama Europskog kardiološkog društva. Štoviše, podatak da je preboljeli tromboembolijski događaj jedini pokazatelj rizika s pozitivnim učinkom na odluku o primjeni antikoagulansa upućuje na zaključak da su liječnici (i bolesnici) skloniji liječenju posljedica AF nego sprječavanju njihovog nastajanja.

LITERATURA

1. Heeringa J, van der Kuip DA, Hofman A i sur. Prevalence, incidence and lifetime risk of atrial fibrillation: The Rotterdam study. *Eur Heart J* 2006; 27: 949-53.
2. Feinberg WM, Blackshear JL, Laupacis A i sur. Prevalence, age distribution, and gender of patients with atrial fibrillation: analysis and implications. *Arch Intern Med* 1995; 55: 469-73.
3. Stewart S, Hart CL, Hole DJ, McMurray JJ. A population-based study of the long-term risks associated with atrial fibrillation: 20-year follow-up of the Renfrew/Paisley study. *Am J Med* 2002; 113: 359-64.
4. Hart RG, Pearce LA, Aguilar MI. Meta-analysis: Antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation. *Ann Intern Med* 2007; 146: 857-67.
5. Hannon N, Callaly E, Moore A i sur. Improved late survival and disability after stroke with therapeutic anticoagulation for atrial fibrillation: A population study. *Stroke* 2011; 42: 2503-8.
6. Camm AJ, Kirchhof P, Lip GY i sur. Guidelines for the management of atrial fibrillation: the Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2010; 31: 2369-429.
7. Mason PK, Lake DE, DiMarco JP i sur. Impact of the CHA2DS2-VASc score on anticoagulation recommendations for atrial fibrillation. *Am J Med* 2012; 125: 603.
8. Božić I, Cvitković I, Carević V, Čaljkušić K, Trgo G, Fabijanić D. Procjena tromboembolijskog rizika i rizika krvarenja u bolesnika s neregularnom atrijskom fibrilacijom primjenom CHA2DS2-VASc i HASBLED bodovnih sustava. *Lijec Vjesn* 2013; 135: 86-91.
9. van Walraven C, Hart RG, Singer DE i sur. Oral anticoagulants vs. aspirin in nonvalvular atrial fibrillation: an individual patient meta-analysis. *JAMA* 2002; 288: 2441-8.
10. Mant J, Hobbs FD, Fletcher K i sur. Warfarin versus aspirin for stroke prevention in an elderly community population with atrial fibrillation (the Birmingham Atrial Fibrillation Treatment of the Aged Study, BAFTA): A randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 370: 493-503.
11. Ogilvie IM, Newton N, Welner SA, Cowell W, Lip GYH. Underuse of oral anticoagulants in atrial fibrillation; a systematic review. *Am J Med* 2010; 123: 638-45.
12. Waldo AL, Becker RC, Tapson VF, Colgan KJ. Hospitalized patients with atrial fibrillation and a high risk of stroke are not being provided with adequate anticoagulation. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 1729-36.
13. Indredavik B, Rohweder G, Lydersen S. Frequency and effect of optimal anticoagulation before onset of ischaemic stroke in patient with known atrial fibrillation. *Stroke* 2001; 42: 2503-8.
14. Grooss CP, Vogel EW, Dhond AJ i sur. Factors influencing physicians' reported use of anticoagulation therapy in nonvalvular atrial fibrillation: A cross-sectional survey. *Clin Ther* 2003; 25: 1750-64.
15. Maeda K, Sakai T, Hira K i sur. Physicians' attitudes toward anticoagulant therapy in patient with chronic atrial fibrillation. *Intern Med* 2004; 43: 553-60.
16. Božić I, Čapkun V, Božić D i sur. Antikoagulantno liječenje u bolesnika s trajnom fibrilacijom atrijske – medicina utemeljena na dokazima i klinička praksa. *Lijec Vjesn* 2013; 135: 129-34.
17. Yu HC, Tsai YF, Chen MC, Yeh CH. Underuse of antithrombotic therapy caused high incidence of ischemic stroke in patients with atrial fibrillation. *Int J Stroke* 2012; 7: 112-7.
18. Pisters R, Lane DA, Marin F i sur. Stroke and thromboembolism in atrial fibrillation: Systematic review of stroke risk factors and risk stratification schema. *Circ J* 2012; 76: 2289-304.
19. Gladstone DJ, Bui E, Fang J i sur. Potentially preventable strokes in high-risk patients with atrial fibrillation who are not adequately anticoagulated. *Stroke* 2009; 40: 235-40.
20. Van Walraven C, Jennings A, Oake N, Fergusson D, Forster AJ. Effects of study setting on anticoagulation control: a systematic review and metaregression. *Chest* 2006; 129: 1155-65.
21. O'Donnell M, Oczkowski W, Fang J i sur. Preadmission antithrombotic treatment and stroke severity in patients with atrial fibrillation and acute ischemic stroke: an observational study. *Lancet Neurol* 2006; 5: 749-54.
22. Dickerson LM, Carek PJ, Quattlebaum RG. Prevention of recurrent ischemic stroke. *Am Fam Physician* 2007; 76: 382-8.
23. Morgan CL, McEwan P, Tukiendorf A, Robinson PA, Clemens A, Plumb JM. Warfarin treatment in patients with atrial fibrillation observing outcomes associated with varying levels of INR control. *Thromb Res* 2009; 124: 37-41.
24. Guo Y, Lip GY, Apostolakis S. Bleeding risk assessment and management in atrial fibrillation patients. Key messages for clinical practice from the European Heart Rhythm Association position statement. *Pol Arch Med Wewn* 2012; 122: 235-42.
25. Cavallini A, Fanucchi S, Persico A. Warfarin-associated intracerebral hemorrhage. *Neurol Sci* 2008; 29: 266-8.
26. Connolly S, Pogue J, Hart R i sur. Clopidogrel plus aspirin versus oral anticoagulation for atrial fibrillation in the Atrial Fibrillation Clopidogrel Trial with Irbesartan for prevention of Vascular Events (ACTIVE W): a randomised controlled trial. *Lancet* 2006; 367: 1903-12.





S U M M A R Y

THROMBOPROPHYLAXIS IN PATIENTS WITH NONVALVULAR ATRIAL FIBRILLATION ADMITTED IN UNIVERSITY HOSPITAL SPLIT, CROATIA, DUE TO THE ISCHAEMIC STROKE IN RELATION TO THROMBOEMBOLIC AND BLEEDING RISK

I. CVITKOVIĆ¹, I. BOŽIĆ², V. CAREVIĆ³, K. ČALJKUŠIĆ⁴, A. MAROVIĆ⁴, I. LUŠIĆ⁴ and D. FABIJANIĆ³

¹*Outpatient Cardiology Clinic, Split, Croatia;* ²*Department of Internal Medicine, University Hospital Split, Split, Croatia;* ³*Department of Cardiology, University Hospital Split, Split, Croatia;* ⁴*Department of Neurology, University Hospital Split, Split, Croatia*

Aim of the study was to assess the concordance of the thromboprophylactic treatment in patients with nonvalvular atrial fibrillation (nAF) at the time of admission due to ischemic stroke with clinical guidelines of the European Society of Cardiology.

Methods: In the cross-sectional study were included 327 patients [143 (44%) males] treated because of ischemic stroke associated with nAF. The index of the thromboembolic risk (TE) has been established by the CHA₂DS₂-VASc score, whereas the bleeding risk has been assessed by the HAS-BLED score.

Results: Before the ischemic stroke, 98.2% of patients belonged to the group of high TE risk. Among these patients only 179 (55%) were received thromboprophylaxis: 67.5% patients acetylsalicylic acid, 30.5% warfarin, and 4% clopidogrel. Previous ischemic stroke was independently correlated with warfarin administration (OR 2.5; 95% CI 1.4-4.5; p=0.003), while poorly controlled arterial hypertension was independently correlated with warfarin non-administration (OR 0.47; 95% CI 0.25-0.88; p=0.019). The 83.7% of 55 patients, who experienced ischemic stroke during anticoagulant treatment, had an INR values lower than therapeutic.

Conclusion: Thromboprophylaxis among the patients with nAF admitted because of ischemic stroke did not correlate with their TE risk and contemporary guidelines of the European Society of Cardiology.

Key words: stroke, atrial fibrillation, anticoagulant therapy, thromboprophylaxis



NEINVAZIVNA VENTILACIJA U PERIOPERACIJSKOM RAZDOBLJU

VIŠNJA NESEK ADAM, DINKO TONKOVIĆ, ELVIRA GRIZELJ STOJČIĆ, VIVIANA MRŠIĆ,
MARTINA MATOLIĆ i DAMJAN MARIN

*Sveučilište J. J. Strossmayera, Medicinski fakultet u Osijeku, Klinička bolnica Sveti Duh,
Klinika za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje, Zagreb, Hrvatska*

Akutno zatajenje disanja relativno je česta poslijeoperacijska komplikacija, a najčešće se javlja u bolesnika s prijeoperacijski poremećenom plućnom funkcijom i/ili nakon velikih torako-abdominalnih operacija. Iako se endotrahealna intubacija i mehanička ventilacija još uvijek smatraju osnovom u liječenju bolesnika s akutnim zatajenjem disanja, literaturni podatci ukazuju da je mortalitet tih bolesnika usko povezan s komplikacijama vezanim uz intubaciju i mehaničku ventilaciju. Zbog toga je cilj spriječiti komplikacije i ako je moguće izbjeći endotrahealnu intubaciju. Neinvazivna ventilacija (NIV) je oblik mehaničke potpore koja ne zahtijeva postavljanje endotrahealnog tubusa te se danas sve češće koristi u profilaktičke i terapijske svrhe kod kirurških bolesnika s akutnim zatajenjem disanja. U ovom članku dajemo kratak pregled indikacija i ograničenja neinvazivne ventilacije u perioperacijskom razdoblju.

Ključne riječi: neinvazivna ventilacija, kirurški bolesnici

Adresa za dopisivanje: Doc. dr. sc. Višnja Nesek Adam, prim., dr. med.
Žerjavićeva 12
10 000 Zagreb, Hrvatska
Tel: 0913712136
E-pošta: visnja.nesek@hotmail.com

Poslijeoperacijske plućne komplikacije najčešće uključuju poslijeoperacijsku hipoksemiju, plućni edem, stvaranje atelektaza i/ili akutno zatajenje disanja (ARI – *Acute Respiratory Insufficiency*) a javljaju se u 5 % - 10 % bolesnika podvrgnutih nekompliciranim torakalnim, abdominalnim i kardijalnim kirurškim zahvatima (1,2). Anestezija, poslijeoperacijska bol te vrsta samog kirurškog zahvata najčešći su uzroci koji izazivaju respiracijske poremećaje. Javlja se hipoksemija, smanjuju se plućni volumeni, stvaraju se atelektaze i dolazi do disfunkcije ošita. Tijekom indukcije u anesteziju te kod torakalnih i kirurških zahvata u gornjem dijelu abdomenu do stvaranja atelektaza najčešće dolazi u ovisnim dijelovima pluća u blizini dijafragme što uključuje oko 10 % ukupnog tkiva pluća. Atelektaze najčešće traju oko 2 dana nakon kirurških zahvata (3). Disfunkcija respiracijskih mišića, posebno ošita također nastaje tijekom prvih sati nakon operacije i može potrajati tjedan ili dva (4). Svi ti čimbenici zajedno uz poslijeoperacijsku bol dovode do ventilacijsko perfuzijskih poremećaja s posljedičnom hipoksijom i/ili ARI. Akutno zatajenje disanja smatra se jednom od najčešćih komplikacija u ranom poslijeoperacijskom vremenu (5). Iako se endotrahealna intubacija i mehanička ventilacija još uvijek smatraju osnovom u liječenju ARI, literaturni podaci ukazuju da je mortalitet tih bolesnika usko povezan s komplikacijama vezanim uz intubaciju

i mehaničku ventilaciju. Zbog toga je cilj spriječiti komplikacije i ako je moguće izbjeći endotrahealnu intubaciju. Neinvazivna ventilacija (NIV) ne zahtijeva postavljanje endotrahealnog tubusa te se danas sve češće koristi kako u profilaktičke (sprječavanje razvoja ARI) tako i u terapijske svrhe kod ARI (6). Osnovni cilj NIV-e je povećati plućne volumene, poboljšati izmjenu plinova, smanjiti dišni rad i nastajanje atelektaza te na taj način izbjeći endotrahealnu intubaciju i komplikacije invazivne ventilacije (7).

Iako se u početku NIV najčešće koristilo u liječenju bolesnika sa egzacerbacijom kronične opstruktivne bolesti pluća (KOBP), indikacije za upotrebu NIV-a su danas značajno šire i ponajprije su odraz razvoja i unaprjeđenja ventilacijskih tehnika.

PRIJEOPERACIJSKA PRIMJENA NIV

Danas postoji podaci o korištenju NIV-a u prijeoperacijskom vremenu. Perrin i sur. (8) proveli su randomizirano kliničko istraživanje kod bolesnika predviđenih za resekciju pluća. Pokazali su da prijeoperacijska i rana poslijeoperacijska primjena neinvazivne tlakom potpomognute ventilacije (*Noninvasive Pressure Support*

Ventilation - NIPSV) dovodi do manjih poremećaja u plućnoj funkciji u odnosu na kontrolnu skupinu (bolesnici kod kojih nije primjenjivana NIV). NIV se provodilo 7 dana prije i 3 dana nakon operacije. U odnosu na kontrolnu skupinu došlo je do značajnog poboljšanja oksigenacije, učestalost atelektaza bila je manja (14 % vs 39 %), a dužina boravka u bolnici kraća.

Novije studije ukazuju i na učinkovitost NIV-a u poboljšanju preoksigenacije prije intubacije kod hipoksemičnih bolesnika u JIL-u (9) i kod patološko preti-
lih bolesnika prije samog kirurškog zahvata (10). Kod hipoksičnih bolesnika upotreba NIV-a dovodi do poboljšanja oksigenacije, rasterećenja respiracijske muskulature, povećavanja volumena pluća i otvaranja alveola (*alveolar recruitment*).

POSILIJEOPERACIJSKA PRIMJENA NIV

U poslijeoperacijskom vremenu NIV se najčešće koristi u torakalnim, kardijalnim i velikim abdominalnim operacijama te kod bolesnika povišenog rizika za razvoj plućnih komplikacija.

Abdominalne operacije

Smatra se da kod abdominalnih operacija hipoksemija komplicira poslijeoperacijski tijek u 30-50 % bolesnika, a 8-10 % bolesnika zahtijeva mehaničku ventilaciju što značajno produžava intenzivno liječenje, boravak u bolnici te mortalitet spomenutih bolesnika (11).

Preventivni NIV. Stock i sur. (12) pokazali su da kod bolesnika koji su podvrgnuti odstranjenju žučnjaka otvorenom tehnikom primjena kontinuiranog pozitivnog tlaka u dišnim putevima (*Continuous Positive Airway Pressure* - CPAP) značajno povećava funkcionalni rezidualni kapacitet pluća i smanjuje učestalost nastanka atelektaza u odnosu na bolesnike koji su tretirani poticajnom spirometrijom i standardnim tehnikama fizikalne respiracijske terapije (duboko disanje i iskašljavanje). Također, bolesnici kod kojih je primjenjivan CPAP 10 cm H₂O 12 do 24 sata na dan nakon torakoabdominalnih operacija (aneurizme) imali su značajno bolju oksigenaciju i kraći boravak u bolnici (13).

Terapijski NIV. U velikoj multicentričnoj studiji provedenoj u Italiji koja je obuhvatila 15 JIL-a Squadroni i sur. (11) podijelili su bolesnike kod kojih je došlo do razvoja poslijeoperacijske hipoksemije u dvije skupine. Jedna skupina tretirana je primjenom CPAP-a (7,5 cm H₂O) preko helmeta a druga standardnom terapijom kisikom. Dokazali su da CPAP značajno smanjuje uče-

stalost endotrahealne intubacije te druge komplikacije kao što su pneumonija, sepsa, curenje anastomoza, infekcija i smrti. I neke druge studije pokazale su učinkovitost NIV-a, posebno u smanjenju učestalosti endotrahealne intubacije i dužine boravka u bolnici.

Neki autori, međutim, iskazuju zabrinutost glede upotrebe NIV-a kod abdominalnih operacija s gastrointestinalnim anastomozama, posebno anastomozama u gornjem dijelu probavnog trakta zbog mogućnosti narušavanja integriteta anastomoza primjenom visokog insuflacijskog tlaka i posljedične distenzije želuca i crijeva, te se u tom kontekstu NIV često navodi kao relativna kontraindikacija. Međutim, neke studije naprotiv ukazuju na manju učestalost curenja anastomoza kod bolesnika kod kojih je primjenjivan NIV (13,14). No, većina autora preporuča upotrebu tlaka manjeg od 25 cm H₂O (PEEP +PSV >25 cm H₂O) kod anastomoza na gornjem dijelu probavnog trakta.

Torakalne operacije

Iako se poslijeoperacijski mortalitet i morbiditet kod bolesnika nakon učinjene resekcije pluća tijekom proteklih godina značajno smanjio, prema literaturnim podacima još uvijek je vrlo visok. Ukupni mortalitet kreće se između 6,2 % i 24 % nakon pulmektomija te između 2,2 % i 4,6 % nakon lobektomija (15), a plućne komplikacije su i dalje vodeći uzrok smrti u 60 %-80 % bolesnika (16).

Preventivni NIV. Aguilo i sur. (17) proveli su istraživanje na 10 pulmektomiranih bolesnika primjenjujući NIV u trajanju od sat vremena nakon operacije. Nisu zabilježene komplikacije povezane sa samom tehnikom ni curenje zraka oko torakalnog drena. Zabilježeno je značajno poboljšanje oksigenacije u odnosu na kontrolnu skupinu.

Terapijski NIV. Auriant i sur. (18) pokazali su učinkovitost NIV-a kod bolesnika kod kojih je došlo do razvoja ARI nakon resekcije pluća. U tom istraživanju 20,8 % bolesnika kod kojih je primjenjivan NIV, zahtijevalo je intubaciju i invazivnu ventilaciju u odnosu na 50 % bolesnika u kontrolnoj skupini. Lefebvre i sur. (19) također su pokazali učinkovitost rane primjene NIV-a kod bolesnika s ARI nakon resekcije pluća. Od 690 bolesnika u 16 % došlo je do razvoja ARI. Svi su inicijalno liječeni NIV-om, a učinkovitost je iznosila 85 %.

Kardijalne operacije

Učestalost respiracijskih poremećaja nakon kardijalnih operacija prema literaturnim podacima je vrlo visoka. Pinill i sur. (20) objavili su da gotovo 40-90 %

bolesnika razvija poslijeoperacijske respiracijske komplikacije nakon kardijalnih operacija. Oštećenje freničnog živca, otvaranje prsnog koša te korištenje arterije mamarije samo su neki od čimbenika koji pridonose tako visokoj učestalosti plućnih komplikacija.

Preventivni NIV. Restriksijski sindrom nakon kardijalnih operacija javlja se u manjoj učestalosti nego nakon abdominalnih i torakalnih operacija, no učestalost disfunkcije ošita je veća. Većina objavljenih radova ukazuje na poboljšanje oksigenacije i ventilacijskih pokazatelja nakon primjene NIV-a. Matte i sur. (21) evaluirali su primjenu preventivnog NIV-a u 96 bolesnika tijekom prvih dvaju poslijeoperacijskih dana. Prva skupina bolesnika tretirana je ventilacijom u dvije razine pozitivnim tlakom (*Bi-level Positive Airway Pressure - BiPAP*) svakih 3 sata. Kod druge skupine primjenjivan je CPAP, a treća skupina tretirana je poticajnom spirometrijom. U skupinama bolesnika kod kojih je korišten NIV zabilježeno je poboljšanje oksigenacije i manje smanjenje plućnih volumena. Učestalost stvaranja atelektaza bila je ista u sve tri skupine. Do sličnih rezultata došli su Zarbock i sur. (22) koji su također pokazali da profilaktička primjena CPAP-a u trajanju od 6 sati/dan značajno pridonosi poboljšanju oksigenacije, smanjenju plućnih komplikacija te učestalosti reintubacije u odnosu na skupinu bolesnika koja je tretirana intermitentnom primjenom CPAP-a u trajanju od 10 min svakih 4 sata.

Terapijski NIV. U literaturi postoji samo mali broj studija koje se odnose na terapijsku primjenu NIV-a nakon kardijalnih operacija. De Moraes Coimbra i sur. (23) u 57 bolesnika s ARI primijenili su CPAP i BiPAP. Nisu našli statistički značajne razlike u broju intubiranih bolesnika i stupnju oksigenacije.

Barijatričke operacije

Poznato da je da patološka pretilost izaziva restriksijski sindrom, stanje smanjene rastezljivosti prsnog koša koje nastaje zbog povećane količine masnog tkiva toraksa i abdomena. Smanjuju se plućni volumeni, ekspiracijski rezervni volumen te funkcionalni rezidualni kapacitet. Osim toga više od 50 % bolesnika predviđenih za kirurške zahvate pretilosti ima također i pridružene kronične respiracijske bolesti kao što su opstruktivna apneja tijekom spavanja (OSA), hipoventilacijski sindrom te KOPB. Kombinacijom pridruženih bolesti, kirurškog zahvata te plućnih promjena koje izaziva sama pretilost čini ove bolesnike posebno rizičnima za razvoj poslijeoperacijskih respiracijskih poremećaja.

Preventivni NIV. U istraživanju koje su proveli Nelligan i sur. (24) primjenivši NIPPV neposredno nakon ekstubacije i CPAP 30 min nakon operacije pokazali

su da NIPPV značajno više utječe na poboljšanje spirometrijskih plućnih pokazatelja u odnosu na CPAP. Primjena BiPAP tijekom 24 sata nakon učinjene gastroplastike značajno je poboljšala forsirani vitalni kapacitet pluća, forsirani ekspiracijski volumen i arterijsku saturaciju kisikom u odnosu na standardnu primjenu kisika (25).

Terapijski NIV. Prema našim saznanjima, do sada nije objavljeno niti jedno istraživanje vezano uz terapijsku primjenu NIV kod ARI u bolesnika podvrgnutih kirurškom zahvatu zbog pretilosti.

ZAKLJUČAK

Anestezija te torakalni, kardijalni i abdominalni kirurški zahvati izazivaju značajne promjene u respiracijskoj funkciji koje traju od nekoliko dana do nekoliko tjedana a mogu dovesti do značajnih respiracijskih poremećaja uključujući i ARI. Iako se endotrahealna intubacija i mehanička ventilacija još uvijek najčešće koriste u liječenju ARI, razvojem i unaprjeđenjem ventilacijskih tehnika danas je moguće upotrebom NIV-a značajno smanjiti učestalost intubacije i komplikacija vezanih uz invazivnu ventilaciju. Brojni literaturni radovi ukazuju na značajno smanjenje mortaliteta i morbiditeta bolesnika kod kojih je primjenjivan NIV u odnosu na mehanički ventilirane bolesnika. Međutim, prije primjene NIV-a svakako treba isključiti kirurške komplikacije te dobro pripremiti bolesnika, jer je samo dobro pripremljen i suradljiv bolesnik je dobar kandidat za provođenje NIV-a s pozitivnim ishodom liječenja.

LITERATURA

1. Warner M. Preventing postoperative pulmonary complications. The role of the anesthesiologist. *Anesthesiology* 2000; 92: 1467-72.
2. Arozullah AM, Daley J, Henderson WG, Khuri SF. Multifactorial risk index for predicting postoperative respiratory failure in men after major noncardiac surgery. The National Veterans Administration Surgical Quality Improvement Program. *Ann Surg* 2000; 232: 242-53.
3. Magnusson L, Spahn DR. New concepts of atelectasis during general anaesthesia. *Br J Anaesth* 2003; 91: 61-72.
4. Simonneau G, Vivien A, Sartene R i sur. Diaphragm dysfunction induced by upper abdominal surgery. Role of postoperative pain. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128: 899-903.
5. Thompson J, Baxter T, Allison J, Johnson F, Lee K, Park W. Temporal patterns of postoperative complications. *Arch Surg* 2003; 138: 596-603.
6. Jaber S, Chanques G, Jung B. Postoperative noninvasive ventilation. *Anesthesiology* 2010; 112: 453-61.



7. British Thoracic Society Standards of Care Committee. Non-invasive ventilation in acute respiratory failure. *Thorax* 2002; 57: 192-211
8. Perrin C, Jullien V, Venissac N i sur. Prophylactic use of noninvasive ventilation in patients undergoing lung resectional surgery. *RespiratoryMed* 2007; 101: 1572-78.
9. Baillard C, Fosse JP, Sebbane M i sur. Noninvasive ventilation improves preoxygenation before intubation of hypoxic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174: 171-7.
10. Delay JM, Sebbane M, Jung B i sur. The effectiveness of noninvasive positive pressure ventilation to enhance preoxygenation in morbidly obese patients: a randomized controlled study. *Anesth Analg* 2008; 107: 1707-13.
11. Squadrone V, Cocha M, Cerutti E i sur. Continuous positive airway pressure for treatment of postoperative hypoxemia: a randomized controlled trial. *JAMA* 2005; 29: 589-95.
12. Stock M, Downs J, Gauer P, Alster JM, Imrey PB. Prevention of postoperative pulmonary complications with CPAP, incentive spirometry, and conservative therapy. *Chest* 1985; 87: 151-7.
13. Kindgen-Milles D, Müller E, Buhl R i sur. Nasal-continuous positive airway pressure reduces pulmonary morbidity and length of hospital stay following thoracoabdominal aortic surgery. *Chest* 2005; 128: 821-8.
14. Michelet P, D'Journo XB, Seinaye F, Forel JM, Papazian L, Thomas P. Non-invasive ventilation for treatment of postoperative respiratory failure after oesophagectomy. *Br J Surg* 2009; 96: 54-60.
15. Patel RL, Townsend ER, Fountain SW. Elective pneumonectomy: factors associated with morbidity and operative mortality. *Ann Thorac Surg* 1992; 54: 84-8.
16. Harpole DH Jr, DeCamp MM Jr, Daley J i sur. Prognostic models of thirty-day mortality and morbidity after major pulmonary resection. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 117: 969-79.
17. AguiloR, Togoeres B, Pons S, Rubí M, Barbé F, Agustí AG. Noninvasive ventilatory support after lung resectional surgery. *Chest* 1997; 112: 117-21.
18. Auriant I, Jallot A, Hervè P i sur. Noninvasive ventilation reduces mortality in acute respiratory failure following lung resection. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1231-5.
19. Lefebvre A, Lorut C, Alifano M i sur. Noninvasive ventilation for acute respiratory failure after lung resection: An observational study. *Intensive Care Med* 2009; 35: 663-70.
20. Pinilla JC, Oleniuk FH, Tan L i sur. Use of a nasal continuous positive airway pressure mask in the treatment of postoperative atelectasis in aortocoronary bypass surgery. *Crit Care Med* 1990; 18: 836-40.
21. Matte P, Jacquet M, Vandyck M, Goenen M. Effects of conventional physiotherapy, continuous positive airway pressure and non-invasive ventilatory support with bilevel positive airway pressure after coronary artery bypass grafting. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000; 44: 75- 81.
22. Zarbock A, Mueller E, Netzer S, Gabriel A, Feindt P, Kindgen-Milles D. Prophylactic nasal continuous positive airway pressure following cardiac surgery protects from postoperative pulmonary complications: A prospective, randomized, controlled trial in 500 patients. *Chest* 2009; 135: 1252-9.
23. de Moraes Coimbra VR, de Almeida Lara R, Flores EG, Nozawa E, Costa JO, Zanetti MI. Application of noninvasive ventilation in acute respiratory failure after cardiovascular surgery. *Arq Bras Cardiol* 2007; 89: 270-6.
24. Neligan PJ, Malhotra G, Fraser M. Noninvasive ventilation immediately after extubation improves lung function in morbidly obese patients with obstructive sleep apnea undergoing laparoscopic bariatric surgery. *Anesth Analg* 2010; 110: 1360-5.
25. Ebeo CT, Benotti PN, Byrd RP Jr, Elmaghraby Z, Lui J. The effect of bi-level positive airway pressure on postoperative pulmonary function following gastric surgery for obesity. *Respir Med* 2002; 96: 672-76.

S U M M A R Y

NONINVASIVE VENTILATION IN THE POSTOPERATIVE PERIOD

V. NESEK ADAM, D. TONKOVIĆ, E. GRIZELJ STOJČIĆ, V. MRŠIĆ, M. MATOLIĆ and D. MARIN

*University J. J. Strossmayer, School of Medicine in Osijek, Sveti Duh University Hospital,
Department for Anesthesiology, Reanimatology and Intensive Care, Zagreb, Croatia*

Acute respiratory failure is relatively common postoperative complication, occurs frequently in patients with preexisting compromised respiratory function and/or undergoing major thoracoabdominal procedures. Although endotracheal intubation and mechanical ventilation is still considered the cornerstone for the treatment of patients with acute respiratory failure, literature data have shown that mortality of these patients is closely associated to complications of intubation and mechanical ventilation. Therefore, the goal is to prevent complications and if possible to avoid endotracheal intubation. Noninvasive ventilation (NIV) is a form of mechanical support that does not require endotracheal intubation and is nowadays often used in prophylactic and therapeutic purposes in surgical patients with acute respiratory failure. In this article we give a brief overview of the indications and limitations of non-invasive ventilation in perioperative period.

Key words: noninvasive ventilation, surgical patients



ŠTO TREBA ZNATI O PSORIJATIČNOM ARTRITISU?

TATJANA KEHLER i LEO ČABRIJAN¹

Thalassoterapia, Opatija i ¹Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet, Katedra za rehabilitacijsku medicinu, Rijeka, Hrvatska

Psorijatični artritis (PsA) je kronična upalna artropatija koja može zahvatiti periferne zglobove i aksijalni skelet. Registrira se u 7 % do 42 % pacijenata s kožnom psorijazom. Promjene na zglobovima mogu godinama prethoditi pojavi kožnih promjena. Bolest se manifestira bolom i zakočenošću u zahvaćenim zglobovima. Važnu ulogu ima genetska predispozicija (prisutnost B27 udružena je s aksijalnim oblikom bolesti, a DR4 sa simetričnim poliartikularnim oblikom koji podsjeća na reumatoidni artritis). Entenzitisi su upalne promjene na hvatištu tetiva i ligamenata za kost. Navedene su promjene svojstvene spondiloartritisima, tj. skupini upalnih reumatskih bolesti kojima pripada i PsA. Za PsA, kao i za ostale spondiloartritise, tipična je pojava određenih ekstraartikularnih zglobnih manifestacija, kao npr. očne promjene (konjunktivitis i uveitis se viđaju u 1/3 bolesnika s PsA), srčane smetnje, upalne bolesti crijeva, te upale genitourinarnog sustava. U liječenju zglobnih promjena koriste se NSAR (nesteroidni antireumatici), DMARD (*Disease-Modifying Antirheumatic Drugs*), tj. lijekovi koji modificiraju bolest kao što su metotreksat (MTX), leflunomid i sulfasalazin. U novije vrijeme sve se više koriste i biološki agensi. Fizikalna terapija je, u pravilu, nadopuna medikamentnoj terapiji. U težim oblicima PsA nameće se potreba i rekonstruktivnih kirurških zahvata. U liječenju PsA preporuča se istodobno liječenje kožnih i zglobnih promjena. Da bi se postiglo optimalne rezultate potrebno je naglasiti kolika je važnost zajedničkog pristupa reumatologa i dermatologa u liječenju bolesnika s PsA.

Ključne riječi: spondiloartritis, psorijatični artritis, psorijaza

Adresa za dopisivanje: Tatjana Kehler, dr. med.
Thalassoterapia
Ulica Maršala Tita 188
51 410 Opatija, Hrvatska
E-pošta: tatjana.kehler@ri.t-com.hr

UVOD

Psorijatični artritis (PsA) se javlja u 7 % do 42 % pacijenata s kožnom psorijazom (1). Dugi se niz godina smatrao benignim oblikom artropatije. Danas se zna da u određenog broja pacijenata može poprimiti agresivni (čak mutilirajući) tijek te dovesti do velikog funkcijskog deficita. Psorijatični artritis pripada u skupinu tzv. spondiloartritis (SpA).

SPONDILOARTRITISI

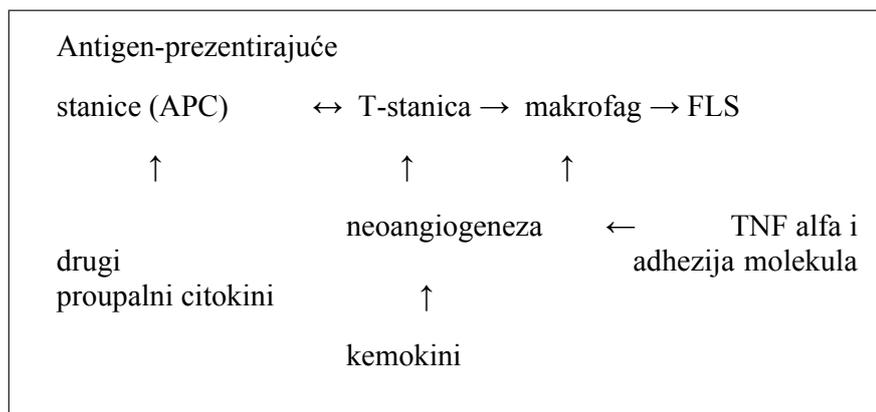
Spondiloartritis su heterogena skupina kroničnih upalnih reumatskih bolesti koje zahvaćaju sinoviju, enteze (hvatišta tetiva za kost) i tipične ciljne organe i organske sustave. SpA se dijele u dvije skupine. Jednu čine upalne reumatske bolesti gdje je upalom dominantno zahvaćen aksijalni skelet (prototip je ankilozantni spondilitis), te drugu gdje su upalom zahvaćeni

dominantno periferni zglobovi. U potonju ulaze psorijatični artritis, reaktivni artritis, enteropatski artritis i nedifirencirani SpA (1).

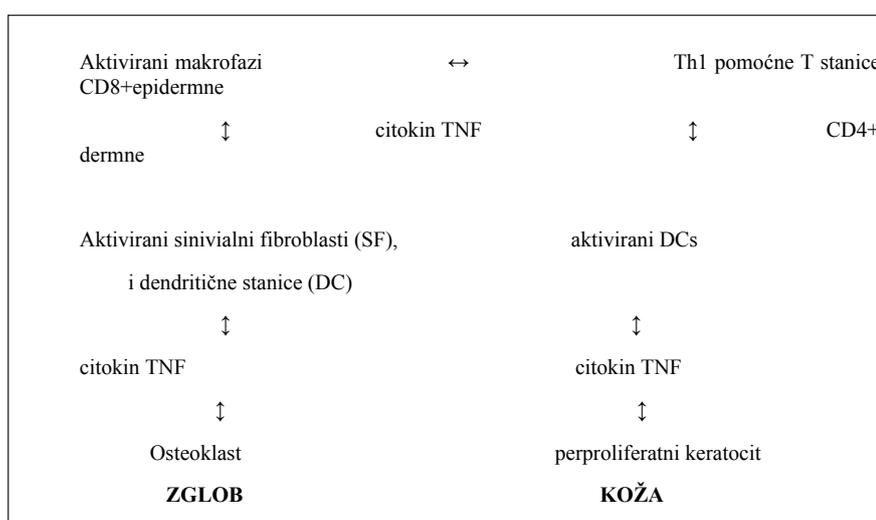
Etiopatogeneza

Etiopatogeneza bolesti nije do kraja razjašnjena. Postoji razlika u imunološkom procesu koji nalazimo u PsA u odnosu na onaj u reumatoidnom artritisu (RA) (sl. 1).

Proupalne citokine, kao što su *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), interleukin-1 (IL-1), IL-6 i IL-8, izolirani iz sinovijske tekućine u PsA, nalazimo i u RA. Povišena razina TNF- α otkrivena je i u psorijatičnom plaku. Proinflamatorni citokini (npr. TNF- α) aktiviraju endotelne stanice za ekspresiju adhezijskih molekula ICAM-1 (*intercellules adhesion mollecule 1*), VCAM-1 (*vascular adhesion mollecule 1*) i E-selektin koji promoviraju migraciju T-limfocita). Neoangiogeneza pod



Sl. 1. Shematski prikaz patogeneze PsA (T. Kehler)



Sl. 2. Stanična patogeneza PsA

kontrolom je VEGF (*Vascular Endotel Growing Factor*), angiopoetina-1 i -2, TGF- β (*Tumor Growing Factor*) i PDGF (sl. 2).

SpA se pojavljuju ponajprije u genetski predisponiranih osoba (najčešće s B27 pozitivnim HLA nalazom) uz neke druge provokativne činitelje koji imaju važnu ulogu u kliničkoj manifestaciji bolesti. Ponekad je teško odvojiti pojedine bolesti jer može biti izraženo preklapanje dvije ili više bolesti. Entezitis je promjena karakteristična za sve oblike SpA. Slično vrijedi za ekstraartikularne manifestacije, kao npr. očne promjene (konjunktivitis i uveitis se viđaju u 1/3 bolesnika s PsA), srčane smetnje (aortna insuficijencija, infarkt miokarda, i sl.), upalne bolesti crijeva, upale genitourinarnog sustava (2).

Klinička slika

Psorijatični artritis (PsA) je kronična upalna artropatija koja može zahvatiti periferne zglobove i aksijalni

skelet. Registrira se u 7 % do 42 % pacijenata s kožnom psorijazom (1). Zglobne i kožne promjene se istodobno javljaju u oko 20 % oboljelih. U oko 15 % slučajeva promjene na zglobovima mogu godinama prethoditi pojavi kožnih promjena (1,2).

Bolest se manifestira bolom i zakočenošću u zahvaćenim zglobovima i kralježnici. Važnu ulogu ima genetska predispozicija (prisutnost B27 udružen je s aksijalnim oblikom bolesti, a DR4 sa simetričnim poliartikularnim oblikom koji podsjeća na reumatoidni artritis). Antigeni koji se također mogu povezati s psorijatičnim artritisom uz navedene mogu biti: DR7, B13, B17, Bw38, Bw39, Cw6... Srodnici u prvom koljenu imaju 40-50 % rizik od obolijevanja, dok je u najbližim rođacima rizik 70 % (3,4). PsA se obično pojavljuje u dobi od 30 do 50 godina, no može se javiti već u djetinjstvu. Podjednako se često javlja i u muškaraca i u žena (1,3).

PsA se klinički može manifestirati različitim oblicima. Podjela prema Mollu i Wrightu razlikuje: oligoar-



tikularni oblik, tipičan oblik, tj. asimetrično zahvaćanje distalnih interfalangealnih zglobova (DIP) uz promjene na noktima, mutilirajući oblik artritisa, simetrični poliartritis (klinički sličan reumatoidnom artritisu) i psorijatični spondiloartritis koji se javlja u 5 % pacijenata s psorijatičnim artritisom (karakterističan je radiološki nalaz na aksijalnom skeletu i sakroilijakalnim zglobovima) (1,5-7).

U kliničkoj slici dominiraju bol, oteklina i zakočenost jednog ili više zglobova, pri čemu su zglobovi najčešće asimetrično zahvaćeni. Jutarnja zakočenost (JZ) šaka trajanja više od 30 minuta izražena je u više od 50 % bolesnika. Tipična je pojava tzv. "kobasičasti prst". Radi se o daktilitisu, tj. oteklini mekih struktura tako da prst nalikuje na kobasicu. Karakteristika SpA je da su upalnim promjenama zahvaćeni zglobovi donjih ekstremiteta (koljena, gležnjevi, hvatište tetive kvadricepsa i Ahilove tetive ili plantarne fascije). U psorijatičnom artritisu može se javiti bol u području sakroilijakalnih zglobova kao rezultat sakroileitisa, koji je najčešće asimetričan. Entenzitisi su karakteristična promjena za PsA (sl. 3). To su upalne promjene na hvatištu tetiva i ligamenata za kost (3,4,8). Entenzitis je u bolesnika s PsA u više od 50 % slučajeva je asimptomatičan (1,2,8). Klinički se entenzitis manifestira bolovima na mjestu hvatišta zahvaćenih tetiva: peta, veliki trohanter, zdjelica, potiljak, i sl.

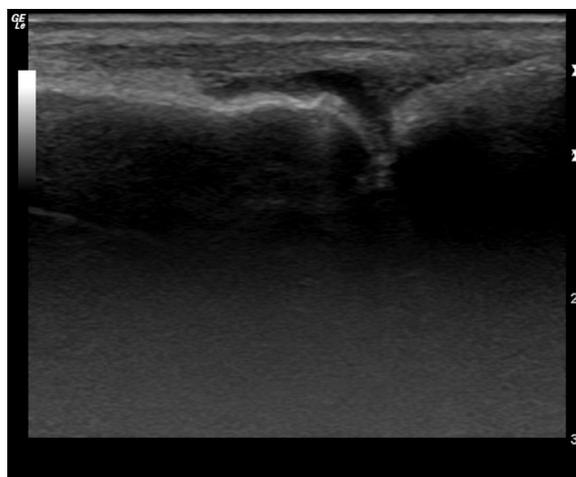
Bolest je karakterizirana fazama egzacerbacije i remisija. U 84 % pacijenata izražen je umjereno negativan učinak na aktivnosti u svakodnevnom životu, 40 % do 50 % pacijenata ima znakove destrukcije na konvencionalnom radiogramu (1,2). Teški oblik onesposobljenosti razvije 15 % do 30 % bolesnika s PsA (1,2). Loši prognostički čimbenici su: poliartikularni početak bolesti, tj. više od 5 otečenih zglobova tijekom prvog pregleda, povišeni reaktanti upale (SE, CRP), brzi razvoj erozivnih promjena, neučinkovitost inicijalne terapije. Lošiju prognozu imaju osobe - nositelji B27, DR7 i B39, DQw3. Prisutnost B22 ima bolju prognozu (1,2,8).

Promjene na zglobovima koje otkrijemo konvencionalnim radiogramom definitivne su i vode u invalidnost (sl. 4).

Nove metode slikovnog prikaza, uključujući tu ultrazvuk, MR (magnetsku rezonanciju) i MSCT (magnetsku kompjutorsku tomografiju) mogu pomoći u otkrivanju ranih promjena na perifernim zglobovima i mekim strukturama. Ultrazvuk je metoda izbora za proučavanje upalne aktivnosti koja zahvaća meke strukture. Primjenom ultrazvuka moguća je detekcija ranih promjena (edema, zadebljanja) kao i kasnih promjena (erozije i entenzofiti). Njegovom primjenom upotpunjuje se klinička dijagnostika, jer se radi o jednostavnoj, brznoj, neškodljivoj i jeftinoj metodi. Danas



Sl. 3. Tipičan radiološki nalaz (tzv. "pencil and cup" promjene na distalnim falangama).



Sl. 4. Ultrazvučni nalaz (drugi metakarpofalangealni zglob desne šake), sinovitis uz početne promjene na koštanom dijelu.

se naglašava važnost rane dijagnoze, liječenja i praćenja učinkovitosti primijenjene terapije u bolesnika s psorijatičnim artritisom. Rana dijagnostika podrazumijeva rano otkrivanje sinovitisa i entenzitisa. WBMRI (*Whole-Body MRI*) je obećavajuća nova slikovna metoda za evaluaciju entenzitisa u pacijenata s PsA i axASpA, ali su prije kliničke primjene potrebna još neka dodatna istraživanja (1,2,8-10).

Ultrazvuk ima veliku važnost u praćenju aktivnosti bolesti sa ciljem prevencije strukturnih oštećenja. Remisiju se može čvrstom kontrolom ("tight control") pacijenta, te detekcijom minimalne upalne aktivnosti kao i ranom primjenom lijekova koji modificiraju bolest. Klinička remisija se ne podudara uvijek s potpunom odsutnošću upale koja se može detektirati ultrazvukom. Često se ultrazvukom uočava sinovitis u pacijenata koji su u "kliničkoj remisiji", a to je povezano s lošijim kliničkim i funkcijskim ishodom. Prethodno navedeno je snažan argument da ultrazvuk postane



Tablica 1.

CASPAR (CLASsification criteria for Psoriatic ARthritis) kriteriji za rano otkrivanje PsA

Upalna zglobna bolest (zglobovi, kralježnica ili enteze) i najmanje 3 od sljedećega:	
Psorijaza sadašnja (PS)	2 boda
Ps - osobna anamneza	1 bod
Ps- obiteljska anamneza	1 bod
Distrofija nokata	1 bod
Daktilitis (sada ili ranije)	1 bod
Jukstaartikularno stvaranje nove kosti (rdg šaka i stopala)	1 bod
Negativan reumatoidni faktor	1 bod
• Senzitivnost - 91,4 %, specifičnost - 98,7 %.	
• Osjetljivi u ranom PsA i točni su u postavljanju dijagnoze koji dolaze liječnicima obiteljske medicine.	
• Entenzitisi su karakteristična promjena za PsA (to su upalne promjene na hvatištu tetiva i ligamenata za kost).	

Tablica 2.

Lijekovi koji modificiraju bolest za PsA

Lijek	Artritis	Koža
SULFASALAZIN	Granično (blago)	Nema
METOTREKSAT	Poboljšanje liječnikove globalne procjene	Poboljšanje kožnih promjena
CIKLOSPORIN (SAŽETAK)	Granično (blago)	Dobro
SOLI ZLATA	Granično	Nema
AZATIOPRIN	Granično	Nema
LEFLUNOMID	PsARC 59 % ACR20 36,3 %	Medijano PASI poboljšanje 23,8 %

Tablica 3.

Biološki agensi koji ciljaju na specifične komponente imunološkog odgovora.

Tip	Lijek
Anti-TNF monoklonska antitijela	ADALIMUMAB
	INFLIKSIMAB
	GOLIMUMAB
Solubilni TNF receptor	ETANERCEPT

dio uobičajenog dijagnostičkog postupka u bolesnika s upalnom reumatskom bolesti i na taj način prevenirati lošiji ishod u tih bolesti (9,11,12).

Liječenje PsA uključuje istodobno liječenje kožnih i zglobnih promjena pa je poželjna primjena lijekova koji su učinkoviti i za kožu i za zglobove (tablica 2). U liječenju zglobnih promjena koriste se NSAR, DMARD kao što je MTX, leflunomid i sulfasalazin, te u novije vrijeme biološki agensi (1,2,11,12,13) (tablica 3).

114

Nesteroidni antireumatici djeluju protuupalno i tako smanjuju bol. Najčešće su prvi lijek izbora. Nemaju utjecaj na tijek bolesti i ne preveniraju strukturna (koštana) oštećenja. U slučajevima kada su izraženi klinički znakovi sistemske upale primjenjuju se glukokortikoidi sistemski. Češće ih dajemo lokalno u bolne zglobove i enteze. Indikacija za primjenu bioloških lijekova su teški oblici PsA i prethodna neučinkovitost na primjenu MTX-a, leflunomida i protuupalnih lijekova (1,2,5,12-16).

Anti-TNF alfa lijekovi su značajni iskorak u liječenju upalnih reumatskih bolesti, pa tako i psorijatičnog artritisa. No, valja napomenuti, da se, iako rijetko, može uočiti neke tzv. neočekivane, paradokсне učinke liječenja tom skupinom bioloških lijekova, kao npr. psorijatičnog promjena po koži, uvećani ili granulomatozne bolesti (sarkoidoza ili Crohnova bolest) (19). Iz našeg iskustva možemo navesti pojavu pustuloznih promjena po dlanovima i tabanima pacijentice s ankilozantnim spondilitisom koja je se liječi anti-TNF-alfa terapijom. Promjene su blage uz dobar odgovor na lokalnu terapiju. Pacijentica je nastavila svojom biološkom terapijom.

Druga linija liječenja je sustavna primjena glukokortikoida, primjena derivata retinoične kiseline, fotokemoterapija s MTX, fizikalna terapija kao nadopuna medikamentnoj terapiji, te rekonstruktivna kirurgija.

ZAKLJUČAK

PsA je i dalje izazovna bolest. Postojeći su lijekovi učinkoviti, ali ne mogu izliječiti bolest. Nove strategije trebaju poboljšati ishod liječenja uvažavajući heterogenost bolesti. Potrebno je naglasiti kolika je važnost timskog pristupa reumatologa i dermatologa u ranoj dijagnostici i liječenju bolesnika s PsA da bi se postigli optimalni rezultati i spriječila invalidnost bolesnika.

LITERATURA

- Mercieca C, Landewé R, Borg AA. Spondyloarthropathies: Pathogenesis and Clinical Features. U: Textbook on Rheumatic Diseases. BMJ Group, EULAR, 2012, 255-75.
- Efthimiou P, Markenson JA. Psoriatic arthritis. Manual of Rheumatology and Outpatient Orthopedic Disorders, diagnosis and therapy. Fifth edition. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2006. 318-24.
- Sieper J, Caron P, van den Bosch F. Spondylarthropathies: Treatment. BMJ Group, EULAR Textbook on Rheumatic Diseases. First edition, 2012, 276-300.



4. Dougados M, Landewé R. Spondylarthropathides: pathogenesis, clinical aspects and diagnosis. BMJ Group, EULAR Compendium on Rheumatic diseases. First edition. 2009, 92-115.
5. Wright V. Psoriasis and arthritis. Ann Rheum Dis 1956; 15: 348-56.
6. Wright V. Psoriasis and arthritis: a comparative study of rheumatoid arthritis, psoriasis and arthritis associated with psoriasis. Arch Derm 1959; 80: 27-35.
7. Moll JMH, Wright V. Psoriatic arthritis. Semin Arthritis Rheum 1973; 3: 55-78.
8. Sieper J, Heibel H, Mielants H. Management of spondylarthropathides. Spondylarthropathides: pathogenesis, clinical aspects and diagnosis. BMJ Group, EULAR Compendium on Rheumatic diseases. First edition. 2009, 116-131.
9. Armstrong AW, Robertson AD, Wu J, Schupp C, Leibold MG. Undertreatment, treatment trends, and treatment dissatisfaction among patients with psoriasis and psoriatic arthritis in the United States: findings from the National Psoriasis Foundation surveys, 2003-2011. JAMA Dermatol 2013; 149:1180-5.
10. Poggenborg RP, Eshed I, Østergaard i sur. Enthesitis in patients with psoriatic arthritis, axial spondyloarthritis and healthy subjects assessed by "head-to-toe" whole-body MRI and clinical examination. Ann Rheum Dis 2015; 74: 823-9.
11. Theander E, Husmark T, Alenius GM i sur. UR.Early psoriatic arthritis: short symptom duration, male gender and preserved physical functioning at presentation predict favourable outcome at 5-year follow-up. Results from the Swedish Early Psoriatic Arthritis Register (SwePsA). Ann Rheum Dis 2014; 73: 407-13.
12. Palmer D, El Miedany Y. Early psoriatic arthritis: facing the challenge. Br J Nurs 2013; 22: 1014-20.
13. Sandobal C, Carbó E, Iribas J, Roverano S, Paira S. Ultrasound nail imaging on patients with psoriasis and psoriatic arthritis compared with rheumatoid arthritis and control subjects. J Clin Rheumatol 2014; 20: 21-4.
14. Altomare G, Capsoni F. The diagnosis of early psoriatic arthritis. G Ital Dermatol Venereol 2013; 148: 501-4.
15. Saad AA, Ashcroft DM, Watson KD, Hyrich KL, Noyce PR, Symmons DP. Persistence with anti-tumour necrosis factor therapies in patients with psoriatic arthritis: observational study from the British Society of Rheumatology Biologics Register. Arthritis Res Ther 2009; 11: R52.
16. Rudwaleit M, Van den Bosch F, Kron M, Kary S, Kupper H. Effectiveness and safety of adalimumab in patients with ankylosing spondylitis or psoriatic arthritis and history of anti-tumor necrosis factor therapy. Arthritis Res Ther 2010; 12: R117.
17. Ritchlin CT, Kavanaugh A, Gladman DD, Mease PJ, Helliwell P, Boehncke WH, de Vlam K, Fiorentino D, FitzGerald O, Gottlieb AB, McHugh NJ, Nash P, Qureshi AA, Soriano ER, WJ, for the Group for Research and Assessment of Psoriasis and Psoriatic Arthritis (GRAPPA). Treatment recommendations for psoriatic arthritis. Ann Rheum Dis 2009; 68: 1387-94.
18. Wendling D, Prati C. Paradoxical effects of anti-TNF- α agents in inflammatory diseases. Exp Rev Clin Immunol 2014; 10: 159-69.

SUMMARY

WHAT SHOULD BE KNOWN ABOUT PSORIATIC ARTHRITIS?

T. KEHLER and L. ČABRIJAN¹

*Thalassotherapie, Opatija and ¹University of Rijeka, School of Medicine,
Chair of Rehabilitation Medicine, Rijeka, Croatia*

Psoriatic arthritis (PsA) is chronic inflammatory arthropathy of peripheral joints and axial skeleton, occurring in 7% to 42% of patients with psoriasis. Arthritis might precede skin psoriatic lesion in 13% to 17% cases. Patients present with pain and stiffness of the affected joints. A genetic factors play an important role (B27 has been associated with axial form, and DR4 with peripheral polyarticular form of PsA). Enthesopathy is a hallmark feature of PsA. It is an inflammation at the sites where tendons and ligaments attach to the bone. Extra-articular manifestations of disease are conjunctivitis and uveitis (occur in up to 1/3 of patients with PsA), heart disorder (aortic insufficiency), gut inflammation, urogenital inflammation. Treatment of PsA includes therapies for both the skin and the joint disease. The treatment for the joint disease includes using NSAR (nonsteroidal anti-inflammatory drugs), DMARDs (Disease-Modifying Antirheumatic Drugs) such as methotrexat (MTX), leflunomid, sulfasalasin and biological agents. Second-line therapy are: systemic glucocorticoids, retinoic acid derivatives/etretinate, photochemotherapy with MTX, physical therapy as an adjunct to drug therapy, and reconstructive surgery. The most important is that rheumatologist and dermatologist need to have some approach in management of PsA for optimal results.

Key word: spondyloarthritis, arthritis psoriatica, psoriasis





PROF. DR. SC. LUKA KOVAČIĆ

1940. – 2015.

Dne 24. travnja 2015. u 12:30 sati oprostili smo se u ime Akademije medicinskih znanosti Hrvatske ispred mrtvačnice na Mirogoju s tugom i sveopćim poštovanjem od našeg uglednog člana, profesora dr. sc. Luke Kovačića, umirovljenog profesora Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i bivšeg direktora Škole narodnog zdravlja "Andrija Štampar". Profesor Kovačić je bio redovni član AMZH od 1994; u Akademiji je bio dugogodišnji predsjednik Kolegija javnog zdravstva, a posljednjih godina i tajnik Senata AMZH.



Od 1984. do 2006. godine bio je voditelj poslijediplomske nastave Javnog zdravstva, te nositelj nekoliko predmeta u poslijediplomskim studijima.

Njegov znanstveni i nastavni interes obuhvaćao je socijalnu medicinu, organizaciju zdravstvene službe i javno zdravstvo. Veliko je iskustvo stekao u terenskim epidemiološkim istraživanjima kroničnih nezaraznih bolesti, korištenja zdravstvene zaštite, zdravlja starih ljudi, operativnih istraživanja u javnom zdravstvu, primarnoj zdravstvenoj zaštiti i nastavnoj tehnologiji. Aktivno je sudjelovao na mnogim međunarodnim skupovima, seminarima i školama. Osobito se istakao organizacijom i sudjelovanjem na mnogobrojnim domaćim i međunarodnim znanstvenim i stručnim skupovima iz područja javnog zdravstva i organizacije zdravstvene zaštite, gdje je stekao visok ugled i poštovanje u Hrvatskoj i inozemstvu, a time dao svoj obol hrvatskoj medicini. Bio je član Europskog društva za javno zdravstvo (član Znanstvenog odbora), član Europske mreže zdravstvenih regija "Tipping the Balance Toward Primary Health Care" (TTB) od 1987. godine, a od 1997. do 2006. godine i predsjedavajući Upravnog odbora i Skupštine. Također je bio član Upravnog odbora Europske mreže za multiprofesionalnu edukaciju (EMPE).

Cijeli svoj radni vijek radio je i djelovao na Medicinskom fakultetu u Zagrebu u okviru Škole narodnog zdravlja "Andrija Štampar" kao dosljedni promicatelj javno-zdravstvene doktrine njezina osnivača Štampara. Njegov najveći doprinos je praktična implementacija te doktrine u svakodnevni rad hrvatske zdravstvene službe i šire. Pamtit ćemo ga kao vrlo samozatajnog, dobrog i plemenitog čovjeka, dragog kolegu gandijevskih osobina uporne i efikasne aktivnosti.

Rođen je u Đurđevcu 13. listopada 1940., diplomirao 1965. na Medicinskom fakultetu u Zagrebu, gdje je 1967/68. završio poslijediplomski studij iz javnog zdravstva, a 1972. godine postao magistar znanosti. Specijalistički ispit iz socijalne medicine s organizacijom zdravstvene zaštite položio je 1974., a doktorat medicinskih znanosti obranio 1983. godine na Medicinskom fakultetu u Zagrebu.

Usavršavao se u 1968. u SAD-u, na seminaru za terenska istraživanja, a 1971. godine boravio je šest mjeseci na poslijediplomskom usavršavanju iz organizacije zdravstvene zaštite i epidemiologije kroničnih bolesti na Školi narodnog zdravlja Johns Hopkins fakulteta u Baltmoreu, SAD. Na zagrebačkom Medicinskom fakultetu, u Školi narodnog zdravlja "Andrija Štampar" radi od 1965. godine kao sveučilišni nastavnik u Katedri za socijalnu medicinu i organizaciju zdravstvene službe, od 1969. godine je asistent, 1984. docent, 1988. izvanredni i 2003. godine redoviti profesor za predmet Socijalna medicina i organizacija zdravstvene zaštite i zdravstvena ekonomika. Od 1990. do 2002. godine pročelnik je Katedre za higijenu, socijalnu medicinu i epidemiologiju, kasnije Katedre za socijalnu medicinu i organizaciju zdravstvene službe. Zamjenik je direktora od 1989. do 2005., a od 2005. do 2006. godine direktor Škole narodnog zdravlja "Andrija Štampar".

Objavio više od 170 znanstvenih i stručnih radova iz područja javnog zdravstva, socijalne medicine, organizacije zdravstvene zaštite i epidemiologije, od toga značajan broj radova u CC časopisima i drugim indeksnim časopisima. Objavio je više nastavnih tekstova iz područja socijalne medicine i organizacije zdravstvene zaštite, te bio urednikom 3 udžbenika (1 na engleskom jeziku).

Svojim upornim i nesebičnim radom gotovo do zadnjeg trenutka uvelike je doprinio radu Senata i Predsjedništva AMZH. Pamtit ćemo ga kao požrtvovnog i dragog kolegu i prijatelja, kojemu je na prvom mjestu bio osjećaj obveze prema humanom medicinskom pozivu i narodu kojem je pripadao.

Neka mu je vječna hvala i slava!

Prof. dr. sc. MLADEN BELICZA

Tajnik Senata AMZH



UPUTE AUTORIMA

Časopis ACTA MEDICA CROATICA objavljuje uvodnike, izvorne radove, preglede, klinička zapažanja, osvrte, primjere iz kontinuirane medicinske edukacije, sažetke radova s kongresa i simpozija, pisma uredništvu, prikaze knjiga i drugo. Objavljuje i tematske brojeve časopisa uz gosta-urednika. Prihvatanje kategoriziranog članka obvezuje autora da isti članak ne smije objaviti na drugome mjestu bez dozvole Uredništva.

Upute autorima u skladu su s tekstem "International Committee of Medical Journals of Editors. Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (N Engl J Med 1997; 336: 305-15)".

Oprema rukopisa

Članci i svi prilozi dostavljaju se na hrvatskom jeziku u tri istovjetna primjerka i na CD/DVD u Wordu. Rad ne smije imati više od 20 stranica, tipkanih dvostrukim proredom (najviše 30 redaka na jednoj stranici). S obje strane teksta valja ostaviti bijeli rub širine 3,6 cm.

Izvorni radovi sadrže ove dijelove: uvod, cilj rada, metode rada, rezultati, rasprava i zaključci. Uvod je kratak i jasan prikaz problema, cilj sadrži kratak opis svrhe istraživanja. Metode se prikazuju tako da čitatelju omoguće ponavljanje opisana istraživanja. Poznate se metode ne opisuju, nego se navode izvorni literaturni podatci. Ako se navode lijekovi, rabe se njihova generička imena (u zagradi se može navesti njihovo tvorničko ime). Rezultate treba prikazati jasno i logički, a njihovu značajnost potvrditi odgovarajućim statističkim metodama. U raspravi se tumače dobiveni rezultati i uspoređuju s postojećim spoznajama na tom području. Zaključci moraju odgovoriti postavljenom cilju rada.

Naslov rada, puna imena i prezimena autora, ustanova u kojoj je rad napravljen te adresa prvoga autora dostavljaju se na posebnom listu papira.

Sažetak na hrvatskom jeziku prilaže se u obimu od najviše 200 riječi na posebnom listu papira.

Prilog radu je i prošireni strukturirani sažetak (cilj, metode, rezultati, rasprava, zaključak) na engleskom jeziku (Summary) (500-600 riječi) uz naslov rada, inicijale imena i prezime autora te naziv ustanova na engleskom jeziku. Ispod sažetka (i summary-a) navode se ključne riječi koje su bitne za brzu identifikaciju i klasifikaciju sadržaja rada. Tablice se prikazuju na posebnom listu papira. Moraju imati redni broj koji ih povezuje s tekstem i naslov. Svaka slika treba imati svoj redni broj prema redosljedu kojim se pojavljuje u tekstu i ime prvog autora rada. Opis slika (legenda) tiska se također na posebnom listu papira prema svom rednom broju. Fotografije se primaju crno-bijele na sjajnom papiru. Crteži se mogu izraditi tušem na bijelom papiru ili otisnuti na računalnom laserskom ili tintnom štampaču grafičkim tehnikama visoke rezolucije.

Popis literature piše se na posebnom papiru s rednim brojevima prema redosljedu kojim se citat pojavljuje u tekstu. Literatura se citira prema dogovoru postignutom u Vancou-

veru, a za naslove časopisa treba rabiti kraticu navedenu u Index medicus/Medline/Pubmed. Uz rad je obvezno priložiti izjavu o suglasnosti koautora o publiciranju rada te o nepostojanju uskoba interesa.

Članak u časopisu (navedite sve autore ako ih je 6 ili manje; ako ih je 7 ili više, navedite prva tri i dodajte: i sur.

Smerdelj M, Pećina M, Hašpl M. Surgical treatment of infected knee contracture after war injury. Acta Med Croatica 2000; 53: 151-5.

Suplement časopisa

Djelmiš J, Ivanišević M, Mrzljak A. Sadržaj lipida u placenti trudnica oboljelih od dijabetesa. Acta Med Croatica 2001; 55 (Supl. 1): 47-9.

Knjige i monografije

Mould RF. Introductory medical statistics. Turnbridge Wells: Pitman Medical, 1976.

Guluyer AY, ur. Health indicators. An international study for the European Science Foundation. Oxford: M. Robertson, 1983.

Poglavlje u knjizi

Weinstein I, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. U: Sodeman WA, ur. Pathologic physiology: mechanism of disease. Philadelphia: WB Saunders, 1974, 457-72.

Disertacija ili magistarski rad

Cigula M. Aktivnosti nekih enzima u humanom serumu kao pokazatelji apsorpcije žive (disertacija). Zagreb: Medicinski fakultet, 1987, str. 127.

Citiranje literature objavljene u elektroničkom formatu

Hoffman DI, St John's Wort. 1995; [4 stranice]. Dostupno na URL adresi: <http://www.healthy.net/library/books/homan/materiamedical/stjhns.htm>. Datum pristupa informaciji: 16. srpnja 1998.

Morse SS. Factors in the emergence of infectious disease. Emerg Infect Dis [elektronički časopis na internetu] 1995; [24 ekrana/stranice] Dostupno na URL adresi: <http://www.cdcd/god/nsidoc/EID/eid.htm>. Datum pristupa informaciji 26. prosinca 1999.

Knjiga na CD-ROM-u

The Oxford English dictionary [knjiga na CD-ROM-u]. II. izdanje. New York, N. Y: Oxford University Press, 1992.

Gershon ES. Antisocial behavior. Arch Gen Psychiatry [časopis na CD-ROM-u]. 1995; 52: 900-1.

Softver (program)

Epi Info [kompjutorski program]. Verzija 6. Atlanta, GA. Center for Disease Control and Prevention, 1994.

Radovi se šalju na adresu Uredništva časopisa. Urednički odbor šalje prispjeli rad na anonimnu recenziju (dva recenzenta). Ako recenzent predloži promjene ili dopune rada, kopija recenzije dostavlja se autoru radi konačne odluke i ispravka teksta. Autor dobiva probni otisak rada na korekturu.

Uredništvo ne mora radove objavljivati onim redom kojim pristižu. Rukopisi se ne vraćaju.

NOTES FOR CONTRIBUTORS

ACTA MEDICA CROATICA publishes leading articles/editorials, original articles, reviews, case reports, annotations, examples of continuing medical education, abstracts from congresses and symposia, letters to the Editor, book reviews and other contributions. Issues dedicated to a topic chosen by guest-editors are also published. All manuscripts should be written in Croatian. Acceptance of a categorized manuscript precludes its submission/publication elsewhere.

Manuscript preparation

All manuscripts should be submitted in Croatian in three hard copies and on CD/DVD in Word. Original papers should not exceed 20 double space pages (maximum 30 lines *per* page).

Original papers should contain: Introduction, Objective(s), Methods, Results, Discussion and Conclusions. In the Introduction section, the issue should be clearly and concisely presented. In Objective(s), the aim of the study is briefly described. In the Methods section, the methodology, apparatus and procedures used in the study should be identified in sufficient data to allow other workers to reproduce the results. Widely known methods need not be described but original references should be used. For drugs, generic names should be used (trade names can be mentioned in parentheses). Results should be clearly and logically presented, and their significance should be demonstrated by appropriate statistical methods. In Discussion the results obtained are discussed against the existing state of the art. Conclusions should correspond with the aim(s) set in the Objective(s).

The title, first and last name(s) of the author(s), institutions(s) and address of the corresponding author should be submitted on a separate sheet of paper.

Synopsis written in Croatian should contain maximum 200 words on a separate sheet of paper.

Typescript should contain extended structured [(Objective(s), Methods, Results, Discussion, Conclusion(s) abstract (500-600 words) with title of the manuscript, initials of authors' first name(s), full last name(s) and institution(s)] in English.

Below the Abstract, key words that will assist indexers in cross indexing the article should be provided.

Each table is presented on a separate sheet. Number tables consecutively in the order of their first citation in the text and supply a brief title for each. The same applies to figure legends. On the back of each figure put the name of the first author, the figure number and the "top", preferably with a soft pencil. Black-and-white glossy photographs should be submitted. Drawings should be made by Indian ink on white paper or printed by laser or ink jet printer using high resolution graphic techniques.

References are submitted on separate pages in the numbered sequence following their mention in the text. References are cited according to the "Vancouver style" proposed by the International Committee of Medical Journals Editors (New Engl J Med 1991; 324: 421-8 and BMJ 1991; 302: 338-41). The titles of journals should be abbreviated according to Index Medicus.

The manuscript should be accompanied by a statement on all authors' agreement on paper publication as well as on nonexistence of conflict of interest.

Article in the journal (if there are six or less authors, they should all be mentioned; if there are seven or more authors, the first three should be mentioned and the "et al." should be added.

Example: Smerdelj M, Pećina M, Hašpl M. Surgical treatment of infected knee contracture after war injury. Acta Med Croatica 2000; 53: 151-5.

Supplement

Djelmiš J, Ivanišević M, Mrzljak A. Sadržaj lipida u placenti trudnica oboljelih od dijabetesa. Acta Med Croatica 2001; 55(Supl. 1): 47-9.

Books and monographs

Mould RF. Introductory medical statistics. Turnbridge Wells: Pitman Medical, 1976.

Guluyer AY, ur. Health indicators. An international study for the European Science Foundation. Oxford: M. Robertson, 1983.

Chapter (of a book)

Weinstein I, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. U: Sodeman WA, ur. Pathologic physiology: mechanisms of diseases. Philadelphia: WB Saunders, 1974, 457-72.

Disertation or MA Thesis

Cigula M. Aktivnosti nekih enzima u humanom serumu kao pokazatelji apsorpcije žive (disertacija). Zagreb: Medicinski fakultet, 1987, str. 127.

Citation of literature published in electronic format

Web, Electronic journal, Book on CD-ROM, Journal on CD-ROM, Sofver (program)

Examples done in Notes for Contributors in Croatian (preceding page).

Manuscripts should be sent to the Address of the Editorial Board. Upon the receipt, the manuscript is forwarded by Editorial Board for anonymous review (two reviewers). If changes or amendments of the manuscript are proposed by the reviewer(s), a copy of the reviewer's report is sent to the author for final correction of the text. Galley proofs are sent to the author for correction.

The Editorial Board is not obliged to publish the manuscripts in order of their receipt and acceptance.

Manuscripts are not returned to the authors.