




Acta

Medica



Croatica

Vol. 65 2011.
Broj 3
Zagreb

UDC 61 • AMCREF 65 (3)
217-296 (2011)
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

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), Eugenija 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 Zupančić (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 500,00 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 five4 times a year. Orders can be placed directly to our Editorial Office. The annual subscription in the country for institutions 500.00 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 – Lector
Antonija Redovniković

Omotna stranica – Cover design
Ivan Picelj

Tisak – Printed by
ABF Group, 10000 Zagreb, Croatia
Tiska se u 500 primjeraka – Printed in 500 copies

Tiskanje časopisa potpomognuto je financijskim sredstvima Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske
The printing of the Journal is subsidized by the Ministry of Science, Education and Sports of the Republic of Croatia

acta medica croatica

Časopis Akademije medicinskih znanosti Hrvatske
Acta Med Croatica • Vol. 65 Br. 3 • Str. 217-296 Zagreb, lipanj 2011.
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

KARCINOM ŠTITNJAČE U DALMACIJI: NEKE EPIDEMIOLOŠKE OSOBITOSTI

NIKOLA KOLJA POLJAK, IVONA DIDOLIĆ¹, ZAVIŠA ČOLOVIĆ,
MIRKO KONTIĆ, IRIS JERONČIĆ² i ROSANDA MULIĆ²

ORL klinika, Klinički bolnički centar Split, ¹Kandidat medicine, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu
i ²Katedra za javno zdravstvo, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, Split, Hrvatska

Cilj istraživanja ove retrospektivne epidemiološke studije bio je utvrditi epidemiološke osobitosti karcinoma štitnjače u Dalmaciji i usporediti ih s epidemiološkim osobitostima karcinoma štitnjače u Hrvatskoj. Korišteni su podaci Hrvatskog registra za rak objavljeni u Hrvatskom zdravstveno-statističkom ljetopisu i godišnjim biltenima, te podaci o 651 bolesniku od raka štitnjače operiranom u bolnicama Dalmacije u razdoblju 1997.-2006. godina. Stope incidencije u Dalmaciji uspoređene su sa stopama u Hrvatskoj. Nađeno je da je prosječna, dobno standardizirana stopa incidencije karcinoma štitnjače posljednjih deset godina u cijeloj Hrvatskoj 8,1, a u Dalmaciji 9,32 na 100.000 stanovnika. Razlika je statistički značajna ($p < 0,05$). Stope incidencije (dobno standardizirana na europsko i svjetsko stanovništvo, gruba, na temelju istraživanja) pokazuju trend porasta i značajno su više na području Dalmacije u odnosu na cijelu Hrvatsku. Spolna struktura oboljelih pokazuje da žene u odnosu na muškarce četiri puta češće oboljevaju. U Dalmaciji, u ukupnom uzorku, žene čine 81,4% oboljelih, a papilarni karcinom čini 80,03% oboljelih od karcinoma štitnjače. Medijan životne dobi novooboljelih na području Dalmacije je 50 godina. Zaključeno je da su stope incidencije karcinoma štitnjače značajno više u Dalmaciji u odnosu na Hrvatsku. Po navedenim karakteristikama Dalmacija se ne razlikuje od ostalih priobalnih ili otočnih područja svijeta s visokim stopama incidencije, a odnos papilarni: folikularni karcinom u istraživanom uzorku je 6,4:1.

Ključne riječi: karcinom štitnjače, epidemiologija, Dalmacija

Adresa za dopisivanje: Prof. dr. sc. Rosanda Mulić, dr. med.
Medicinski fakultet
Sveučilišta u Splitu
Šoltanska 2
21000 Split, Hrvatska
E-pošta: rosanda@pfst.hr

UVOD

Rak štitnjače je najučestaliji maligni endokrini tumor. Incidencija je različita u različitim dijelovima svijeta i varira između 2 i 14 oboljelih na 100.000 stanovnika (1,2). Najvišu stopu incidencije imaju otočne zemlje: Havajsko otočje, Japan, Island, Filipini i neka područja Sicilije i Cipra - oko 20 na 100.000 stanovnika (3).

Etiologija karcinoma štitnjače u većini je slučajeva nepoznata. Potrebno je razlikovati čimbenike-pokretače nastanka karcinoma štitnjače od čimbenika koji potiču njegov daljnji rast. Jedini, za sada sigurno

dokazani čimbenik nastanka diferenciranih karcinoma štitnjače je ionizirajuće zračenje bilo kojeg uzroka (4).

Stope incidencije raka štitnjače su tri do četiri puta više u žena nego u muškaraca i to u vremenu između puberteta i menopauze, ukazujući na to da bi etiologija raka štitnjače mogla biti povezana sa ženskim spolnim hormonima i reproduktivskom funkcijom (2,5). Ovaj obrazac se učestalo zapaža na različitim zemljopisnim lokacijama i etničkim pripadnostima. Incidencija u žena postiže vrhunac u reproduktivskom razdoblju, dok u muškaraca stalno raste s godinama (2,5,6).

Sve se do nedavno smatralo da nasljedna komponenta ima ulogu samo u pojavljivanju medularnog oblika karcinoma štitnjače u okviru sindroma MEN 2, ali istraživanja provedena posljednjih godina ukazuju na moguću veću ulogu obiteljskog naslijeđa (7-10).

Boravak u područjima endemske strume, slabija prehrana te preegzistirajuće benigne bolesti štitnjače su prema talijanskim autorima čimbenici koji bi mogli objasniti i do oko 60% slučajeva karcinoma štitnjače (7).

Zemlje s riješenom endemskom jednom deficijencijom imaju porast diferenciranih u odnosu na slabije diferencirane karcinome (11).

Osim unosa joda i neka druga istraživanja o ulozi prehrane ukazuju da prekomjerno konzumiranje mliječnih proizvoda, korjenastog povrća i multivitamina, može biti rizični čimbenik diferenciranog karcinoma štitnjače (12,13).

Činjenica je da Hrvatska ima stopu incidencije među višima u Europi, da visina incidencije karcinoma štitnjače varira od regije do regije te da je, po svemu sudeći, u Dalmaciji među najvišima u Hrvatskoj (14,15). S obzirom da je Hrvatska dijelom otočna zemlja, a u otočnim je zemljama u pravilu viša incidencija karcinoma štitnjače, cilj rada bio je utvrditi epidemiološke osobitosti karcinoma štitnjače u Dalmaciji: stope incidencije, spolnu strukturu oboljelih, prosječnu životnu dob oboljelih i zastupljenost patohistoloških tipova.

ISPITANICI I METODE ISTRAŽIVANJA

Korišteni su podaci Hrvatskog registra za rak o oboljelima od karcinoma štitnjače objavljeni u Hrvatskom zdravstveno-statističkom ljetopisu i biltenima Hrvatskog registra za rak (14,15). Prema podacima Hrvatskog registra za rak koji se vodi pri Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo postoje podaci o pobolu od karcinoma štitnjače po županijama od 1998. godine pa nadalje. U tom razdoblju u Dalmaciji je prijavljeno 723 oboljelih od karcinoma štitnjače s prosječnom incidencijom 9,32 na 100.000 stanovnika godišnje. Nama su bili dostupni podaci o 651 operiranom bolesniku od karcinoma štitnjače u bolnicama Dalmacije u razdoblju od 1. siječ-

nja 1997. do 31. 12. 2006. godine. U zemljopisni i geopolitički pojam „Dalmacija“ uključena su područja današnje četiri županije: Zadarske, Šibensko-kninske, Splitsko-dalmatinske i Dubrovačko-neretvanske.

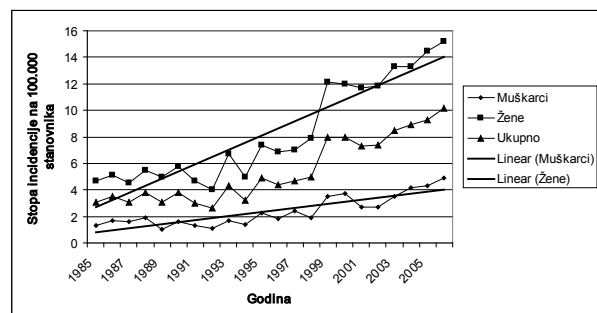
Podaci su dobno standardizirani na svjetsko i europsko stanovništvo radi mogućnosti međusobne usporedbe i određivanja statističke značajnosti eventualnih razlika. Korištene su dobno standardizirane stope jer grube stope (engl. *crude rate*) mogu biti odraz razlika u dobnoj strukturi pučanstva (16).

Za izračunavanje dobno standardiziranih stopa incidencije uporabljena je dobna struktura stanovništva po spolu i popisu stanovnika iz 2001. godine (17). Izračunate su grube i standardizirane stope incidencije sa 95% intervalom pouzdanosti, dobna i spolna struktura oboljelih te zastupljenost patohistoloških tipova u 651 operiranog bolesnika u bolnicama Dalmacije u razdoblju 1997.-2006. godina. Za prikaz dinamike kretanja korišteni su trendovi. Zaključivanje o statističkoj značajnosti u ovom radu provedeno je na razini značajnosti $p \leq 0,05$.

REZULTATI

Standardizirane stope incidencije karcinoma štitnjače na području Hrvatske prikazane su u tablici 1. Svih godina stope su statistički značajno više u žena nego u muškaraca ($p < 0,001$). Sve stope (gruba, standardizirana na europsku i svjetsku populaciju) pokazuju trend porasta.

Podaci o obolijevanju od raka štitnjače u Hrvatskoj pokazuju očevidan uzlazni trend koji je više izražen u žena nego u muškaraca (sl. 1).



Sl. 1. Trend kretanja karcinoma štitnjače po spolu, R. Hrvatska, 1985.-2007.

Tablica 1.

Standardizirane stope incidencije (Mb na 100.000 stanovnika) od karcinoma štitnjače na području Hrvatske u razdoblju 1997.-2006. godine

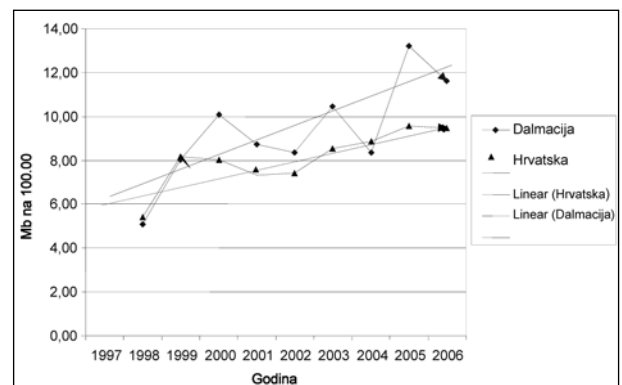
| Stope incidencije (Mb na 100.000 stanovnika) karcinoma štitnjače u Hrvatskoj, 1997.- 2006. | | | | | | | | | | | |
|--|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Godina | 1997. | 1998. | 1999. | 2000. | 2001. | 2002. | 2003. | 2004. | 2005. | 2006. |
| Gruba stopa | svi stopa | 5,25 | 5,02 | 7,35 | 8,98 | 8,63 | 6,53 | 7,12 | 7,47 | 9,33 | 10,27 |
| | m stopa | 1,91 | 1,44 | 4,31 | 1,67 | 2,87 | 2,39 | 2,15 | 3,35 | 4,07 | 4,79 |
| | ž stopa | 8,42 | 8,42 | 10,24 | 15,93 | 14,11 | 10,47 | 11,84 | 11,38 | 14,34 | 15,48 |
| Stand.stopa na svj. populaciju | SSP svi | 4,54 | 4,16 | 6,39 | 7,26 | 7,36 | 5,6 | 5,65 | 5,83 | 7,66 | 8,16 |
| | SSP m | 1,79 | 1,19 | 3,8 | 1,43 | 2,39 | 2,13 | 1,56 | 2,53 | 3,34 | 4,07 |
| | SSP ž | 7,27 | 7,01 | 8,91 | 12,85 | 12,18 | 9,18 | 9,67 | 9,03 | 11,77 | 11,93 |
| Stand.stopa na eur.populaciju | ESP svi | 5,13 | 4,75 | 7,21 | 8,57 | 8,53 | 6,26 | 6,67 | 6,8 | 8,97 | 9,61 |
| | ESP m | 1,87 | 1,35 | 4,07 | 1,53 | 2,57 | 2,41 | 2,02 | 3,16 | 3,83 | 4,77 |
| | ESP ž | 8,37 | 8 | 10,26 | 15,28 | 14,28 | 10,23 | 11,22 | 10,31 | 13,83 | 14,02 |
| Gruba stopa 0-64 | svi 64 | 5,52 | 5,11 | 7,6 | 8,7 | 8,42 | 6,77 | 6,49 | 6,63 | 8,56 | 9,53 |
| | m 64 | 1,92 | 1,65 | 4,12 | 1,65 | 2,2 | 2,2 | 1,37 | 3,02 | 3,3 | 5,22 |
| | ž 64 | 9,16 | 8,61 | 11,11 | 15,83 | 14,72 | 11,39 | 11,66 | 10,28 | 13,89 | 13,89 |
| Stand.stopa na svj. populaciju 0-64 | SSP 64 svi | 4,62 | 4,13 | 6,44 | 6,99 | 7,16 | 5,62 | 5,23 | 5,32 | 7,14 | 7,61 |
| | SSP 64 m | 1,77 | 1,3 | 3,66 | 1,41 | 2,02 | 1,86 | 1,11 | 2,28 | 2,87 | 4,18 |
| | SSP 64 ž | 7,43 | 6,93 | 9,11 | 12,51 | 12,22 | 9,4 | 9,34 | 8,37 | 11,31 | 10,92 |
| Stand.stopa na eur. populaciju 0-64 | ESP 64 svi | 5,31 | 4,79 | 7,37 | 8,35 | 8,38 | 6,39 | 6,2 | 6,2 | 8,43 | 9,06 |
| | ESP 64 m | 1,85 | 1,51 | 3,91 | 1,51 | 2,06 | 2,15 | 1,44 | 2,86 | 3,23 | 5,16 |
| | ESP 64 ž | 8,72 | 8,01 | 10,69 | 15,09 | 14,58 | 10,65 | 10,94 | 9,54 | 13,48 | 12,93 |
| Gruba stopa 0-74 | svi 74 | 5,44 | 5,19 | 7,35 | 9,02 | 8,9 | 6,67 | 7,41 | 7,41 | 9,27 | 10,13 |
| | m 74 | 1,74 | 1,49 | 4,31 | 1,74 | 2,98 | 1,99 | 2,24 | 3,23 | 3,98 | 4,97 |
| | ž 74 | 9,09 | 8,84 | 10,24 | 16,21 | 14,74 | 11,3 | 12,53 | 11,55 | 14,49 | 15,23 |
| Stand.stopa na svj. populaciju 0-74 | SSP 74 svi | 4,62 | 4,23 | 6,53 | 7,25 | 7,48 | 5,64 | 5,77 | 5,75 | 7,58 | 8,02 |
| | SSP 74 m | 1,67 | 1,23 | 3,75 | 1,48 | 2,47 | 1,76 | 1,61 | 2,43 | 3,27 | 4,2 |
| | SSP 74 ž | 7,5 | 7,14 | 9,19 | 12,9 | 12,38 | 9,47 | 9,88 | 9,04 | 11,75 | 11,71 |
| Stand.stopa na eur. populaciju 0-74 | ESP 74 svi | 5,27 | 4,87 | 7,43 | 8,61 | 8,72 | 6,35 | 6,87 | 6,76 | 8,94 | 9,51 |
| | ESP 74 m | 1,72 | 1,4 | 4 | 1,59 | 2,67 | 2 | 2,1 | 3,03 | 3,76 | 4,97 |
| | ESP 74 ž | 8,72 | 8,21 | 10,69 | 15,43 | 14,63 | 10,65 | 11,56 | 10,38 | 13,92 | 13,86 |

SSP=standardizirana stopa na svjetsku populaciju

ESP=standardizirana stopa na europsku populaciju

U Dalmaciji kao i u cijeloj Hrvatskoj opaža se trend porasta oboljelih od karcinoma štitnjače posljednjih godina. Mnogo izraženiji je ipak porast na području Dalmacije (sl. 2).

Zabilježene stope incidencije na području Dalmacije su statistički značajno više ($p < 0,05$). Struktura oboljelih prema histološkom tipu karcinoma štitnjače u Dalmaciji u promatranom razdoblju prikazana je u sl. 3. Papilarni karcinom je najčešći i zabilježen je ukupno kod 521 oboljelog (80,03%); oboljelih od folikularnog karcinoma bilo je ukupno 81 (12,44%), oboljelih od medularnog tipa bilo je ukupno 42 (6,45%), dok je od anaplastičnog oblika oboljelo 7 (1,07%) osoba (sl. 3).

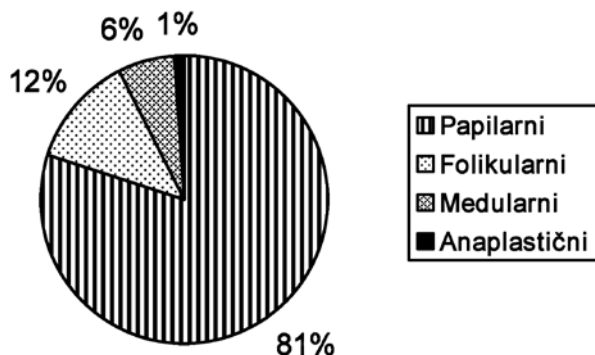


Sl. 2. Trend kretanja oboljelih od karcinoma štitnjače na području Hrvatske i Dalmacije, razdoblje 1997.-2006 god.

Tablica 2.

Stope oboljelih od karcinoma štitnjače u Dalmaciji po histološkim tipovima i spolu, razdoblje 1997.-2006. godine

| | Godina | Incidenција (%000) – Broj novooboljelih na 100.000 stanovnika | | | | | | | | | |
|--------------|--------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 1997. | 1998. | 1998. | 1999. | 2000. | 2001. | 2002. | 2003. | 2004. | 2005. |
| Ukupno | Ukupno | 5,22 | 4,99 | 7,31 | 8,94 | 8,59 | 6,5 | 7,8 | 7,43 | 9,29 | 10,21 |
| | M | 1,91 | 1,43 | 4,29 | 1,67 | 2,86 | 2,38 | 2,14 | 3,33 | 4,05 | 4,76 |
| | Ž | 8,38 | 8,38 | 10,19 | 15,85 | 14,04 | 10,42 | 11,77 | 11,32 | 14,26 | 15,4 |
| Papilarni | Ukupno | 4,06 | 3,37 | 6,04 | 6,5 | 7,43 | 5,11 | 6,15 | 5,8 | 7,43 | 8,59 |
| | M | 1,19 | 0,71 | 3,1 | 1,19 | 2,62 | 1,67 | 1,67 | 2,38 | 2,86 | 4,29 |
| | Ž | 6,79 | 5,89 | 8,83 | 11,55 | 12 | 8,38 | 10,42 | 9,06 | 11,77 | 12,68 |
| Folikularni | Ukupno | 0,35 | 1,28 | 1,04 | 1,63 | 0,46 | 0,81 | 0,7 | 1,04 | 1,28 | 0,81 |
| | M | 0,24 | 0,71 | 0,71 | 0,48 | 0 | 0,24 | 0,24 | 0,48 | 0,48 | 1,13 |
| | Ž | 0,45 | 1,81 | 1,36 | 2,72 | 0,91 | 1,36 | 1,13 | 1,58 | 2,04 | 0,81 |
| Medularni | Ukupno | 0,7 | 0,35 | 0,23 | 0,7 | 0,58 | 0,35 | 0,12 | 0,58 | 0,58 | 0,7 |
| | M | 0,48 | 0 | 0,48 | 0 | 0,24 | 0,24 | 0 | 0,48 | 0,71 | 0 |
| | Ž | 0,91 | 0,68 | 0 | 1,36 | 0,91 | 0,45 | 0,12 | 0,68 | 0,45 | 1,36 |
| Anaplastični | Ukupno | 0,12 | 0 | 0 | 0,12 | 0,12 | 0,23 | 0,12 | 0 | 0 | 0,12 |
| | M | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,24 | 0,24 | 0 | 0 | 0 |
| | Ž | 0,23 | 0 | 0 | 0,23 | 0,23 | 0,23 | 0 | 0 | 0 | 0,23 |



Sl. 3. Struktura pobola od karcinoma štitnjače u Dalmaciji, razdoblje 1997.-2006. godine

Analizirane su grube stope pobola (Mb %000) prema četiri glavna patohistološka tipa karcinoma štitnjače po spolu. Papilarni karcinom štitnjače ima najviše stope i četiri puta je češći među ženama (tablica 2). U ukupnom broju oboljelih i u oboljelih od papilarnog tipa karcinoma štitnjače značajno češće su zastupljene žene ($p < 0,001$).

U zastupljenosti patohistoloških tipova karcinoma štitnjače između muškaraca i žena na području Dalmacije ($p = 0,318$) nema statistički značajne razlike. U oba je spola najzastupljeniji papilarni karcinom, zatim slijede folikularni, medularni i anaplastični (tablica 3).

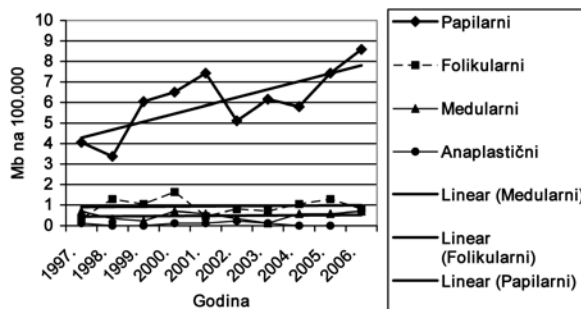
Grafički prikaz grubih stopa incidencije (pobol na 100.000 stanovnika) po tipu karcinoma štitnjače u

Tablica 3.

Spolna struktura oboljelih od karcinoma štitnjače u Dalmaciji u razdoblju 1997.-2006. godine

| Histološki tip tumora | Ukupno oboljelo | Od toga | | | | p |
|-----------------------|-----------------|---------|-------|-----|-------|-------|
| | | M | | Ž | | |
| | | N | % | N | % | |
| Papilarni | 521 | 91 | 75,2 | 430 | 81,1 | 0,318 |
| Folikularni | 81 | 17 | 14,0 | 64 | 12,1 | |
| Medularni | 42 | 11 | 9,1 | 31 | 5,8 | |
| Anaplastični | 7 | 2 | 1,7 | 5 | 0,9 | |
| Ukupno | 651 | 121 | 100,0 | 530 | 100,0 | |

Dalmaciji u promatranom razdoblju vidi se na sl. 4. Porast stopa incidencije i trenda ide isključivo na račun obolijevanja od papilarnog tipa karcinoma štitnjače. Ostala tri tipa pokazuju trend stagnacije.

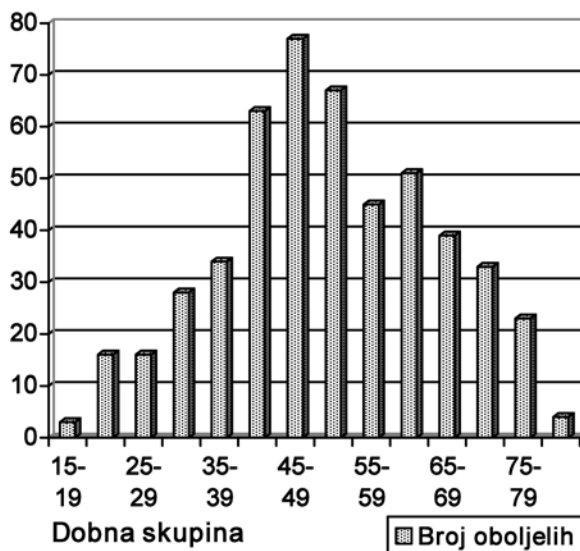


Sl. 4. Stope incidencije karcinoma štitnjače prema histološkim tipovima, Dalmacija, 1997.-2006. godine

Prosječna životna dob oboljelih od karcinoma štitnjače u Dalmaciji u razdoblju 1997.-2006. godina iznosi 50,92 godine, najmlađi oboljeli imao je 16, najstariji 84 godine, medijan je bio 50,00 godina.

Među operiranim od karcinoma štitnjače u Dalmaciji (N=651) nije bilo djece do 14 godina života, adolescenata od 15 do 19 godina života bilo je troje (0,46%), a ostali (648; 99,54%) spadaju u kategoriju odraslih (≥ 20 godina života).

Dobna struktura oboljelih prikazana je na sl. 5.



Sl. 5. Dobna struktura oboljelih od karcinoma štitnjače u Dalmaciji, razdoblje 1997.-2006. godine

RASPRAVA

Analizom nekih epidemioloških osobitosti karcinoma štitnjače na području Dalmacije u razdoblju od 1997. do 2006. godine, stope incidencije su uspoređene sa stopama na području cijele Hrvatske i pokazalo se da su značajno više od prosjeka za cijelu Hrvatsku. Istodobno, prevalencija gušavosti (kao mogućeg rizičnog čimbenika) među školskom djecom, utvrđena palpacijom i/ili ultrazvukom u Dalmaciji iznosi 8% i najniža je u cijeloj Hrvatskoj (18). Već nekoliko godina rak štitnjače je među deset najčešćih sijela raka kod žena u Hrvatskoj (16,17). Hrvatska je zahvaljujući jodiranju soli jod-suficijentno područje, a na takvim područjima najčešći je papilarni karcinom štitnjače. U ovom radu i istraživanjima drugih hrvatskih autora papilarni karcinomi štitnjače čine oko 80% svih karcinoma štitnjače i po tome su njihovi rezultati slični rezultatima iz literature (12,13,19-22).

U Hrvatskoj i Dalmaciji, među oboljelima od karcinoma štitnjače dominiraju žene. Glede spolne strukture oboljelih nema značajnih razlika po promatranom području Dalmacija/cijela Hrvatska, jer je zastupljenost muškaraca i žena u strukturi obolijevanja bez statistički značajnih razlika. I istraživanja drugih autora pokazuju višestruku zastupljenost žena u strukturi oboljelih (2,4,19-23).

U strukturi oboljelih na području Dalmacije dominiraju žene koje čine 81,41% oboljelih, a od patohistoloških tipova papilarni karcinom (80,03% oboljelih). Patohistološka klasifikacija osnovnih tipova karcinoma štitnjače (papilarni, folikularni, medularni i anaplastični) pokazala se najvažnijim prognostičkim čimbenikom koji utječe na opće preživljenje, duljinu razdoblja remisije te pojavu metastaza (7,9,11,13). Dobro diferencirani karcinomi štitnjače (papilarni i folikularni) obično se javljaju u mlađih osoba i to papilarni u mlađih više nego folikularni (23,24). U našem uzorku, papilarni karcinom također je najčešći karcinom štitnjače u muškaraca i čini 75,20% oboljelih od svih tipova karcinoma štitnjače. Folikularni karcinom se javlja rjeđe i prema podacima iz literature čini 10% do 15% karcinoma štitnjače. U našem je uzorku zastupljen sa 12,44%. Medularni karcinom štitnjače je treći po učestalosti među karcinomima štitnjače, a javlja se kod oko 10% svih karcinoma štitnjače. U Dalmaciji, u promatranom razdoblju taj je tip karcinoma štitnjače zastupljen u 6,45% oboljelih. Anaplastični karcinom štitnjače najagresivniji je rak štitnjače koji napreduje vrlo brzo. U Dalmaciji nije čest i čini svega 1,07% oboljelih. Glede patohistološke strukture karcinoma, bez obzira na spol, u Dalmaciji dominira papilarni karcinom štitnjače što je tipično za područja s dovoljnim sadržajem joda.

Većina otočnih zemalja svijeta (Island, Filipini, Japan, Havajsko otočje, neka područja Sicilije) ima veću incidenciju raka štitnjače od ostalih zemalja (3). Jedno od objašnjenja zašto otočne zemlje imaju visoke stope incidencije je utjecaj prehrane – povećan unos joda morskom hranom. Najveće količine joda unose se mlijekom i ribom (25).

Iako neki autori smatraju da je visoka incidencija raka štitnjače u otočnim zemljama posljedica povećanog unosa joda, drugi drže da je to posljedica prirodne radijacije vulkanskih stijena koje su sastavni dio geološke strukture tih otočja. Istraživanje Pellegrittijeve i sur. obavljeno na području Sicilije i pro-

vincije Katanije koja uključuju vulkansko područje Etne pokazalo je da Katanija ima veću incidenciju papilarnog karcinoma štitnjače nego druga populacija u ostalih osam regija Sicilije (26). Nedostatak ovog istraživanja je u tome da je zaključak o povećanoj incidenciji prouzročen utjecajem vulkanske lave izveden bez dokaza i mjerenja vulkanske kontaminacije ili mjerenja zračenja.

Mnogi su autori pokušali objasniti zašto je karcinom štitnjače češći u žena nego u muškaraca. Osim uloge ženskih spolnih hormona, trudnoće i debljine, neki autori to objašnjavaju pretpostavkom da je štitnjača osjetljiva na stres te je, uz pretpostavku da je ženska populacija osjetljivija od muške, to mogući razlog takvog omjera (2,4). Hall i sur. to objašnjavaju sklonošću žena da do 60. godine života više traže liječničku pomoć i češće se podvrgavaju različitim dijagnostičkim metodama nego muškarci (27). Žene na preglede štitnjače dolaze i radi određenih kliničkih simptoma koji se mogu povezati s bolestima štitnjače: tahikardijom, bradikardijom, nervozom, a zbog trenutačne aktualnosti bolesti štitnjače pripisuju ih upravo toj žlijezdi.

Većina autora porast incidencije karcinoma štitnjače pripisuje boljim dijagnostičkim metodama, većoj dostupnosti zdravstvene zaštite odnosno boljoj detekciji (2,4,9,21, 27,28).

ZAKLJUČCI

Stope incidencije karcinoma štitnjače na području Dalmacije su značajno više u odnosu na Hrvatsku ($p < 0,05$). Spolna struktura oboljelih pokazuje da žene u odnosu na muškarce četiri puta češće oboljevaju. U Dalmaciji, u ukupnom uzorku, žene čine 81,4% oboljelih, a papilarni karcinom čini 80,03% oboljelih od karcinoma štitnjače. Medijan životne dobi novooboljelih na području Dalmacije je 50 godina.

U našem radu potvrđena je veća incidencija karcinoma štitnjače u Dalmaciji koja je uglavnom priobalno i otočno područje, u odnosu na cijelu Hrvatsku. Čime je uvjetovana viša incidencija teško je objasniti, sve ostaje na već navedenim pretpostavkama. U razmatranju mogućih uzroka visoke incidencije u Dalmaciji prirodna radijacija podrijetlom iz vulkanskog otočja najvjerojatnije nije uzrok jer su svega dva, nenaseljena otoka, vulkanskog podrijetla: Brusnik i Jabuka.

L I T E R A T U R A

1. Stewart BW, Kleihues P, ur. Thyroid cancer. U: World cancer report (2003) Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2003, 257-60.
2. Hojker S. Epidemiologija raka štitnjače. Acta Clin Croat 2007; 45 Suppl 2: 11-15.
3. Cancer incidence in five continents. Volume VIII. IARC Sci Publ 2002; 155:1-781.
4. Bonefačić B, Smokvina A, Jukić T, Kusić Z. Čimbenici rizika raka štitnjače. Acta Clin Croat 2007; 45 Suppl 2: 16-18.
5. Truong T, Orsi L, Dubourdieu D, Rougier Y, Hémon D, Guénel P. Role of Goiter and of Menstrual and Reproductive Factors in Thyroid Cancer: A Population-based Case-Control Study in New Caledonia (South Pacific), a Very High Incidence Area. Am J Epidemiol 2005; 161: 1056-65.
6. Black RJ, Bray F, Ferlay J, Parkin DM. Cancer incidence and mortality in the European Union: cancer registry data and estimates of national incidence for 1990. Eur J Cancer 1997; 33: 1075-107.
7. Fioretti F, Tavani A, Gallus S, Franceschi S, Negri E, La Vecchia C. Case-control study of thyroid cancer in Northern Italy: attributable risk. Int J Epidemiol 1999; 28: 626-30.
8. Carlisle MR, McDougall IR. Familial differentiated carcinoma of the thyroid. U: Biersack H-J, Grünwald F, ur. Thyroid Cancer. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2001, 55-67.
9. Schlumberger M, Pacini F. Epidemiology. U: Thyroid tumors. Paris: Nucleon, 1999, 47-59.
10. Bell B, Mazzaferri EL. Familial adenomatous polyposis (Gardner s syndrome) and thyroid carcinoma. A case report and review of the literature. Dig Dis Sci 1993; 38: 185-90.
11. Deandrea M, Gallone G, Veglio M i sur. Thyroid cancer histotype changes as observer in a major general hospital in a 21- year period. J Endocrinol Invest 1997; 20: 52-8.
12. Mack WJ, Preston-Martin S, Bernstein L, Qian D. Lifestyle and other risk factors for thyroid cancer in Los Angeles County females. Ann Epidemiol 2002; 12: 395-401.
13. Gilliland FD, Hunt WC, Morris DM, Key CR. Prognostic factors for thyroid carcinoma: a population-based study of 15.698 cases for the Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) Program 1973-1991. Cancer 1997; 79: 564-73.
14. Incidencija raka u Hrvatskoj 2004. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Registar za rak, 2006, bilten br. 29.

15. Registar za rak. U: Hrvatski zdravstveno-statistički ljetopis za 2005. godinu. Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo, 2006, 270.
16. Hrvatski registar za rak. Incidencija raka u Hrvatskoj. Dostupno na URL adresi: <http://www.hzjz.hr/rak/bilten97.htm> Datum pristupa informaciji 8. travnja 2011.
17. Državni zavod za statistiku. Statistički ljetopis 2009. Stanovništvo. Dostupno na URL adresi: http://www.dzs.hr/Hrv_Eng/ljetopis/2009/PDF/00-sadrzaj.pdf Datum pristupa informaciji 10. listopada 2010.
18. Jukić T, Dabelić N, Prpić M, Salopek D, Znaor A, Kusić Z. Černobil nije uzrokovao porast karcinoma štitnjače djece u Hrvatskoj. *Acta Clin Croat* 2007; 45 Suppl 2:118-119.
19. Jukić T. Utjecaj unosa joda na epidemiološka i kliničko-patohistološka obilježja karcinoma štitnjače (dissertacija). Zagreb: Medicinski fakultet, 2008, 43-67.
20. Poljak NK. Epidemiološke karakteristike i javno-zdravstveni aspekt karcinoma štitnjače u Dalmaciji (dissertacija). Osijek: Medicinski fakultet, 2010, str 129.
21. Jukić T, Dabelić N, Prpić M, Znaor A, Sonicki Z, Kusić Z. Incidencija i smrtnost od karcinoma štitnjače u Hrvatskoj 1968-2004. godine. *Acta Clin Croat* 2007; 45 Suppl 2:116-117.
22. Mihaljević I. Epidemiologija karcinoma štitnjače u istočnoj Hrvatskoj (dissertacija). Osijek: Medicinski fakultet, 2005, 86.
23. Eustatia-Ruten CF, Corssmit EP, Biersmaz NR, Pereira AM, Romijn JA, Smit JW. Survival and death causes in differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 313-9.
24. Mihaljević I, Smoje J, Karner I, Topuzović N, Gardašanić N. TNM klasifikacija i drugi prognostički sustavi raka štitnjače. *Acta Clin Croat* 2007; 45 Suppl 2: 27-31.
25. Rasmussen LB, Ovesen L, Christiansen E. Day-to-day and within-day variation in urinary iodine excretion. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 401-7.
26. Pellegriti G, De Vathaire F, Scollo C i sur. Papillary thyroid cancer incidence in the volcanic area of Sicily. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:1575-83.
27. Hall SF, Walker H, Siemens R, Schneeberg A. Increasing detection and increasing incidence in thyroid cancer. *World J Surg.* 2009; 33: 2567-71.
28. Grodski S, Brown T, Sidhu S i sur. Increasing incidence of thyroid cancer is due to increased pathologic detection. *Surgery* 2008; 144: 1038-43.

S U M M A R Y

EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THYROID CANCER IN DALMATIA, CROATIA

N. K. POLJAK, I. DIDOLIĆ¹, Z. ČOLOVIĆ, M. KONTIĆ, I. JERONČIĆ² and R MULIĆ²

University ENT Department, Split University Hospital Center; ¹School of Medicine, University of Split and ²Department of Public Health, School of Medicine, University of Split, Split, Croatia

Objectives: To determine epidemiological characteristics of thyroid carcinoma in Dalmatia, and to compare the incidence rate in Dalmatia with that in Croatia.

Study Design: Retrospective epidemiological study.

Subjects and Methods: Epidemiological indicators of thyroid carcinoma were compared between Dalmatia and Croatia as a whole, while some epidemiological indicators were compared with the characteristics of persons suffering from thyroid carcinoma in Croatia. The study included 651 persons suffering from and/or operated for thyroid carcinoma in Dalmatia between 1997 and 2006. Data were obtained from case histories, including the results of histopathologic analysis. The area of Dalmatia includes Zadar, Šibenik-Knin, Split-Dalmatia and Dubrovnik-Neretva counties (overall 861,060 inhabitants, surface 11,960 square kilometers).

Results: The incidence of thyroid carcinoma in Dalmatia ranged from 5.2 (1997) to 10.2 per 100,000 inhabitants (2006). The mean age adjusted incidence rate of thyroid cancer in the last 10 years was 8.1 in Croatia and 9.32 per 100,000 inhabitants in Dalmatia. All incidence rates observed (Europe and world-age standardized rates, crude incidence, incidence based on research) showed a rising trend and were significantly higher in Dalmatia than in Croatia. According to sex structure, in both study areas thyroid cancer affected predominantly women, who had four times more chances of falling ill. In Dalmatia, in the overall sample, women accounted for 81.4% of all patients. In Dalmatia, papillary thyroid carcinoma was diagnosed in 80.0% of the overall sample. The median age of newly diagnosed thyroid cancer patients was 50 in Dalmatia. There was no statistically significant sex difference in the prevalence of histologic types of thyroid carcinoma in Dalmatia ($P=0.318$). In both sexes, papillary carcinoma was the most

common type, followed by follicular, medullary and anaplastic thyroid carcinomas.

Conclusion: The incidence rate of thyroid cancer showed a rising trend and was significantly higher in Dalmatia than in Croatia. Epidemiological characteristics of thyroid gland carcinoma in Dalmatia were consistent with the reported characteristics of this carcinoma in iodine-sufficient areas: papillary carcinoma was prevalent and the papillary to follicular carcinoma ratio was 6.4:1.

Key words: thyroid cancer, epidemiology, Dalmatia, Croatia

HISTOLOŠKA PROCJENA CIJELJENJA ZGLOBNE HRSKAVICE UPOTREBOM SEMIKVANTITATIVNE OCJENSKE LJESTVICE

ANDREJA VUKASOVIĆ, ALAN IVKOVIĆ^{1,2}, DAVOR JEŽEK, IVAN CEROVEČKI³, DRAŽEN VNUK⁴,
MARIO KRESZINGER⁴, DAMIR HUDETZ^{1,2} i MARKO PEĆINA³

Zavod za histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, ¹Zavod za ortopediju, Klinička bolnica Sveti Duh, Zagreb, ²Odjel za ortopediju, Specijalna bolnica Sv. Katarina, Zabok, ³Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu i ⁴Klinika za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Kao avaskularno, alimfatično i aneuravno tkivo sa smanjenom mogućnošću cijeljenja, hijalina hrskavica je zanimljiv predmet istraživanja. Ispitivane su brojne metode kojima bi se potakla regeneracija oštećene hrskavice no niti jedna od njih ne daje idealne rezultate. Rezultate spomenutih metoda potrebno je odgovarajuće ocijeniti. Cilj ove studije bio je analizirati rezultate dobivene primjenom ugrušaka autologne koštane srži prethodno transduciranih faktorom rasta TGF- β 1 na oštećenja zglobne hrskavice. Istraživanje je provedeno na 28 koštano zrelih ovaca koje su slučajnim odabirom podijeljene u 4 skupine te im je kirurški učinjeno oštećenje zglobne hrskavice na nosivoj površini medijalnog kondila bedrene kosti. U oštećenje je zatim transplantiran autologni ugrušak koštane srži transduciran faktorom rasta - TGF- β 1 (skupina TGF), zelenim fluorescentnim proteinom - GFP (skupina GFP), bez genetske promjene (skupina BM) ili nije postavljen nikakav transplantat (skupina NC). Uzorci su pregledani pomoću svjetlosnog mikroskopa i ocijenjeni primjenom vizualno-histološke ocjenske ljestvice Međunarodnog društva za istraživanje hrskavice (ICRS-a). Statistička analiza pokazala je značajnu razliku između skupine TGF i NC. Rezultati pokazuju da je primjenom ove ljestvice moguće dobiti mjerljive histološke rezultate.

Ključne riječi: hijalina hrskavica, reparacija zglobne hrskavice, vizualno-histološka ocjenska ljestvica ICRS-a

Adresa za dopisivanje: Andreja Vukasović, dr. med.
Zavod za histologiju i embriologiju
Medicinski fakultet
Šalata 3
10000 Zagreb, Hrvatska
Tel: +385 1 4566 964
E-pošta: andreja_vukasovic@yahoo.com

UVOD

Hijalina hrskavica visoko je specijalizirano tkivo koje oblaže zglobna tijela sinovijalnih zglobova i omogućava njihovo glatko pokretanje. Zglobna hrskavica je tkivo bez krvne opskrbe, nije inervirana niti ima limfne žile, što znači da ima smanjenu mitotičku aktivnost i smanjenu mogućnost cijeljenja. Hondrociti okruženi izvanstaničnim matriksom zaštićeni su i od imunološkog prepoznavanja. Iako stanice tijekom života stvaraju izvanstanični matriks, na ozljedu ne mogu učinkovito odgovoriti. Na oštećenja hrskavice (koja su ograničena na samu hrskavicu bez prodora u suphondralnu kost) hondrociti reagiraju kratko, slabo i neučinkovito. Kad oštećenje zahvati suphondralnu kost, javlja se upalna reakcija s infiltracijom stanica iz koštane srži i pokušajem cijeljenja oštećenja. Ipak, takvo cijeljenje ne dovodi do regeneracije hijaline hrskavice već do

fibrokartilaginoznog ožiljka koji je svojim biomehaničkim i biološkim svojstvima manje vrijedan od native hijaline hrskavice (1, 2).

Lokalizirana oštećenja hrskavice vrlo su česta u ortopediji i sportskoj medicini. Prema podacima retrospektivne studije na više od 31 000 artroskopija u 63% bolesnika, hrskavična su oštećenja utvrđena u svim dobnim skupinama, i to u prosjeku 2,7 oštećenja na jednom koljenu (3). Druga studija kojom je obuhvaćeno 20 000 artroskopija pokazala je slične rezultate, oštećenja su utvrđena u 60% artroskopijskih bolesnika (4).

Složena i visoko specijalizirana građa normalne hijaline hrskavice čini liječenje hrskavičnih oštećenja velikim izazovom kako za znanstvenike temeljnih znanosti, tako i za kliničare. Pronaći način kojim bi se potakla regeneracija i poboljšao potencijal cije-

ljenja hijaline hrskavice predmet je brojnih istraživanja (5). Trenutačno primjenjivane metode su mikrofrakture (6, 7), mozaikplastika ili osteohondralni transfer (8) te autologna transplantacija hondrocita (ATH) (9-13) ili mezenhimalnih matičnih stanica (14). Otkrićem i postupnom upotrebom različitih čimbenika rasta započeto je sasvim novo razdoblje moderne ortopedije i upravo je upotreba čimbenika rasta u kombinaciji s tkivnim inženjeringom metoda čija primjena u svrhu liječenja hrskavičnih oštećenja najviše obećava (15-19). Iako se direktna primjena čimbenika rasta pokazala učinkovitom, njihova je klinička primjena ograničena prvenstveno poteškoćama u dovođenju i održavanju odgovarajućih koncentracija čimbenika rasta na mjestu cijeljenja hrskavice (20). Pojavom nove tehnologije kojom je omogućen prijenos gena pojavila se jedinstvena mogućnost da se prije navedeni problemi riješe u lokalnoj primjeni čimbenika rasta (21-23). Prema definiciji, genska terapija je tehnika kojom se mijenja stanična genska informacija. To znači da bi u slučaju oštećenja hrskavice trebalo prenijeti genski materijal za kodiranje određenih čimbenika rasta u hondrocite, odnosno progenitorne stanice koje bi potom proizvodile taj specifični čimbenik u terapijski zadovoljavajućim koncentracijama tijekom određenog razdoblja (24-26).

Jedan od važnijih aspekata u istraživanjima vezanima za regeneraciju zglobne hrskavice jest i primjena odgovarajućih metoda u ocjenjivanju novonastalog tkiva. Iako se danas primjenjuju različite metode kojima se ispituju biomehanička ili biokemijska (sadržaj proteoglikana, kolagena, vode i sl.) svojstva, histološka procjena novonastalog tkiva i dalje zauzima centralno mjesto u ovom procesu. Histološka procjena umnogome ovisi o ocjenjivaču, i kao takvu ju je teško kvantificirati, odnosno dobiti relevantne brojčane podatke za statističku analizu. Iz tog je razloga Međunarodno društvo za istraživanje hrskavice (*International Cartilage Research Society - ICRS*) predložilo vizualno-histološku ocjensku ljestvicu kojom je moguće dobiti semikvantitativne podatke (27).

CILJ STUDIJE

Cilj naše studije je ocijeniti učinak primjene genetski promijenjenih transplantata autologne koštane srži na cijeljenje oštećenja zglobne hrskavice. Također želimo procijeniti mogućnost primjene semikvantitativne ocjenske ljestvice u analizi uzoraka hrskavičnog tkiva dobivenih iz pretkliničkih studija koje za cilj imaju ispitivanje mogućnosti liječenja oštećenja zglobne hrskavice.

MATERIJALI I METODE

Pokusne životinje

Istraživanje, odobreno od Etičkog povjerenstva Medicinskog i Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, provedeno je na 28 ovaca zrele koštane dobi (u dobi 1 do 3 godine). Ovce su operirane u općoj anesteziji na Klinici za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u suradnji s djelatnicima Klinike. U svih životinja učinjena je medijalna parapatelarna artrotomija na desnom koljenu te su prikazana oba kondila bedrene kosti (sl. 1). Standardnim instrumentima za mozaikplastiku (Smith & Nephew Inc., Andover, MA, USA) načinjena su djelomična oštećenja zglobne hrskavice promjera 6,2 mm na nosivoj površini medijalnog kondila bedrene kosti. Oštećenja su načinjena s posebnom pozornošću kako ne bi došlo do oštećenja suphondralne kosti, te da rubovi oštećenja budu čisti i ravni (sl. 2).



Sl. 1. Kondil bedrene kosti ovce.



Sl. 2. Umjetno stvoreno oštećenje hrskavice na zglobnoj površini kondila bedrene kosti ovce.

Usporedno s izvođenjem artrotomije, uporabom seta Trapsystem®Set (H-S Medical, Inc., Boca Raton, FL, USA) u sterilnim uvjetima, aspirirano je 3 mL koštane srži iz grebena bočne kosti svake anestezirane životinje.

Ovce su slučajnim odabirom podijeljene u 4 skupine (tablica 1). U kontrolnoj skupini nazvanoj BM (n=6) životinjama je transplantiran nepromijenjeni ugrušak autologne koštane srži. Ovcama iz skupine GFP (n=6) transplantiran je autologni ugrušak koštane srži genetski promijenjen da stvara zeleni fluorescentni protein (GFP). Ovcama iz ispitivane skupine TGF (n=10) transplantiran je autologni ugrušak koštane srži genetski promijenjen da stvara transformirajući čimbenik rasta- $\beta 1$ (TGF- β). Životinjama u negativnoj kontrolnoj skupini nazvanoj NC (n=6) nije postavljen nikakav transplantat.



Sl. 3. Ugrušak koštane srži transplantiran na mjesto oštećenja hrskavice kondila bedrene kosti ovce.

Tablica 1.

Pokusne skupine ispitivane u istraživanju

| Skupina | Vektor | Gen | Stanice | Namjena |
|---------|------------|----------------|--|---|
| NC | Nema | Nema | Nema | Negativna kontrola |
| BM | Nema | Nema | Nepromijenjene stanice koštane srži | Pozitivna kontrola (ekvivalent mikrofrakturama) |
| GFP | Adenovirus | GFP | Genetski promijenjene stanice koštane srži | Pozitivna kontrola (dokaz da transdukcija ne ometa diferencijaciju) |
| TGF | Adenovirus | TGF- $\beta 1$ | Genetski promijenje stanice koštane srži | Ispitivana skupina |

NC – negativna kontrolna skupina u kojoj nije postavljen nikakav transplantat

BM – kontrolna skupina u kojoj je primijenjen nepromijenjeni ugrušak koštane srži

GFP – kontrolna skupina u kojoj je primijenjen ugrušak koštane srži genetski promijenjen da stvara zeleni fluorescentni protein

TGF – ispitivana skupina u kojoj je primijenjen ugrušak koštane srži genetski promijenjen da stvara transformirajući čimbenik rasta - $\beta 1$

Vektori

Prva generacija rekombinantnih vektora rabljenih u ovom istraživanju potječe od replikacijski deficitarnog adenovirusa tipa 5 kojem nedostaju lokusi E1 i E3 (28). Rekombinante adenovirusa i TGF- $\beta 1$ te GFP-a napravljene su rekombinacijom Cre-lox upotrebom sustava Hardyja i sur. (29). Potrebne količine virusne suspenzije odmjerene su i čuvane na -80°C.

Priprema genetski promijenjenog ugruška koštane srži za transplantaciju

Neposredno nakon aspiracije, alikvoti od 250 μ l koštane srži brzo su izmiješani sa 25 μ l suspenzije u kojoj je bilo 1×10^{10} virusnih čestica adenovirusa GFP ili TGF- $\beta 1$. Mješavina je ostavljena da koagulira 5 minuta.

Transplantacija ugruška

Odgovarajući ugrušak koštane srži pažljivo je postavljen na mjesto oštećenja. Nije načinjena nikakva fiksacija ugruška (sl. 3). Nakon 5 minuta provjerena je stabilnost ugruška, a cijeli je zglob ispran fiziološkom otopinom. U negativnoj kontrolnoj skupini oštećenja su ostavljena prazna. Zglobovi su kirurški pažljivo zašiveni po slojevima.

Prikupljanje i priprema uzoraka za histološku procjenu

Šest mjeseci nakon operacije sve životinje eutanazirane su intravenskom primjenom prekomjerne doze barbiturata te je učinjena nekropsija. Oštećenja su pregledana makroskopski te je odstranjen cijeli medijalni kondil bedrene kosti zajedno s oštećenjem. Tijekom postupka tkivo je čuvano u fiziolo-

loškoj otopini s fosfatnim puferom (PBS). Uzorci za histološku obradu dekalificirani su sa 10% etilendi-aminotetraocetnom kiselinom (EDTA), zatim dehidrirani u alkoholu, uklopljeni u parafin te rezani na rezove debljine 5 μ m. Od svakog uzorka napravljena je serija od četiri uzdužna reza za histološku analizu. Korištene su dvije tehnike bojenja: hemalaun-eozin za procjenu morfologije te safranin-O za procjenu izvanstaničnog matriksa. Svakom od tehnika obojena su dva reza.

Histološka procjena

Dobivene rezove svakog pojedinog uzorka pregledali smo pomoću svjetlosnog mikroskopa Nikon Eclipse E200. Ocjenu uzorka donijeli smo s obzirom na sveukupan nalaz na sva 4 reza koristeći vizualno-histološku ocjensku ljestvicu ICRS-a (tablica 2). Ocjenjuje se šest svojstava: površina, izvanstanični matriks, raspodjela stanica, vijabilnost stanične populacije, suphondralna kost te mineralizacija hrskavice. Svako svojstvo ocjenjuje se zasebno. Najvećim brojem bodova (3) ocjenjuje se idealno zacijeljeno tkivo, regeneracija, dok se najmanji broj bodova (0) pridaje najlošije cijeljenom tkivu (27).

Ocjenjivanje su obavila dva neovisna ispitivača metodom slijepog ispitivanja. Dogovorom je određeno da se svakom svojstvu, ako ima različite elemente cijeljenja daje niža ocjena, osim ako se na više od

Tablica 2.

Vizualno-histološka ocjenska ljestvica ICRS-a

| Svojstvo | Broj bodova (score) |
|---|---------------------|
| I. Površina | |
| Glatka/kontinuirana | 3 |
| Diskontinuirana/nepravilna | 0 |
| II. Izvanstanični matriks | |
| Hijalina hrskavica | 3 |
| Mješavina: hijalina/ vezivna hrskavica | 2 |
| Vezivna hrskavica | 1 |
| Vezivno tkivo | 0 |
| III. Raspodjela stanica | |
| Stupići | 3 |
| Miješano/stupići-nakupine | 2 |
| Nakupine (clusters) | 1 |
| Pojedinačne stanice/neorganizirano | 0 |
| IV. Vijabilnost stanične populacije | |
| Pretežito vijabilne (>50%) | 3 |
| Djelomično vijabilne (10 – 50%) | 1 |
| <10% vijabilne | 0 |
| V. Suphondralna kost | |
| Normalna | 3 |
| Povećano remodeliranje | 2 |
| Nekroza kosti/granulacijsko tkivo | 1 |
| Otkinuta/lomovi/kalus u dnu | 0 |
| VI. Mineralizacija hrskavice (kalcificirana hrskavica) | |
| Normalna | 3 |
| Abnormalna/neodgovarajuća lokacija | 0 |

ICRS - International Cartilage Research Society - Međunarodno društvo za istraživanje hrskavice

Tablica 3.

Rezultati bodovanja primjenom vizualno-histološke ocjenske ljestvice ICRS-a: medijani i interkvartilni raspon

| ICRS Score (broj bodova) | Ispitivana skupina | | | | | | | |
|---------------------------------|--------------------|----|------|----|------|----|-------|----|
| | NC | | BM | | GF | | TGF | |
| | M | IR | M | IR | M | IR | M | IR |
| Površina | 0,00 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0 |
| Izvanstanični matriks | 1,50 | 2 | 3,00 | 1 | 3,00 | 2 | 3,00 | 0 |
| Raspodjela stanica | 1,00 | 0 | 2,00 | 0 | 2,00 | 2 | 2,00* | 0 |
| Vijabilnost stanične populacije | 0,00 | 1 | 1,00 | 3 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0 |
| Suphondralna kost | 2,50 | 1 | 3,00 | 0 | 3,00 | 3 | 3,00 | 0 |
| Mineralizacija hrskavice | 1,50 | 3 | 3,00 | 0 | 3,00 | 3 | 3,00 | 0 |

*Kruskal-Wallisov i Mann-Whitneyjev test otkrili su statistički značajnu razliku između skupina TGF i NC za raspored stanica ($p=0,002$). Također je primijećena razlika između skupina BM i NC ($p=0,026$), ali statističko značenje je promijenjeno na $p<0,008$ nakon što je primijenjena Bonferronijeva korekcija.

2/3 uzorka nalazi element s većom ocjenom. U tom je slučaju određeno svojstvo ocijenjeno većom ocjenom. Dobiveni podaci obrađeni su statističkim testovima Kruskal-Wallis i Mann Whitney. Vrijed-

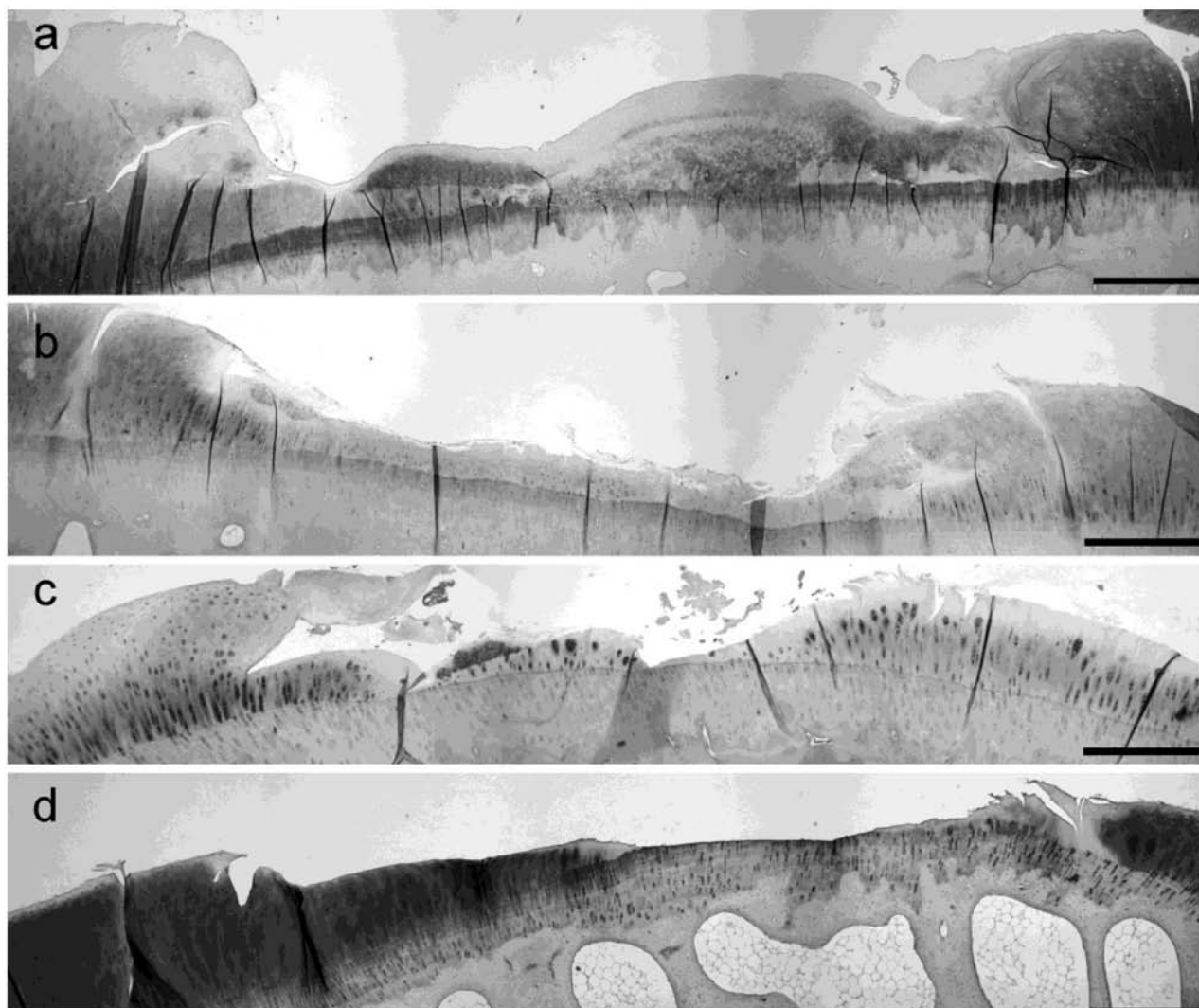
nosti $p < 0,05$ smatrane su statistički značajnima. Korišten je računalni program SPSS 17.0 za Windows (Chicago, IL, SAD).

REZULTATI

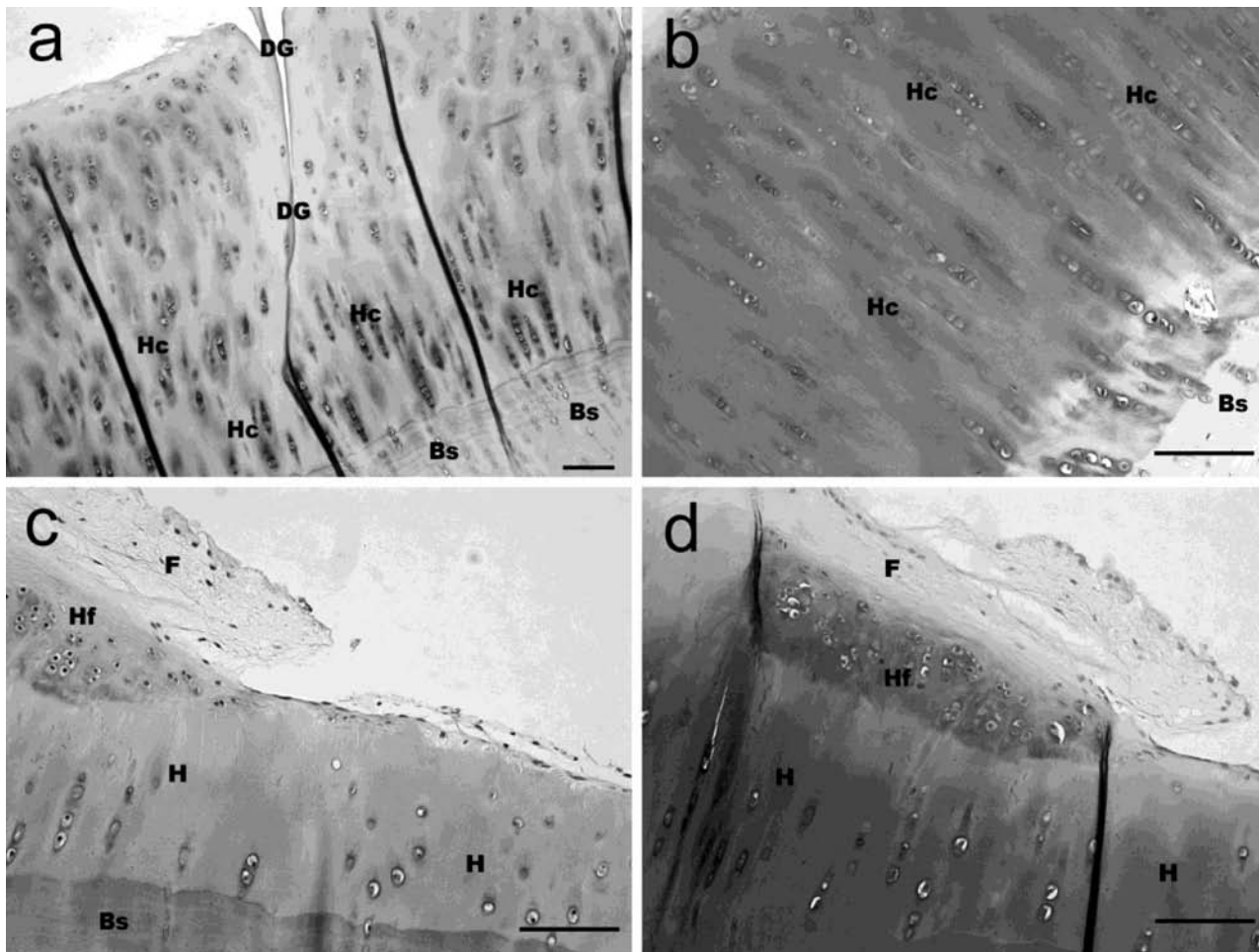
Rezultati našeg istraživanja prikazani su na slikama histoloških preparata (sl. 4 i 5) i u tablici 3. Od ukupno 28 uzoraka ocijenili smo 26. Dva uzorka isključena su iz procjene zbog oštećenja nastalih prilikom histološke obrade. Za usporedbu šest navedenih svojstava između 4 ispitivane skupine koristili smo Kruskal-Wallisov test. Statistički

značajna razlika utvrđena je za raspodjelu stanica. Primjenom Mann Whitneyjevog testa otkrili smo statistički značajnu razliku između skupina TGF i NC ($p=0,002$). Razlika je uočena i između skupina BM i NC ($p=0,026$).

Rezultati istraživača bili su 100% podudarni pa stoga nije bilo potrebe određivati intraopservacijske razlike.



Sl. 4. Uzorak zglobne hrskavice medijalnog kondila bedrene kosti ovce, rez debljine 5 μ m. a) skupina NC: reparacija na mjestu oštećenja pokazuje nastanak vezivne hrskavice. Oštećenje nije u cijelosti ispunjeno tkivom. ICRS score: površina: 0; izvanstanični matriks: 1; raspodjela stanica: 1; vijabilnost stanične populacije: 1; suphondralna kost: 2; mineralizacija hrskavice: 0. b) skupina BM: reparacija na mjestu oštećenja pokazuje nastanak mješavine vezivne i hijaline hrskavice. Oštećenje nije u cijelosti ispunjeno tkivom. ICRS score: površina: 0; izvanstanični matriks: 2; raspodjela stanica: 2; vijabilnost stanične populacije: 0; suphondralna kost: 3; mineralizacija hrskavice: 3. c) skupina GFP: reparacija na mjestu oštećenja pokazuje nastanak hijaline hrskavice. Oštećenje nije u cijelosti ispunjeno tkivom. ICRS score: površina: 0; izvanstanični matriks: 3; raspodjela stanica: 2; vijabilnost stanične populacije: 0; suphondralna kost: 3; mineralizacija hrskavice: 3. d) skupina TGF: regeneracija na mjestu oštećenja pokazuje nastanak hijaline hrskavice sa stanicama organiziranim u stupiće. Oštećenje nije u cijelosti ispunjeno novonastalim tkivom. ICRS score: površina: 0; izvanstanični matriks: 3; raspodjela stanica: 2; vijabilnost stanične populacije: 0; suphondralna kost: 3; mineralizacija hrskavice: 3. Bojenje: safranin-0 (a i d) i hemalaun-eozin (b i c); Povećanje: 40x; Mjerilo: 1 mm.



Sl.5. Uzorak zglobne hrskavice medijalnog kondila bedrene kosti ovce, rez debljine 5 μ m. a) i b): skupina TGF: na lijevoj polovici prikazano je zdravo tkivo, a desno područje cijeljenja oštećenja. Regeneracija oštećenja pokazuje hijalinu hrskavicu istovrijednu zdravoj. (DG – pukotina na mjestu kirurškog reza oštećenja; Hc – hijalina hrskavica sa stanicama raspodjeljenim u stupiće; Bs – suphondralna kost). Bojenje: hemalaun-eozin (a) i safranin-O (b); Povećanje: 100x (a) i 200x (b); Mjerilo: 100 μ m. c) i d): skupina BMO vidljivo je cijeljenje stvaranjem hijaline i vezivne hrskavice. (H – hijalina hrskavica; Hf – mješavina hijaline i vezivne hrskavice; F – vezivna hrskavica Bs – suphondralna kost). Bojenje: hemalaun-eozin (c), safranin-O (d); Povećanje: 200x; Mjerilo: 100 μ m.

RASPRAVA

Genska terapija obećavajuća je metoda za liječenje oštećenja zglobne hrskavice. Za ocjenu uspješnosti primjene genske terapije u cijeljenju hijaline hrskavice od velike je važnosti prikaz morfologije. Histološka procjena tkiva deskriptivna je metoda te umnogome ovisi o ocjenjivaču. Kako bismo objektivizirali procjenu morfologije novostvorenog tkiva i statistički analizirali dobivene podatke primijenili smo vizualno-histološku ocjensku ljestvicu ICRS-a. (tablica 2). Dobiveni rezultati pokazuju da je primjenom genske terapije moguće postići bolje cijeljenje hijaline hrskavice osobito što se tiče bitnog svojstva, tj. raspodjele hrskavičnih stanica. U tablici 3 i statističkom obradom podataka iz navedene

tablice pokazano je da između negativne kontrolne skupine i ispitivane skupine u kojoj je primijenjen genetski promijenjen ugrušak koštane srži postoji statistički značajna razlika u množini hrskavičnih stanica u korist ispitivane skupine na razini $p = 0,002$. Naši rezultati o uspješnosti primjene genetski promijenjene koštane srži u cijeljenju oštećenja zglobne hrskavice podudarni su s rezultatima dosadašnjih istraživanja primjene genske terapije u svrhu obnavljanja oštećene hijaline hrskavice (26, 30). Našim istraživanjem potvrdili smo da se primjenom semikvantitativne ocjenske ljestvice, tj. vizualno-histološke ocjenske ljestvice ICRS-a mogu dobiti zadovoljavajući rezultati u ocjeni regeneracije zglobne hrskavice. To se naravno odnosi na histološka svojstva novonastale hrskavice dok se za ispitivanje

ostalnih svojstava (biomehanička i biokemijska svojstva) koriste odgovarajuće specifične metode (26). Želimo, međutim, ukazati i na poteškoće na koje smo naišli tijekom našeg istraživanja.

Prepreke s kojima smo se susreli primjenjujući histološko-ocjensku ljestvicu vezane su uz histološku obradu preparata. Nejednaka obojenost, presavijanje tkiva, lomovi i posljedični gubitak kontinuiteta bili su razlog isključivanja pojedinih uzoraka iz procjene.

Suphondralna kost zahtjevan je materijal za histološku obradu. Prilikom demineralizacije i fiksacije dolazi do gubitka sadržaja izvanstaničnog matriksa te do promjene morfologije stanica (31-33). Promjene u suphondralnoj kosti nađene tijekom naših istraživanja bile su znak da je tijekom operacijskog zahvata došlo do neželjenog odnosno predubokog oštećenja zglobne hrskavice.

Tijekom našeg istraživanja uočili smo i nedostatak semikvantitativne ocjenske ljestvice, a to je prije svega mali broj ocjena za pojedino svojstvo. To svakako pridonosi jednostavnosti ljestvice, ali također otvara veću mogućnost graničnih rezultata koji ne pripadaju ni jednoj postojećoj ocjeni. Poseban problem koji nije obuhvaćen tom procjenskom ljestvicom je integracija novonastalog tkiva u okolno zdravo tkivo što bi se moglo utvrditi polarizacijskim mikroskopom (9). Ljestvicom nije obuhvaćena zrelost hrskavice. Smatramo da bi ocjena zrelosti hrskavice pridonijela većoj vrijednosti procjene za kliničku primjenu.

Na nekim uzorcima naišli smo na velike promjene u suphondralnoj kosti što postavlja pitanje dubine defekta. Iako su oštećenja kirurški načinjena s posebnom pažnjom da se ne ošteti suphondralna kost, možda je do njenog oštećenja došlo poslijepoperativno. Nakon operacije ispitivanim životinjama nije postavljena nikakva imobilizacija te su nakon zahvata bile slobodne u kretanju i opterećivanju operiranog ekstremiteta. Kretanje životinja i nedostatak imobilizacije također su mogući uzrok odvajanja ugruška s mjesta implantacije što je dalo lošije rezultate pri izradi histoloških preparata.

Prednost vizualno-histološke ocjenske ljestvice ICRS-a svakako je njena jednostavnost i laka primjena. Ljestvica je lako razumljiva te za njenu uporabu nije potrebna visoka stručnost i specijalističko znanje. Također, bodovanje je moguće ponoviti neograničeni broj puta. Veća preciznost u ocjenjivanju

može se postići pregledavanjem više histoloških rezova jednog uzorka.

Kako bi se poboljšalo primjenu vizualno-histološke ocjenske ljestvice ICRS-a, smatramo da je potrebno točno odrediti histološku pripremu i bojenje materijala te obratiti više pozornosti obradi kako bi se smanjio broj oštećenja. Predlažemo i da se ljestvica popratni mapom fotografija s bodovima za pojedino svojstvo. Za sada je moguće usporediti vlastite fotografije s fotografijama drugih istraživača koje su uglavnom popraćene subjektivnim opisom. Smatramo i da bi se proširivanjem ljestvice, odnosno povećanjem broja svojstava za ocjenu mogla postići bolja procjena morfologije.

ZAKLJUČAK

Vizualno-histološkom ocjenskom ljestvicom ICRS-a moguće je kvantificirati morfološke podatke i statistički ih analizirati. Vizualno-histološka ocjenska ljestvica jednostavna je, lako primjenjiva i jeftina metoda za procjenu morfologije zglobne hrskavice. Rezultati dobiveni primjenom ove semikvantitativne metode pokazali su da je upotrebom genski promijenjenih stanica moguće potaknuti cijeljenje zglobne hrskavice i rezultati su sukladni rezultatima dosadašnjih istraživanja. Na osnovi dobivenih rezultata smatramo vizualno-histološku ocjensku ljestvicu ICRS vrijednom metodom za procjenu morfologije hrskavice.

L I T E R A T U R A

1. O'Driscoll SW. The healing and regeneration of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am* 1998; 12: 1795-812.
2. Buckwalter JA. Articular cartilage injuries. *Clin Orthop Relat Res* 2002; 402: 21-37.
3. Curl WW, Krome J, Gordon ES i sur. Cartilage injuries: A review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy* 1997; 13: 456-60.
4. Widuchowski W, Widuchowski J, Trzaska T. Articular cartilage defects: study of 25,124 knee arthroscopies. *Knee* 2007; 14: 177-82.
5. Redman SN, Oldfield SF, Archer CW. Current strategies for articular cartilage repair. *Eur Cell Mater* 2005; 9: 23-32.

6. Rodrigo JJ, Steadman JR, Silliman JF, Fulstone HA. Improvement of full thickness chondral defect healing in the human knee after debridement and microfracture using and microfracture using continuous passive motion. *Am J Knee Surg* 1994; 7: 109-16.
7. Steadman JR, Rodkey WG, Singleton SB, Briggs KK. Microfracture technique for full thickness chondral defects: technique and clinical results. *Oper Tech Orthop* 1997; 7: 300-4.
8. Hangody L, Vásárhelyi G, Hangody LR i sur. Autologous osteochondral grafting - technique and long-term results. *Injury* 2008; 39 (Supl. 1): 32-9.
9. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *New Engl J Med* 1994; 331: 889-95.
10. Richardson JB, Caterson B, Evans EH, Ashton BA, Roberts S. Repair of human articular cartilage after implantation of autologous chondrocytes. *J Bone Joint Surg Br* 1999; 81: 1064-8.
11. Brittberg M. Autologous chondrocyte implantation-technique and long-term follow-up. *Injury* 2008; 39 (Supl. 1): 40-9.
12. Saris DB, Vanlauwe J, Victor J i sur. Characterized chondrocyte implantation results in better structural repair when treating symptomatic cartilage defects of the knee in a randomized controlled trial versus microfracture. *Am J Sports Med* 2008; 36: 235-46.
13. Vukičević S, Jelić M, Hašpl M. Cultivation and implantation of chondrocytes. *Acta Med Croatica* 2007; 61: 453-7.
14. Kurth T, Hedbom E, Shintani N i sur. Chondrogenic potential of human synovial mesenchymal stem cells in alginate. *Osteoarthritis Cartilage* 2007; 15 (10): 1178-89.
15. Grgić M, Jelić M, Bašić V, Bašić N, Pečina M, Vukičević S. Regeneration of articular cartilage defects in rabbits by osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7). *Acta Med Croatica* 1997; 51: 23-7.
16. Jelić M, Pečina M, Hašpl M i sur. Regeneration of articular cartilage chondral defects by osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) in sheep. *Growth Factors* 2001; 19: 101-13.
17. Jelić M, Pečina M, Hašpl M, Brkić A, Vukičević S. BMP-s in articular cartilage repair. U: Vukičević S, Sampath KT, ur. Bone morfogenetic proteins. From laboratory to clinical practice. Basel: Birkhauser, 2002, 249-63.
18. Pečina M, Jelić M, Martinović S, Hašpl M, Vukičević S. Articular cartilage repair: the role of bone morphogenetic proteins. *Int Orthop* 2002; 26: 131-6.
19. Steinert AF, Nöth U, Tuan RS. Concepts in gene therapy for cartilage repair. *Injury* 2008; 39 (Supl. 1): 97-113.
20. Lieberman JR, Ghivizzani SC, Evans CH. Gene transfer approaches to the healing of bone and cartilage. *Mol Ther* 2002; 6: 141-47.
21. Evans CH, Ghivizzani SC, Smith P, Shuler FD, Mi Z, Robbins PD. Using gene therapy to protect and restore cartilage. *Clin Orthop* 2000; 379: 214-19.
22. Pečina M, Jelić M, Ivković A, Hudetz D. Gene therapy applications in orthopaedics. *Int Orthop* 2006; 30: 215-6.
23. Pečina M, Vukičević S. Biological aspects of bone, cartilage and tendon regeneration. *Int Orthop* 2007; 31: 719-20.
24. Madry H, Kaul G, Cucchiari M i sur. Enhanced repair of articular cartilage defects in vivo by transplanted chondrocytes overexpressing insulin-like growth factor I (IGF-I). *Gene Ther* 2005; 12: 1171-79.
25. Ivković A, Pascher A, Hudetz D i sur. Gene therapy of the musculoskeletal system. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech* 2006; 73: 115-22.
26. Ivković A, Pascher A, Hudetz D i sur. Articular cartilage repair by genetically modified bone marrow aspirate in sheep. *Gene Ther* 2010; 17: 779-89.
27. Mainil Varlet P, Aigner T, Brittberg M i sur. Histological assessment of cartilage repair: a report by the Histology Endpoint Committee of the International Cartilage Repair Society (ICRS) *J Bone Joint Surg Am* 2003; 85-A: 45-57.
28. Yeh P, Perricaudet M. Advances in adenoviral vectors: from genetic engineering to their biology. *FASEB* 1997; 11: 615-23.
29. Hardy S, Kitamura M, Harris-Stansil T, Dai Y, Phipps ML. Construction of adenovirus vectors through Cre-lox recombination. *J Virol* 1997; 71: 1842-49.
30. Pascher A, Palmer GD, Steinert A i sur. Gene delivery to cartilage defects using coagulated bone marrow aspirate. *Gene Ther* 2004; 11: 133-41.
31. Kiviranta I, Tammi M, Jurvelin J, Saamanen AM, Helminen HJ. Fixation, decalcification, and tissue processing effects on articular cartilage proteoglycans. *Histochemistry* 1984; 80: 569-73.
32. Eggert FM, Linder JE, Jubb RW. Staining of demineralized cartilage. I. Alcoholic versus aqueous demineralization at neutral and acidic pH. *Histochemistry* 1981; 73: 385-90.
33. Thyberg J. Electron microscopic studies on the initial phases of calcification in guinea pig epiphyseal cartilage. *J Ultrastruct Res* 1974; 46: 206-18.

S U M M A R Y

HISTOLOGIC ASSESSMENT OF TISSUE HEALING OF HYALINE CARTILAGE BY USE OF SEMIQUANTITATIVE EVALUATION SCALE

A. VUKASOVIĆ, A. IVKOVIĆ^{1,2}, D. JEŽEK, I. CEROVEČKI³, D. VNUK⁴, M. KRESZINGER⁴, D. HU-
DETZ^{1,2} and M. PEĆINA³

Department of Histology and Embryology, School of Medicine, University of Zagreb, ¹Department of Orthopedics, Sveti Duh University Hospital, Zagreb, ²Sv. Katarina Special Hospital, Zabok, ³School of Medicine, University of Zagreb and ⁴Department of Surgery, Orthopedics and Ophthalmology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

Introduction: Articular cartilage is an avascular and aneural tissue lacking lymph drainage, hence its inability of spontaneous repair following injury. Thus, it offers an interesting model for scientific research. A number of methods have been suggested to enhance cartilage repair, but none has yet produced significant success. The possible application of the aforementioned methods has brought about the necessity to evaluate their results. The objective of this study was to analyze results of a study of the effects of the use of TGF- β gene transduced bone marrow clot on articular cartilage defects using ICRS visual histological assessment scale.

Methods: The research was conducted on 28 skeletally mature sheep that were randomly assigned to four groups and surgically inflicted femoral chondral defects. The articular surfaces were then treated with TGF- β 1 gene transduced bone marrow clot (TGF group), GFP transduced bone marrow clot (GFP group), untransduced bone marrow clot (BM group) or left untreated (NC group). The analysis was performed by visual examination of cartilage samples and results were obtained using ICRS visual histological assessment scale. The results were subsequently subjected to statistical assessment using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests.

Results: Kruskal-Wallis test yielded statistically significant difference with respect to cell distribution. Mann-Whitney test showed statistically significant difference between TGF and NC groups ($P=0.002$), as well as between BM and NC groups ($P=0.002$ with Bonferroni correction).

Discussion: Twenty-six of the twenty-eight samples were subjected to histologic and subsequent statistical analysis; two were discarded due to faulty histology technique. Our results indicated a level of certainty as to the positive effect of TGF- β 1 gene transduced bone marrow clot in restoration of articular cartilage defects. However, additional research is necessary in the field. One of the significant drawbacks on histologic assessment of cartilage samples were the errors in histologic preparation, for which some samples had to be discarded and significantly impaired the analytical quality of the others. Defects of structures surrounding the articular cartilage, e.g., subchondral bone or connective tissue, might also impair the quality of histologic analysis. Additional analyses, i.e. polarizing microscopy should be performed to determine the degree of integration of the newly formed tissue with the surrounding cartilage. The semiquantitative ICRS scale, although of great practical value, has limitations as to the objectivity of the assessment, taking into account the analytical ability of the evaluator, as well as the accuracy of semiquantitative analysis in comparison to the methods of quantitative analysis.

Conclusion: Overall results of histologic analysis indicated that the application of TGF- β 1 gene transduced bone marrow clot could have measurable clinical effects on articular cartilage repair. The ICRS visual histological assessment scale is a valuable analytical method for cartilage repair evaluation. In this respect, further analyses of the method value would be of great importance.

Key words: hyaline cartilage, cartilage repair, ICRS visual histological assessment scale

NON-POLIO ENTEROVIRUSNE INFEKCIJE U HRVATSKOJ TIJEKOM DESETOGODIŠNJEG RAZDOBLJA (2000.-2009.): VIROLOŠKE I EPIDEMIOLOŠKE ZNAČAJKE

SUNČANICA LJUBIN-STERNAK, TATJANA VILIBIĆ-ČAVLEK, BERNARD KAIĆ¹, BORISLAV ALERAJ¹,
SILVIJA ŠOPREK², MARIO SVIBEN i GORDANA MLINARIĆ-GALINOVIĆ

Služba za mikrobiologiju, Hrvatski zavod za javno zdravstvo i Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, ¹ Služba za epidemiologiju zaraznih bolesti, Hrvatski zavod za javno zdravstvo i ² Klinika za infektivne bolesti „Dr Fran Mihaljević“, Zagreb, Hrvatska

Cilj rada bio je prikazati virološke i epidemiološke značajke non-polio enterovirusnih (NPEV) infekcija u desetogodišnjem razdoblju (2000.-2009.) u Republici Hrvatskoj. Tijekom navedenog razdoblja u Laboratoriju za enteroviruse Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo obrađeno je 2754 kliničkih uzoraka prikupljenih od 1880 bolesnika s kliničkom slikom enterovirusne infekcije. Dijagnoza enterovirusne infekcije dokazana je izolacijom virusa u staničnoj kulturi, a virusi su tipizirani metodama neizravne imunofluorescencije i/ili testom neutralizacije. NPEV infekcija dokazana je u 394 od 1880 bolesnika (21%). Osobe muškog spola češće su oboljevale od osoba ženskog spola u omjeru 1,8:1. Broj oboljelih najveći je u dobnoj skupini predškolske i školske djece. Bolesnici u kojih su izolirani NPEV najčešće su imali dijagnozu seroznog meningitisa - 234/394 (59,4%). Infekcije su najčešće bile uzrokovane echovirusima (218/394; 55,3%), zatim coxsackie B (126/394; 32,0%) i coxsackie A (31/394; 7,9%) virusima, a rjeđe su dokazani echovirus 22 - parechovirus 1 (16/394; 4,1%) i enterovirus 71 (3/394; 0,8%). Coxsackie B5 i B4 virusi kontinuirano se detektiraju tijekom istraživanih razdoblja s učestalijom pojavom svakih 4-5 godina. Najčešći izolat echovirusa bio je echovirus 18 koji se detektira kontinuirano od 2000. do svoje epidemije 2006. godine. Echovirus 6 i echovirus 30 također se izoliraju kontinuirano s vršnim vrijednostima 2002. i 2008., odnosno 2002., 2006. i 2008. godine.

Ključne riječi: non-polio enterovirusi, serotipovi, epidemiologija, Hrvatska

Adresa za dopisivanje: Doc. dr. sc. Sunčanica Ljubin-Sternak, dr. med.
Odjel za virologiju
Hrvatski zavod za javno zdravstvo
Rockefellerova 12
10 000 Zagreb, Hrvatska
Tel: +385 1 4863 295
Fax: +385 1 4683 017
e-pošta: sljsternak@hzjz.hr

UVOD

Ljudski non-polio enterovirusi (NPEV) zajedno s poliovirusom i životinjskim enterovirusima čine rod *Enterovirus*, porodice *Picornaviridae*, unutar kojeg se danas svrstava najmanje 92 serotipa humanih patogena (1). Prvotna, povijesna klasifikacija enterovirusa bazirana na kliničkoj slici u ljudi, patogeni infekcije u mišje sisančadi i rastu u staničnoj kulturi svrstava viruse iz ovog roda u polioviruse, coxsackie A, coxsackie B i echoviruse, a kasnije izdvojeni virusi klasificirani su kao enterovirusi 68-102 (2). Razvojem molekularnih dijagnostičkih metoda uspostavljena je nova klasifikacija roda *Enterovirus* u kojoj su NPEV svrstani u 4 vrste ljudskih

enterovirusa: A, B, C i D (3-5). Iako većina infekcija uzrokovana NPEV prolazi bez simptoma, NPEV uzrokuju simptomatske infekcije središnjeg živčanog sustava, febrilne bolesti s osipom ili bez osipa, bolest šake stopala i usta, herpanginu, akutni hemoragijski konjunktivitis, pleurodiniju, miokarditis i neonatalnu sepsu (6-9). Dugo je „zlatni standard“ za dijagnostiku enterovirusa bila kultivacija u staničnoj kulturi s naknadnom tipizacijom tipno-specifičnim hiperimunim serumima (10). Metoda koja sve više zamjenjuje izolaciju enterovirusa je molekularna detekcija pomoću tzv. „panenterovirus – PCR“ testa, osjetljivijeg od kultivacije, ali koji ne razlikuje tipove enterovirusa. U slučaju molekularne

tipizacije koristimo se metodom sekvenciranja VP-1 gena koji kodira tipno specifične epitope virusa te genotipovi odgovaraju serotipovima (11). Enterovirusi se primarno umnažaju u probavnom sustavu, dugo izlučuju stolicom, a prenose fekalno-oralnim i rjeđe dišnim putem. Kako nema specifične terapije za liječenje tih infekcija dijagnostika i prevencija u smislu dobre osobne higijene važne su mjere kontrole tih bolesti. NPEV su prisutni svugdje u svijetu, a u zemljama s umjerenom klimom javljaju se u ljetnim mjesecima. O prisutnosti infekcija uzrokovanih NPEV-ima i tipovima NPEV-a koji kruže u nas publicirano je svega nekoliko radova, uglavnom u obliku prikaza epidemija, odnosno kraćih izvještaja za samo neke određene godine (12-15).

CILJ RADA

Cilj ovog rada bio je prikazati virološke i epidemiološke značajke NPEV infekcija u desetogodišnjem razdoblju (2000.-2009.) u Republici Hrvatskoj.

METODE RADA

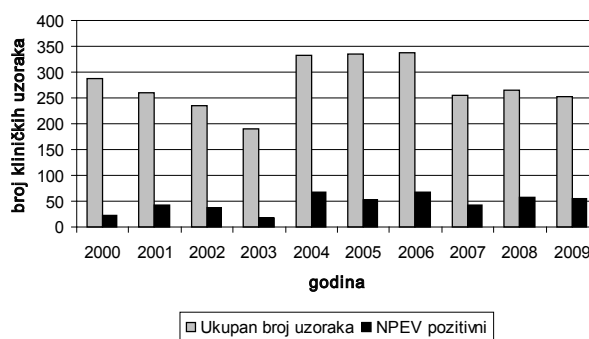
Istraživanje je retrospektivno i obuhvaća desetogodišnje razdoblje od 1.1. 2000. do 31.12. 2009. godine. Podaci su prikupljeni iz protokola Laboratorija za enteroviruse koji je sastavni dio Nacionalnog polio laboratorija Svjetske zdravstvene organizacije u Hrvatskom zavodu za javno zdravstvo. Tijekom navedenog razdoblja u Laboratorij za enteroviruse pristiglo je i obrađeno 2754 kliničkih uzoraka (1711 stolica, 827 cerebrospinalnih likvora i 216 briseva ždrijela/nazofaringealnih sekreta) prikupljenih od 1880 bolesnika s kliničkom slikom enterovirusne infekcije kao i njihovih kontakata. Uzorci su većinom prikupljeni od bolesnika hospitaliziranih u Klinici za infektivne bolesti „Dr Fran Mihaljević“ u Zagrebu, ali i s odjela za zarazne bolesti drugih bolnica u Republici Hrvatskoj. Uzorci su obrađeni na standardni način (10) i inokulirani na tri vrste stanične kulture: kontinuiranu kulturu bubrega majmuna – GMK (engl. *Green Monkey Kidney*), kontinuiranu kulturu rabdomiosarkoma – RD i kontinuiranu kulturu mišjih fibroblasta na čijim stanicama se iskazuje humani stanični receptor za poliovirus – L20B. Stanične kulture dobivene su od Regionalnog referentnog Laboratorija (*WHO Labnet, National Public Health Institute, Helsinki, Finska*). Nakon porasta tj. pojave citopatičnog učinka na GMK i/ili RD staničnim kulturama, ali ne i na L20B staničnoj kulturi

virusi su tipizirani testom neizravne imunofluorescencije (*Light Diagnostics, Temecula, CA*) i/ili testom neutralizacije u mikrotitarskim pločicama (10) pomoću 18 skupina standardnih hiperimunih seruma (*Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene, Bilthoven, the Netherlands*).

REZULTATI

Tijekom desetogodišnjeg razdoblja izolirana su 463 virusa iz 2754 klinička uzorka (16,8%), odnosno dokazana je infekcija nekim NPEV-om u 394 od 1880 bolesnika (21%) - 61 izolat dokazan je u dva ili više uzorka istog bolesnika. Broj pozitivnih kliničkih uzoraka u odnosu na broj obrađenih kliničkih uzoraka po godinama prikazan je na sl. 1. Postotak detektiranih NPEV-a varirao je tijekom ispitivanog razdoblja, najveći je zabilježen 2009. godine (21,8%), zatim slijedi 2008.-a sa 21,6% te 2004.-ta i 2006.-ta sa 20,1% detektiranih NPEV-a. Najmanje NPEV-a detektirano je 2000. godine (8,0%).

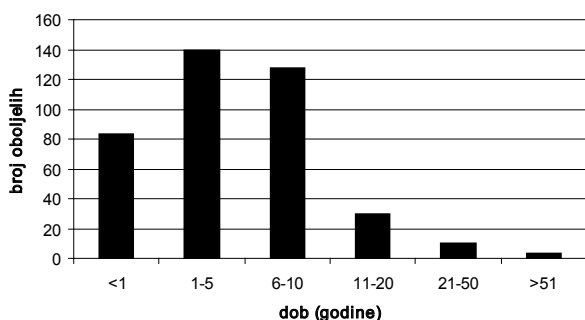
Najviše NPEV-a izolirano je iz stolica bolesnika 381/1711 (22,3%), zatim iz briseva ždrijela ili nazofaringealnog sekreta 27/216 (12,5%), a najmanje iz likvora 55/827 (6,7%).



Sl. 1. Broj uzoraka zaprimljenih i obrađenih u Laboratoriju za enteroviruse Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, tijekom desetogodišnjeg razdoblja

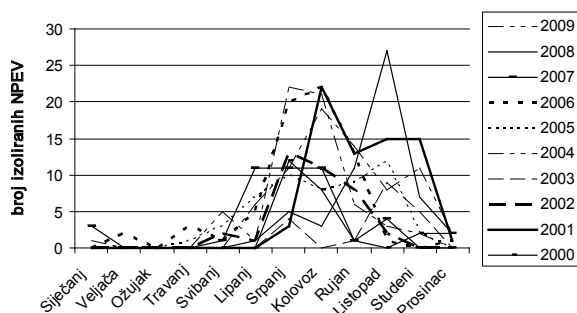
Od 394 bolesnika s dokazanom infekcijom ovim virusima, 252 ih je bilo muškog i 142 ženskog spola, odnosno osobe muškog spola češće su oboljevale od osoba ženskog spola u omjeru 1,8:1. Srednja dob osoba s infekcijom uzrokovanom NPEV-ima iznosila je 5,8 godina. Dobna raspodjela oboljelih prikazana je na sl. 2. Bolesnici u kojih je izoliran neki od NPEV najčešće su imali dijagnozu seroznog menin-

gitisa 234/394 (59,4%), rjeđe enterokolitisa 33/394 (8,4%) odnosno febrilne bolesti s osipom ili bez osipa 25/394 (6,3%), dok su ostali bolesnici obrađeni zbog sumnje na enterovirusnu infekciju u sklopu nekih drugih kliničkih sindroma kao što je npr. respiratorni katar, akutna mlohava kljenut i njihovi kontakti i dr.



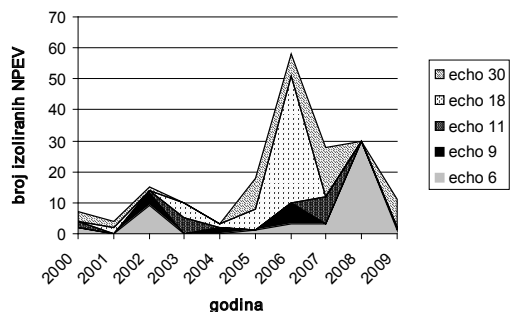
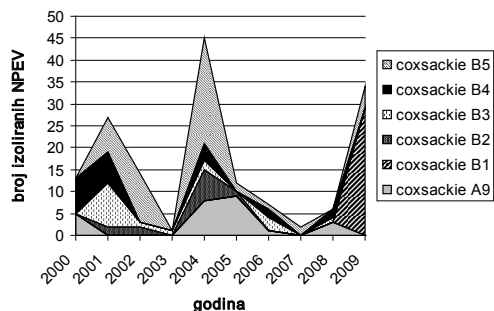
Sl. 2. Dobna raspodjela oboljelih od infekcija uzrokovanih non-polio enterovirusima

Na sl. 3. prikazana je sezonska raspodjela NPEV infekcija po mjesecima i godinama. Vršna vrijednost infekcija većinom je zabilježena od srpnja do studenog. Infekcije su najčešće bile uzrokovane echovirusima (218/394; 55,3%), zatim coxsackie B (126/394; 32,0%) i coxsackie A (31/394; 7,9%) virusima, a rjeđe su dokazani echovirus 22 - parechovirus 1 (16/394; 4,1%) i enterovirus 71 (3/394; 0,8%). Najčešće dokazani serotipovi echovirusa bili su: 6, 9, 11, 13, 14, 18 i 30 (45/218, 21%; 14/218, 6,4%; 18/218, 8,3%; 15/218, 6,9%; 11/218, 5,0%; 55/218, 25,2% i 42/218, 19,3%), dok su serotipovi 2, 3, 4, 5, 7, 12, 20, 21, 25 i 26 dokazani u manjem broja bolesnika ili u pojedinačnim slučajevima. Coxsackie B5 bio je najzastupljeniji serotip među coxsackie B virusima



Sl. 3. Sezonska raspodjela non-polio enterovirusnih infekcija u Republici Hrvatskoj u desetogodišnjem razdoblju

(50/126, 40%), dok je Coxsackie A9 bio najčešće dokazan Coxsackie A virus (26/31, 84%). Na sl. 4a i 4b prikazana je učestalost najčešćih serotipova NPEV dokazanih u Hrvatskoj tijekom desetogodišnjeg razdoblja po godinama i tipu.



Sl. 4 a i b. Najčešće dokazani tipovi non-polio enterovirusa u Republici Hrvatskoj tijekom desetogodišnjeg razdoblja po godinama i tipu

RASPRAVA

Ljudski NPEV uzrokuju različite bolesti od neprimjetnih i vrlo blagih infekcija do teških kliničkih sindroma kao što su: serozni meningitis, encefalitis, akutne mlohove kljenuti, miokarditis i neonatalna sepsa. Eradikacijom poliomijelitisa koja je u Republici Hrvatskoj proglašena 2002. godine epidemiološke i virološke značajke infekcija uzrokovanih NPEV-ima postaju od izuzetne važnosti budući da pojedini serotipovi NPEV mogu uzrokovati paralitičku bolest nalik na poliomijelitis. Nadalje, infekcija NPEV-ima najčešći je uzrok seroznog meningitisa u razvijenim zemljama.

Dijagnoza enterovirusne infekcije u ovome radu postavljena je temeljem izolacije tih virusa u staničnoj kulturi. Iako je prednost ove metode mogućnost re-

lativno jeftine tipizacije metodama neizravne imunofluorescencije i neutralizacije pomoću standardnih hiperimunih seruma ona sa sobom nosi i neke posebne zahtjeve. Za izolaciju virusa na staničnoj kulturi potrebno je određeno vrijeme (3-14 dana) kao i velika stručnost laboratorijskog osoblja. Također, poznato je da se određeni tipovi coxsackie A virusa ne mogu umnožiti u staničnoj kulturi (4).

Najbolji klinički materijal za izolaciju NPEV-a je stolica, zatim bris ždrijela ili nazofaringealni ispirak, i na kraju cerebrospinalni likvor (16). Virus je u stolici prisutan u visokom titru i u mnogo duljem razdoblju nego u bilo kojem drugom uzorku (17) što su potvrdili i rezultati ove studije (22,3% pozitivnih uzoraka stolica, 12,7% pozitivnih briseva ždrijela ili nazofaringealnih aspirata i 6,7% pozitivnih cerebrospinalnih likvora).

Osjetljivost izolacije na staničnoj kulturi u odnosu na molekularnu dijagnostiku je niža i ovisi o vrsti kliničkog uzorka. Osjetljivost metode izolacije NPEV-a iz stolice u odnosu na reverznu transkripciju lančanom reakcijom polimerazom (RT-PCR) iznosi od 71% do 87%, dok je osjetljivost izolacije NPEV-a iz cerebrospinalnog likvora daleko niža i iznosi 38% do 59% u odnosu na istu metodu molekularne dijagnostike (18). Stoga je za potrebe potvrde kliničke dijagnoze enterovirusnog meningitisa neophodno dijagnostiku enterovirusa iz likvora provoditi metodom RT-PCR (9,18). Međutim, tom metodom ne možemo odrediti tip NPEV, te u slučaju epidemiološke potrebe za tipizacijom virusa, nakon detekcije NPEV-a RT-PCR metodom javlja se potreba za daljnjim skupim postupcima kao što je sekvenciranje dijela virusnog genoma. Stoga je poželjno od oboljelog istodobno uzorkovati likvor i stolicu i u potonjem uzorku pokušati izolaciju virusa.

Uzorci za dijagnostiku tih infekcija prikupljeni su u velikoj većini od hospitaliziranih bolesnika te stoga ne iznenađuje podatak da je 59,4% bolesnika s dokazanom enterovirusnom infekcijom imalo dijagnozu seroznog meningitisa. Također je potvrđena već otprije zapažena činjenica da češće obolijevaju osobe muškog spola (12) – u ovom istraživanju omjer bolesnih osoba muškog spola u odnosu na ženski iznosi 1,8:1. Takav se nalaz u literaturi pokušava protumačiti raznim sociološkim i biološkim čimbenicima (4). Iako prema seroepidemiološkim istraživanjima nije dokazana veća prokuženost

muškog spola moguće je da su muška djeca zbog razlike u odgoju, ponašanju i načinu igre više izložena susretu s NPEV-ima. U dječaka je također zabilježena dulja ekskrecija virusa u stolici praćena višim titrovima što povećava mogućnost dijagnoze tih infekcija (4).

Broj oboljelih u ovoj studiji najveći je u dobnoj skupini predškolske i školske djece (sl. 2.) što se podudara s prijašnjim studijama u kojima je zapaženo da nakon prve godine života broj oboljelih s godinama raste sve do školske dobi, a da nakon 14. godine života naglo opada (12). Različite dobne skupine različito su osjetljive na infekciju NPEV-ima, a i klinička slika, tijek i prognoza bolesti ovise o dobi. Infekcije karakterizirane osipom, najčešće uzrokovane coxsackie A i echovirusima, obično su ozbiljnijeg tijeka u odraslih osoba, dok s druge strane neki NPEV-i uzrokuju klinički teške infekcije u veoma ranoj dječjoj dobi kao što je fulminantna virusna sepsa (19). Općenito se može reći da se serozni meningitis i encefalitis uzrokovan NPEV-ima pojavljuje najčešće u dobnoj skupini od 5 do 14 godina života (4), što je u skladu i s našim rezultatima jer je većina oboljelih bila hospitalizirana s dijagnozom seroznog meningitisa.

U zemljama umjerenog klimatskog pojasa infekcije uzrokovane NPEV-ima imaju izrazit sezonski karakter i najčešće se javljaju u ljetnim i jesenskim mjesecima iako se epidemije mogu produžiti i u zimske mjesece (4). U našoj zemlji se te infekcije javljaju na isti način, a detekcija NPEV-a često se proteže i u zimske mjesece.

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da su pojedini serotipovi NPEV-a varirali iz godine u godinu. Coxsackie B5 i B4 virusi kontinuirano se detektiraju tijekom istraživanog razdoblja s učestalijom pojavom svakih 4-5 godina. Niti jedan izolat coxsackie B1 virusa nije bio zabilježen sve do njegove epidemijske 2009. godine. Najčešći izolat ehovirusa bio je Echovirus 18 koji je bio prisutan kontinuirano od 2000. do svoje epidemijske 2006. godine. Echovirus 6 i echovirus 30 također se izoliraju kontinuirano s vršnim vrijednostima 2002. i 2008., odnosno 2002., 2006. i 2008. godine. Takvu izmjenu pojedinih serotipova NPEV-a tijekom navedenog razdoblja zapažili su i Trallero i sur. u Španjolskoj (20). S obzirom da virusi ne poznaju državne granice očekivano je u susjednim zemljama u istom razdoblju zabilježena pojava istih serotipova NPEV-a (20,21).

ZAKLJUČAK

Rezultati ovog istraživanja ukazuju na specifičan obrazac pojavljivanja pojedinih serotipova NPEV-a u Hrvatskoj. Epidemijski obrazac (echovirus 18 i coxsackie B1) karakteriziran je vršnim vrijednostima povećanog broja izolacija u pojedinim godinama. Nasuprot tome endemski virusi izoliraju se svake godine u podjednakom broju (Coxsackie B3) ili pokazuju blaže epidemijske vrhove svakih nekoliko godina (Echovirus 30 i 6, Coxsackie B4 i B5). Podaci o NPEV infekcijama s obzirom na serotip i njihov specifičan obrazac pojavljivanja značajno doprinose pravodobnom odgovoru na te infekcije u dijagnostičkom, kliničkom i epidemiološkom smislu.

LITERATURA

1. Stanway G, Brown F, Christian P i sur. Family Picornaviridae. U: Faquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desseberger U, Ball LA, ur. *Virus taxonomy. Eight report of the international committee on taxonomy of viruses*. London: Elsevier/Academic Press; 2005, 757-78.
2. Brown BA, Maher K, Flemister MR i sur. Resolving ambiguities in genetic typing of human enterovirus species C clinical isolates and identification of enterovirus 96, 99, and 102. *J Gen Virol* 2009; 90: 1713-23.
3. Minor PD, Muir P. Enteroviruses. U: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P, ur. *Principles and practice of clinical virology*. 6th ed. Oxford: John Wiley & Sons Ltd., 2009, 601-24.
4. Pallansch M, Roos R. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. U: Knipe DM, Howley PM, ur. *Fields virology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott W&W-Wolters Kluwer, 2007, 839-93.
5. Lo CW, Wu KG, Lin MC i sur. Application of a molecular method for the classification of human enteroviruses and its correlation with clinical manifestations. *J Microbiol Immunol Infect* 2010; 43: 354-9.
6. Fališevac J, Svara V, Bačun-Kubović M, Rulnjević J, Smerdel S. Klinička zapažanja kod oboljenja izazvanih enterovirusima u 1963. godini. *Lijec Vjesn* 1965; 87: 1207-16.
7. Petričević I, Brudnjak Z, Fališevac J. Istraživanje etiologije kratkotrajnih febrilnih oboljenja u 1970. godini. *Lijec Vjesn* 1975; 97: 4-10.
8. Mlinarić-Galinović G, Ugrčić I, Detić D, Božikov J. Epidemiological picture of respiratory viral infections in Croatia. *Acta Med Iug* 1991; 45: 203-11.
9. Michos AG, Syriopoulou VP, Hadjichristodoulou C i sur. Aseptic meningitis in children: analysis of 506 cases. *PLoS ONE* 2007; 2: e674
10. WHO Department of Immunization, Vaccines and Biologicals. *Polio Laboratory Manual*, 4th edition. Geneva, Switzerland: WHO Document Production Services; 2004, 98-100.
11. Zerr DM. Common viral infections of childhood. U: Jerome KR, ur. *Lennette's laboratory diagnosis of viral infections*. 4th ed. New York: Informa Healthcare USA, Inc, 2010, 226-45.
12. Borčić B, Kružić V, Weisglass-Galinović M i sur. Some epidemiologic and virologic patterns of enterovirus outbreak in SR Croatia in 1979. *Lijec Vjesn* 1981; 103: 225-30.
13. HZJZ. Bornholmska bolest. *Epidemiološki vjesnik*. 1996; 2: 2-4.
14. HZJZ. Enterovirusi u cirkulaciji u ljetu 2005. *Epidemiološki vjesnik* 2005; 7: 4.
15. HZJZ. Enterovirusi u cirkulaciji u ljetu 2007. *Epidemiološki vjesnik* 2007; 8: 3.
16. Oberste MS, Pallansch MA. Coxsackieviruses. U: Mahy BWJ, van Regenmortel MHV (ur.). *Desk encyclopedia of human and medical virology*. Oxford: Elsevier, 2010, 58-64.
17. Chung PW, Huang YC, Chang LY, Lin TY, Ning HC. Duration of enterovirus shedding in stool. *J Microbiol Immunol Infect* 2001; 34: 167-70.
18. Terletskaia-Ladwig E, Meier S, Hahn R, Leinmüller M, Schneider F, Enders M. A convenient rapid culture assay for detection of enteroviruses in clinical samples: comparison with conventional cell culture and RT-PCR. *J Med Microbiol* 2008; 57: 1000-6.
19. Nathan M, Walsh R, Hardin JT i sur. Enteroviral sepsis and ischemic cardiomyopathy in a neonate: case report and review of literature. *ASAIO J* 2008; 54: 554-5.
20. Trallero G, Avellon A, Otero A i sur. Enteroviruses in Spain over the decade 1998-2007: virological and epidemiological studies. *J Clin Virol* 2010; 47: 170-6.
21. Kapusinszky B, Szomor KN, Farkas A, Takacs M, Berencsi G. Detection of non-polio enteroviruses in Hungary 2000-2008 and molecular epidemiology of enterovirus 71, coxsackievirus A16, and echovirus 30. *Virus Genes* 2010; 40: 163-73.

S U M M A R Y

VIROLOGIC AND EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF NON-POLIO INFECTION IN CROATIA OVER A TEN-YEAR PERIOD (2000-2009)

S. LJUBIN-STERNAK, T. VILIBIĆ-ČAVLEK, B. KAIĆ¹, B. ALERAJ¹, S. ŠOPREK², M. SVIBEN
and G. MLINARIĆ-GALINOVIĆ

*Microbiology Service, Croatian Public Health Institute and School of Medicine, University of Zagreb,
¹Service for Epidemiology of Infectious Diseases, Croatian Public Health Institute and
²Dr. Fran Mihaljević University Hospital for Infectious Diseases, Zagreb, Croatia*

Aim: The aim of the present study was to show the virologic and epidemiological characteristics of non-polio enterovirus (NPEV) infection over a ten-year period in Croatia.

Methods: During the 2000-2009 period, the Laboratory for Enteroviruses, Croatian Public Health Institute analyzed 2754 clinical samples collected from 1880 patients with a clinical picture of enteroviral infection. The diagnosis of enteroviral infection was confirmed by virus isolation in cell culture. Viruses were typed using indirect immunofluorescence and/or neutralization assay.

Results: NPEV was proven in 394 (21%) of 1880 patients. Males were more commonly infected than females, at a ratio of 1.8:1, while the number of infected cases was highest among preschoolers and schoolchildren. Patients with isolated NPEV were most frequently diagnosed with aseptic meningitis (234/394; 59.4%). Infections were most commonly caused by echoviruses (218/394; 55.3%), followed by Coxsackie B (126/394; 32.0%) and Coxsackie A (31/394; 7.9%) viruses, rarely by echovirus 22 - parechovirus 1 (16/394; 4.1%) and enterovirus 71 (3/394; 0.8%). In most cases, echoviruses of the following serotypes were proven: 6, 9, 11, 13, 14, 18 and 30 (45/218, 21%; 14/218, 6.4%; 18/218, 8.3%; 15/218, 6.9%; 11/218, 5.0%; 55/218, 25.2% and 42/218, 19.3%), while serotypes 2, 3, 4, 5, 7, 12, 20, 21, 25 and 26 were evidenced in a minority of patients or individual cases. Coxsackie B5 was the predominant serotype among Coxsackie B viruses (50/126, 40%), while Coxsackie A9 was most common Coxsackie A virus (26/31, 84%). Coxsackie B5 and B4 viruses were continually detected during the study period and appeared more frequently every four to five years. The most common echovirus isolate was echovirus 18, detected continually between 2000 and the outbreak year of 2006. Echovirus 6 and echovirus 30 were also isolated continually with peaks in 2002 and 2008, or 2002, 2006 and 2008.

Conclusion: The results of this study pointed to a specific pattern of the occurrence of certain NPEV serotypes in Croatia. The epidemic pattern (echovirus 18 and Coxsackie B1) was characterized by peaks with an elevated number of isolations in given years. Contrary to this, endemic viruses were isolated in similar counts every year (Coxsackie B3), or manifested milder epidemic peaks every few years (echoviruses 30 and 6, Coxsackie B4 and B5). Data on NPEV infections, given their serotype and specific pattern of occurrence, contribute significantly to prompt diagnostic, clinical and epidemiological response to NPEV infections.

Key words: non-polio enteroviruses, serotypes, epidemiology, Croatia

SNIŽENI HDL2 KOLESTEROL JE POVEZAN S MIKRO-ALBUMINURIJOM U BOLESNIKA SA ŠEĆERNOM BOLEŠĆU TIP 1

TOMISLAV BULUM, LEA DUVNJAK i INGRID PRKAČIN¹

Sveučilišna Klinika za dijabetes, endokrinologiju i bolesti metabolizma Vuk Vrhovac i

¹Zavod za nefrologiju, Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

Razvoj kronične bubrežne bolesti u šećernoj bolesti tipa 1 karakteriziran je nastankom albuminurije, u početku mikroalbuminurije, a zatim makroalbuminurije uz progresivno smanjenje glomerularne filtracije. U većini studija dokazano je da su povišene vrijednosti LDL kolesterola rizični čimbenik razvoja mikroalbuminurije i nefropatije u šećernoj bolesti tipa 1. Također je pokazano da povišene vrijednosti HDL kolesterola djeluju preventivno na razvoj kardiovaskularne bolesti te nefropatije. Budući da podskupine HDL kolesterola imaju različiti utjecaj na razvoj kardiovaskularne bolesti, bilo je zanimljivo istražiti razinu HDL kolesterola, a posebice podskupina HDL2 i HDL3 kolesterola, u bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1 u ovisnosti o razini albuminurije. Analizirali smo 259 bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1 od kojih su 215 imali normoalbuminuriju (<30 mg/24h), a 44 mikroalbuminuriju (30-300 mg/24h). Bolesnici s mikroalbuminurijom imali su više vrijednosti ukupnog, LDL, VLDL kolesterola i triglicerida te niže vrijednosti HDL i HDL3 kolesterola (razlike nisu dostigle statističku značajnost). Razina HDL2 kolesterola bila je statistički značajno niža u bolesnika s mikroalbuminurijom (0,50 prema 0,57 mmol/L, $p=0,01$). Mikroalbuminurija je najraniji klinički indikator dijabetičke nefropatije i endotelne disfunkcije. U našem smo istraživanju pokazali da je sniženi HDL2 kolesterol povezan s mikroalbuminurijom u bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1.

Ključne riječi: šećerna bolest tip 1, mikroalbuminurija, HDL kolesterol

Adresa za dopisivanje: Dr. sc. Tomislav Bulum, dr. med.

Sveučilišna klinika za dijabetes, endokrinologiju i bolesti metabolizma Vuk Vrhovac

Klinička bolnica Merkur

Dugi dol 4a

10000 Zagreb, Hrvatska

E-pošta: tbulum@idb.hr

UVOD

Šećerna bolest je, uz povišeni krvni tlak, najčešći uzrok kroničnog bubrežnog zatajenja u svijetu. Razvoj kronične bubrežne bolesti u šećernoj bolesti tipa 1 karakteriziran je nastankom albuminurije, u početku mikroalbuminurije (30-300 mg/24h), a zatim makroalbuminurije (>300 mg/24h) uz progresivno smanjenje glomerularne filtracije. U šećernoj bolesti, mikroalbuminurija je prediktor kasnijeg razvoja proteinurije, progresivnog smanjenja bubrežne funkcije, uznapredovale retinopatije, ubrzane ateroskleroze te kraće životne dobi uzrokovane najčešće kardiovaskularnom bolešću (1). Kardiovaskularna bolest najčešći je uzrok smrti bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1, a osobito onih bolesnika s već razvijenom mikroalbuminurijom (2,3). Iako još nije poznat pravi patogenetski mehanizam nastanka dijabetičke nefropatije, poznati su čimbenici koji pogoduju nastanku kako nefropatije tako i mikro-

te makrovaskularnih komplikacija u šećernoj bolesti tipa 1. Čimbenici koji utječu na razvoj dijabetičke nefropatije uključuju dužinu trajanja šećerne bolesti te povišeni krvni tlak, a najvažniji rizični faktor nastanka dijabetičke nefropatije je hiperglikemija (4).

Budući da oko 30% bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1 razvije manifestnu nefropatiju, a većina ih ima mikroalbuminuriju, pokušalo se dokučiti koji rizični faktori, osim tradicionalnih, mogu utjecati na razvoj mikroalbuminurije u bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1. Studije su pokazale da je i dislipidemija povezana s razvojem i progresijom nefropatije i ostalih vaskularnih komplikacija u šećernoj bolesti tipa 1 (5-8), a hipolipemici mogu usporiti progresiju bubrežne bolesti (9). Dislipidemija je usko povezana s proteinurijom u bolesnika sa šećernom bolešću i bez nje, čak i u onih bez ostalih znakova bubrežnog zatajenja, a karakterizirana je povišenim vrijednostima ukupnog, VLDL, LDL

kolesterola kao i povišenim trigliceridima (10,11). U većini je studija dokazano da su povišene vrijednosti LDL kolesterola (osobito malih gustih LDL čestica) rizični čimbenik razvoja nefropatije u šećernoj bolesti tipa 1 (12-15). Iako povišene vrijednosti HDL kolesterola u serumu djeluju protektivno na razvoj kardiovaskularne bolesti (16), istraživanja su pokazala da podskupine HDL kolesterola imaju različiti utjecaj na razvoj kardiovaskularne bolesti. Velike čestice (HDL2 kolesterol) imaju zaštitnu ulogu, dok male čestice (HDL3 kolesterol) povećavaju rizik kardiovaskularne bolesti (17). Iako bolesnici s tipom 1 šećerne bolesti imaju 10% veći rizik kardiovaskularne smrtnosti u odnosu na bolesnike bez šećerne bolesti, u bolesnika s dobro reguliranom šećernom bolešću tipa 1 razine ukupnog, LDL kolesterola i triglicerida su slične, ili čak i niže nego u općoj populaciji, dok su razine HDL kolesterola normalne ili povišene (18,19). Međutim, u bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1 i mikroalbuminurijom prisutna je dislipidemija koja je udružena s povećanim rizikom od kardiovaskularne bolesti i progresijom bubrežne bolesti (20,21). Stoga, razina serumskih lipida može ubrzati ili usporiti nastanak nefropatije a posljedično i kardiovaskularne bolesti u šećernoj bolesti tipa 1.

Cilj našeg istraživanja bio je ispitati odnos između serumskih lipida i razine albumina u urinu u bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1 i urednim vrijednostima serumskog kreatinina i klirensa kreatinina.

BOLESNICI I METODE

U istraživanje je uključeno 259 bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1 i urednim hormonskim statusom štitnjače (eutireozom) zbog mogućeg utjecaja poremećaja funkcije štitnjače na serumske lipide. Šećerna bolest tipa 1 dijagnosticirana je na temelju kriterija Svjetske zdravstvene organizacije: <40 godina prilikom otkrivanja bolesti, epizoda ketoacidoze ili dokazane ketonurije u anamnezi, nužnost inzulinske terapije, uvedene unutar godine dana nakon otkrivanja bolesti. Pod urednim hormonskim statusom štitnjače podrazumijevano je: vrijednosti slobodnih perifernih hormona štitnjače (fT3, fT4) i TSH unutar granica normale uz negativan nalaz antitijela štitnjače: anti-TPO (antitijela na peroksidazu) i anti-TG (antitijela na tireoglobulin). U istraživanje su uključeni bolesnici sljedećih karakteristika: životna dob od 18 do 65 godina, minimalno trajanje šećerne bolesti tipa 1 od 1 godine, bez anamnestičkih podataka o poremećaju funkcije

štitnjače i nadbubrežne žlijezde, bez anamnestičkih podataka o bubrežnim i kardiovaskularnim bolestima. Iz istraživanja su isključeni bolesnici koji su uzimali sljedeću terapiju: terapija hipolipemicima, terapija hormonima štitnjače i tireostaticima, terapija oralnim hipoglikemicima, terapija ostalim lijekovima koji mogu utjecati na lipidni status te bubrežnu funkciju.

U bolesnika su se ujutro natašte (natašte znači najmanje 8 sati bez jela) uzimali uzorci venske krvi na pretragu TSH (mIU/L, referentni interval 0,4-4,0), fT4 (pmol, referentni interval 8,4-22,0), fT3 (pmol/L, referentni interval 2,8-8,2), ukupni kolesterol (mmol/L), HDL kolesterol (mmol/L), HDL2 kolesterol (mmol/L), HDL3 kolesterol (mmol/L), LDL kolesterol (mmol/L), VLDL kolesterol (mmol/L), trigliceridi (mmol/L) i kreatinin (μ mol/L). Uzimalo se ukupno 2 uzorka 24-satnog urina na pretragu albuminurije (mg/24h) i zbog određivanja klirensa kreatinina (mL/s). Normoalbuminurija je definirana kao vrijednost albumina u urinu <30 mg/24h, mikroalbuminurija kao vrijednost albumina u urinu 30-300 mg/24h, a one bolesnike s makroalbuminurijom (>300 mg/24h) smo isključili iz studije. Klirens kreatinina izračunat je na temelju serumskog i urinarnog kreatinina te volumena 24-satnog urina.

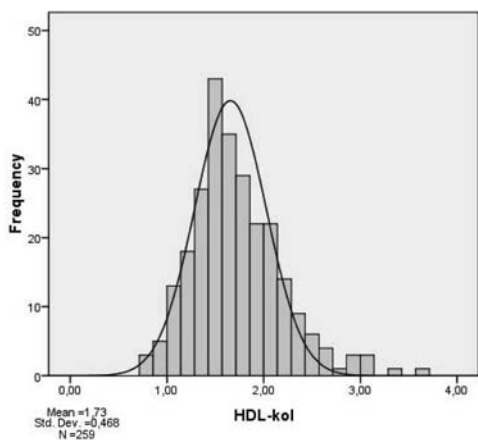
Mikroalbumin je izmjeren imunoturbidimetrijskim postupcima na automatskom spektrofotometru (Olympus AU600; Beckman-Coulter, SAD). Kolesterol i trigliceridi u serumu izmjereni su enzimskokolorimetrijski, HDL kolesterol direktno, a HDL2 i HDL3 indirektno, nakon precipitacije PEG-om na automatskom spektrofotometru (Olympus AU600; Beckman-Coulter, SAD). Kompletna krvna slika određena je na automatskom hematološkom brojaču (Advia120, Siemens Diagnostic Solutions, SAD). Vrijednosti TSH, fT3 i fT4 određivane su fluoroinmuno-loškom metodom (FIA) (Oy, Turku, Finland).

Ispitanici su na osnovi vrijednosti albumina u urinu iznad i ispod 30 mg/24h, kao granice između normo- i mikroalbuminurije, podijeljeni u dvije skupine. U svakoj se skupini uspoređivalo ovisnost albuminurije s ukupnim, LDL, HDL, HDL2, HDL3, VLDL kolesterolom i trigliceridima. Sve statističke analize provedene su korištenjem statističkog paketa SAS (verzija 9.1.3). Za sva obilježja provedena je deskriptivna analiza podataka. Distribucije kvantitativnih varijabli testirane su na normalnost raspodjele Kolmogorov-Smirnovljevim testom i Shapiro-Wilksovim testom, a homogenost varijance Lidmanovim testom. Razlike među skupinama istražile su se neparametrijskim testovima (Mann-Whitney). Statistički značajnom smatrala se vrijednost empirijske razine značajnosti p od 0,05

($p < 0,05$). Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Sveučilišne klinike Vuk Vrhovac.

REZULTATI

Kliničke i metaboličke karakteristike svih bolesnika navedene su u tablici 1. Od ukupnog broja bolesnika, 122 (47,1%) bile su žene, a 137 (52,9%) muškarci, prosječna dob bolesnika bila je $37,9 \pm 11,3$ godine, a trajanje šećerne bolesti $15,3 \pm 9,7$ godina. Prosječne vrijednosti opsega struka [81 cm (61-111)], omjera opsega struka i opsega bokova ($0,82 \pm 0,07$ cm), indeksa tjelesne težine [24 kg/m^2 (15-37)] bile su u granicama normale za bolesnike sa šećernom bolešću. Većina bolesnika imala je i vrijednosti lipidnih parametara u granicama normale za bolesnike sa šećernom bolešću tipa 1. To se posebno odnosi na vrijednost zaštitnog HDL kolesterola. Vrijednost HDL kolesterola iznad 1,0 mmol/L (referentna vrijednost za muškarce) imalo je 133 (97%) muških ispitanika, a vrijednost iznad 1,3 mmol/L (referentna vrijednost za žene) 114 (93,4%) ispitanica (sl. 1). Svi bolesnici imali su striktno normalne vrijednosti hormonskog statusa štitnjače (TSH $0,4-4,0$ mIU/L, fT3 $2,8-8,2$ pmol/L, fT4 $8,4-22,0$ pmol/L) zbog eventualnog utjecaja hipo i hipertireoze, odnosno supkliničke hipo i hipertireoze, na lipidni status. Prosječne vrijednosti sistoličkog i dijastoličkog krvnog tlaka također su bile u granicama normale za bolesnike sa šećernom bolešću tipa 1 ($< 130/80$ mm Hg). Prosječne vrijednosti parametara bubrežne funkcije, albumina u 24-satnom urinu [$14,8 \text{ mg/24h}$ (0,9-241,4)], serumskog kreatinina ($92,3 \pm 15,5$ $\mu\text{mol/L}$) te klirensa kreatinina ($1,87 \pm 0,48$ mL/s) također su bile u granicama

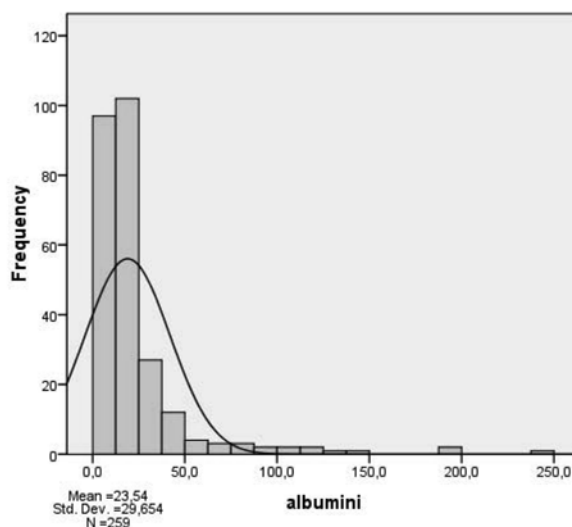


Sl. 1. Raspodjela podataka za vrijednost HDL kolesterola

Tablica 1

Kliničke i metaboličke karakteristike svih bolesnika

| Parametar | Vrijednost |
|---|------------------|
| Spol (m/ž) | 137/122 |
| Dob (godine) | $37,9 \pm 11,3$ |
| Trajanje šećerne bolesti (godine) | $15,3 \pm 9,7$ |
| Indeks tjelesne težine (kg/m ²) | 24 (15-37) |
| Opseg struka/opseg bokova | $0,82 \pm 0,07$ |
| Opseg struka (cm) | 81 (61-111) |
| HbA1c (%) | $7,2 \pm 1,6$ |
| Ukupni kolesterol (mmol/L) | $5,0 \pm 0,8$ |
| LDL kolesterol (mmol/L) | $2,8 \pm 0,7$ |
| HDL kolesterol (mmol/L) | 1,66 (0,7-3,6) |
| HDL2 kolesterol (mmol/L) | 0,52 (0,17-1,5) |
| HDL3 kolesterol (mmol/L) | $1,17 \pm 0,3$ |
| VLDL kolesterol (mmol/L) | 0,42 (0,16-1,9) |
| Trigliceridi (mmol/L) | 0,93 (0,35-5,0) |
| Kreatinin ($\mu\text{mol/L}$) | $92,3 \pm 15,5$ |
| Klirens kreatinina (ml/s) | $1,87 \pm 0,48$ |
| Albumini u urinu (mg/24h) | 14,8 (0,9-241,4) |
| TSH (mIU/L) | $1,9 \pm 0,9$ |
| fT3 (pmol/L) | $5,4 \pm 1,0$ |
| fT4 (pmol/L) | $13,5 \pm 2,4$ |
| Sistolički krvni tlak (mmHg) | 126 ± 15 |
| Dijastolički krvni tlak (mmHg) | 79 ± 8 |



Sl. 2. Raspodjela podataka za vrijednost albumina u urinu

normale za bolesnike sa šećernom bolešću. Od 259 ispitivanih bolesnika 215 (83%) imalo je normoalbuminuriju ($< 30 \text{ mg/24h}$), a samo 44 (17%) ispitanika mikroalbuminuriju ($30-300 \text{ mg/24h}$) (sl. 2).

Bolesnici s mikroalbuminurijom imali su višu vrijednost ukupnog kolesterola (Mann-Whitney=6874, $p=0,66$), LDL kolesterola (Mann-Whitney=6984, $p=0,77$), VLDL kolesterola (Mann-Whitney=6268, $p=0,15$), triglicerida (Mann-Whitney=6283, $p=0,15$) te niže vrijednosti HDL kolesterola (Mann-Whitney=6501, $p=0,29$) i HDL3 kolesterola (Mann-Whitney=6991, $p=0,81$) koje nisu bile statistički značajne. Razina HDL2 kolesterola bila je statistički značajno niža u bolesnika s mikroalbuminurijom u odnosu na bolesnike s normoalbuminurijom (Mann-Whitney=5600, $p=0,01$) (tablica 2).

kazalo da oni pojedinci bez nefropatije imaju više razine HDL kolesterola za razliku od onih s razvijenom nefropatijom (7,8,17,26-30). U studiji koja je obuhvatila 107 bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1 minimalnog trajanja 20 godina (do tada većina bolesnika koji imaju predispoziciju razviju nefropatiju), dokazano je da bolesnici s normoalbuminurijom imaju statistički značajno više vrijednosti HDL kolesterola u odnosu na one s vrijednošću albumina u urinu ≥ 30 mg/24h (31). Međutim, u studiji koja je obuhvatila 400 bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1 trajanja preko 50 godina i visokom srednjom vrijednošću HDL kolesterola od čak 1,84 mmol/L, nije

Tablica 2.

Razlike u vrijednostima serumskih lipida u ovisnosti o razini albuminurije

| | Normoalbuminurija (< 30 mg/24h) | Mikroalbuminurija (30-300 mg/24h) | P |
|----------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|------|
| Ukupni kolesterol (mmol/L) | 5,02±0,8 (2,5-8,0) | 5,07±0,9 (2,8-7,1) | 0,66 |
| LDL kolesterol (mmol/L) | 2,80±0,7 (0,6-5,8) | 2,81±0,7 (1,2-4,2) | 0,77 |
| HDL kolesterol (mmol/L) | 1,73±0,4 (0,7-3,6) | 1,68±0,5 (0,8-3,6) | 0,29 |
| HDL2 kolesterol (mmol/L) | 0,57±0,2 (0,2-1,5) | 0,50±0,2 (0,1-1,5) | 0,01 |
| HDL3 kolesterol (mmol/L) | 1,16±0,3 (0,4-2,1) | 1,15±0,3 (0,6-2,0) | 0,81 |
| VLDL kolesterol (mmol/L) | 0,48±0,2 (0,1-1,9) | 0,57±0,3 (0,1-1,4) | 0,15 |
| Trigliceridi (mmol/L) | 1,08±0,6 (0,3-5,0) | 1,27±0,7 (0,3-3,2) | 0,15 |

RASPRAVA

Mikroalbuminurija je najraniji klinički indikator razvoja dijabetičke nefropatije te 25-80% bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1 i mikroalbuminurijom tijekom vremena razviju makroalbuminuriju praćenu progresivnim pogoršanjem bubrežne funkcije (22). Mikroalbuminurija je i biljeg endotelne disfunkcije, a endotelna disfunkcija, koja nastaje 2-3 godine prije klinički manifestne mikroalbuminurije, poveznica je popratnog razvoja kardiovaskularnih i bubrežnih komplikacija u šećernoj bolesti tipa 1 (23,24). Iako je najvažniji rizični faktor nastanka dijabetičke nefropatije hiperglikemija (4), mnoge epidemiološke studije su pokazale da tek oko 30-40% bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1 i nezadovoljavajućom regulacijom glikemije razviju dijabetičku nefropatiju (25). Vjerojatno je da i neki drugi genetički ili ostali faktori utječu ili na razvoj dijabetičke nefropatije, ili djeluju protektivno na razvoj nefropatije.

Iako je većina studija koja je istraživala utjecaj serumskih lipida na razvoj nefropatije stavljala naglasak na razinu LDL kolesterola, nekoliko je do-

potvrđen zaštitni utjecaj HDL kolesterola na razvoj albuminurije (32). U prospektivnoj studiji koja je ispitivala incidenciju mikroalbuminurije u 1134 bolesnika u 31 centru Europe pokazano je da je najveći rizični faktor nastanka mikroalbuminurije regulacija glikemije mjerena HbA1c, a od serumskih lipida samo je razina triglicerida bila statistički značajno povezana s rizikom nastanka mikroalbuminurije (33). S druge strane, 10-godišnja prospektivna studija koja je uključila bolesnike s tipom 1 šećerne bolesti pokazala je da je niski HDL kolesterol rizični faktor za razvoj nefropatije (34).

U našem smo istraživanju pokazali da je niža razina HDL2 kolesterola povezana s mikroalbuminurijom u bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1. HDL kolesterol ima zaštitnu ulogu u razvoju kardiovaskularne bolesti potičući prijenos kolesterola od perifernih stanica u jetru. Međutim, HDL kolesterol se može podijeliti na najmanje 2 podskupine za koje je pokazano da imaju različiti utjecaj na razvoj ateroskleroze (17). Za HDL2 kolesterol (velike čestice) je dokazano da ima zaštitnu ulogu u razvoju kardiovaskularne bolesti (35,36), dok je HDL3 koleste-

rol (male čestice) povezan s povećanim rizikom od kardiovaskularne bolesti (37). U bolesnika s tipom 1 šećerne bolesti velike HDL kolesterol čestice povezane su s nižom incidencijom, a srednje i male HDL kolesterol čestice s većom incidencijom razvoja kardiovaskularne bolesti te mikro- i makroalbuminurije (38,39). Naši bolesnici s mikroalbuminurijom imali su više vrijednosti ukupnog, LDL, VLDL kolesterola i triglicerida, te niže vrijednosti HDL, HDL2 i HDL3 kolesterola. Međutim, samo za vrijednost HDL2 kolesterola smo dokazali statističku značajnost. Vrijednosti malih HDL kolesterol čestica (HDL3) u naših bolesnika bile su gotovo istovjetne u skupini bolesnika s normo- i mikroalbuminurijom što je u skladu s istraživanjima da razina HDL3 kolesterola nema zaštitnu ulogu u razvoju ateroskleroze i mikroalbuminurije. Izostanak statistički značajne povezanosti s ostalim lipidnim parametrima možda je posljedica malog broja bolesnika s mikroalbuminurijom, a izostanak značajne povezanosti s ukupnim HDL kolesterolom vjerojatno je posljedica suprotnog djelovanja njegovih podskupina, HDL2 i HDL3 kolesterola, na razvoj ateroskleroze i nefropatije. Iako je većina studija pokazala da viša vrijednost LDL kolesterola pogoduje razvoju mikroalbuminurije i nefropatije, u naših bolesnika s mikroalbuminurijom razina LDL kolesterola bila je tek neznatno povišena. U studiji na 2927 bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1, koja je istraživala odnos serumskih lipida i albuminurije, pokazano je da se razina ukupnog HDL, HDL2 i HDL3 kolesterola značajno razlikuje između bolesnika s mikro- i makroalbuminurijom, ali ne i između normo- i mikroalbuminuriničnih bolesnika (30). Također je u prospektivnoj studiji na 2304 bolesnika s tipom 1 šećerne bolesti pokazano da je niski ukupni HDL i HDL2 kolesterol rizični čimbenik progresije makroalbuminurije u završni stupanj kroničnog bubrežnog zatajenja, ali ne i rizični čimbenik razvoja mikroalbuminurije (29). Vrijednosti HDL2 kolesterola u navedenim studijama bile su gotovo istovjetne onima u naših ispitanika.

Dobro je poznata povezanost koronarne bolesti srca te nefropatije u bolesnika s tipom 1 i 2 šećerne bolesti (21,40,41). U bolesnika s albuminurijom pojačan je gubitak apolipoproteina kao i ostalih faktora koji moduliraju metabolizam lipoproteina, posebice HDL kolesterola urinom, što negativno utječe na metaboličke procese i na funkciju enzima uključenih u metabolizam lipida (20). Na antioksidativno djelovanje HDL kolesterola utječe nekoliko enzima uključujući lipoproteinsku lipazu, jetrenu lipazu, li-

solecitin kolesterol aciltransferazu, paraoksidazu te kolesterol esterski prijenosni protein koji posreduje prijenos estera kolesterola između HDL i VLDL kolesterola (8). Već je od prije poznata zaštitna uloga HDL kolesterola na razvoj koronarne bolesti srca (16), ali njegova uloga u zaštiti od drugih komplikacija nedovoljno je poznata i istraživana. Pretpostavlja se da HDL kolesterol, osim što je uključen u reverzni prijenos kolesterola, ima mnoge druge učinke sa zaštitnim djelovanjem na endotel krvnih žila (16). Vjerojatno je da ti zaštitni mehanizmi djeluju i na razini glomerula odgađajući ili sprječavajući nastanak mikro- odnosno makroalbuminurije. Povezanost između lipidnog statusa i mikroalbuminurije ima i kliničke implikacije, jer liječenje dislipidemije dijetom ili lijekovima usporava progresiju nefropatije u bolesnika sa šećernom bolešću, a dokazano je i da se povećava razina HDL2 kolesterola (42-44).

Iako bolesnici s tipom 1 šećerne bolesti imaju 10% veći rizik kardiovaskularne smrtnosti u odnosu na bolesnike bez šećerne bolesti, u bolesnika s dobro reguliranom šećernom bolešću tipa 1 razine ukupnog kolesterola, LDL kolesterola i triglicerida su slične, ili čak i niže nego u općoj populaciji, dok su razine HDL kolesterola normalne ili povišene (18,19). To je u skladu i s karakteristikama naših bolesnika jer su u većine srednje vrijednosti lipidnih parametara bile u granicama normale za bolesnike sa šećernom bolešću. To se posebno odnosi na vrijednosti HDL kolesterola koji je iznad 1,0 mmol/L (referentna vrijednost za muškarce) imalo 133 (97%) muških ispitanika, a vrijednost iznad 1,3 mmol/L (referentna vrijednost za žene) 114 (93,4%) ispitanica (sl. 1). Bolesnici s mikroalbuminurijom imali su više vrijednosti ukupnog, LDL, VLDL kolesterola i triglicerida, odnosno manju vrijednost zaštitnog HDL kolesterola. Stoga, povišenjem urinarne sekrecije albumina paralelno s pogoršanjem bubrežne funkcije prisutna je dislipidemija koja povećava incidenciju kardiovaskularne bolesti. S druge strane, i same patološke vrijednosti serumskih lipida mogu predvidjeti incidenciju mikroalbuminurije u bolesnika sa tipom 1 šećerne bolesti (15, 32, 45).

U ovom smo istraživanju pokazali da je niža razina HDL2 kolesterola povezana s mikroalbuminurijom u bolesnika s tipom 1 šećerne bolesti. Prospektivnim studijama će trebati istražiti odgađa li viša razina HDL2 kolesterola nastanak mikroalbuminurije ili razina HDL2 kolesterola služi samo kao biljeg nekih drugih zaštitnih mehanizama.

L I T E R A T U R A

1. Borch-Johnsen K, Kreiner S. Proteinuria: Value as a predictor of cardiovascular mortality in insulin dependent diabetes mellitus. *BMJ* 1987; 294: 1651-4.
2. Messent J, Elliott T, Hill R, Jarrett R, Keen, H, Viberti G. Prognostic significance of microalbuminuria in insulin-dependent diabetes mellitus: a twenty-three year study. *Kidney Int* 1992; 41: 836-9.
3. Rossing P, Hougaard P, Borch-Johnsen K, Hans-Henrik P. Predictors of mortality in insulin dependent diabetes: 10 year observational follow up study. *BMJ* 1996; 313: 779-84.
4. Gross JL, de Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care* 2005; 28: 164-76.
5. Breyer JA, Bain RP, Evans JK i sur. Predictors of the progression of renal insufficiency in patients with insulin-dependent diabetes and overt diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1996; 50: 1651-8.
6. Campos-Pastor MM, Escobar-Jimenez F, Mezquita P i sur. Factors associated with microalbuminuria in type 1 diabetes mellitus: a cross-sectional study. *Diab Res Clin Pract* 2000; 48: 43-9.
7. Chaturvedi N, Fuller JH, Taskinen MR, the EURODIAB PCS Group. Differing associations of lipid and lipoprotein disturbances with the macrovascular and microvascular complications of type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24: 2071-7.
8. Jenkins AJ, Lyons TJ, Zheng D i sur. Lipoproteins in the DCCT/EDIC cohort: associations with diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2003; 64: 817-28.
9. Attman PO, Samuelsson O, Alaupovic P. Progression of renal failure: Role of apolipoprotein B-containing lipoproteins. *Kidney Int* 1997; 63: 98-101.
10. Watts G, Naumova R, Slavin B i sur. Serum lipids and lipoproteins in insulin-dependent diabetic patients with persistent microalbuminuria. *Diabet Med* 1989; 6: 25-30.
11. Vannini P, Ciavarella A, Flammini M i sur. Lipid abnormalities in insulin-dependent diabetic patients with albuminuria. *Diabetes Care* 1984; 7: 151-4.
12. Lahdenpera S, Groop PH, Tilly-Kiesi M i sur. LDL subclasses in IDDM patients: Relation to diabetic nephropathy. *Diabetologia* 1994; 37: 681-8.
13. Sibley SD, Hokanson JE, Steffes MW i sur. Increased small dense LDL and intermediate-density lipoprotein with albuminuria in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22: 1165-70.
14. Samuelsson O, Attman PO, Knight-Gibson C i sur. Complex apolipoprotein B containing lipoprotein particles are associated with a higher rate of progression of human chronic renal insufficiency. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1482-8.
15. Coonrod BA, Ellis D, Becker DJ i sur. Predictors of microalbuminuria in individuals with IDDM. *Diabetes Care* 1993; 16: 1376-83.
16. Genest J Jr. Genetics and prevention: a new look at high-density lipoprotein cholesterol. *Cardiol Rev* 2002; 10: 61-71.
17. Fievet C, Fruchart JC. HDL heterogeneity and coronary heart disease. *Diabetes Metab Rev* 1991; 7: 155-62.
18. Winocour PH, Durrington PN, Ishola M, Anderson DC. Lipoprotein abnormalities in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1986; 1: 1176-8.
19. The DCCT Research Group. Lipid and lipoprotein levels in patients with IDDM diabetes control and complication. Trial experience. The DCCT Research Group. *Diabetes Care* 1992; 15: 886-94.
20. Haaber AB, Deckert M, Stender S, Jensen T. Increased urinary loss of high density lipoproteins in albuminuric insulin-dependent diabetic patients. *Scand J Clin Lab Invest* 1993; 53: 191-6.
21. Jensen T, Borch JK, Kofoed EA, Deckert T. Coronary heart disease in young type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with and without diabetic nephropathy: incidence and risk factors. *Diabetologia* 1987; 30: 144-8.
22. Caramori ML, Fioretto P, Mauer M. The need for early predictors of diabetic nephropathy risk. *Diabetes* 2000; 49: 1399-1408.
23. Stehouwer CDA, Fischer A, Van Kuijk AWR, Ploak BCP, Donker AJM. Endothelial dysfunction precedes development of microalbuminuria in IDDM. *Diabetes* 1995; 44: 561-4.
24. Shestakova MV, Jarek-Martynowa IR, Ivanishina NS i sur. Role of endothelial dysfunction in the development of cardiorenal syndrome in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diab Res Clin Pract* 2005; 68(Suppl 1): S65-S72.
25. Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC)/Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) Study Group: Sustained effects of intensive treatment of type 1 diabetes mellitus on the development and progression of diabetic nephropathy. *JAMA* 2003; 290: 2159-67.
26. Jensen T, Stender S, Deckert T. Abnormalities in plasma concentrations of lipoproteins and fibrinogen in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with increased urinary albumin excretion. *Diabetologia* 1988; 31: 142-5.
27. Lahdenperä S, Groop P-H, Tilly-Kisi M i sur. LDL subclasses in IDDM patients: relation to diabetic nephropathy. *Diabetologia* 1994; 37: 681-8.
28. Mogensen CE. Microalbuminuria and hypertension with focus on type 1 and type 2 diabetes. *J Intern Med* 2003; 254: 45-66.
29. Tolonen N, Forsblom C, Thorn L i sur. Lipid abnormalities predict progression of renal disease in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2009; 52: 2522-2530.

30. Tolonen N, Forsblom C, Thorn L i sur. Relationship between lipid profiles and kidney function in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2008; 51: 12-20.
31. Molitch ME, Rupp D, Carnethon M. Higher levels of HDL cholesterol are associated with a decreased likelihood of albuminuria in patients with long-standing type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 78-82.
32. Bain SC, Gill GV, Dyer PH i sur. Characteristics of type 1 diabetes of over 50 years duration (the Golden Years Cohort). *Diabet Med* 2003; 20: 808-11.
33. Chaturvedi N, Bandinelli S, Mangili R, Penno G, Rottiers RE, Fuller J. Microalbuminuria in type 1 diabetes: rates, risk factors and glycemic threshold. *Kidney Int* 2001; 60: 219-27.
34. Klein R, Klein BE, Moss SE i sur. The 10-year incidence of renal insufficiency in people with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22: 743-51.
35. Katzel LI, Coon PJ, Busby MJ i sur. Reduced HDL2 cholesterol subspecies and elevated postheparin hepatic lipase activity in older men with abdominal obesity and asymptomatic myocardial ischemia. *Arterioscler Thromb* 1992; 12: 814-23.
36. Decossin C, Castro G, Derudas B i sur. Subclasses of LpA-I in coronary artery disease: distribution and cholesterol efflux ability. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 299-307.
37. Cheung MC, Brown BG, Wolf AC, Albers JJ. Altered particle size distribution of apolipoprotein A-I-containing lipoproteins in subjects with coronary artery disease. *J Lipid Res* 1991; 32: 383-94.
38. Soedamah-Muthu SS, Chang YF, Otvos J, Evans RW, Orchard TJ. Lipoprotein subclass measurements by nuclear magnetic resonance spectroscopy improve the prediction of coronary artery disease in type 1 diabetes. A prospective report from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Diabetologia* 2003; 46: 674-82.
39. Jenkins AJ, Lyons TJ, Zheng D. Lipoproteins in the DCCT/EDIC cohort: Associations with diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2003; 64: 817-28.
40. Dinneen SF, Gerstein HC. The association of microalbuminuria and mortality in non-insulin-dependent diabetes mellitus: a systematic overview of the literature. *Arch Intern Med* 1997; 157: 1413-8.
41. Deckert T, Feldt-Rasmussen B, Borch-Johnsen K, Jensen T, Kofoed-Enevoldsen A. Albuminuria reflects widespread vascular damage: the Steno hypothesis. *Diabetologia* 1989; 32: 219-26.
42. Tonolo G, Ciccarese M, Brizzi P i sur. Reduction of albumin excretion rate in normotensive microalbuminuric type 2 diabetic patients during long-term simvastatin treatment. *Diabetes Care* 1997; 20: 1891-5.
43. Zhang A, Vertommen J, Van-Gaal L i sur. Effects of pravastatin on lipid levels, in vitro oxidizability of non-HDL lipoproteins and microalbuminuria in IDDM patients. *Diab Res Clin Prac* 1995; 29: 189-94.
44. Bonnet F, Cooper ME. Potential influence of lipids in diabetic nephropathy: Insights from experimental data and clinical studies. *Diabetes Metab* 2000; 26: 254-64.
45. Chaturvedi N, Sjoeli A-K, Porta M i sur. Markers of insulin resistance are strong risk factors for retinopathy incidence in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24: 285-9.

SUMMARY

LOWER LEVELS OF HDL2 CHOLESTEROL ARE ASSOCIATED WITH MICROALBUMINURIA IN PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES

T. BULUM, L. DUVNJAK and I. PRKAČIN¹

Vuk Vrhovac Department for Diabetes, Endocrinology and Metabolic Diseases, and ¹Department of Nephrology, Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

Objective: Lipoproteins may contribute to diabetic nephropathy. Although elevated total HDL cholesterol levels have been shown to protect from coronary artery disease and nephropathy in many studies, HDL can be subdivided into at least two major subclasses, which are thought to differ in the ability to protect against atherosclerosis. The objective of this study was to determine the relationship between serum lipids and HDL subclasses with albuminuria in patients with type 1 diabetes.

Methods: We analyzed lipid profiles of 259 patients with type 1 diabetes and normal thyroid function. Patients were classified as normoalbuminuric (albumin excretion rate <30 mg/24 h, n=215) and microalbuminuric (albumin excretion rate 30-300 mg/24 h, n=44) in at least two urine collections. None showed signs of adrenal, thyroid, renal or cardiovascular disease, or received drugs, apart from insulin, that could attenuate glucose metabolism, serum lipids or renal function. Total, LDL, HDL, HDL2, HDL3, VLDL cholesterol and triglycerides were measured by an enzymatic colorimetric method and urinary albumin concentration was determined by an immunoturbidimetric assay.

Results: Patients with microalbuminuria had higher levels of total cholesterol (5.07 vs. 5.02 mmol/L, Mann Whitney=6874, $P=0.666$), LDL cholesterol (2.81 vs. 2.80 mmol/L, Mann Whitney=6964, $P=0.778$), VLDL cholesterol (0.57 vs. 0.48 mmol/L, Mann Whitney=6268, $P=0.151$) and triglycerides (1.27 vs. 1.08 mmol/L, Mann Whitney=6283, $P=0.158$), and lower levels of HDL cholesterol (1.68 vs. 1.73 mmol/L, Mann Whitney=6501, $P=0.293$) and HDL3 cholesterol (1.15 vs. 1.16 mmol/L, Mann Whitney=6991, $P=0.812$); however, these differences were not statistically significant. In contrast, HDL2 cholesterol levels were significantly lower in those who had microalbuminuria compared with those who had normoalbuminuria (0.50 vs. 0.57 mmol/L, Mann Whitney=5600, $P=0.01$).

Conclusions: Microalbuminuria is the earliest clinical indicator of diabetic nephropathy. Clustering of coronary artery disease with nephropathy has been shown previously in patients with type 1 diabetes. Specific effects of HDL subclasses on cardiovascular disease have also been observed, i.e. a protective effect of large HDL subfractions (HDL2) and an increased risk for small HDL particles (HDL3). Results of the present study showed that lower levels of HDL2 cholesterol were associated with microalbuminuria in patients with type 1 diabetes. Whether higher HDL2 cholesterol levels may be protective against the development of microalbuminuria in patients with type 1 diabetes can only be determined in long-term studies.

Key words: type 1 diabetes, microalbuminuria, HDL cholesterol

LEPRA – DANAS ZABORAVLJENA U HRVATSKOJ?

ANA BAKIJA-KONSUO i ROSANDA MULIĆ¹

Poliklinika za kožne i spolne bolesti „Cutis“, Dubrovnik i ¹Katedra za javno zdravstvo,
Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, Split, Hrvatska

Lepra je zarazna kožna bolest uzrokovana bakterijom *Mycobacterium leprae*, koja najviše zahvaća kožu, periferne živce te sluznicu gornjeg dijela respiratornog trakta i usne šupljine, a koja je uprkos današnjoj učinkovitoj terapiji u nekim zemljama svijeta javnozdravstveni problem. Procjenjuje se da danas u svijetu od lepre boluje 12 do 15 milijuna ljudi. Stoljećima je harala Europom pa i Hrvatskom, o čemu se u radu navodi nekoliko povijesnih činjenica. Godine 1956. zabilježen je posljednji slučaj lepre u Blizni, malom mjestu pokraj Trogira, koje se smatralo endemskim područjem lepre u Hrvatskoj. Iako danas u Hrvatskoj nema autohtone lepre, postoji mogućnost ponovnog susreta s oboljelima od lepre, tako da oboli osoba zaražena u inozemstvu, da je donesu strani turisti ili članovi posada velikih brodova. Stoga hrvatski liječnici, posebice dermatovenerolozi, moraju biti upoznati s osnovama ove bolesti, pa u radu navodimo osnove kliničke slike, klasifikacije i patogeneze te osnovne principe terapije.

Ključne riječi: lepra, Hrvatska, ne-endemska područja, MDT - „multi-drug therapy“

Adresa za dopisivanje: A. Bakija-Konsuo, dr. med.
Poliklinika za kožne i spolne bolesti „Cutis“
Vukovarska 22
20000 Dubrovnik, Croatia
Tel: +385 20 312 333 ; faks: +385 312 332
E-pošta: ana.bakija-konsuo@du.t-com.hr

UVOD

Lepra je zarazna kožna bolest uzrokovana bakterijom *Mycobacterium leprae*, koja najviše zahvaća kožu, periferne živce, te sluznicu gornjeg dijela respiratornog trakta i usne šupljine, a koja je uprkos današnjoj učinkovitoj terapiji u nekim zemljama svijeta javnozdravstveni problem. Bolest je bila poznata već u antičko doba, odatle i njezin grčki naziv lepra. Zovu je i Hansenova bolest, prema norveškom liječniku Gerhardu Armaueru Hansenu (1841.-1912.) koji je 1871. u Bergenu pronašao uzročnika te bolesti. Za razliku od tuberkuloze lepra nije direktni ubojica, a ipak uzrokuje deformitete i smanjenu radnu sposobnost što ima značajni socijalni i ekonomski utjecaj i na oboljelog i na njegovu zajednicu (1-3).

Izvor bolesti je samo bolestan čovjek u aktivnoj fazi bolesti. Čini se da se tek nakon dugotrajnog i bliskog kontakta s bolesnikom razvija klinička slika bolesti. Uzročnik najčešće ulazi kroz sluznicu nosa,

iako može prodrijeti kroz kožu, kao i spolnim putem. Inkubacija je izrazito duga, a kontagioznost vrlo niska (1,2,4). Smatra se da je inkubacija u rasponu od 6 mjeseci do 40 godina, čak i duže. Prosječno inkubacijsko razdoblje je 4 godine za tuberkuloidnu lepru, odnosno 10 godina za lepromatoznu lepru. Do danas nema kožnog ili serološkog testa koji bi otkrio nositelja *Mycobacterium leprae* (5). Uzročnik *Mycobacterium leprae* se i dalje ne može kultivirati, pa je stoljećima lepra bila veliki izazov na području mikrobiologije, patologije, imunologije i genetike, a tako se nastavlja i danas. Lepra, naime, ostaje najslabije istražena i shvaćena u usporedbi s drugim bakterijskim bolestima (6). Posljednjih nekoliko desetljeća istražuje se važnost genetske uloge domaćina na osjetljivost infekcije *Mycobacterium leprae*. Studije koje su u tijeku pomoći će nam u daljnjem rasvjetljavanju molekularne osnove osjetljivosti domaćina na bolest, što nas može dovesti do novih strategija u dijagnostici, liječenju i prevenciji lepre, ali i drugih infektivnih bolesti (7,8).

LEPRA U HRVATSKOJ – NEKAD I DANAS

Lepra ili guba stoljećima je harala Europom, pa i Hrvatskom. U Hrvatskoj se prvi put spominje 804. godine kada je zadarski biskup Donat prenosio tijelo sv. Stošije iz Carigrada u Zadar. Priča se da su tada brojni gubavci u Zadru i okolici ozdravili moćima svete (9). U 13. stoljeću lepra se najjače širi Hrvatskom, i tada se otvaraju brojni leprozoriji, osobito u dalmatinskim gradovima. U 14. stoljeću lepra počinje jenjavati, upravo u vrijeme najstrašnije pandemije kuge (crna smrt), što je i razumljivo, jer su bolesnici od lepre upravo prvi podlegli kugi. Od tada nema više velikih epidemija lepre u Hrvatskoj ni u Europi, ostala su samo ograničena područja u endemskim žarištima (9-11).

Godine 1905. u Metkoviću, odnosno 2 km od grada, u predjelu Pavlovača podignut je posljednji leprozorij. Uz bolesničke sobe tu je bila ambulanta i kapelica. Nakon smrti većine bolesnika 1925. godine leprozorij je ukinut. Kao kuriozitet navodimo da se u župnom uredu u Metkoviću čuva pinceta kojom je svećenik davao Sv. pričest bolesnicima (12).

U Hrvatskoj, posljednji sporadični slučajevi iz Hrvatskog primorja i Dalmacije zabilježeni su sredinom 20. stoljeća. Tako je 1956. godine zabilježen posljednji slučaj lepre u Blizni, malom mjestu pokraj Trogira, za koje su Stanimirović i sur. 1995. zaključili da ga možemo smatrati endemskim područjem u RH (13).

Iako se misli da je lepra bolest prošlosti i da njena prevalencija u svijetu dramatično pada, ipak svake godine imamo 250 000 novooboljelih, uglavnom u Africi, Aziji i Južnoj Americi. Stoga je lepra i dalje javnozdravstveni problem prvenstveno u Indiji i nekoliko drugih zemalja uključujući Brazil, Madagaskar, Myanmar, Nepal i Mozambik (3,14,15). Procjenjuje se da danas u svijetu od lepre boluje 12 do 15 milijuna ljudi. Danas autohtone lepre nema u SAD-u, Europi i Australiji, bilježe se samo importirani slučajevi (14,16,17).

Kako je Hrvatska danas razvijena turistička destinacija, posebice naša obala gdje je zadnjih godina razvijen tzv. *cruising* turizam sa čestim uplovljavanjem velikih brodova na kojima su ne samo turisti nego i brojna posada iz tzv. zemalja trećeg svijeta, postoji mogućnost ponovnog susreta s oboljelima od lepre. U prilog tome govori i osobno iskustvo kada je na pregled upućen član posade *cruisera* sa sumnjom na lepru. Osim toga, postoji mogućnost

da se lepra unese preko naših radnika na dugotrajnom radu u inozemstvu, u zemljama u kojima je lepra endemična, a iako mala, postoji mogućnost inficiranja i unosa lepre i kod pomoraca. Stoga naši liječnici, posebice dermatolozi, moraju biti upoznati kako s kliničkom slikom i načinima prijenosa, tako i s osnovnim principima terapije te bolesti.

KLINIČKA SLIKA I KLASIFIKACIJA BOLESTI

Lepra se manifestira različitim kliničkim promjenama koje mogu varirati od neznatnog oštećenja senzibiliteta do opsežnih mutilacija. Na početku se često vide anestetične hipopigmentirane makule na licu, trupu ili glutealnoj regiji (18). Osjet je i dalje uglavnom sačuvan, a u otprilike 75% oboljelih lezije cijele spontano. Sve su te promjene su nespecifične i na temelju njihovog izgleda ne može se postaviti dijagnoza sa sigurnošću. Ponekad, taj indeterminirani oblik može trajati godinama, dok u onih sa slabijim imunitetom bolest može progredirati u druge oblike, koji se klasificiraju u preostala četiri tipa lepre relativno karakterističnog kliničkog, imunološkog, bakteriološkog i histološkog profila. Prema shemi Ridley-Jopling u 1966. g. (19) lepru se klasificira u ove oblike:

- tuberkuloidna lepra (TT)
- granična (*borderline*) tuberkuloidna lepra (BT)
- indeterminirana granična (*borderline*) lepra (BB)
- granična (*borderline*) lepromatozna lepra (BL)
- lepromatozna lepra (LL)

Kod tuberkuloidne lepre vidi se mali broj asimetrično raspoređenih žarišta na koži, s laganom infiltracijom, hipopigmentacijom, poremećajem senzibiliteta, gubitkom kose i hipohidrozom. Kod lepromatoidne lepre vide se brojna, često simetrična makulozna, papulozna ili pak čvorasta infiltrirana žarišta, a karakteristično je ispadanje obrva, zahvaćenost uški, očiju i perifernih živaca. Infiltracija kože lica dovodi do tipičnog izgleda poznatog kao „*facies leonina*“.

Jednostavnija klasifikacija Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) temeljena je na broju kožnih lezija, pa tako imamo paucibacilarnu lepru sa samo jednom kožnom promjenom (tvz. *single skin lesion*), paucibacilarnu s manje od pet i multibacilarnu s više od šest kožnih promjena (8,14,18).

PATOGENEZA LEPRE

Patogeneza lepre nije još posve razjašnjena. *Mycobacterium leprae* je obligatno intracelularni patogen, gram pozitivan, koji uglavnom napada makrofage i Schwanove stanice, mada se može umnožavati u mišićima i vaskularnom endotelu (3). Kod lepre, kao i kod tuberkuloze, u većini slučajeva oštećenja nisu uzrokovana mikroorganizmom nego odgovorom domaćina, pa je ta kompleksna interakcija između patogene bakterije i stanica domaćina centralni događaj u uspostavi uspješne infekcije. Značenje odgovora domaćina na infekciju može se ilustrirati širokom kliničkom slikom u onih u kojih se bolest razvija. Na jednom su kraju oboljeli s tuberkuloidnom leprom, koji su karakterizirani jakim staničnim odgovorom, Th1 CD4+ citokinskim profilom (IL2, IFN γ), malim brojem mikroorganizama te lokaliziranim lezijama (mali broj hipopigmentiranih i anestetičkih žarišta). Th1 stanični odgovor omogućuje formiranje ograničenih granuloma koji uspješno ograničavaju bakterijsku replikaciju. Na drugom je kraju lepromatozna lepra s brojnim neosjetljivim ili anestetičkim kožnim lezijama, diseminiranom progresivnom kliničkom slikom bolesti te velikim brojem uzročnika, karakterizirana odsutnošću staničnog odgovora, ali Th2 CD4+ (IL4, IL5), jakim humoralnim odgovorom, koji blokira stvaranje granuloma dopuštajući nekontroliranu replikaciju uzročnika i daljnju infiltraciju kože i živaca (3,18,20).

Danas otprilike oko 60% novooboljelih ima sliku paucibacilarne lepre koja je karakterizirana malim brojem kožnih lezija i histološkom odsutnošću *Mycobacterium leprae* u tim lezijama. Preostalih 40% novooboljelih ima kliničku sliku multibacilarne lepre, koja je pak karakterizirana velikim brojem kožnih lezija koje često sadrže lako prepoznatljive bacile lepre (8).

DIJAGNOZA

Dijagnoza lepre je primarno klinička (oboljeli iz endemskih krajeva i klinička slika). Može se dokazati kožnim bioptatom, ali kod indeterminantne lepre histološki nalaz je nekarakterističan, dok se kod ostalih oblika može vidjeti dobro razvijeni epitelioidni granulom. Prisutnost inflamiranog živca je standardni kriterij za postavljanje dijagnoze, a u bioptatu se moraju tražiti i acidorezistentni bacili. Leprominski test također može pomoći u dijagnostici

lepre, a ukazuje na odgovor domaćina na ubrizganu suspenziju uzročnika. Pozitivan rezultat znači dobru staničnu imunost i ukazuje na TT, dok negativni rezultat znači lošiju prognozu i nedostatak otpornosti domaćina, a vidi se kod LL (21).

Diferencijalno dijagnostički u leproznih bolesnika moramo uzeti u obzir brojne kožne bolesti koje mogu nalikovati lepri kao što su granuloma anulare, sarkoidoza, leišmanijaza, neki oblici psorijaze ili pak sifilisa, vitiligo, pitiriazis alba i dr. (4).

Lepu nije lako dijagnosticirati u ne-endemskim područjima odnosno u područjima gdje je prevalencija bolesti niska, pa se stoga bolest često kasno dijagnosticira. Za liječnike u tim područjima važno je razmišljati o lepri kod osoba koje su boravile u endemskim zemljama (22). Schmiedel i sur. 2006. opisuju slučaj tajlandskog bolesnika s generaliziranom kliničkom slikom 18 godina nakon migracije u Europu (23). Zaražena osoba može zatražiti pomoć ne samo od dermatovenerologa, nego i od neurologa, specijalista interne medicine, ortopeda, reumatologa, oftalmologa ili pak urologa, koji moraju biti upoznati s osnovnim karakteristikama same bolesti, jer odgađanje postavljanja ispravne dijagnoze može dovesti do ozbiljnih neuroloških posljedica za oboljelog (24).

Rana dijagnoza kao i pravilna antimikrobna terapija mogu zaustaviti i izliječiti bolest. Kod teških slučajeva lepra može dovesti do klinički značajnih deformiteta šaka i stopala. Smrt uzrokovana leprom je rijetka, ali kada se dogodi obično je rezultat komplikacije kao što je laringealna opstrukcija (8).

TERAPIJA

Liječenje lepromatoznih bolesnika uključuje medikamentnu terapiju ali i fizičku, psihičku i socijalnu rehabilitaciju oboljelog. Godine 1943. uveden je sulfon (dapson) u terapiju lepre kao prvo učinkovito terapijsko sredstvo, a od 1981. godine, WHO savjetuje tzv. „multi-drug therapy“ – MDT, koja je dostupna i besplatna svim oboljelima (8). Sastoji se od diaminodifenilsulfona - Dapson, rimfampicina - Rimactan i klofazimina - Lampren, traje šest ili 12 mjeseci, s minimalnim stvaranjem rezistentnih sojeva (18). Drži se da pacijenti nisu više zarazni nakon jedan do dva tjedna liječenja (obično nakon prve doze). Lijekovi se praktično pakiraju u mjesečne blistere radi lakše primjene. Paucibacilarna lepra

može se liječiti kombinacijom dvaju lijekova, dok multibacilarna lepra zahtijeva primjenu tri lijeka. U osoba s jednom kožnom lezijom, u otprilike 80% oboljelih bolest spontano regredira, pa WHO savjetuje primjenu tri lijeka jednokratno, a smjernice se mogu naći na <http://www.who.int/lep/mdt/regimens/en/> (25).

S obzirom na učinkovitost pravodobno započete terapije, izolacija leproznih bolesnika danas se više ne smatra opravdanom. Potrebno je uložiti dodatne znanstveno-istraživačke napore da bi se razvilo cjepivo protiv lepre koje bi bilo ne samo imunoprofilaktičko nego i terapijsko.

L I T E R A T U R A

1. Skerlev M, Dobrić I. Infektivne granulomatozne bolesti kože. U: Dobrić I. Dermatovenerologija. Zagreb: Grafoplast, 1994, 98-100.
2. Skerlev M. Infektivne granulomatozne bolesti kože. U: Lipozenčić J. Dermatovenerologija. Zagreb: Naklada Zadro, 1999, 78-84.
3. Fitness J, Tosh K, Hill AVS. Genetics of susceptibility to leprosy. *Genes and Immunity* 2002; 3: 441-453.
4. Braun Falco O, Plewing G, Wolff HH, Winkelmann RK. Leprosy. U: Braun Falco O, Wolff HH, Winkelmann RK. *Dermatology*. 4th Edition. Berlin: Springer-Verlag, 1991, 146-54.
5. Moraes MO, Cardoso CC, Vanderborght PR, Pacheco AG. Genetics of host response in leprosy. *Lepr Rev* 2006; 77: 189-202.
6. Scollard DM, Adams LB, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Truman RW, Williams DL. The continuing challenges of leprosy. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 338-81.
7. Prevedello FC, Mira MT. Hanseniasis: una doença genética? Leprosy: a genetic disease? *An Bras Dermatol* 2007; 82: 451-9.
8. Mira MT. Genetic host resistance and susceptibility to leprosy. *Microbes Infect* 2006; 8: 1124-31.
9. Jeren T. Povijest razvoja infektološke službe na tlu Hrvatske. *Croat J Infect* 2005; 25: 125-30.
10. Bazala V. Pregled povijesti zdravstvene kulture Dubrovačke Republike. *Dubrovački horizonti* 1972; 4: 27-41.
11. Bakija-Konsuo A, Mulić R. Lepra u prošlosti Grada i njegovih otoka. *Dubrovački horizonti* 2009; 41: 156-64.
12. Wokaunn M, Jurić I, Vrbica Ž. Between stigma and dawn medicine: the last leprosarium in Croatia. *Croat Med J* 2006; 47: 759-66.
13. Stanimirović A, Skerlev M, Gaćina P, Beck T, Stipić T, Basta-Juzbašić A. Leprosy in Croatia in the twentieth century. *Lepr Rev* 1995; 66: 318-23.
14. WHO. Global leprosy situation, 2010. *Weekly Epidemiological Record* 2010; 85: 337-48.
15. da Silva SA, Mazini PS, Reis PG i sur. HLA-DR and HLA-DQ alleles in patients from the south of Brazil: markers for leprosy susceptibility and resistance. *BMC Infect Dis* 2009; 9: 134. Dostupno na <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/9/134>. Datum pristupa informaciji, June 15, 2010.
16. Gill AL, Bell DR, Gill GV, Wyatt GB, Beeching NJ. Leprosy in Britain: 50 years experience in Liverpool. *QJM* 2005; 98: 505-11.
17. Meima A, Irgens LM, van Oortmarsen GJ, Richardus JH, Habbema JD. Disappearance of leprosy from Norway: an exploration of critical factors using an epidemiological modeling approach. *Int J Epidemiol* 2002; 31: 991-1000.
18. Alter A, Alcais A, Abel L. Leprosy as a genetic model for susceptibility to common infectious diseases. *Hum Genet* 2008; 123: 227-35.
19. Ridley D, Jopling W. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *Int J Lepr* 1966; 34: 255-73.
20. Bleharski JR, Li H, Meinken C i sur. Use of genetic profiling in leprosy to discriminate clinical forms of the disease. *Science* 2003; 301: 1527-30.
21. Britton WJ, Lockwood DNJ. Leprosy. *Lancet* 2004; 363: 1209-19.
22. Lockwood NJ, Reid AJC. The diagnosis of leprosy is delayed in the United Kingdom. *Q J Med* 2001; 94: 207-12.
23. Schmiedel S, Ehrhardt S, Moll I, Burchard GD. A Thai patient with generalised inflammatory skin disease 18 years after migration to Europe. *Lancet* 2006; 367: 1458.
24. Walker SL, Lockwood NJ. The clinical and immunological features of leprosy. *Br Med Bull* 2006; 1-19. Dostupno na <http://bmb.oxfordjournals.org/>. Datum pristupa informaciji, June 23, 2010.
25. World Health Organization. WHO-recommended MDT regimens. Dostupno na <http://www.who.int/lep/mdt/regimens/en/>. Datum pristupa informaciji, June 15, 2010.

S U M M A R Y

LEPROSY – TODAY FORGOTTEN IN CROATIA?

A. BAKIJA-KONSUO and R. MULIĆ¹

*Cutis Polyclinic for Dermatology and Venereology, Dubrovnik and ¹Department of Public Health,
School of Medicine, University of Split, Split, Croatia*

Leprosy is an infectious skin disease caused by *Mycobacterium leprae*, which predominantly affects the skin, peripheral nerves and mucous membrane of the upper respiratory tract and oral cavity. In spite of today's efficient treatment, leprosy represents a public health problem in some countries of the world. It is estimated that 12 to 15 million patients are currently affected in the world. Leprosy ravaged across Europe, including Croatia, for centuries, so this paper provides a few historical facts on leprosy in Croatia. In 1956, the last case of leprosy was recorded in Blizna, a small village near Trogir, which was considered an endemic region in the Republic of Croatia. Although there is no indigenous leprosy nowadays in Croatia, there is a possibility of the disease re-emergence from tourists or crew members from large vessels, or from the infected persons returning to Croatia from abroad. Therefore, Croatian physicians, especially dermatovenereologists, must be familiar with the basics of the disease; therefore, this article points out the clinical picture, classification and basic principles of pathogenesis and treatment of the disease.

Key words: leprosy, Croatia, non-endemic regions, multi-drug therapy

KLINIČKO-EPIDEMIOLOŠKA ANALIZA MELANOMA ŽILNICE U SPLITSKOM PODRUČJU U HRVATSKOJ

PETAR IVANIŠEVIĆ, LOVRO BOJIĆ¹, SNJEŽANA TOMIĆ², KAJO BUĆAN¹, MILAN IVANIŠEVIĆ¹,
MLADEN LEŠIN¹, IVNA PLEŠTINA-BORJAN¹ i ROBERT STANIĆ¹

*Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, ¹Klinika za očne bolesti i ²Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i
citologiju, Klinički bolnički centar Split, Split, Hrvatska*

Melanom žilnice je najčešći primarni maligni tumor oka u odraslih. Cilj rada je ispitivanje epidemioloških značajki melanoma žilnice u Splitsko-dalmatinskoj županiji od 1990. do 2009. godine. U ovoj su retrospektivnoj studiji uporabljeni podaci 46 bolesnika iz medicinske dokumentacije Klinike za očne bolesti KBC-a Split. Broj stanovnika županije iz popisa stanovništva 2001. godine bio je 463.676. Incidencija melanoma žilnice iznosila je 0,49 na 100 tisuća stanovnika što je između vrijednosti incidencije sjeverne i južne Europe. Melanom žilnice najčešće se javlja u 7. desetljeću života. Prosječne dimenzije melanoma žilnice (baza x visina) bile su 13,4 x 8,0 mm. Patohistološki nalaz po Callenderovoj klasifikaciji pokazao je sljedeće vrste melanoma: vretenasti 40%, epiteloidni 8% i miješani 52%. Najčešća provedena terapija bila je enukleacija (47,8%), zatim brahiterapija (28,3%) što znači da bolesnici relativno kasno dolaze na pregled, tj. kada melanom žilnice uznapreduje svojom veličinom. Splitsko-dalmatinska županija ima stanovnika gotovo 1/10 Hrvatske; može se pretpostaviti da se godišnje otkrije oko 25 novih slučajeva malignog melanoma žilnice u Hrvatskoj. Za rano otkrivanje bolesti potrebni su redoviti i kompletni oftalmološki pregledi posebno presbiopne populacije. Ovo je istraživanje važno zbog bolje evaluacije bolesti i boljeg planiranja oftalmološke službe u rješavanju te teške očne bolesti.

Ključne riječi: melanom žilnice, epidemiologija, splitsko područje, Hrvatska

Adresa za dopisivanje: Petar Ivanišević, dr. med.
Stonska 10
21 000 Split, Hrvatska
E-pošta: mcpero@xnet.hr

UVOD

Melanom žilnice je najčešći primarni maligni tumor oka u odraslih. Od melanoma srednje očne ovojnice više od 85% slučajeva otpada na melanom žilnice, a ostatak na melanom zrakastog tijela i šarenice (1,2). Vrlo često izaziva pad vida i gubitak oka s relativno visokim mortalitetom. Melanom žilnice je najučestaliji nekutani melanom i čini gotovo 1/5 svih dijagnosticiranih melanoma. Incidencija melanoma žilnice kreće se od 1 do 11 na 1 milijun stanovnika i ovisi o nizu čimbenika kao što su rasa, pigmentacija, insolacija, genetika (3,4). Cilj ovog rada je ispitati epidemiološke značajke malignog melanoma žilnice splitske regije i usporediti ih s drugim studijama. Posebno će se ispitati incidencija melanoma žilnice splitske regije u Hrvatskoj u odnosu na na geografsku širinu drugih europskih zemalja.

ISPITANICI I METODE

Tijekom 20 godina, tj. od 1990. do 2009. godine na Klinici za očne bolesti KBC-a Split hospitalizirano je 53 bolesnika s malignim melanomom srednje očne ovojnice od kojih su 46 imali melanom žilnice.

U ovoj su retrospektivnoj studiji uporabljeni podaci iz medicinske dokumentacije Očne klinike isključivo bolesnika s područja Splitsko-dalmatinske županije.

Ispitala se incidencija, dob, spol, vidna oština, komplikacije, dimenzije, metastaze, patohistološki nalaz, primijenjena terapija bolesnika s melanomom žilnice.

Prilikom dijagnostike melanoma žilnice rabljene su

sljedeće pretrage: oftalmoskopija, ispitivanje vidne oštine, mjerenje očnog tlaka, iv. fluoresceinska angiografija, ultrazvuk oka i orbite, CT i MR orbite.

Za dijagnostiku eventualnih udaljenih metastaza svi su bolesnici podvrgnuti dodatnim pretragama: ultrazvuk abdomena, jetreni funkcionalni testovi, rtg pluća i scintigrafija kostiju.

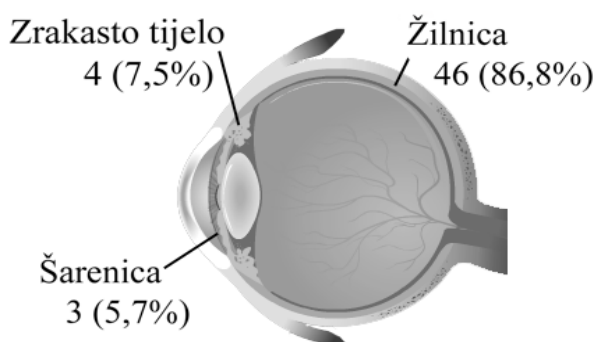
Podaci o stanovništvu Splitsko-dalmatinske županije uzeti su iz popisa stanovništva iz 2001. godine, kada je bilo 463.676 stanovnika (226.131 muškaraca i 237.545 žena)(5).

Za statističku obradu podataka korištena je deskriptivna statistika i χ^2 -test. Vrijednost $p < 0,05$ smatrana je statistički značajnom. Confidence interval (CI) koristio se za incidenciju, a relativni rizik se izračunavao na razini 95%. Rezultati su izražavani kao aritmetička sredina \pm standardna devijacija.

REZULTATI

Melanom srednje očne ovojnice bio je lokaliziran na žilnici u 46 (86,8%) bolesnika, na zrakastom tijelu u 4 (7,5%) bolesnika, a na šarenici u 3 (5,7%) bolesnika (sl. 1).

Ni u jednog bolesnika nije bila pozitivna obiteljska anamneza na maligni melanom srednje očne ovojnice.

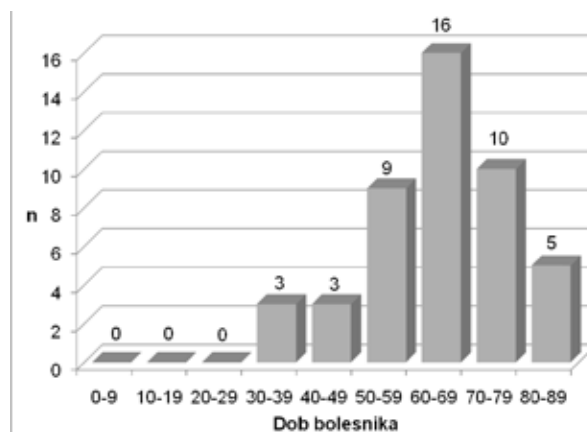


Sl. 1. Učestalost melanoma prema lokalizaciji na srednjoj očnoj ovojnici

Prosječna godišnja incidencija malignog melanoma srednje očne ovojnice u Splitsko-dalmatinskoj županiji u razdoblju od 1990. do 2009. godine iznosila je 0,57 na 100 tisuća stanovnika, a incidencija melanoma žilnice 0,49 na 100 tisuća stanovnika (muškarci 0,53, žene 0,46). Nema statistički značajne razlike

u incidenciji melanoma žilnice između muškaraca i žena ($\chi^2=0,1$, $p=0,753$).

Najčešća pojava malignog melanoma žilnice bila je u 7. desetljeću života. Prosječna dob bolesnika s melanomom žilnice bila je $63,4 \pm 13,1$ (CI 95% 59,5-67,3). Najmlađi bolesnik imao je 32, a najstariji 84 godine (sl. 2).



Sl. 2. Raspodjela melanoma žilnice prema dobi

Maligni melanom žilnice podjednako se javio u oba spola s nešto većom učestalošću u muškog spola u odnosu na ženski spol 52,2% : 47,8% odnosno u omjeru 1,1 : 1.

Pri postavljanju dijagnoze malignog melanoma žilnice vidna oština u 46 bolesnika bila je sljedeća: 5 bolesnika bilo je slijepo, 4 su imala osjet svjetla, 4 su vidjeli mahanje ruke pred okom, 9 ih je imalo vidnu oštrinu od 1/60 do 5/60, 11 je imalo vidnu oštrinu 6/60-6/18, a 13-orici je vidna oština bila 6/12-6/6 (28,3%). 4 (8,7%) bolesnika su imali vidnu oštrinu 6/6 (tablica 1).

Tablica 1.

Vidna oština u trenutku postavljanja dijagnoze

| Vidna oština | n | % |
|---------------|----|-------|
| Amauroza | 5 | 10,8 |
| Osjet svjetla | 4 | 8,7 |
| MRPO | 4 | 8,7 |
| 1/60-5/60 | 9 | 19,6 |
| 6/60-6/18 | 11 | 23,9 |
| 6/12-6/6 | 13 | 28,3 |
| Ukupno | 46 | 100,0 |

Glavni očni simptom bio je pad vida u 29 bolesnika (63,1%); 4 (8,7%) bolesnika je imalo ispad vidnog polja odnosno zavjesu pred okom; 3 (6,5%) bolesnika su imala bolove oka, a bljeskove i mutnine ispred oka 6 (13,0%); 4 (8,7%) bolesnika su bila asimptomatska (tablica 2).

Tablica 2.

Prikaz najčešćih očnih simptoma pri postavljanju dijagnoze melanoma žilnice

| Simptomi | n | % |
|----------------------------------|----|-------|
| Pad vida | 29 | 63,1 |
| Oštećenje vidnog polja (zavjesa) | 4 | 8,7 |
| Bolovi | 3 | 6,5 |
| Bljeskovi i mutnine | 6 | 13,0 |
| Bez simptoma | 4 | 8,7 |
| Ukupno | 46 | 100,0 |

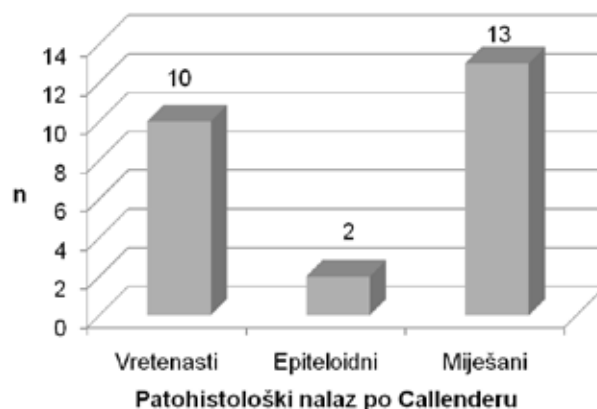
Komplikacije, kao posljedicu melanoma žilnice, imalo je 32 bolesnika od čega 21 jednu komplikaciju, a 11 dvije ili više komplikacije, 26 (57%) bolesnika je imalo sekundarnu ablaciju retine, 7 (15%) je imalo hemoftalmus, 6 (13%) je imalo povišen intraokularni tlak (IOT) sa sekundarnim glaukomom, 2 (4%) bolesnika su imala retinalne hemoragije, a 1 (2%) bolesnik je imao kompliciranu kataraktu.

Bazalni promjer melanoma žilnice kretao se od 6,7 do 35 mm, prosječno $13,4 \pm 5,7$ mm (CI 95% 11,0-15,8).

Visina tumora je bila od minimalno 2,4 do maksimalno 30 mm, prosječno $8,0 \pm 3,9$ mm (CI 95% 6,4-9,6).

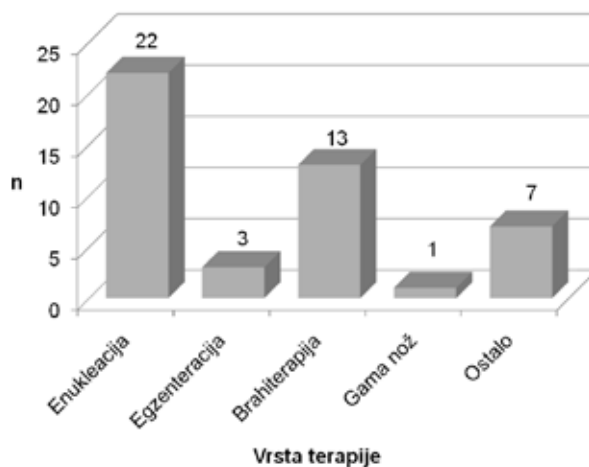
U vrijeme dijagnosticiranja malignog melanoma žilnice 4 (8,7%) bolesnika imalo je metastaze: u 3 slučaja ekstraskleralno širenje u okolna tkiva, a u 2 su se javile udaljene metastaze u jetru i na kostima. U 2 slučaja došlo je do patološkog nakupljanja aktivnosti (Tc 99m-difosfonat) prilikom scintigrafije kostiju. Jedan bolesnik imao je istodobno lokalnu metastazu u orbiti i udaljene metastaze u jetri i kostima.

U 25 bolesnika kojima je enukleirano oko ili egzen-terirana orbita patohistološki nalaz prema Callenderovoj klasifikaciji pokazao je sljedeće vrste melanoma: vretenasti 10 (40%), epitelo-oidni 2 (8%) i miješani 13 (52%) (sl. 3).



Sl. 3. Podjela bolesnika s melanomom žilnice prema patohistološkom nalazu

Najčešća provedena terapija za koju postoje podaci bila je enukleacija u 22 (47,8%) bolesnika. Egzen-teracija orbite učinjena je u 3 (6,5%) bolesnika, 13 (28,3%) bolesnika podvrgnuto je brahiterapiji (Zagreb). Gama nož je primijenjen u 1 (2,2%) bolesnika (Beč). Za 7 (15,2%) bolesnika nema podataka jer su se liječili u drugim oftalmološkim centrima bez povratne informacije o načinu liječenja (sl. 4).



Sl. 4. Primijenjena terapija

RASPRAVA

Incidencija malignog melanoma srednje očne ovojnice od 0,57 slučajeva na 100.000 stanovnika ista je kao među stanovnicima Izraela i Njemačke (1,6). U ranijoj studiji u Splitsko-dalmatinskoj županiji od 1991. do 2000. godine incidencija je iznosila 0,44 (7). To znači da se u posljednjih 10 godina incidencija povećala, moguće zbog povećane insolacije. U sjevernoj Europi, u Norveškoj i Danskoj incidencija je

viša od 0,8, a u južnoj Europi u Španjolskoj i južnoj Italiji manja je od 0,2 (3,8). Budući da je Splitsko-dalmatinska županija u Hrvatskoj na 43° sjeverne geografske širine ima incidenciju po vrijednosti između incidencije sjeverne i južne Europe. Melanom žilnice je dva puta rjeđi nego u sjevernoj Europi, a dva puta češći nego u južnoj Europi. To znači da ljudi s više pigmenta i oni s tamnijim šarenicama imaju manju šansu za razvoj malignog melanoma srednje očne ovojnice. Crnci i žuta rasa imaju nisku incidenciju melanoma srednje očne ovojnice, obično oko 0,2 (9,10).

Prosječna dob bolesnika s malignim melanomom žilnice iznosila je 63,4 godine. Najsličniji su rezultati u studijama Frenkela i sur., Vidala i sur. te Bedove i sur. (1,11,12). Kinezi i Indijci u prosjeku 10-20 godina ranije dobivaju maligni melanom žilnice (2,10). U našoj je studiji blaga prevalencija muškog spola u odnosu na ženski 52,5% : 47,8% kao što je u većini studija (2,13,14), iako je u nekima veća prevalencija ženskog spola (1,11).

Vid je bio zamagljen $\leq 6/18$ pri dijagnozi malignog melanoma žilnice u 71,7% slučajeva. U novosadskoj studiji to je bilo 85,2%. To pokazuje da bolesnici dolaze na pregled tek kad im značajnije padne vidna oštrina.

Četiri (8,7%) melanoma žilnice otkrivena su u asimptomatskih bolesnika. U francuskoj studiji (11) asimptomatskih bolesnika je bilo više, tj. 21%, ali to se odnosilo i na melanome zrakastog tijela i šarenice.

Najčešća komplikacija melanoma žilnice bila je sekundarna ablacija retine - 57%. U radovima Vidala i sur. u Francuskoj iznosila je 38% (11), a u škotskoj studiji Aziza i sur. 66% (14).

Prosječne dimenzije malignog melanoma žilnice (baza x visina) iznosile su 13,4 x 8,0 mm. U novosadskoj (12) i finskoj studiji (2) utvrđene su sljedeće dimenzije: 15,1 x 6,7 odnosno 11,3 x 6,4 mm.

Lokalne i udaljene metastaze u naših ispitanika javile su se u 4 (8,7%) bolesnika što je nešto više nego u francuskoj studiji gdje su u 3% ekstraskleralne i u 2% udaljene metastaze (11). Lokalno širenje bilo je u orbitu i sinuse, a udaljene metastaze bile su u jetri i kostima (kralježnica i rebra). Iako malo bolesnika pokazuje metastaze u vrijeme dijagnoze melanoma žilnice, preko 40% bolesnika naknadno umire od širenja bolesti na druge organe. To vjerojatno znači da prilikom dijagnoze primarnog tumora bolesnik već ima mikrometastaze koje se ne mogu otkriti (15). Patohistološki nalaz operiranih bolesnika je u granicama uobičajenih klasificiranih po Callenderu

(16,17). U Kini i Japanu ima manje vretenastih, a više epiteloidnih melanoma žilnice koji imaju lošiju životnu prognozu (10,18).

Najčešća terapija je bila enukleacija, ali sve više se primjenjuje brahiterapija. Bolesnici s melanomom žilnice još uvijek kasno dolaze na pregled tako da je bolest, kada se otkrije, često uznapredovala.

ZAKLJUČAK

Incidencija melanoma žilnice u stanovnika u Splitsko-dalmatinskoj županiji je između vrijednosti incidencija sjeverne i južne Europe. Splitsko-dalmatinska županija ima stanovnika gotovo 1/10 Hrvatske te se može pretpostaviti da se u Hrvatskoj godišnje otkrije oko 25 novih slučajeva malignog melanoma žilnice.

Za rano otkrivanje bolesti potrebni su redoviti i kompletni oftalmološki pregledi posebno presbiopne populacije.

Ovo je istraživanje važno zbog bolje evaluacije bolesti i boljeg planiranja oftalmološke službe u rješavanju te teške očne bolesti.

LITERATURA

1. Frenkel S, Hendler K, Pe'er J. Uveal melanoma in Israel in the last two decades: characterization, treatment and prognosis. *IMAJ* 2009; 11: 280-5.
2. Biswas J, Agarwal M, Krishnakumar S, Shanmugam MP. Uveal melanoma: Finland v India. *Br J Ophthalmol* 2002; 86: 1193.
3. Hu DN, Yu GP, McCormick SA, Schneider S, Finger PT. Population-based incidence of uveal melanoma in various races and ethnic groups. *Am J Ophthalmol* 2005; 140: 612-7.
4. Bergman L, Seregard S, Nilsson B, Ringborg U, Lundell G, Ragnarsson-Olding B. Incidence of uveal melanoma in Sweden from 1960 to 1998. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 2579-83.
5. Popis stanovništva 2001. godine. (Census 2001). 2001 Dostupno na URL adresi: http://www.dzs.hr/hrv/censuses/census2001/Popis/H01_01_01/H01_01_01.html Datum pristupa informaciji 20. srpnja 2010.
6. Bechrakis NE, Scheibenbogen C, Schmittel A. i sur. Aderhautmelanom. *Ophthalmologie* 2002; 99: 333-7.

7. Karaman K, Bućan K, Pešutić-Pisac V. i sur. Prognostic value of clinical and histopathological parameters of uveal melanomas: a retrospective study. *Acta Clin Croat* 2007; 46(Suppl 1): 21-3.
8. Virgili G, Gatta G, Ciccolalio L. i sur. Incidence of uveal melanoma in Europe. *Ophthalmology* 2007; 114: 2309-15.
9. Margo CE, McLean IW. Malignant melanoma of the choroid and ciliary body in black patients. *Arch Ophthalmol* 1984; 102: 77-9.
10. Kuo PK, Puliafito CA, Wang KM, Liu HS, Wu BF. Uveal melanoma in China. *Int Ophthalmol Clin* 1982; 22: 57-71.
11. Vidal JL, Bacin F, Albuissou E i sur. "Melanoma 92". Epidemiological study of uveal melanoma in France. *J Fr Ophtalmol* 1995; 18: 520-8.
12. Bedov T, Babović S, Čanadanović V, Bjelica D, Grković D. Maligni melanom uvee. *Medicina danas* 2006; 5: 165-8.
13. Singh AD, Topham A. Incidence of uveal melanoma in the United States: 1973-1997. *Ophthalmology* 2003; 110: 956-61.
14. Aziz S, Taylor A, McConnachie A, Kacperek A, Kemp E. Proton beam radiotherapy in the management of uveal melanoma: Clinical experience in Scotland. *Clin Ophthalmol* 2009; 3: 49-55.
15. De Croock L, Verbraeken H. Metastatic uveal melanoma: diagnosis and treatment. A literature review. *Bull Soc Belge Ophtalmol* 2002; 286: 59-63.
16. Callender GR. Malignant melanotic tumor of the eye: a study of histologic types in 111 cases. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1931; 36: 131-42.
17. Biswas J, Kabra S, Krishnakumar S, Shanmugam MP, Nethralaya S. Clinical and pathological characteristics of uveal melanoma in asian indians. A study of 103 patients. *Indian J Ophthalmol* 2004; 52: 41-4.
18. Sakamoto T, Sakamoto M, Yoshikawa H i sur. Histologic findings and prognosis of uveal malignant melanoma in Japanese patients. *Am J Ophthalmol* 1996; 121: 276-83.

SUMMARY

CLINICO-EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF CHOROIDAL MELANOMA IN SPLIT AREA, CROATIA

P. IVANIŠEVIĆ, L. BOJIĆ¹, S. TOMIĆ², K. BUĆAN¹, M. IVANIŠEVIĆ¹, M. LEŠIN¹,
I. PLEŠTINA-BORJAN¹ and R. STANIĆ¹

School of Medicine, University of Split, ¹University Department of Ophthalmology and ²University Department of Pathology, Forensic Medicine and Cytology, Split University Hospital Center, Split, Croatia

Choroidal melanoma is the most common primary intraocular malignant tumour in adults. The aim of the study was to examine epidemiological characteristics of choroidal melanoma in Split-Dalmatia County from 1990 to 2009. In this retrospective study, data on 46 patients from medical documentation of the University Department of Ophthalmology, Split University Hospital Center, were analyzed. According to 2001 census, the Split-Dalmatia County population was 467,676 inhabitants. The incidence of choroidal melanoma was 0.49 per 100,000 inhabitants, which is somewhere in the middle of the incidence between south and north Europe. Choroidal melanoma most commonly appeared in the 7th decade of life. The average dimensions of choroidal melanoma (basis x height) were 13.4x8.0 mm. Histopathologic findings according to Callender classification showed the following types of melanoma: epithelioid cell type 8%, spindle cell type 40%, and mixed type 52%. The most common forms of therapy were enucleation 47.8% and brachytherapy 28.3%, which means that patients presented relatively late when choroidal melanoma advanced in size. The Split-Dalmatia County has 1/10 of the Croatian population, so it could be supposed that approximately 25 new cases of malignant melanoma of the choroid are discovered annually in Croatia. For early detection of the disease, regular and complete checkups are necessary, especially in presbyopic population. Study results enabled better evaluation of the disease and better planning of ophthalmologic service in the treatment of this serious eye disease.

Key words: choroidal melanoma, epidemiology, Split area, Croatia

EPIDEMIOLOŠKE ZNAČAJKE AKUTNE LIMFOBLASTNE LEUKEMIJE U DJECE TUZLANSKE ŽUPANIJE

ADMIRA HADŽISELIMOVIĆ i HUSREF TAHIROVIĆ

Klinika za dječje bolesti, Univerzitetski klinički centar Tuzla, Tuzla, Bosna i Hercegovina

Istraživanje je poduzeto s ciljem da se utvrde epidemiološke značajke akutne limfoblastne leukemije (ALL) u djece u dobi od 0 do 14 godina u Tuzlanskoj županiji u razdoblju od 1. 1. 1995. do 31. 12. 2007. godine. Retrospektivnom studijom analizirana je medicinska dokumentacija Klinike za dječje bolesti UKC-a Tuzla (povijest bolesti i onkološki karton) djece oboljele od ALL kao i njihova dokumentacija medicinskih ustanova u kojima su bili na dodatnom dijagnostičko-terapijskom tretmanu. Podaci o populaciji djece po godinama za navedeno razdoblje dobijeni su iz Federalnog zavoda za statistiku. Na području Tuzlanske županije u navedenom je razdoblju od ALL oboljelo 41 dijete [27 (66,0%) muškog i 14 (34,1%) ženskog spola]. Prosječna stopa incidencije ALL za oba spola iznosila je 3,3/100.000 (2,3-4,4). Bila je viša u dječaka, a iznosila je 4,2/100.000, u odnosu na djevojčice (2,3/100.000). Najviša godišnja incidencija zabilježena je 2002. godine (7,6 /100.000). Autori zaključuju da dobiveni rezultati omogućavaju adekvatno sagledavanje epidemioloških pokazatelja ALL u djece na području Tuzlanske županije, koji mogu biti od koristi pri planiranju programa pedijatrijske zdravstvene zaštite na spomenutom području.

Ključne riječi: akutna limfoblastna leukemija, dijete, epidemiologija

Adresa za dopisivanje: Admira Hadžiselimović, mr. med. sc.
Klinika za dječje bolesti Tuzla
Hematoonkologija
Trnovac BB
75000 Tuzla, Bosna i Hercegovina
Tel: 061/870-577
E-pošta: admira.hadziselimovic@live.com

UVOD

Iako su maligne bolesti u djece rijetke, ipak se one ne mogu zanemariti kao ozbiljan uzrok morbiditeta i mortaliteta, čak i danas, kada su dijagnostičke i terapijske mogućnosti daleko povoljnije nego ranije. Među malignim bolestima najčešća je akutna limfoblastna leukemija (ALL). Na nju otpada trećina djece oboljele od malignih bolesti s incidencijom u europske i američke bijele djece od 35 do 50 na milijun. Njena je etiologija multifaktorska, što bitno utječe na varijacije u incidenciji u različitim dijelovima svijeta. Bez obzira na to, porast ALL gledano u cjelosti evidentan je u posljednjih trideset godina. Među pokretačima te maligne bolesti, uz genetsku predispoziciju, najčešće se spominju ionizirajuće i neionizirajuće zračenje, kemikalije, lijekovi i virusi (1). Za razliku od incidencije malignih neoplazmi odraslih, koja naglo raste i povećava se s dobi, u djece postoji široki raspon i varijabilnost za vrijeme

rasta i razvoja, s dva tipična vrha u ranom djetinjstvu i adolescenciji (2). To potvrđuje podatak da je prema ukupnoj godišnjoj incidenciji od 165 slučajeva na milijun, incidencija najviša u djece mlađe od 5 godina i u adolescenata između 15 i 19 godina, 200 slučajeva na milijun. U djece dobi 5 do 9 godina te 10 do 14 godina godišnja incidencija je 110 odnosno 117 slučajeva na milijun (3).

Cilj rada bio je prikazati epidemiološke značajke ALL djece dobi od 0 do 14 godina na području Tuzlanske županije.

ISPITANICI I METODE

Područje istraživanja

Tuzlanska županija je administrativna jedinica Federacije Bosne i Hercegovine (BiH). Nalazi se u sje-

veroistočnom dijelu BiH i ima površinu 2649 km², s populacijom u 2007. godini od 502.862 stanovnika, od čega je 77019 djece u uzrastu od 0 do 14 godina.

Ispitanici

Ispitivanjem su bila obuhvaćena djeca oboljela od ALL, oba spola, uzrasta od 0 do 14 godina, koja su bila primljena u Kliniku za dječje bolesti Tuzla u razdoblju od 1. 1. 1995. do 31. 12. 2007. godine. Primarni izvor podataka bio je registar oboljelih od ALL u dobi od 0 do 14 godina po općinskim mjestima Tuzlanske županije, koji se nalazi u Klinici za dječje bolesti u Tuzli, a sekundarni, neovisni izvor podataka, bili su podaci o djeci oboljeloj od ALL u dobi od 0 do 14 godina u Tuzlanskoj županiji (TŽ) koji su bili evidentirani u Zavodu za zdravstvenu zaštitu TŽ. Nakon obrade spomenute dokumentacije, procijenjena kompletnost dobivenih podataka iznosila je 100%. U odnosu na dob, ispitanici su bili podijeljeni u sljedeće skupine: od 0 do 4, od 5 do 9 i od 10 do 14 godina.

Djeca obuhvaćena ovim istraživanjem upućivana su na liječenje u federalni centar FBiH, kao i izvan naše zemlje, tj. u inozemstvo. To se odnosi na djecu kod koje je trebalo provesti transplantaciju koštane srži iz skupine visokog rizika ili nakon relapsa bolesti. Dijagnoza bolesti u svih oboljelih postavljena je na našoj klinici. Zakonom obvezno prijavljivanje malignih bolesti provedeno je putem obrasca za prijavu Zavodu zdravstvene zaštite TŽ. Na Klinici za dječje bolesti u Tuzli postoji Registar za maligne bolesti. Osim epidemioloških značajki ALL u navedenom razdoblju istraživali smo kliničke karakteristike, vrijeme pojave relapsa kao i smrtnost od ALL. Iz tog smo razloga koristili povijest bolesti i onkološke kartone.

Metode

Retrospektivnom studijom analizirana je medicinska dokumentacija Klinike za dječje bolesti UKC-a Tuzla (povijest bolesti i onkološki karton) svakog pacijenta oboljelog od ALL kao i dokumentacija medicinskih ustanova u kojima su pacijenti bili na dodatnoj dijagnostici i/ili liječenju.

Statistička analiza

Ukupna stopa incidencije, te incidencija u odnosu na dob i spol izračunata je za razdoblje 1995.-2007. godina, kao broj oboljelih od ALL uzrasta od 0 do 14 godina na 100.000 djece istog uzrasta na području TŽ.

REZULTATI

Na području Tuzlanske županije u razdoblju od 1. 1. 1995. do 31. 12. 2007. godine od ALL oboljelo je 41 dijete [27 (66,0%) muškog i 14 (34,1%) ženskog spola]. Dob i spol pacijenata u vrijeme postavljanja dijagnoze prikazani su u tablici 1.

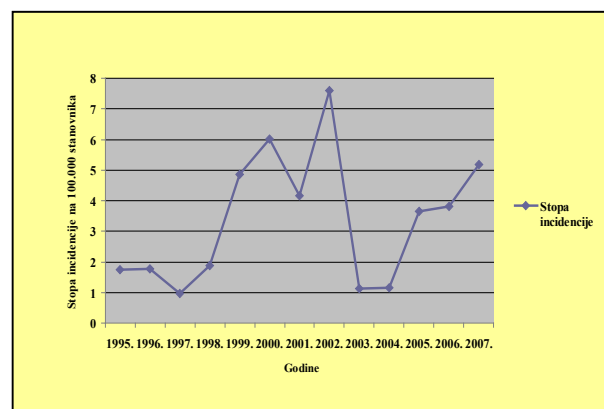
Tablica 1

Dob pacijenata u vrijeme postavljanja dijagnoze

| Dobne skupine (god.) | Broj pacijenata (n) | | |
|----------------------|---------------------|---------|--------|
| | Djevojčice | Dječaci | Ukupno |
| 0-4 | 5 | 14 | 19 |
| 5-9 | 8 | 9 | 17 |
| 10-14 | 1 | 4 | 5 |
| 0-14 | 14 | 27 | 41 |

Ukupno gledano, najveći broj oboljele djece u odnosu na dob, bio je u dobnoj skupini od 0 do 4 godine, a najmanji u dobnoj skupini od 10 do 14 godina.

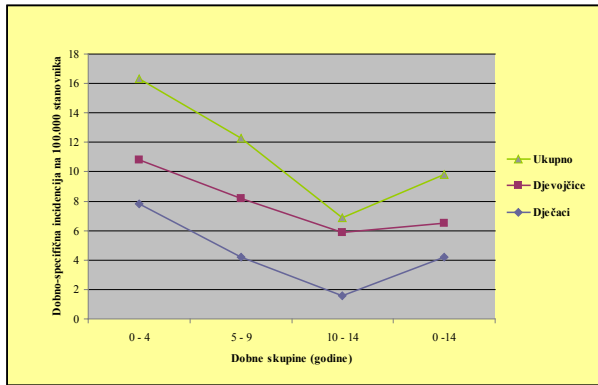
Na sl. 1 prikazana je stopa incidencije djece oboljele od ALL po godinama u promatranom razdoblju.



Sl. 1. Stopa incidencije djece oboljele od ALL po godinama u promatranom razdoblju

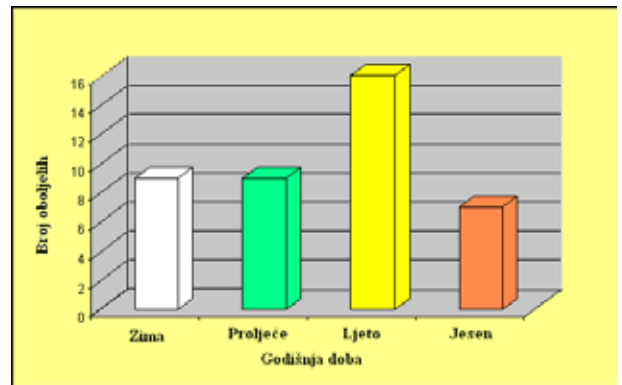
Od 1995. do 2000. godine bio je uočen lagani porast godišnje incidencije djece oboljele od ALL, zatim je u 2001. godini uslijedio lagani pad. Dominirajuća godina po incidenciji bila je 2002. (17,0%). Naredne dvije godine, tj. 2003. i 2004. godine, incidencija je naglo opala, da bi od 2005. godine ponovno bio izražen njen lagani porast koji se održavao i u 2007. godini.

Dobno-specifična stopa incidencije djece oboljele od ALL u TŽ prikazana je na sl. 2.



Sl. 2. Dobno-specifična stopa incidencije djece oboljele od ALL u TŽ

Na sl. 3 prikazana je učestalost obolijevanja od ALL u djece TŽ u odnosu na godišnja doba.



Sl. 3. Učestalost obolijevanja od ALL u djece TŽ u odnosu na godišnja doba

ALL je u dječaka najčešće dijagnosticirana u dobi od pet, a u djevojčica u dobi od šest godina. U predškolskoj dobi, tj. od 1. do 6. godine života, oboljelo je 26 djece. Poslije desete godine života oboljelo je petero djece.

U odnosu na godišnja doba najveći broj oboljelih bio je dijagnosticiran tijekom ljeta, dok je u proljeće, jesen i zimu učestalost bila prilično ujednačena. U tablici 2 prikazana je prosječna incidencija ALL u dobi od 0 do 14 godina u odnosu na dob i spol u razdoblju od 1995. do 2007. godine.

Tablica 2.

Prosječna incidencija ALL (1:100.000) u dobi od 0 do 14 godina u odnosu na dob i spol u razdoblju od 1995. do 2007. godine

| Dobne skupine (godine) | Dječaci | | | Djevojčice | | | Ukupno | | |
|------------------------|---------|------------|---------------------------|------------|------------|---------------------------|---------|------------|---------------------------|
| | ALL (n) | Populacija | Stopa incidencije (95%CI) | ALL (n) | Populacija | Stopa incidencije (95%CI) | ALL (n) | Populacija | Stopa incidencije (95%CI) |
| 0-4 | 14 | 179177 | 7,8 (4,3-13,1) | 5 | 168480 | 3,0 (1,0-6,9) | 19 | 347657 | 5,5 (3,3-8,5) |
| 5-9 | 9 | 212707 | 4,2 (1,9-8,0) | 8 | 199052 | 4,0 (1,7-7,9) | 17 | 411759 | 4,1 (2,4-6,6) |
| 10-14 | 4 | 250953 | 1,6 (0,4-4,1) | 1 | 234691 | 4,3 (0,01-2,4) | 5 | 485644 | 1,0 (0,3-2,4) |
| 0-14 | 27 | 642837 | 4,2 (2,7-6,1) | 14 | 602223 | 2,3 (1,2-3,9) | 41 | 1245060 | 3,3 (2,3-4,4) |

Prosječna stopa incidencije ALL u promatranom razdoblju za oba spola iznosila je 3,3/100.000 (2,3-4,4). U odnosu na dob, za oba spola, najviša prosječna incidencija bila je u dobnoj skupini od 0 do 4 godine 5,5/100.000 (3,3-8,5), a najniža u dobnoj skupini od 10 do 14 godina 1,0/100.000 (0,3-2,4). Prosječna incidencija ALL u dječaka iznosila je 4,2/100.000. Najviša je bila u dobnoj skupini od 0 do 4 godine (7,8/100.000), zatim u dobnoj skupini od 5 do 9 godina (4,2/100.000), a najniža u dobnoj skupini od 10 do 14 godina (1,6/100.000). Prosječna incidencija ALL u djevojčica iznosila je 2,3/100.000.

Najviša je bila u dobnoj skupini od 10 do 14 godina (4,26/100.000), zatim u dobnoj skupini od 5 do 9 godina (4,0/100.000), a najniža u dobnoj skupini od 0 do 4 godine (3,0/100.000). Statistički značajna razlika u incidenciji ALL između dječaka i djevojčica bila je u dobnoj skupini od 0 do 4 godine ($t = 1.77073$, $df = 96$; $P = 0,0399$), dok između ostalih dobni skupina nije bilo statistički značajne razlike. Međutim, ukupno gledano, stopa incidencije ALL bila je statistički značajno veća za dječake u odnosu na djevojčice ($t = 2,557$, $df = 96$; $P = 0,0061$).

U tablici 3 prikazana je godišnja incidencija ALL u dobi od 0 do 14 godine u razdoblju od 1995. do 2007. godine.

Tablica 3

Kretanje godišnje incidencije ALL u djece od 0 do 14 godina u razdoblju od 1995. do 2007. godine

| Godine | Populacija od 0 do 14 godina | ALL (n) | Stopa incidencije (95% CI) |
|--------|------------------------------|---------|----------------------------|
| 1995. | 114192 | 2 | 1,8 |
| 1996. | 112121 | 2 | 1,8 |
| 1997. | 103229 | 1 | 1,0 |
| 1998. | 106167 | 2 | 1,9 |
| 1999. | 102896 | 5 | 4,9 |
| 2000. | 99682 | 6 | 6,0 |
| 2001. | 96247 | 4 | 4,2 |
| 2002. | 92699 | 7 | 7,6 |
| 2003. | 8944 | 1 | 1,1 |
| 2004. | 85525 | 1 | 1,2 |
| 2005. | 82015 | 3 | 3,7 |
| 2006. | 78350 | 3 | 3,8 |
| 2007. | 77019 | 4 | 5,2 |

U odnosu na promatrano razdoblje bio je uočen polagani porast godišnje incidencije ALL u djece od 0 do 14 godina od 1995. godine do 2000. godine, zatim je slijedio pad naredne godine, a nakon njega najviša godišnja incidencija 2002. godine (7,6/100.000). U iduće dvije godine tj. 2003. i 2004. bio je evidentan intenzivan pad godišnje incidencije ALL koji je iznosio 1,1/100.000 i 1,2/100.000. Sljedeće dvije godine ponovno se polagano povećala godišnja incidencija ALL koja se održala i u 2007. godini (5,2/100.000).

RASPRAVA

Na području TŽ u razdoblju od 1. 1. 1995. do 31. 12. 2007. godine od ALL je oboljelo 41 dijete. Odnos broja oboljelih dječaka prema broju oboljelih djevojčica bio je 1,9:1, tj. nešto veći u korist dječaka,

što potvrđuje postojanje genetske predispozicije, a ujedno ukazuje da je uz dob i spol jedan od čimbenika rizika za tu bolest.

Dobna distribucija oboljelih od ALL u našem istraživanju pokazala je specifičnosti koje su vezane za zemlje u razvoju. Iako je broj oboljelih malen u odnosu na ostale županije u FBiH, TŽ je po broju oboljelih od ALL među vodećima (4). Nešto manji broj dječaka oboljelih od ALL u odnosu na djevojčice bio je u istraživanjima Smitha i sur. (5) u kojih je taj odnos bio 1,4:1, dok je u istraživanju Chesella i sur. (6) bio još manji, tj. 1,2:1.

Najveći broj oboljelih u odnosu na dob bio je u dobnoj skupini od 0 do 4 godine. Češće obolijevanje od ALL u toj dobnoj skupini dovodi se u vezu s imunološkim odgovorom na infekciju (7). Broj oboljelih u dobnoj skupini od 5 do 9 godina u našem istraživanju bio je nešto manje zastupljen što se podudara s rezultatima drugih autora (8). Najmalobrojnija je bila dobna skupina od 10 do 14 godina što je identično rezultatima Alisona i sur. (9). ALL je u dječaka bila najčešće dijagnosticirana u dobi od pet, a u djevojčica u dobi od šest godina. Polovica oboljele djece bila je u dobi predškolskog djeteta tj. do šeste godine života, što odgovara dobnoj distribuciji ALL u zemljama u razvoju (10). Početkom dvadesetog stoljeća, ALL pokazuje specifičnost dobne distribucije u razvijenim zemljama (11), za razliku od zemalja Afrike u kojima se ne uočava dobna specifičnost u incidenciji ALL u djece (12).

BiH ima nizak socijalni status nasuprot razvijenim zemljama u kojima je visok socijalni status potvrđen kao faktor rizika za leukemiju u djece (13). U nastanku ALL nisu zanemarljivi ni neželjeni učinci ratnih zbivanja koji podrazumijevaju izloženost radioaktivnim materijama, kemijskim polutantima, a uključuju i migraciju stanovništva, što su utvrdili Labar i sur. (14) svojim istraživanjem o utjecaju posljednjeg rata na incidenciju ALL u Hrvatskoj u razdoblju od 1996. do 1999. godine. Oni su uočili značajni porast incidencije ALL u djece, a slične rezultate zabilježili su i Samardžić-Predojević i sur., (15) u Republici Srpskoj, drugom entitetu BiH.

TŽ je bila jedna od privredno najrazvijenih županija u rudarstvu, kemijskoj i teškoj industriji, što se bitno izmijenilo nakon rata, ali su neželjeni učinci privrede, vjerojatno, već bili ispoljeni na roditeljima oboljele djece, što bi trebalo detaljnije ispitati.

Razdoblje koje obuhvaća naše istraživanje bilo je 13 godina. Incidencija oboljele djece od ALL promatrana po godinama, bila je promjenljiva. U prvih pet godina istraživanja, tj. od 1995. do 2000. godine bio

je uočen lagani porast incidencije djece oboljele od ALL, zatim je uslijedio njen lagani pad u 2001. godini, a nakon toga slijedi 2002. godina kao dominirajuća. U iduće dvije godine, tj. 2003. i 2004. godine incidencija djece oboljele od ALL je bila u naglom opadanju. Ponovni lagani porast bio je uočen 2005. godine i održao se do danas. Ne može se egzaktno zaključiti zašto je 2002. godina bila vodeća po broju oboljele djece. Djeca oboljela od ALL u tom razdoblju bila su u dobi od 2 do 12 godina. Čimbenici rizika za koje se smatra da stimuliraju malignu alteraciju i povećavaju mogućnost obolijevanja od ALL, u toj su skupini ispitanika bili samo djelomice izraženi, ali su već potvrđeni kao mogući uzrok bolesti u brojnim studijama u kojima se istraživalo na velikom uzorku.

ALL se javljala u naših ispitanika tijekom cijele godine, ali češće tijekom ljeta u odnosu na ostala godišnja doba, što se podudara s rezultatima istraživanja o sezonskoj varijaciji u dijagnozi malignih bolesti u djece u SAD (16). Češću pojavu ALL tijekom jeseni i zime opisuju drugi autori (17). Sezonska distribucija bolesti mogla bi se povezati s izraženijom pojavom infekcija, osobito virusnih, u pojedinim periodima godine i određenim razdobljima. Opisani su slučajevi češćeg obolijevanja od ALL nakon epidemija varicele i hepatitisa A (5).

Prosječna stopa incidencije ALL u djece oba spola u dobi od 0 do 14 godina iznosila je 3,3/100.000 (2,3-4,4). Incidencija ALL u Europi je oko četiri nova slučaja godišnje na 100.000 djece (18). U odnosu na dobne skupine, za oba spola, u našem je uzorku bila najviša u dobnoj skupini od 0 do 4 godine, a najniža u dobnoj skupini od 10 do 14 godina što navode i drugi autori (19). U odnosu na spol, u dječaka je bila viša u odnosu na djevojčice, što je identično rezultatima Hjalgrima i sur. (20). Promatrano prema dobnim skupinama, u populaciji dječaka bila je najviša u dobnoj skupini od 0 do 4 godine, a iznosila je 7,8/100.000 (4,3-13,1), dok je u populaciji djevojčica bila najviša u dobnoj skupini od 10 do 14 godina, a iznosila je 4,3/100.000 (0,01-2,4). O kretanju incidencije ALL u Europi rađene su brojne studije. Jedna od njih odnosi se na incidenciju leukemije i preživljavanje u djece i adolescenata u razdoblju od 1978. do 1997. godine (21). U toj su studiji automatski obrađeni podaci iz nacionalnih registara za maligne bolesti iz 62 zemlje Europe koji potvrđuju veću incidenciju ALL na Istoku, u odnosu na sjever, jug i zapad Europe te Island. U Francuskoj je rađena slična dugogodišnja studija koja se odnosi na incidenciju leukemija i limfoma u djece (22). Ona obuhvaća desetogodišnje razdoblje u kojem se prati incidencija leukemije i non-Hodgkin limfoma. U Francuskom nacionalnom registru za leukemije i

limfome (NRCL) u razdoblju od 1990. do 1999. godine prijavljeno je 5757 slučajeva leukemija, limfoma i mijelodisplaznog sindroma. Godišnja incidencija na milijun stanovnika za leukemije u navedenom razdoblju iznosila je 43,1, dok je nešto niža bila u Mađarskoj, s vrijednošću od 37,3 (23). Talijanski autori ističu porast incidencije malignih bolesti u djece općenito, a posebno leukemije (19).

Godišnja incidencija ALL je polagano rasla od 1995. do 2000. godine. U prvoj godini istraživanja iznosila je samo 1,8 /100.000, a 2002. godine je dostigla maksimalnu vrijednost od 7,6 /100.000. Intenzivan pad godišnje incidencije ALL uslijedio je u iduće dvije godine, dok je u preostalim godinama obuhvaćenim istraživanjem bila gotovo izjednačena. Demografske karakteristike stanovništva i teritorijalni integritet TŽ vjerojatno su imale utjecaja na takav trend godišnje incidencije ALL u djece.

ZAKLJUČAK

Rezultati našeg istraživanja omogućili su sagledavanje epidemioloških značajki ALL na području Tuzlanske županije. Oni mogu korisno poslužiti u preventivnom, dijagnostičkom, terapijskom i edukativnom radu zdravstvenih radnika, ali i onih koji se brinu o programima zbrinjavanja ove patologije, gledano s aspekta financijskih sredstava.

LITERATURA

1. Rubnitz JE, Crist WM. Molecular genetics of childhood cancer: Implications for pathogenesis, diagnosis and treatment. *Pediatrics* 1997; 100:101-8.
2. Gurney JG, Bondy ML. Epidemiology of childhood and adolescent cancer. U: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, ur. *Textbook of Pediatrics*. 17th ed. Philadelphia: Saunders Company, 2003, 1679-81.
3. Ries LAG, Smith MA, Gurney Jg i sur, ur. *Cancer incidence and survival among children and adolescents: United States SEER Program 1975-1995*. Bethesda, Maryland (USA): National Cancer Institute, SEER Pediatric Monograph; 1999.
4. Sakić M. Leukemija kod djece. U: Sarajlić M, ur. Sarajevo: Svjetlost, 2006, 68-9.
5. Smith MA, Simon R, Strickler HD, McQuillan G, Ries LA, Linet MS. Evidence that childhood acute lym-

phoblastic leukemia is associated with an infectious agent linked to hygiene conditions (see comments). *Cancer Causes Control* 1998; 9: 285-98.

6. Chessell JM, Harrison G, Richards SM. Down syndrom and acute lymphoblastic leukemia: clinical features and response to treatment. *Arch Dis Childhood* 2001; 85: 351-2.

7. Siobhán MO, Roumiana SB. Infectious etiologies of childhood leukemia: plausibility and challenges to proof. *Environ Health Perspect* 2007; 115: 146-50.

8. Golub TR, Arececi RJ. Acute leukemia. U: Pizzo PA, Poplack DG, ur. *Principles and practice of pediatrics oncology*. 4th ed. Philadelphia: Lipincott Williams and Wilkins, 2002, 545-73.

9. Alison MF, Howard JW. The role of prognostic features in the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Oncologist* 2000; 4: 321-8.

10. Gurney JG, Severson RK, Davis S, Robinson LL. Incidence of cancer in children in the United States, sex-, race-, and 1-year age-specific rates by histologic type. *Cancer* 1995; 75: 2186-95.

11. Mc Nailly DE, Cote TR, Clegg L, Mauer A. SEER update of incidence and trends in pediatric malignancies: acute lymphoblastic leukemia. *Med Pediatr Oncol* 2002; 39: 554-7.

12. Williams CKO, Essien EM, Bangboye EA. Trends in leukaemia incidence. U: Magrath I, O'Connor GT, Ramot B, ur. *Pathogenesis of Leukemias and Lymphomas: Environmental Influences (Progress in Cancer Research and Therapy, Vol. 27)*. New York: Raven Press, 1984, 17-27.

13. Borugian MJ, Spinelli JJ, Mezei GW, Wilkins R, Abanto Z, McBride ML. Childhood leukemia and socioeconomic status in Canada. *Epidemiology* 2005; 16: 526-31.

14. Labar B, Rudan I, Ivanković D i sur. Haematological malignancies in childhood in Croatia: Investigating the theories of depleted uranium, chemical plant damage and population mixing. *Eur J Epidemiol* 2004; 19: 55-60.

15. Samardžić-Pređojević J, Petrović-Tepić S, Simić E, Miljković V, Konjević S, Guzijan G. Uticaj konsolidacije sa metotreksatom u terapiji akutne limfoblastne leukemije na ishod liječenja. *Pedijatrija danas* 2006; 2: 78-93.

16. Ross JA, Severson RK, Swensen AR Pollock BH, Gurney JG, Robison LL. Seasonal variations in the diagnosis of childhood cancer in the United States. *Br J Cancer* 1999; 81: 549-53.

17. Karimi M, Yarmohammadi H. Seasonal variations in the onset of childhood leukemia/lymphoma: April 1995 to March 2000. Shiraz.Iran. *Haematol Oncol* 2003; 21: 51-5.

18. Gurney JG, Severson RK, Davis S, Robinson LL. Incidence of cancer in children in the United States, sex-, race-, and 1-year age-specific rates by histologic type. *Cancer* 1995; 75: 2186-95.

19. Dalmaso P, Pastore G, Zuccoio L i sur. Temporal trends in the incidence of childhood leukemia, lymphomas and solid tumors in north-west Italy, 1967-2001. A report of the Childhood Cancer Registry of Piedmont. *Cancer* 2005; 90: 1197-1204.

20. Hjalgrim LL, Rostgaard K, Schmiegeiw K i sur. Age- and sex-specific incidence of childhood leukemia by immunophenotype in the Nordic countries. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1539-44.

21. Coebergh JW, Reedijk AJ, Vries E i sur. Leukemia incidence and survival in children and adolescents in Europe during 1978-1997. Report from the Automated Childhood Cancer Information System project. *Eur J Cancer* 2006; 42: 2019-36.

22. Clavel J, Goubin A, Auclerc MF i sur. Incidence of childhood leukemia and non-Hodgkins lymphoma in France: National registry of childhood leukemia and lymphoma, 1990-1999. *Eur J Cancer* 2004; 13: 97-103.

23. Jakab Z, Balogh E, Kiss C, Olah E. Epidemiologic studies in a population-based childhood cancer registry in Northeast Hungary. *Med Pediatr Oncol* 2003; 38: 338-44.

S U M M A R Y

EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA IN CHILDREN FROM TUZLA CANTON

A. HADŽISELIMOVIĆ and H. TAHIROVIĆ

University Department of Pediatrics, Tuzla University Clinical Center, Tuzla, Bosnia and Herzegovina

This study was undertaken to determine epidemiological characteristics of acute lymphoblastic leukemia (ALL) in children aged 0-14 years from Tuzla Canton, during a 13-year period (1995-2007). This retrospective study analyzed patient medical records from University Department of Pediatrics, Tuzla University Clinical Center, as well as documentation of other medical facilities providing additional diagnostic and therapeutic treatment to these patients. Records on the population of children during the study period were obtained from Federal Department of Statistics. ALL was diagnosed in 41 children, 27 (66.0%) male and 14 (34.1%) female. The mean incidence rate for both sexes was 3.3/100,000 (2.3-4.4). It was higher in boys (4.2/100,000) than in girls (2.3/100,000). The highest incidence rate was recorded in 2002 (7.6/100,000). Study results provided reliable insight into the epidemiological characteristics of ALL in children from Tuzla Canton and proved useful for planning a pediatric health care program in the area.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, child, epidemiology

SEKUNDARNA (AA) AMILOIDOZA U BOLESNIKA S CROHNOVOM BOLEŠĆU

TOMISLAV BULUM, INGRID PRKAČIN¹, GORDANA CAVRIĆ¹,
NIKOLA SOBOČAN¹, BRUNO ŠKURLA¹, LEA DUVNJAK i STELA BULIMBAŠIĆ²

Sveučilišna klinika za dijabetes, endokrinologiju i bolesti metabolizma Vuk Vrhovac, ¹Klinika za unutarnje bolesti, Klinička bolnica Merkur i ²Zavod za patologiju, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb, Hrvatska

Amiloidoza je generički pojam koji se odnosi na postojanje lokaliziranog ili difuznog nakupljanja fibrilarnih proteina u izvanstaničnom prostoru različitih organa. Sekundarna (AA) amiloidoza je rijetka, ali ozbiljna komplikacija koja nastaje u bolesnika s kroničnim upalnim procesima i malignomima. Prikazujemo 39-godišnjeg bolesnika kojem je prije 18 godina postavljena dijagnoza Crohnove bolesti. Hospitaliziran je zbog pogoršanja kliničkog stanja u obliku tjestastih edema nogu te reevaluacije osnovne bolesti. Kolonoskopijom i rentgenskom pasažom crijeva potvrđena je aktivnost osnovne bolesti. U laboratorijskim nalazima bilježio se porast upalnih reaktanata, normocitna anemija, hipokalcemija, hipoalbuminemija te hipoproteinemija. Klirens kreatinina iznosio je 66 mL/min, a proteinurija >24 grama/L. Učinjena je biopsija bubrega a patohistološkom obradom verificirana je sekundarna amiloidoza. S obzirom na već postojeću aktivnu upalnu bolest crijeva predloženo je aktivno liječenje indukcijom kortikosteroidima, kako bi se postiglo remisiju, te azatioprinom uz obradu za eventualnu terapiju infliksimabom, na što bolesnik u tom trenutku nije pristao. Prognoza bolesnika sa sekundarnom AA amiloidozom i bubrežnom insuficijencijom je loša te 50% bolesnika umire unutar 5 godina od postavljanja dijagnoze. Do sada ne postoji uspješno specifično liječenje sekundarne amiloidoze, već je terapijski pristup usmjeren prije svega na liječenje primarne bolesti.

Ključne riječi: amiloidoza, Crohnova bolest, nefrotski sindrom

Adresa za dopisivanje: Dr. sc. Tomislav Bulum, dr. med.
Sveučilišna klinika za dijabetes, endokrinologiju
i bolesti metabolizma Vuk Vrhovac
Klinička bolnica Merkur
Dugi dol 4a
10000 Zagreb, Hrvatska
E-pošta: tbulum@idb.hr

UVOD

Amiloidoza je generički pojam koji se odnosi na postojanje lokaliziranog ili difuznog nakupljanja fibrilarnih proteina u izvanstaničnom prostoru različitih organa. Odlaganje amorfnog vlaknastog proteina amiloida narušava normalnu građu i funkciju organa i tkiva (1). Dvije najčešće vrste stečenih amiloidoza su primarna (AL) i sekundarna (AA) amiloidoza koje se razlikuju prema biokemijskoj prirodi proteina koji čine strukturu vlakana amiloida (AL – amiloid lakog lanca, AA – amiloid vezan). Fibrile AA amiloida nastaju kao posljedica povećanog stvaranja SAA proteina akutne faze upale koji se nepotpuno razgrađuje, što je česta pojava u upalnim stanjima dovodeći do odlaganja netopljivih molekula AA amiloida. Iako je trajno povišeno stvaranje AA amiloida presudno za razvoj AA amiloidoze, ona na-

staje u malom broju bolesnika s kroničnim upalnim bolestima. Sekundarna (AA) amiloidoza je ozbiljna komplikacija koja nastaje u bolesnika s kroničnim upalnim procesima i malignomima, kao što je upalna bolest crijeva, uglavnom višegodišnja Crohnova bolest (2,3). Incidencija sekundarne amiloidoze u bolesnika s Crohnovom bolešću kreće se od 0,5% do 8% (4,5). Sekundarna se amiloidoza najčešće klinički prezentira od asimptomatske proteinurije do razvoja nefrotskog sindroma i zatajenja bubrežne funkcije s visokom smrtnošću (6). Prisustvo amiloida u tkivima utvrđuje se Kongo bojanjem te naknadno imunohistokemijskim metodama kojima se identificiraju glavne proteinske komponente vlakana amiloida, što olakšava dijagnozu bolesti koja je uzrokovala amiloidozu (7). Prognoza bolesnika sa sekundarnom amiloidozom i bubrežnom insuficijencijom je loša te 50% bolesnika umire unutar

5 godina od postavljanja dijagnoze (1,8,9). Do sada ne postoji uspješno specifično liječenje sekundarne amiloidoze, već je terapijski pristup usmjeren prije svega na liječenje primarne bolesti (10,11). U liječenju sekundarne amiloidoze koriste se immunosupresivni lijekovi (azatioprin), imunomodulatorni lijekovi (infliksimab), citotoksični lijekovi te kolhicin, a neka istraživanja su pokazala poboljšanje kliničke slike i stabilizaciju bubrežne funkcije uz navedenu terapiju (12,13). Transplantacija bubrega daje najbolju prognozu u bolesnika sa Crohnovom bolešću i sekundarnom amiloidozom uz zatajenje bubrežne funkcije (1).

PRIKAZ BOLESNIKA

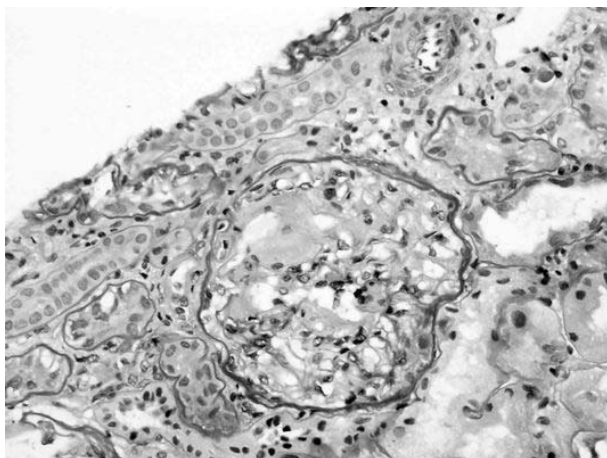
Bolesnik u dobi od 39 godina hospitaliziran je zbog pogoršanja kliničkog stanja u obliku tjestastih edema nogu te reevaluacije osnovne bolesti. Radi se o bolesniku kojem je prije 18 godina postavljena dijagnoza Crohnove bolesti, a prije 17 godina zbog ileusa učinjena desna hemikolektomija s ileotransverznom anastomozom. U obiteljskoj anamnezi nije bilo težih bolesti. Bolesnik je u dosadašnjem tijeku liječenja upalne bolesti crijeva tijekom 15 godina liječen kortikosteroidima te u dva navrata, u relapsu prije 10 i 8 godina, azatioprinom. Prema navodima bolesnika klinički azatioprinom nije postignuta stabilna remisija te je nakon toga nastavljena terapija kortikosteroidima i mesalazinom. U reevaluacijama prije 14, 13, i 12 godina pasažom i irigografski bila je prisutna aktivnost bolesti u završnom ileumu i cijelom ostatnom debelom crijevu. Na zadnjoj reevaluaciji bolesti prije 8 godina na pasaži crijeva bio je uredan nalaz, a kolonoskopski i irigografski dokazana je upalna aktivnost cijelom dužinom s pseudopolipima do 40 cm od anokutane granice. Zadnje 3 godine bolesnik je bio na terapiji samo mesalazinom i dijatomom te povremeno klizmama. Uz navedenu terapiju postignuta je redukcija broja stolica do 5x dnevno, a relapsi su najčešće bili vezani uz dijetalne pogreške. Bolesnik nije imao drugih težih bolesti i bio je na terapiji samo za Crohnovu bolest. U kliničkom statusu pri prijmu dominirali su tjestasti edemi nogu, krvni tlak je bio 110/80 mm Hg, puls 70/min. Bolesnik je imao do 5 stolica/dan uz dijetalnu ishranu, povremeno uz primjese sluzi, bez krvi. Ezofagogastroduodenoskopski verificiran je kronični aktivni na *Helicobacter pylori* pozitivni gastritis i sitan polip promjera oko 3 mm na stražnjoj stijenci korpusa želuca. Učinjena je polipektomija, a patohistološki se našlo nekoliko cistično proširenih foveola. Kolonoskopijom se nalazilo stanje po

desnostranoj hemikolektomiji te ileotransverzalne anastomozi, atrofične sluznice, stanjenih nabora, izbrisane žilne crte uz veći broj polipa pregledanog crijeva. Biopsije su uzete na više mjesta (tanko crijevo, anastomoza, poprečni kolon, polip na 35 cm od anokutane granice, sigma i rektum), a patohistološki nalaz odgovarao je Crohnovoj bolesti. Rentgenskom pasažom tankog crijeva verificiran je izbrisani makroreljef i suženje lumena na dva mjesta u ileumu (dužine 2 i 3,5 cm, ostati lumen oko 4 mm) uz flokulaciju kontrasta u području jejunuma. UZV-om abdomena prikazana je ehogenija jetra normalne veličine, uredne strukture i bez vidljivih žarišnih lezija. Bubrezi su bili veličine 120 mm, uredne ehogenosti parenhima širine 18-19 mm, bez dilatacije kanalnog sustava. Ostali nalaz abdominalnih organa bio je uredan. UZV srca bio je uredan.

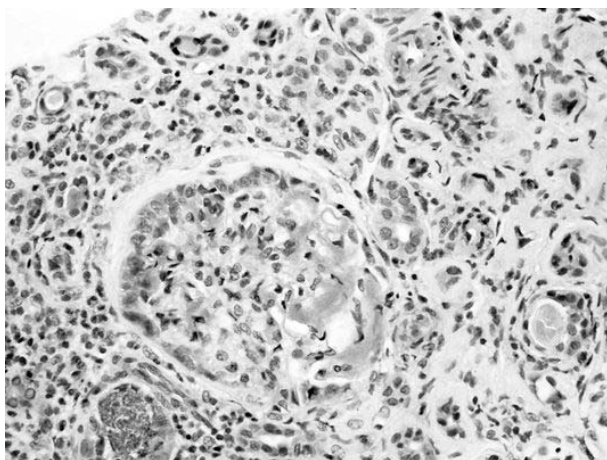
U laboratorijskim nalazima bile su prisutne povišene vrijednosti upalnih parametara (SE 105 mm/3,6ks, CRP 18,9 mg/L, leukociti 8,51x10⁹), normocitna anemija (E 3,63x10¹², Hb 102 g/L, Hct 0,312 L/L, MCV 86,0 fL, željezo 10 µmol/L, TIBC 18 µmol/L, UIBC 8 µmol/L, saturacija transferina 0,56), hiperlipoproteinemija (trigliceridi 2,95 mmol/L, ukupni kolesterol 5,7 mmol/L, LDL-kolesterol 3,5 mmol/L, HDL-kolesterol 0,9 mmol/L), hipokalcemija (Ca 1,93 mmol/L, Cl 111 mmol/L, K 4,9 mmol/L, Na 143 mmol/L, fosfati 1,07 mmol/L), hipoalbuminemija i hipoproteinemija (albumini 12,4 g/L, ukupni proteini 41,8 g/L, elektroforeza proteina u serumu: albumin 29,7%, alfa-1 6,4%, alfa-2 30,1%, beta 13,6%, gamma 20,2%), uz urednu vrijednost GUK-a (4,0 mmol/L). Biljezi A, B, i C hepatitisa bili su negativni, PV je iznosio 0,92, AST 26 U/L, ALT 13 U/L, ALP 143 U/L, ukupni bilirubin 3 µmol/L. U hormonskom statusu štitne žlijezde bile su povišene vrijednosti TSH (8,82 mIU/L, ref. vrijednost 0,4-4,6) uz snižene vrijednosti slobodnih hormona fT3 (2,1 pmol/L, ref. vrijednost 2,8-8,2) te fT4 (6,6 pmol/L, ref. vrijednost 8,4-22,0). Učinjenim UZV-om oba režnja štitnjače bila su primjerene veličine i oblika, pravilne ehostrukture. Radilo se o netireoidnoj bolesti štitnjače koja se učestalo javlja u bolesnika s nefrotskim sindromom zbog gubitka proteina koji vežu hormone (TBG), te je u terapiju prema preporuci endokrinologa uvedena mala doza levotiroksina (25 µg). Proteinurija je pri primitku na Odjel bila >24 grama/L, a i u kontrolnim nalazima nije se spuštala ispod 20 grama/L. Klirens kreatinina iznosio je 66 mL/min, što odgovara 2. stupnju kronične bubrežne bolesti (ureja 4,3 mmol/L, kreatinin u serumu 182 µmol/L, kreatinin u urinu 7,1 mmol/24h, proteini u urinu 24,11 g/dU, albumini u urinu 1726,5 mg, volumen 24-satnog urina 2900 mL,

sediment urina: L 1-3, E 25-30).

Svjetlosnom mikroskopijom analizirana su tri cilindra bubrežnog parenhima veličine 0,7, 0,5 i 0,2 cm, serijski izrezana i obojena hemalaun eozinom, PAS, Masson trikrom i Jones bojanjem. Histološki se radilo o kori bubrega u kojoj se našlo do 30 glomerula od kojih je 8 bilo potpuno vezivno promijenjeno. Preostali glomeruli su bili lagano povećani, proširenih mezangijskih područja, bez hipercelulariteta, ispunjeni PAS blijedim amorfnim materijalom (sl. 1). Dodatno provedenom analizom specijalnim bojanjem po Kongu u uzorku bez pretretmana kalijevim permanganatom dobila se pozitivna reakcija uz zeleni dvolom na polarizacijskom mikroskopu (sl. 2). Nakon pretretmana kalijevim permanganatom opisana reakcija se gubi. Imunohistokemijski u tim se područjima dobilo pozitivnu reakciju na AA amiloid (sl. 3). Intersticijska fibroza i tubularna atrofija praćene oskudnim do srednje obilnim mononuklearnim upalnim infiltratom zahvaćale su do 10%

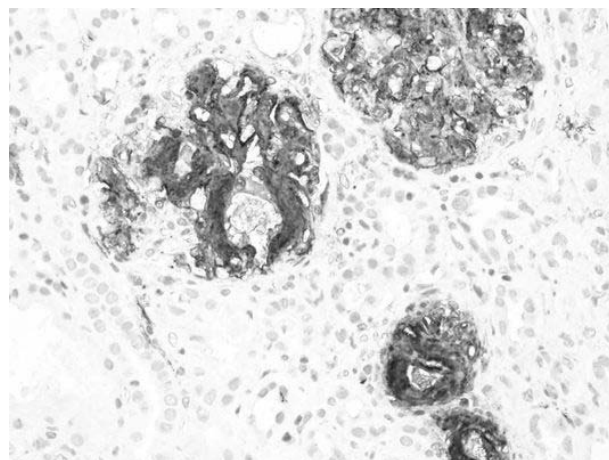


Sl. 1. PAS bojanjem glomeruli su lagano povećani, ispunjeni PAS blijedim amorfnim materijalom



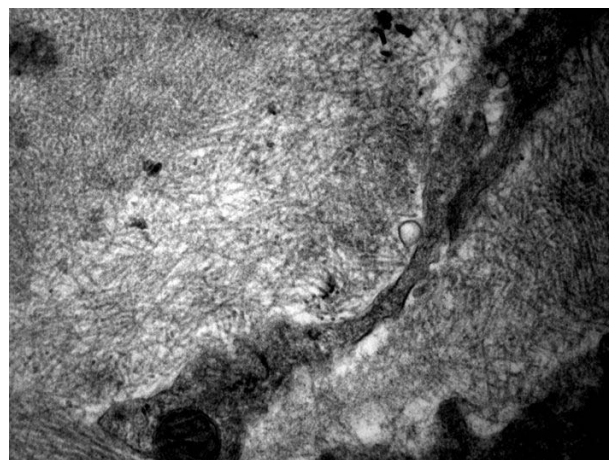
Sl. 2. Specijalnim bojanjem po Kongu u uzorku bez pretretmana kalijevim permanganatom dobila se pozitivna reakcija uz zeleni dvolom na polarizacijskom mikroskopu

uzorka. Arterije su bile dijelom zadebljelih stijenki, prožete prije opisanim amorfnim materijalom.



Sl. 3. Imunohistokemijski dobila se pozitivna reakcija na AA amiloid

Neatrofični tubuli su dijelom bili vakuolizirani, a mjestimično i s izraženim gubitkom mikrovila te reparatornim promjenama epitela. Imunofluorescentnom mikroskopijom cilindar bubrežnog parenhima sa 5 glomerula serijski je izrezan i obojen protutijelima za IgG, IgA, IgM, C3, C1q, fibrinogen, albumin, kappa i lambda lance. Glomeruli su fokalno pokazivali granularni pozitivitet za IgM (2+) te slabo pozitivnu reakciju na C3, dok su bili negativni za sva preostala navedena protutijela. Krvne žile su fokalno bile pozitivne na C3 za 2+. Fibrinogen je fokalno bio pozitivan u intersticiju (1+). Elektronskom mikroskopijom analizirana su dva glomerula s okolnim tubulima i intersticijem. U oba glomerula mezangijska područja su bila proširena i sadržavala su veće nakupine nitastih struktura koje su odgovarale fibrilama amiloida (sl. 4).



Sl. 4. Elektronskom mikroskopijom proširena su mezangijska područja uz veće nakupine nitastih struktura koje odgovaraju fibrilama amiloida

Opisane fibrile su se nalazile i unutar glomerularnih bazalnih membrana, zadebljavala su ih te žarišno stvarala manje šiljke. Kapilare glomerula su bile otvorene, obložene pravilnim endotelom. Podociti su bili dijelom degenerativno promijenjeni, vakuolizirani te žarišno pokazivali gubitak nožica i manja područja mikroviloznih promjena. U intersticiju su se nalazile rijetke upalne stanice te žarišno umnoženi kolagen. Tubularne bazalne membrane bile su dijelom zadebljale, ali bez vidljivog nakupljanja prije opisanih fibrila. Epitel proksimalnih tubula sadržavao je brojne resorptivne vakuole, mikrovili su bili očuvani.

Tijekom boravka bolesnik je liječen infuzijama kristaloidnih otopina, albuminima, mesalazinom peroralno, u obliku klizme i supozitorija, folnom kiselinom, vitaminom B12, kalcijem i preparatima željeza parenteralno. S obzirom na već postojeću aktivnu upalnu bolest crijeva predloženo je aktivno liječenje indukcijom kortikosteroidima, kako bi se postiglo remisiju, te azatioprinom uz obradu za eventualnu terapiju infliksimabom, na što bolesnik u tom trenutku nije pristao.

RASPRAVA

Postoji više tipova vlakana amiloida a zajedničko obilježje svih oblika amiloida je P komponenta, glikoprotein koji čini 10-15% amiloida, daje stabilnost amiloidu i čini ga otpornim na tkivnu razgradnju (14,15). Amiloid je otporan na proteolizu i narušava normalnu građu i funkciju organa i tkiva. Primarna (AL) amiloidoza posljedica je odlaganja monoklonalnih λ i κ lakih lanaca imunoglobulina u sklopu hematoloških bolesti (14), ili rjeđe odlaganja teških lanaca imunoglobulina (AH). Sekundarna (AA) amiloidoza je rijetka ali ozbiljna komplikacija koja nastaje u bolesnika s kroničnim upalnim procesima i malignomima, kao što su reumatoidni artritis, ankilozantni spondilitis, tuberkuloza, bronhiektazije, obiteljska mediteranska vrućica te upalna bolest crijeva, uglavnom višegodišnja Crohnova bolest (2,3,16). Vrsta amiloida AA stabilna je molekula koja nastaje od N-terminalnih ulomaka serumskog amiloida SAA, reaktanta akutne faze upalnog odgovora. Nastaje u stanju upale uz regulaciju TNF- α i mnoštva interleukina, kao što su IL-1 i IL-6 (1,14). Dok je u razvijenim zemljama primarna amiloidoza najčešći oblik sistemske amiloidoze, u zemljama u razvoju to je sekundarna amiloidoza (16,17). Osim primarne i sekundarne, kao dvije najčešće vrste amiloidoze, razlikujemo i nasljedne obiteljske amiloidoze koje obuhvaćaju veliki broj različitih oblika

a nastaju mutacijama koje uzrokuju pogrešno preklapanje bjelančevina i oblikovanje vlakana, zatim amiloidoza udružena s hemodijalizom u kojem nastaje amiloid identičan β 2 mikroglobulinu, lokalizirana amiloidoza te amiloidoza pridružena starenju. Povezanost između sekundarne amiloidoze i upalne bolesti crijeva poznata je i opisana najčešće u bolesnika s Crohnovom bolešću (2,6). Učestalost AA amiloidoze u bolesnika s Crohnovom bolešću kreće se od 0,5 do 8%, a u bolesnika s ulceroznim kolitisom učestalost je samo oko 0,07% (18). Učestalost je veća u muškaraca. Postoje značajne zemljopisne varijacije učestalosti sekundarne amiloidoze u bolesnika s Crohnovom bolešću u svijetu, od oko 6-8% u južnoj Europi, 2% u Engleskoj te samo 0,5-0,9% u SAD-u (4,5,19). Unatoč visokoj incidenciji amiloidoze u djece s tuberkulozom, osteomijelitisom, reumatoidnim artritisom i obiteljskom mediteranskom vrućicom, amiloidoza rijetko nastaje kod djece oboljele od Crohnove bolesti (20). Sekundarna amiloidoza je uzrokovana odlaganjem ekstracelularnog AA fragmenta SAA proteina plazme. Sekundarna amiloidoza može nastati u bilo kojem upalnom stanju u kojem su trajno aktivirani proteini akutne faze uključujući Crohnovu bolest, reumatoidni artritis i kroničnu sepsu (21). Aktivnost osnovne bolesti važan je čimbenik nastanka i progresije sekundarne amiloidoze, što vrijedi i za bolesnike s Crohnovom bolešću. Također je pokazano da je rizik zatajenja bubrežne funkcije 4 puta veći kod bolesnika sa sekundarnom amiloidozom u sklopu Crohnove bolesti u odnosu na druga stanja koja uzrokuju sekundarnu amiloidozu (22). U tog bolesnika aktivnost bolesti nije se uspješno kontrolirala medikamentnom terapijom. Nedugo nakon dijagnoze upalne bolesti crijeva učinjena je desna hemikolektomija s ileotransverznom anastomozom. Bolest je karakterizirana brojnim relapsima.

Upalni procesi prethode nastanku sekundarne amiloidoze, međutim samo vrijeme nastanka i progresije sekundarne amiloidoze još su nedovoljno objašnjeni. U životinjskim modelima depoziti amiloida nađeni su od 18 sati do nekoliko tjedana nakon stimulacije upalnim procesima, a na nastanak i progresiju amiloidoze utjecali su različiti faktori (23,24). Vrijeme između dijagnoze Crohnove bolesti i sekundarne amiloidoze kreće se između 1 i 21 godine, a u tog se bolesnika dijagnoza nefrotskog sindroma i sekundarne amiloidoze postavila nakon 18 godina trajanja Crohnove bolesti (25). U literaturi je opisan i slučaj u kojem je 7 godina nakon dijagnoze bubrežne bolesti u sklopu sekundarne amiloidoze dijagnosticirana Crohnova bolest (26).

Dijagnoza bolesti postavlja se na temelju kliničke sumnje i patohistološke potvrde. Biopsija jetre i bu-

brega omogućava visoki stupanj potvrde dijagnoze, dok biopsija ostalih manje invazivnih i rizičnih mjesta kao što je abdominalno salo i rektum imaju manju dijagnostičku osjetljivost. Zbog toga se biopsija bubrega danas sve češće koristi pri sumnji na amiloidozu (27,28). U tog je bolesnika učinjena biopsija bubrega zbog prisutne masivne proteinurije. Bojanjem po Kongu u uzorku bez pretretmana kalijevim permanganatom dobila se pozitivna reakcija uz zeleni dvolom na polarizacijskom mikroskopu, što je potvrdilo da se radi o amiloidozi. Imunohistokemijskim metodama se potvrdilo da se radi o sekundarnoj amiloidozi. Imunohistokemijske metode imaju veliku specifičnost u potvrđivanju AA amiloidoze, dok su manje specifične pri dijagnozi AL amiloidoze (29).

Bubrezi su zahvaćeni u oko 90% oboljelih od primarne i sekundarne amiloidoze. Zahvaćenost bubrega prezentira se asimptomatskom proteinurijom, a kasnije razvojem nefrotskog sindroma, uglavnom težeg stupnja, s postupnom progresijom koja dovodi do zatajenja bubrežne funkcije i dijalize (14,16,27). Proteinurija u AA amiloidozi nastaje oštećenjem uzrokovanim depozitima amiloida, ali i toksičnim djelovanjem SAA proteina na glomerule (30). Za razliku od drugih uzroka bubrežnog zatajenja, bubrezi su u oboljelih od amiloidoze na ultrazvuku normalne veličine i morfologije, uz prisutne niže vrijednosti krvnog tlaka (14). Ovaj je bolesnik imao tipičnu kliničku sliku sekundarne amiloidoze s oštećenjem bubrežne funkcije uz normalnu veličinu i morfologiju bubrega na ultrazvuku, normotenzijom te nefrotskim sindromom. Prognoza bolesnika sa sekundarnom amiloidozom u korelaciji je prije svega sa stupnjem zahvaćenosti bubrega, a ako se ne liječi, 50% bolesnika umire unutar 5 godina od postavljanja dijagnoze (1,8,9). Do sada ne postoji uspješno specifično liječenje sekundarne amiloidoze, već je terapijski pristup usmjeren prije svega na liječenje primarne bolesti (10,11). Stoga su prevencija i rana dijagnoza bolesti iznimno važne. Redovito praćenje proteinurije važno je zbog rane dijagnoze sekundarne amiloidoze u bolesnika sa Crohnovom bolešću. Prevencija nastanka i progresije sekundarne amiloidoze može se postići održavanjem Crohnove bolesti u remisiji.

I druga tkiva mogu biti zahvaćena amiloidozom. Odlaganje amiloida, uz bubrež, najčešće je u jetri gdje vlakna amiloida uzrokuju narušavanje normalne građe i funkcije organa (1). Zahvaćenost srca rijetka je u AA amiloidozi, a češća u AL amiloidozi (16,27). Amiloidoza respiratornog trakta najčešće se očituje odlaganjem amiloida u submukozi traheobronhalnog stabla (31). Amiloidoza štitnjače prezentira se otokom vrata i difuznom strumom štit-

njače uz najčešće uredan hormonski status štitnjače, a opisana je i u bolesnika sa Crohnovom bolešću (32,33). Kod ovog je bolesnika poremećaj funkcije štitnjače nastao zbog gubitka proteina koji vežu hormone (TBG) u sklopu nefrotskog sindroma, a ne u sklopu amiloidoze, na što upućuje i uredan UZV štitnjače.

Liječenje bolesnika sa sekundarnom amiloidozom ima dvojaki pristup. Potrebno je smanjiti aktivnost primarne bolesti da se smanji stvaranje SAA proteina akutne faze upale, prekursora amiloida. S druge strane, potrebno je liječenje i same amiloidoze od trenutka njezine dijagnoze. U liječenje AA amiloidoze potrebno je usporiti progresiju bubrežne bolesti te smanjiti upalu i stvaranje SAA proteina (1,27). Međutim, u većine bolesnika stvaranje SAA proteina akutne faze upale ne može se zadovoljavajuće sniziti liječenjem primarne bolesti (10). Postoji nekoliko različitih terapijskih pristupa u liječenju sekundarne amiloidoze u bolesnika s Crohnovom bolešću, kao liječenje azatioprinom, kolhicinom, inhibitorima TNF- α i citotoksičnim lijekovima, ali i dalje ne postoji specifično liječenje AA amiloidoze. Kolhicin se u velikoj mjeri koristi u liječenju AA amiloidoze, smanjuje proteinuriju, stabilizira bubrežnu funkciju i značajno produžava preživljenje bolesnika (4,34). Učinkovitost kolhicina dokazana je i u bolesnika sa sekundarnom amiloidozom i nefrotskim sindromom u sklopu Crohnove bolesti, koji nisu zadovoljavajuće odgovorili na liječenje kortikosteroidima i imunosupresivima (35). U širokoj su upotrebi i inhibitori TNF- α , i to uglavnom infliksimab i etanercept (36,37). Djelovanje tih lijekova temelji se na učinku TNF- α na hepatocite, tijekom akutne faze upalnog odgovora, koji stimulira izlučivanje SAA proteina, prekursora amiloida. Studije s inhibitorima TNF- α dokazale su smanjenje cirkulirajućih razina SAA proteina i proteinurije kao i stabiliziranje bubrežne funkcije (36,37). Istraživanja su ukazala da su glikozaminoglikani, kao što je heparan sulfat, vrlo važni u nastanku amiloidoze. Eprodisat, koji je strukturno sličan heparan sulfatu, ulazi u interakciju između proteina amiloida i glikozaminoglikana i inhibira stvaranje depozita amiloida te usporava progresiju kronične bubrežne bolesti (30). Pretklinička su istraživanja pokazala da lijek koji veže P komponentu amiloida uzrokuje smanjenje serumske razine amiloida, sprječava njezino vezanje za tkiva i olakšava uklanjanje nataloženih vlakana amiloida iz tkiva (15).

Studije s infliksimabom u bolesnika s Crohnovom bolešću i AA amiloidozom pokazale su smanjenje proteinurije, ali je učinak na samu bubrežnu funkciju bio značajno manji (12,13,38). Kada nastane oštećenje bubrežne funkcije uzrokovano nakupljanjem

amiloida, TNF- α inhibitori, kao i ostali lijekovi, ne mogu značajno poboljšati funkciju bubrega, ali mogu značajno usporiti daljnju progresiju bubrežne bolesti (13). Dokazano je da infliksimab smanjuje sintezu ali i odlaganje amiloida u tkivima, jer se u kontrolnim biopsijama tkiva tijekom liječenja infliksimabom zabilježilo manje depozita amiloida (39-41). Liječenje infliksimabom treba započeti u bolesnika s umjereno oštećenom bubrežnom funkcijom, kao što je imao prikazani bolesnik koji je iz osobnih, nama nejasnih razloga, odbio liječenje, jer je moguće usporiti daljnju progresiju bubrežnog oštećenja prema završnom stupnju. Iako terapija infliksimabom smanjuje sintezu i odlaganje amiloida u tkivima, trenutno ne postoje lijekovi koji mogu odstraniti već nataložena vlakna amiloida (42). Transplantacija bubrega daje najbolju prognozu u bolesnika sa Crohnovom bolešću i sekundarnom amiloidozom uz zatajenje bubrežne funkcije (1).

L I T E R A T U R A

1. Lovat LB, Madhoo S, Pepys MB, Hawkins PN. Long-term survival in systemic amyloid A amyloidosis complicating Crohn's disease. *Gastroenterology* 1997; 112: 1362-5.
2. Wester AL, Vant MH, Fausa O. Secondary amyloidosis in inflammatory bowel disease: a study of 18 patients admitted to Rikshospitalet University Hospital, Oslo, from 1962 to 1998. *Inflamm Bowel Dis* 2001; 7: 295-300.
3. Brownstein MH, Helwig EB. Secondary systemic amyloidosis: analysis of underlying disorders. *South Med J* 1971; 64: 491-6.
4. Greenstein AJ, Janowitz HD, Sachar DB. The extra-intestinal complication of Crohn's disease and ulcerative colitis: a study of 700 patients. *Medicine Baltimore* 1976; 55: 401-12.
5. Weterman IT, Biemond I, Pena AS. Mortality and causes of death in Crohn's disease. Review of 50 years' experience in Leiden University Hospital. *Gut* 1990; 31: 1387-90.
6. Greenstein AJ, Sachar DB, Panday AK i sur. Amyloidosis and inflammatory bowel disease. A 50-year experience with 25 patients. *Medicine* 1992; 71: 261-70.
7. Ensari C, Ensari A, Tümer N, Ertug E. Clinicopathological and epidemiological analysis of amyloidosis in Turkish patients. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1721-5.
8. Potysová Z, Merta M, Tesar V, Jancová E, Honsová E, Rysavá R. Renal AA amyloidosis: survey of epidemiologic and laboratory data from one nephrology centre. *Int Urol Nephrol* 2009; 41: 941-5.
9. Bergesio F, Ciciani AM, Manganaro M i sur. Renal involvement in systemic amyloidosis: an Italian collaborative study on survival and renal outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 941-51.
10. Merlini G, Bellotti V. Molecular mechanisms of amyloidosis. *N Engl J Med* 2003; 349: 583-96.
11. Rysava R, Merta M, Spicka M i sur. Current therapeutic possibilities in primary and secondary amyloidosis and our experience with 31 patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 38-40.
12. Bosca MM, Perez-Baylach CM, Solis MA. Secondary amyloidosis in Crohn's disease: treatment with tumour necrosis factor inhibitor. *Gut* 2006; 55: 294-5.
13. Park YK, Han DS, Eun CS. Systemic amyloidosis with Crohn's disease treated with infliximab. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 431-2.
14. Khan MF, Falk RH. Amyloidosis. *Postgrad Med J* 2001; 77: 686-93.
15. Pepys MB, Herbert J, Hutchinson WL i sur. Targeted pharmacological depletion of serum amyloid P component for treatment of human amyloidosis. *Nature* 2002; 417: 254-9.
16. Falk RH, Comenzo RL, Skinner M. The systemic amyloidoses. *N Engl J Med* 1997; 337: 898-909.
17. Simms RW, Prout MN, Cohen AS. The epidemiology of AL and AA amyloidosis. *Baillieres Clin Rheumatol* 1994; 8: 627-34.
18. Trivino A, Sanchez Lombrana JL, Linares A, Perez R, Herrero Zapatero A, Rodrigo L. Ulcerative colitis and amyloidosis. Presentation of a case and review of the literature. *Rev Esp Enferm Dig* 1992; 82: 117-20.
19. Cooke WT, Mallas E, Prior P. Crohn's disease: course, treatment and long term prognosis. *Q J Med* 1980; 49: 657-62.
20. Kirschner BS, Samowitz WS. Secondary amyloidosis in Crohn's disease of childhood. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1986; 8: 16-21.
21. Saitoh O, Kojima K, Teranishi T i sur. Renal amyloidosis as a late complication of Crohn's disease: a case report and review of the literature from Japan. *World J Gastroenterol* 2000; 6: 461-4.
22. Lachmann HJ, Goodman HJB, Gilbertson JA i sur. Natural history and outcome in systemic AA amyloidosis. *N Engl J Med* 2007; 356: 2361-71.
23. Graether SP, Young ID, Kisilevsky R. Early detection of inflammation-associated amyloid in murine spleen using thioflavin T fluorescence of tissue homogenates: implications for amyloidogenesis. *Amyloid* 1996; 3: 20-27.
24. Kindy MS, Rader DJ. Reduction in amyloid A amyloid formation in apolipoprotein-E deficient mice. *Am J Pathol* 1998; 152: 1387-95.

25. Lowdell CP, Shousha S, Parkins RA. The incidence of amyloidosis complicating inflammatory bowel disease. A prospective survey of 117 patients. *Dis Colon Rectum* 1986; 29: 351-4.
26. Fernandez-Castroagudin J, Brage Varela A, Lens Neo XM, Martinez Castro J, Abdulkader I. Renal amyloidosis as initial clinical manifestation of Crohn's disease. *Gastroenterol Hepatol* 2002; 25: 395-7.
27. Palma CL, Grünholz D, Osorio G. Clinical features of patients with the pathological diagnosis of amyloidosis. *Rev Med Chil* 2005; 133: 655-61.
28. Röcken C, Sletten K. Amyloid in surgical pathology. *Virchows Arch* 2003; 443: 3-16.
29. Lachmann HS, Booth DR, Booth SE i sur. Misdiagnosis of hereditary amyloidosis as AL (primasy) amyloidosis. *N Engl J Med* 2002; 346: 1786-91.
30. Dember LM, Hawkins PN, Hazenberg BPC. Eprodisate for the treatment of renal disease in AA amyloidosis. *N Engl J Med* 2007; 356: 2349-60.
31. Rubinow A, Celli BR, Cohen AS, Rigden BG, Brody JS. Localized amyloidosis of the lower respiratory tract. *Am Rev Respir Dis* 1978; 118: 603-11.
32. Ikenoue H, Okamura K, Kuroda T, Sato K, Yoshinari M, Fujishima M. Thyroid amyloidosis with recurrent subacute thyroiditis-like syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 41-5.
33. Habu S, Watanobe H, Kimura K, Suda T. A case of amyloid goiter secondary to Crohn's disease. *Endocr J* 1999; 46: 179-82.
34. Inarrairaegui Bastarrica M, Arin Letamendia A, Zozaya Urmeneta JM i sur. Inflammatory bowel disease and amyloidosis. *Gastroenterol Hepatol* 2004; 27: 260-3.
35. Garrido Serrano A, Guerrero Igea FJ, Hierro Guilmain C, Ruiz Lupianez E, Palomo Gil S. Good response to colchicine in amyloidosis secondary to inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol* 2001; 24: 196-8.
36. Fernandez-Nebro A, Tomero E, Ortiz-Santamaria V i sur. Treatment of rheumatic inflammatory disease in 25 patients with secondary amyloidosis using tumor necrosis factor alpha antagonists. *Am J Med* 2005; 118: 552-6.
37. Nakamura T, Higashi S, Tomoda K, Tsukano M, Baba S. Efficacy of etanercept in patients with AA amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2007; 25: 518-22.
38. Iizuka M, Konno S, Horie Y, Itou H, Shindo K, Watanabe S. Infliximab as a treatment for systemic amyloidosis associated with Crohn's disease. *Gut* 2006; 55: 744-5.
39. Verschueren P, Lensen F, Lerut E i sur. Benefit of anti-TNF alpha treatment for nephrotic syndrome in a patient with juvenile inflammatory bowel disease associated spondyloarthropathy complicated with amyloidosis and glomerulonephritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 368-9.
40. Ori Elkayam, Hawkins PN, Lachmann H i sur. Rapid and complete resolution of proteinuria due to renal amyloidosis in a patient with rheumatoid arthritis treated with infliximab. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2571-3.
41. Gottenberg JE, Merle-Vicent F, Bentaberry F i sur. Anti-tumor necrosis factor α therapy in fifteen patients with AA amyloidosis secondary to inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2019-24.
42. Nakamura T. Clinical strategies for amyloid A amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol* 2008; 18: 109-18.

S U M M A R Y

SECONDARY (AA) AMYLOIDOSIS IN CROHN'S DISEASE

T. BULUM, I. PRKAČIN¹, G. CAVRIĆ¹, N. SOBOČAN¹,
B. ŠKURLA¹, L. DUVNJAK and S. BULIMBAŠIĆ²

Vuk Vrhovac Clinic for Diabetes, Endocrinology and Metabolic Diseases, ¹University Department of Medicine, Merkur University Hospital, and ²Department of Pathology, Dubrava University Hospital, Zagreb, Croatia

Amyloidosis is a clinical entity that results from deposition of an extracellular protein material that causes disruption in normal architecture and impairs function of multiple organs and tissues. Secondary amyloidosis (AA) is a rare but serious complication that occurs in the context of cancer, chronic inflammation and chronic infectious diseases, including inflammatory bowel disease, mainly long-standing Crohn's disease. Renal failure is the most common clinical presentation of AA, ranging from nephrotic syndrome and impaired renal function to renal failure, with a potential for high morbidity. The incidence of the association of

secondary amyloidosis in patients with Crohn's disease has been reported to be 0.5%-8%. We present a case of a 39-year-old male patient diagnosed with Crohn's disease at age 21 and submitted to right hemicolectomy because of ileus 17 years before. Thereafter, he was treated with corticosteroids for 15 years and with azathioprine for a short period; in the last three years he was on therapy with mesalazine alone. He was hospitalized due to worsening clinical condition and re-evaluation of the underlying disease. Physical examination revealed marked peripheral edema in both lower extremities. Endoscopic and radiographic examinations confirmed the underlying disease activity. Laboratory tests showed an increase of inflammatory reactants, anemia, hypocalcemia, and severe hypoalbuminemia and hypoproteinemia. He had proteinuria over 24 g/L and creatinine clearance of 66 mL/min, falling within second grade of chronic kidney disease. Renal biopsy was performed for evaluation of renal insufficiency with nephrotic range proteinuria. Congo red staining showed the presence of characteristic amyloid deposition; deposits immunoreacted with the antibody against amyloid A protein, confirming the diagnosis of secondary amyloidosis. The patient was suggested active induction treatment with corticosteroids and azathioprine to achieve remission of Crohn's disease, thereafter treatment with infliximab, but he did not consent with this therapy at that time. Studies with infliximab have demonstrated a decrease in SAA circulating levels and proteinuria, as well as stabilization of renal function. Amyloidosis is frequently described as a major cause of death in patients with Crohn's disease, with long-term mortality between 40% and 60%. Various therapeutic attempts such as azathioprine, colchicine, dimethyl sulfoxide, infliximab, and elemental diets have been tried but there is no definite treatment for secondary amyloidosis in Crohn's disease. Kidney transplantation may offer the best prospects for patients with Crohn's disease who develop amyloidosis and end-stage renal failure.

Key words: amyloidosis, Crohn's disease, nephrotic syndrome

ILEUS IZAZVAN METASTAZOM KOŽNOG MALIGNOG MELANOMA: PRIKAZ BOLESNIKA

JOSIP FAJDIĆ, DRAŽEN ĐUROVIĆ, NIKOLA GOTOVAC,
DAMIR GUGIĆ¹, TOMISLAV STASTNY i FERDINAND SLIŠURIĆ

*Opća županijska bolnica Požega, Požega i Odjel za onkologiju i radioterapiju,
Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska*

Opisana je rijetka pojava metastaze malignog melanoma (MM) u tankom crijevu praćena kliničkom slikom akutnog kirurškog abdomena. Bolesnica u dobi od 42 godine operirana je u našoj ustanovi u travnju 2009. zbog suspektne neovusa u području desne nadlaktice. Patohistološki radilo se o melanomu promjera 1,5 cm. [Breslow 11mm. Clark IV (T4), mikroskopski broj mitoze 1,4 per mm², ulceracija se ne opisuje]. Uputili smo je na nastavak liječenja u Referentni centar za melanome, Klinička bolnica "Sestre milosrdnice", Zagreb. Tamo je bolesnica obrađena te je učinjena široka ekscizija (3 cm slobodnog ruba), a nakon pozitivne sentinel biopsije evakuacija sadržaja desne aksile. U nastavku je primila šest doza kemoterapije. Javlja se u našu ustanovu u svibnju 2010. pod kliničkom slikom ileusa tankog crijeva i akutnog kirurškog abdomena. Nakon kraće pripreme istog je dana operirana. Uzrok ileusa bila je metastaza u tankom crijevu. Učinjena je resekcija uz uspostavu kontinuiteta crijeva. Bolesnica je otpuštena na kućnu njegu deset dana nakon zahvata bez komplikacija. Ovaj prikaz bolesnika opisuje u literaturi rjeđe opisivane slučajeve hematogenog i limfogenog rasapa MM otkrivenog pod kliničkom slikom druge kirurške bolesti.

Ključne riječi: maligni melanom kože, visceralna metastaza, ileus tankog crijeva

Adresa za dopisivanje: Prof. dr. sc. Josip Fajdić, dr. med.
Opća županijska bolnica Požega
Osječka 107
34000 Požega, Hrvatska
E-pošta: josip.fajdic@po.t-com.hr

UVOD

Maligni melanomi kože (u daljnjem tekstu melanom) čine samo 4-5% među malignim lezijama kože, ali su uzrok većine smrti od kožnih maligniteta. Medijan dobi kod otkrivanja je između 45. i 55. godine života. Radi se o najpotentnijem malignitetu kože i sluznice, koji pokazuje izrazitu sklonost metastaziranju hematogenim i limfogenim putem, sa 80%-om smrtnošću (1,2). Petogodišnje preživljenje bolesnika s hematogenim rasapom melanoma je razočaravajuće nisko, svega 5%. To je tumor s izrazito naglim porastom incidencije i smrtnosti u gotovo svim zemljama svijeta, pa čak i u onima koje su imale do sada niske stope incidencije (Japan) (3). Najveće su stope incidencije u Australiji i N. Zelandu, te Americi i Europi (4-5). Iako sudjeluje sa svega 2,8% u ukupnoj godišnjoj incidenciji malignih bolesti, u Hrvatskoj melanom također bilježi porast incidencije u svim dobnim skupinama (6). Prema posljednjim statističkim podacima od ma-

lignog melanoma kože u Republici Hrvatskoj je u 2008. godini umrlo 177 osoba (3,9/100.000) (7). Prema klasifikaciji AJCC važno je i klinički i patološki grupirati melanome uz preporuku sentinel biopsije kod tumora gr. Ib-IV, jer je to terapijski postupak, ali i jedan od najvažnijih prognostičkih čimbenika. U TNM klasifikaciji melanoma za T kategoriju najvažniji čimbenici su debljina melanoma i tumorske ulceracije uz važnost utvrđivanja broja mitoze samo kod T1 stadija melanoma radi podgrupiranja u T1a ili T1b podskupinu. Važni su i prognostički čimbenici vezani za sjelo tumora: izmjerena debljina melanoma, (ne)postojanje ulceracija (je li epidermis iznad melanoma histopatološki intaktan), razina serumskog LDH (povišena vrijednost je loš prognostički pokazatelj), broj mitoze, limfocitna infiltracija, razina invazije, vertikalna faza rasta i regresija tumorskih stanica. Za N kategoriju u slučaju pozitivnog nalaza sentinel biopsije utvrđuje se broj limfnih čvorova zauzetih metastazama te se prema tom broju čini stupnjevanje, dok je u M kategoriju

uz postojanje ili nepostojanje udaljenih metastaza uključena i vrijednost LDH (8).

Melanotične kožne lezije s promjenama u boji označavaju se ABCD i E pravilom (9-12).

Asymmetry - nepravilnost: lezija gubi pravilno simetrični kuglasti oblik, asimetričnost jedne polovice lezije u odnosu na drugu polovicu.

Border - rub: dok su rubovi kod nevusa oštro ograničeni od okolne kože pravilnom kružnom linijom kod melanoma su rubovi lezije često nazubljeni, nepravilni, uz pojavu zrakastog širenja.

Color - boja: više od jedne boje u leziji, neravnomjerna pigmentiranost lezije.

Diameter - promjer: promjer veći od 6 mm, taj kriterij je danas u drugom planu zbog porasta broja melanoma i manjih od 6 mm.

Evolving - evolucija lezije uključuje važnost promjene pigmentirane lezije u procesu progresije melanoma, ukazuje na dinamički karakter kožnog maligniteta, posebno kod nodularnog melanoma.

Poznata su četiri tipa melanoma kože prema načinu rasta (13) i to:

- Površno šireći melanom - *Superficial Spreading Melanoma* (SSM) - najčešći je u populaciji bijelaca i čini 70% svih MM.
- Nodularni melanom (NM) - obuhvaća 15%-30% svih melanoma. Javlja se najčešće u dobi između 40.-50. godine
- Lentigo maligna melanoma (LMM) - je dosta rijedak oblik melanoma koji se javlja u starijoj životnoj dobi (nakon 65. g.) i čini svega oko 5% svih melanoma s podjednakom distribucijom u oba spola.
- Akralni lentiginozni melanom (ALM) - čini samo 2%-8% bolesnika zahvaćenih tom bolešću u dobi iznad 65 g. Ovaj oblik se najčešće susreće u osoba tamnije rase, a lokaliziran je na dlanovima, tabanima i ispod noktiju. Čini se da je ta lokalizacija često puta razlog kasnijeg otkrivanja bolesti.

Potrebno je napomenuti da postoji povećani rizik od razvoja drugog primarnog tumora u bolesnika s melanomom od 1% do 8% i taj je rizik čak 900 puta veći od onoga u općoj populaciji (1). Ne postoji klasična (tipična) slika melanoma, a osnovna klinička značajka je pigmentirana lezija kože koja ima tendenciju mijenjanja mjesecima i godinama. Osnovni način liječenja melanoma je kirurški zahvat, koji uslijedi nakon PH dijagnoze i određivanja stupnja bolesti (*staging*). Obično se nakon ekscizijske biopsi-

je i PH verifikacije melanoma učini radikalna reekscizija dok se ne postignu potpuno zdravi rubovi kože. (T1 i T2 : 1 cm, T3: 2 cm, T4: 3 cm zdravih rubova kože) (14). Nezaobilazno je provođenje i sentinel biopsije vodećeg limfnog čvora (SLNB) kod svih nepalpabilnih limfnih čvorova uz tumore koji su deblji od 1,0 mm, odnosno kod svih tumora i tanjih od 1 mm ako su prisutne ulceracije i >1 mitozu po velikom vidnom polju (15,16). Kod svih metastatskih promjena u sentinel limfnom čvoru indicirana je limfadenektomija. U nastavku slijedi sistemsko liječenje polikemoterapijom. Kirurško je liječenje indicirano i kod metastatskog melanoma ako su metastaze lokaliziranog tipa (solitarne - na jednom organu), za razliku od diseminacije osnovne bolesti kada je indicirano isključivo sistemsko liječenje (17). Statistika i klinička iskustva su pokazala da bolesnici s udaljenim metastazama u koži i potkožju kao i u udaljenim limfnim čvorovima imaju znatno duže preživljenje u odnosu na one s metastazama u visceralnim organima i s povišenom LDH (18-20). Bolesnici s plućnim metastazama su svrstani u sredinu između tih dviju skupina (2). Bolest se u nižoj frekvenciji pojavnosti (oko 10%) manifestira i kao obiteljski ili porodični melanom (21). Najčešća sijekla udaljenih metastaza su: koža, potkožje, udaljeni limfni čvorovi (nevisceralne metastaze): 40%-60%, zatim pluća u 18%-36%, jetra u 14%-20%, mozak u 12%-20%, kosti u 11%-17%, crijevo u 1%-7%, a svi ostali visceralno organi u 1%.

Ipak danas se smatra da melanom može metastazirati praktički u svaki organ (22). U ovom prikazu želimo prikazati bolesnicu s dosta rijetkom metastazom melanoma u tankom crijevu i omentumu koji je izazvao opstruktivski ileus s kliničkom slikom akutnog abdomena, što je prema statistici prilično rijetka lokalizacija metastaza melanoma, s lošom prognozom.

PRIKAZ BOLESNICE

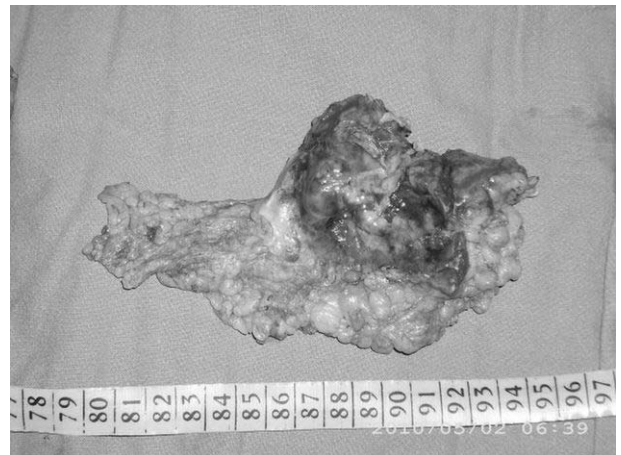
Bolesnica je imala 43 godine. Do sada je uglavnom bila zdrava sve do 4. mj. 2009. godine kada je zbog melanotične kožne eflorescence na desnoj nadlaktici (pT4), prvi puta operirana u našoj ustanovi sa zdravim rubovima kože od 1 cm. Patohistološki se radilo o nodularnom melanomu promjera 1,5 cm., Breslow 11 mm, Clark's level IV (T4). Histološki je građen od ekspanzivnih nodula melanocita smještenih u dermisu, uz agregate nodularne infiltracije u dermisu na bazi tumora uz vertikalnu fazu rasta (nodularni MM), mikroskopski broj mitozu 1,4 po mm², ulceracija se ne opisuje. Kod primarne ekscizije lezije prema navodu operatera, a koji je prvi

koautor ovog prikaza bolesnice, nije bilo vidljivih satelitskih lezija oko melanoma. Nakon primarne ekscizije i PHD verifikacije nalaza upućena je na nastavak obrade i liječenje u Referentni centar Ministarstva zdravstva u Kliniku za kožne i spolne bolesti Kliničke bolnice "Sestre milosrdnice" u Zagrebu te je tamo obrađena a na Klinici za kirurgiju iste bolnice učinjena je reekscizija sa 3 cm zdravog ruba te nakon pozitivnog nalaza sentinel biopsije evakuacija sadržaja desne aksile. Uslijedio je protokol onkološkog liječenja, te je u pacijentice provedeno ukupno šest ciklusa polikemoterapije. Nemamo točnih podataka po kojem je protokolu provedena kemoterapija jer je provedena u drugoj ustanovi. Pacijentica je čitavo vrijeme pod nadzorom onkologa i dermatologa, a posljednju je kontrolu obavila samo deset dana prije javljanja zbog bolova u abdomenu. Svi hematološko-biokemijski nalazi bili su uredni. Tijekom obrade na Klinici učinjen je i PET/CT sken te su uočene promjene na plućima, uterusu i lijevoj suprarenalnoj žlijezdi, vrlo suspektne na sekundarizam! Pet dana prije dolaska u bolnicu pacijentica ima grčevite bolove u trbuhu tipa kolika s učestalim i rijetkim stolicama bez primjesa sluzi i krvi. Na dan prijma u našu bolnicu 01. 05. 2010. osjetila je pojačane bolove, nije povraćala. Kod prijma klinički nalaz upućuje na akutni kirurški abdomen sa kliničkom i radiološkom slikom ileusa tankog crijeva, uz najjaču bolnost i peritonealni podražaj u desnom hemi-abdomenu. Osim ostalih nalaza u bolesnice je upadljiva vrlo niska crvena krvna slika i povišeni upalni parametri: (E: 2,84 Hgb: 68 HTC: 0,225 MCV:70,3, MCHC: 302, L: 9,3, K: 3,7, GUK: 6,6, CRP: 186,8). Rtg pluća bez jasno vidljivih nodalnih sekundarizama, a nativna rentgenska slika abdomena u stojećem stavu pokazuje nekoliko aerolikvidnih razina u vijugama tankog crijeva. Nakon korekcije elektrolita (K) i crvene krvne slike transfuzijama svježe krvi, u pacijentice je učinjena eksploracijska laparotomija. Nađe se egzulcerirani metastatski tumorski proces na jejunumu s metastatskim čvorovima u mezenteriju i dijelu velikog omentuma. Učinjena je resekcija tankog crijeva s tumorom s termino-terminalnom anastomozom, te resekcija dijela mezenterija i velikog omentuma zahvaćenih nodalnim promjenama. U opisu patohistologa navedeno je da je tumor crne boje, veličine 6 cm u promjeru i da prožima sve slojeve crijeva. Isto tako opisuju se spomenuti čvorovi u mezenteriju i omentumu. Tumorsko je tkivo građeno od mase malignih melanocita s obiljem pigmenta melanina intracelularno i ekstracelularno. PHD dijagnoza: *Melanoma metastaticum intestini, mesenterii et omenti*. Poslijeoperacijski tijek bolesnice protječe uredno, četvrtog dana premještena iz JIL-a na odjel, te se uz urednu crijevnu peristaltiku prelazi na laganu peroralnu prehranu. Uz uredne laboratorijske nalaze, 10. dana nakon kirurškog za-

hvata, otpuštena je na kućnu njegu. Preporučeno je onkološko praćenje. Zbog pogoršanja općeg stanja hospitalizirana je na Odjelu interne medicine u našoj ustanovi u kolovozu 2010., a umrla je tri dana nakon prijma. Obdukcija na zahtjev obitelji nije učinjena.



Sl.1. Metastaza tankog crijeva



Sl. 2. Metastaza omentuma

RASPRAVA I ZAKLJUČAK

Melanom je tumor sačinjen od maligno transformiranih stanica melanocita. Melanociti su stanice podrijetlom iz neuralne cijevi koje tijekom fetalnog razvitka migriraju u različite dijelove tijela, najviše u kožu. Smještene su na epidermno-dermalnom prijelazu uzduž bazalne membrane. Zbog raznih kancerogenih poticaja (danas se najviše ističe UV-zračenje) te se stanice maligno transformiraju u melanom. Najčešća klinička prezentacija melanoma je pigmentirana kožna lezija – maligni melanom kože.

Najčešća sijela udaljenih metastaza su mozak, pluća, jetra, kost. Primjer ove bolesnice potvrđuje pravilo da se metastaza kožnog malignog melanoma može naći u bilo kojem organu (2). Ipak, intestinalna lokalizacija metastaza je među najrjeđima, pogotovo kada se prezentira pod slikom mehaničkog ileusa tankog crijeva. Ova bolesnica je imala melanom IV. stadija uz suspektne visceralne metastaze. Od postavljanja dijagnoze prognoza je bila skromna. Treba napomenuti da je upravo ileus, odnosno klinička slika akutnog abdomena, bila razlogom kirurške intervencije koju smo poduzeli u naše bolesnice. Samo bez slike ileusa bilo bi provedeno sistematsko liječenje. Prema klasifikaciji temeljenoj na načinu rasta, melanom u ove bolesnice spada u nodularne melanome koji prema statistici čine oko 15%. Karakterizira ih vertikalna faza rasta a zbog velikog udjela tumora veće debljine imaju najnepovoljniju prognozu među melanomima (13). Kako je bolesnica završila letalno samo tri mjeseci nakon posljednje operacije, potvrdilo se pravilo iz literature, o znatno lošijoj prognozi onih bolesnika u kojih su metastatske promjene bile lokalizirane u visceralnim organima (23). Ovdje se također potvrdilo „pravilo zdravih rubova“ (o čemu postoje jasni stavovi u literaturi), prema kojem je kod T4 tumora potreban zdravi rub od barem 3 cm (24).

Među drugim prognostičkim čimbenicima osim karakteristika primarnog tumora (njegove debljine, ulceracija, broja mitoze i stupnja invazije) ključni su za procjenu i status regionalnih limfnih čvorova te eventualno postojanje udaljenih metastaza (25). Zaključno, melanom je kompleksna bolest čiji je nastanak ovisan ponajviše o genskim, odnosno konstitucijskim čimbenicima, uz znatan utjecaj okoline (26). U trećine oboljelih razvijaju se udaljene metastaze, a u 86% bolesnika metastaze su lokalizirane u jednom organu. Pet-godišnje preživljenje bolesnika s udaljenim metastazama iznosi svega oko 2,3%! Debljina tumora još je uvijek najvažniji primarni prognostički pokazatelj u stadiju lokaliziranog melanoma (27).

Melanom je malignitet u porastu. Prevencija je poznata, liječenje u ranim stadijima vrlo učinkovito uz visoke stope 5- i 10-godišnjeg preživljavanja (desetogodišnje preživljavanje između 87% i 97% kod T1 melanoma) (8). Postojanje jednog Referentnog centra za melanome u RH iz kojeg se definiraju modaliteti i daju smjernice za prevenciju, dijagnozu, stupnjevanje i liječenje oboljelih od melanoma dobar je korak prema naprijed koji i nama izvan velikih središta olakšava tretman oboljelih. Timski rad stručnjaka različitih specijalnosti (dermatologa, kirurga, patologa, onkologa, radiologa, citologa, internista i dr.) je nužan u dijagnostici, stupnjevanju i liječenju oboljelih od melanoma (28).

L I T E R A T U R A

1. Šitum M i sur. Prevencija i klinička obilježja malignog melanoma. Melanom - Znanstveni simpozij HAZU. Zagreb: Zagreb, 2008, 21-37.
2. Dabelić N, Kusić Z. Sustavno liječenje rezidualnog, recidivirajućeg i metastatskog melanoma. Melanom - Znanstveni simpozij HAZU. Zagreb: HAZU, 2008, 125-37.
3. Strnad M. Epidemiologija melanoma kože. Melanom - Znanstveni simpozij HAZU. Zagreb: HAZU, 2008, 11-21.
4. Marks R. Epidemiology of melanoma. Clin Exp Dermatol 2000; 25: 459-63.
5. De Vries E, Jerzy E, Tyczynski E, Parkin M. Cutaneous Malignant Melanoma in Europe. ENCR Cancer Facts Sheets, European Network of Cancer Registries and International Agency for Research on Cancer. No. 4, November 2003.
6. Strnad M, Lipozenčić J. Epidemiologija kožnih tumora u svijetu i u nas. U: Dermatološka onkologija. Zagreb: Medicinska naklada, 2009, 5-11.
7. Hrvatski zavod za javno zdravstvo (HR). Izvješće o umrlim osobama u Hrvatskoj u 2008. godini. Zagreb: HZJZ;2009.
8. Edge SB, Byrd DR, Compton CC i sur, ur.. AJCC cancer staging manual. 7th ed. NewYork: Springer, 2010.
9. Marghoob AA, Slade J, Kopf AW i sur. The ABCD rule of melanoma: Why change? J Am Acad Dermatol 1995; 32: 682-4.
10. Thomas L, Trancand P, Berard F i sur. Semiological value of ABCD criteria in the diagnosis of cutaneous pigmented tumors. Dermatology 1998; 197: 11-17.
11. Soong S, Zhang SJ, Desmond RA. Models for predicting outcome, U: Balch CM, Houghton AN, Sober AJ, Soong SJ, ur. Cutaneous Melanoma. 4. ed. St. Louis, Missouri: Quality Medical Publishing Inc, 2003, 77-90.
12. Darell S, Rigel DS. Friedman RJ, Kopf AW, Polsky D. ABCDE - An evolvong concept in the early detection of melanoma. Arch Dermatol 2005; 141: 1032-4.
13. Anderson R. Skin tumors II: melanoma. Selected Readings in Plastic Surgery 2004; 10: 19-33.
14. Stanec Z, Rudman F, Stanec S. Melanom - kirurško liječenje. U: Melanom - Znanstveni simpozij HAZU. Zagreb: HAZU, 2008, 85-97.
15. Morton DL, Wanek L, Nizze JA i sur. Improved long-term survival after lymphadenectomy of melanoma metastatic to regional nodes. Analysis of prognostic factors in 1134 patients from the John Wayne Cancer Clinic. Ann Surg 1991; 214: 491-9.

16. Balch CM, Cascinelli N. Sentinel-node biopsy in melanoma. *N Engl J Med* 2006; 355: 1370-1.
17. Wood TF, DiFronzo LA, Rose DM i sur. Does complete resection of melanoma metastatic to solid intra-abdominal organs improve survival? *Ann Surg Oncol* 2001; 8: 658-62.
18. Finck SJ, Giuliano AE, Morton DL. LDH and melanoma. *Cancer* 1983; 51: 840-3.
19. Deichmann M, Benner A, Bock M i sur. S100-beta, melanoma-inhibiting activity and lactate dehydrogenase discriminate progressive from nonprogressive AJCC stage IV melanoma. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1891-6.
20. Eton O, Legha SS, Morton TE i sur. Prognostic factors for survival of patients treated systemically for disseminated melanoma. *J Clin Oncol* 1998; 16: 1103-11.
21. Shennan MG, Badin AC, Walsh S i sur. Lack of germline mutations in familial melanoma. *Oncogene* 2000; 19: 1849-52.
22. Budi S. Melanom sluznica ostalih organa. U: Stanec S, Stanec Z i sur. *Melanom*. Zagreb: Medicinska naklada, 2006, 343-9.
23. Ross M, Stern SJ. Mucosal melanomas. U: Balch CM, Milton GW, ur. *Clinical Management and Treatment Results Worldwide*. Philadelphia: JB Lipincott, 2003, 297-308.
24. Heaton KM, Sussman JJ, Gershenwald JE i sur. Surgical margins and prognostic factors in patients with thick (>4mm) primary melanoma. *Ann Surg Oncol* 1998; 5: 322-8.
25. Balch CM, Soong SJ, Gershenwald JE i sur. Prognostic factors analysis of 17.600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3622-34.
26. Levanat S. Biologija melanoma i obiteljski melanom. U: Stanec S, Stanec Z i sur. *Melanom*. Zagreb: Medicinska naklada, 2006, 29-46.
27. Breslow A. Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanomas. *Ann Surg* 1970; 172: 902-8.
28. Anderson RG. Skin tumors II: Melanoma. *Selected Readings in Plastic Surgery* 2004; 10: 1-48.

S U M M A R Y

ILEUS CAUSED BY METASTASIS OF CUTANEOUS MALIGNANT MELANOMA : CASE REPORT

J. FAJDIĆ, D. ĐUROVIĆ, N. GOTOVAC, D. GUGIĆ¹, T. STASTNY and F. SLIŠURIĆ

Department of General Surgery, Požega General County Hospital, Požega and

¹Department of Oncology and Radiology, Osijek University Hospital Center, Osijek, Croatia

In this case report we describe rare metastatic appearance of cutaneous malignant melanoma (MM) in small intestine followed by clinical appearance of acute surgical abdomen. A 42-year old women operated in our hospital in April 2009. due to unusual naevus on her right arm. Pathologically it was MM grossly 1.5 cm, microscopically Breslow 11 mm, Clark's level IV (T4), number of mitosis 1.4 per mm², without ulcerations. She was sent to continue treatment at the National Referral Center for Melanoma in KB "S. milosrdnice" Zagreb, Croatia. A month later wider excision (3 cm free margin) and sentinel lymph node biopsy (SLNB) was made there followed by axillary lymphadenectomy due to positive axillary finding. She received six cycles of chemotherapy. She arrived in our hospital in May 2010, under clinical picture of small intestine ileus and acute surgical abdomen. After preparation she was operated the same day. The cause of ileus was metastasis of MM in the small intestine. We made intestinal resection with termino-terminal anastomosis. The patient was released to home care ten days after operation without any complication. This case report demonstrates rarely described case of MM metastasis in the small intestine found causing ileus.

Key words: skin malignant melanoma (MM), visceral metastasis, small intestine ileus

REANIMACIJA IZRAVNOM MASAŽOM SRCA U POVIJESTI KIRURGIJE I ANESTEZIJE BJELOVARSKE BOLNICE

DUBRAVKO HABEK

Klinika za ginekologiju i porodništvo Medicinskog fakulteta i Kliničke bolnice „Sveti Duh“, Zagreb, Hrvatska

U povijesnom pregledu prikazani su slučajevi u kojih je primijenjena izravna masaža srca u bolesnika s intraoperacijskim zastojem rada srca (*cardiac arrest*) u Kirurškom odjelu bjelovarske Opće bolnice. Od pet prikazanih slučajeva u razdoblju od 1960. do 1970. godine, uspješno su reanimirana dva bolesnika, od kojih je jedan preživio bez kasnijih posljedica i urednim životom. Razmatra se o teškom općem stanju bolesnika, komorbiditetu i anestezijskim incidentima kao mogućim uzrocima aresta te o kadrovskim i logističkim problemima provincijske bolnice toga vremena.

Ključne riječi: povijest, anestezija, kirurgija, torakotomija, reanimacija, masaža srca

Adresa za dopisivanje: Doc. dr. sc. Dubravko Habek, prim. dr. med.
Klinika za ginekologiju i porodništvo
Klinička bolnica "Sveti Duh"
Sveti Duh 64
10000 Zagreb, Hrvatska
Fax: 01 3745534
e-pošta: dubravko.habek@os.t-com.hr

UVOD

Povijesni razvoj opće kirurgije i anestezije bjelovarske bolnice šezdesetih godina 20. stoljeća karakterizira stručni uzlet, uvođenje novih metoda i sinkrono razvijanje.

Razvoj anestezije pratio je sve operacijske struke, ali problem izrazitog manjka liječnika-anestezijologa bio je uobičajen, pa se u većini bolnica taj problem rješavao osposobljavanjem liječnika sekundaraca ili, najčešće, educiranim medicinskim sestrama-anestetičarima koje su bile osposobljene za inhalacijsku anesteziju kapanjem etera na Schimmelbuschovu masku, endotrahealnu anesteziju (eter, dušični oksidul+kisik, miorelaksans-najčešće sukcinil-kolin) i intravensku anesteziju (tiopental-kemital, propanidid, hidroksohidol). Njihov rad je kontrolirao operater, kirurg ili ginekolog, koji je i preuzimao odgovornost za moguće komplikacije tijekom opće anestezije, a tadašnjih godina je i javnost postajala sve osjetljivija za zbivanja unutar bolničkih zidova, posebice onih „nesretnih“ (1-3). O navedenim problemima provincijske kirurgije i anestezije i posljedica tih godina pisao je prim. dr. Dolezil, šef Kirurškog odjela Bjelovarske bolnice od 1958. do 1962. godine (4). Uz navedene probleme,

to su razdoblje obilježila dinamična kadrovska zbivanja, kada su se izmijenili deseci sekundarnih liječnika, specijalisti-šefovi odjela zadržavali se vrlo kratko, specijalizanti su prekidali specijalizacije, a operacijsko medicinsko osoblje (instrumentarke, anestetičari) zbog težine posla, stalnih dežurstava i pripravnosti često su odlazili na druga radilišta u bolnici, u druge bolnice ili u inozemstvo (2,3,5).

Intraoperacijske komplikacije zadesnog zastoja rada srca nastalih najčešće zbog lošeg općeg stanja bolesnika, komorbiditeta i komplikacija opće anestezije rješavalo se intravenskom reanimacijom lijekovima, ali i izravnom masažom srca. Mada tehnički jednostavan, taj je zahvat bio tih godina golem izazov za operatere u provincijskoj bolnici, koja je bila poznate i dokazane tradicije opće i hitne kirurgije u tadašnjim uvjetima kadrovske i medicinsko-tehnološke logistike (1-5).

U ovome povijesnom pregledu prikazat će pet slučajeva izravne (direktne, unutrašnje) masaže srca kod zadesnog zastoja rada srca (*cardiac arrest*) tijekom anestezije i kirurških operacija u razdoblju od 1960. do 1970. godine učinjenih u Kirurškom odjelu Bolnice u Bjelovaru.

PRIKAZI BOLESNIKA

1) U operacijskom protokolu pod. rb. 371., dana 24. svibnja 1962. godine elektivno je operiran 27-godišnji bolesnik I. H. (mbr. 3462/62), inače bolesnik Internog odjela bjelovarske bolnice koji je premešten na operacijski zahvat s dg. *Tbc. lymphadenitis colli lat. sin. tbc. purulenta*. Tijekom pokušaja ekstirpacije limfnoga čvora (*Tentamen extirpationis lymphoglandularum tbc. colli lat. sin.*), zadesi se zastoj rada srca (6). Nakon neuspješne vanjske masaže srca i kontrolirane ventilacije, učini se torakotomija

i izravna masaža srca s normalnom srčanom akcijom („Herzarrrest“ - *Thoracotomia sin., Herzmassage*), a nakon reanimacije bolesnik se potpuno oporavi bez kasnijih komplikacija. Operaciju i reanimaciju vodio je kirurg dr. Zvonimir Peršić, asistent je bio stažist dr. Lokar, a instrumentarka sr. Fanika Ovčar. Anestezija je započeta intravenski ordiniranjem barbiturata (Kemithal), a potom se bolesnik endotrahealno intubira u sklopu reanimacije (tehničar Brkljačić) (sl. 1.). Karte anestezije tada nisu vođene rutinski, pa nisu razvidne druge pojedinosti reanimacijskog postupka (vrijeme, medikacija...).

Sl. 1. Iz operacijskog protokola Kirurškog odjela Bjelovarske bolnice za godinu 1962.

2) Mjesec dana kasnije, 27. lipnja 1962. godine pod. rb. 470. hitno je operiran 55-godišnji R.J. pod dg: *Ulcus ventriculi perforatum. Peritonitis diffusa ante horas XX (viginti). Arrestus cordis intra anesthesiam*. Prilikom uvoda u anesteziju zadesio se zastoj rada srca te se učini lijevostrana torakotomija s masažom srca (*Thoracotomia sin. Cardiac massage*) (6). Operacijski zahvat nije niti započet, pa se zaključilo da je razlog srčanoga zastoja anestezijski incident. Nakon 2 sata

i 15 minuta reanimacije nije došlo do srčane akcije, te se proglašio smrt u 16 sati i 15 minuta. Operater je bio dr. Radoslav Belamarić (tadašnji kirurški sekundarac) uz asistenciju dr. Stjepana Boldireva (specijalizant kirurgije) i dr. Lokar (stažist). Instrumentarka je bila sr. Ankica Forko, a endotrahealnu anesteziju *aether+O2* vodio je anestetičar Franjo Brkljačić (sl. 2.). U medicinskoj dokumentaciji ne postoji obdukcijski nalaz.

Sl. 2. Iz operacijskog protokola Kirurškog odjela za godinu 1962.

3) Točno nakon godine dana, istoga dana, 27. lipnja 1963. godine, pod istim rednim brojem (470.) u operacijskom protokolu, operiran je elektivno 53-godišnji T.B. (mbr. 4479/63) pod dg: *Hypertrophia prostaticae. Retentio urinae. Cardiac arrest in tabula*.

dva navrata intrakardijalno adrenalin à 1 mg na što se sistola popravlja i ubrzo opostavi normalni srčani ritam. (7). U nastavku se učini *Prostatectomia transvesic. sec. Freyer*. Operater je bio kirurg dr. Zvonimir Peršić, asistent dr. Nikola Strčić (specijalizant ginekologije), a instrumentarka sr. Mandica Matenda. Anesteziju opću endotrahealnu eterom vodio je anestetičar Franjo Brkljačić (sl. 3). Nakon operacije bolesnik „nije izašao iz narkoze“, te nastupi *exitus letalis* istoga dana u 13,35 sati (7). I u ovom slučaju u povijesti bolesti nema dokumentacije o mogućoj obdukciji i nalazu patologa.

Odmah nakon endotrahealne intubacije zadesi se zastoj rada srca, te se učini *Thoracotomia intercostalis sin. V-VI. Pericardiotomia. Cardiac massage* (6). Operater zapisuje u povijesti bolesti „... srce je jako rašireno i fibrilira. Unatoč dugotrajne masaže fibrilacije poovremeno prestaju i srce zastaje u dilataciji. Dade se u

RASPRAVA

Kirurški odjel Bolnice u Bjelovaru od početka 20. stoljeća do kraja šezdesetih godina tradicijski je bio izvorištem poznate praktične kirurgije s gotovo uvijek postavljenim primarnim liječnicima i vrsnim kirurzima (prim. dr. Milan Begić, prim. dr. Antun Gottlieb, prim. dr. Nikola Karlič, prim. dr. Josip Jagodić, prim. dr. Milan Vranjican, prim. dr. Vladimir Dolezil, prim. dr. Zvonimir Peršić, dr. Ivo Mlinarić - kasnije sveučilišni profesor kirurgije, prim. dr. Branko Vahtarić), koji su nosili teret praktične kirurgije s malobrojnima suradnicima - rijetko specijalistima, sekundarnim liječnicima ili specijalizantima (dr. Ivan Dabranić, dr. Eugen Sattler - kasnije primarijus, dr. Ljubica Bosner - kasnije primarijus, dr. Đorđe Bastaić, dr. Svetozar Begić - kasnije primarijus ginekologije, dr. Stanko Stebnicki, dr. Ivo Bićanić - kasnije primarijus, dr. Petar Krajinović - kasnije docent ginekologije i opstetricije, dr. Stjepan Mihoković - kasnije primarijus urologije, dr. Maksimilijan Erlač, dr. Ivo Bradić - kasnije sveučilišni profesor kirurgije, dr. Josip Stiplošek, dr. Radoslav Belamarić - kasnije primarijus urologije, dr. Stjepan Boldirev), te samoprijegornim operacijskim osobljem instrumentarki i anestetičara. Iz zagrebačkih klinika dolaze nakratko na ispomoc kirurzi dr. Željko Hrastović, dr. Ivo Prodan i doc. dr. Ivo Bakran i nitko od njih ne ostaje u Bjelovaru dulje vrijeme (2-5,10-13).

U istraživanom navedenom burnom političkom, organizacijskom i personalnom desetogodišnjem razdoblju od 1960. do 1970. godine Kirurški je odjel izmjenio čak 6 šefova službe, ponajvećma spomenutih velikih imena hrvatske kirurgije (prim. dr. Vladimir Dolezil, prim. dr. Zvonimir Peršić, dr. Ivo Mlinarić, dr. Josip Stiplošek, prim. dr. Branko Vahtarić, dr. Josip Pavešić) (11-13). Operacijski spektar bio je golem i uključivao je operacije iz elektivne i hitne opće kirurgije, dječje kirurgije, urologije i ortopedije. Tako je „velikih“ operacija u navedenom razdoblju učinjeno ukupno 13 047 (3-4,6-9,14-16).

U postojećim operacijskim protokolima zajedničkog Kirurško-ginekološkog odjela do 1956. godine nije zabilježena reanimacija izravnom masažom srca. Torakotomije su se vrlo rijetko izvodile, i to u hitnim stanjima (ubodne ili strijelne rane prsišta - srca, pluća, s hematotoraksom i/ili pneumotoraksom) te empijama prsišta (17-19). U pretraženim kirurškim i ginekološkim operacijskim protokolima to su i jedine dokumentirane izravne masaže srca do 1970. godine. Tako je prvu zabilježenu izravnu masažu srca torakotomijom u bjelovarskoj bolnici izveo 24. svibnja 1962. godine aktualni šef kirurgije dr. Zvonimir Peršić, kasnije primarijus (6).

O navedenom reanimacijskom zahvatu izravne (direktna, otvorena) masaže srca prvi je izvjestio u Hrvatskoj, kirurg Miroslav Čačković kod intraoperacijskog zastoja rada srca 1908. godine (20,21). I njegov učitelj, prof. Theodor Wickerhauser je 1909. godine izveo direktnu masažu srca zbog intraoperacijskog zastoja rada srca od prevelike doze anestetika, ali nije bilo odgovora na reanimaciju (21,22).

Iz ove slavne Wickerhauserove kirurške škole iz Bolnice „Sestre milosrdnice“ iznjedrili su brojni kirurzi, pa tako i prim. Gottlieb koji je također radio u bjelovarskoj bolnici prije I. svjetskog rata, te prim. Karlič koji je radio od 1917. do 1940. godine, ali ne postoji pisanoga traga o mogućim izravnim masažama srca kao reanimacijskom postupku (2,3,11-13).

Torakotomije i srčana kirurgija uglavnom se u prvim desetljećima 20. stoljeća svodila na kirurško zbrinjavanje ozljeda srca, pa je tako poznat i podatak iz nacionalne medikohistoriografije o prvim šavima srca kod ubodnih ozljeda u osječkoj bolnici koje su s uspjehom izveli kirurzi prim. dr. Jagodić i prim. dr. Benčević 1932. i 1935. godine (11,12). Prvospomenuti kirurg, prim. dr. Josip Jagodić bio je dugogodišnji primarni liječnik, kirurg i ginekolog te ravnatelj bjelovarske bolnice od 1940. do 1958. godine, ali u operacijskim protokolima iz toga doba nije dokumentirana niti jedna izravna masaža srca, mada je operacijski program bio stručno i brojčano zavidan (2-4,17-19). Izravna masaža srca bila je preporuka tadašnjih kirurških autoriteta kod zastoja rada srca kao metoda reanimacije (23,24).

Vanjska (zatvorena, indirektna) masaža srca uvedena je u rutinsku praksu 1960. godine od Kouwenhovenova i sur., dok su prvu defibrilaciju na čovjeku učinili 1947. godine Beck i sur. (23,24). Tada su preskupa i komplicirana oprema i nemogućnost nabave u manjim bolnicama limitirali ovu metodu do sedamdesetih godina kada se postupno uvodi u praksu. Kardijalna reanimacija putem torakotomije bila je široko prakticirana do uvođenja kardiopulmonalne reanimacije na zatvorenom prsištu šezdesetih godina i njenu je kliničku uporabu podastro reanimatološki autoritet Safar (25).

Uvjeti rada u bjelovarskoj bolnici nisu limitirali kirurške entuzijaste (specijaliste i specijalizante) da izvedu torakotomiju kod zastoja rada srca. U četiri slučaja učinjena je intraoperacijska torakotomija kod endotrahealno intubiranih bolesnika što je omogućavalo kontroliranu ventilaciju naizmjeničnim pozitivnim pritiskom, dok je u posljednjem opisanog bolesnika učinjena transdijafragmalna masaža srca prilikom postojeće laparotomije u endotrahealnoj anesteziji. Anestezijski incidenti bili su spominjani

u svezi lošeg općeg stanja bolesnika, komorbiditeta, tadašnjih spoznaja medicinske znanosti, tehnika operacija i stručnosti kadra koji je tada radio opću anesteziju. U opisano vrijeme zagrebačke su bolnice već imale mada malobrojne, ali osposobljene anesteziologe za rad u operacijskim dvoranama i izvođenje opće anestezije, što je i opisano u našoj medicinskoj historiografiji, dok je bjelovarska bolnica dobila prvog specijalista anesteziologa tek 1971. godine (1,3,4,21). No, usprkos vođenja anestezije od strane izabranih educiranih medicinskih tehničara (anestetičara), operateri (kirurzi, ginekolozi, urolozi, ortopedi) koji su bili odgovorni za anesteziju, bili su izuzetno zadovoljni njihovim radom (3-5,26). O potonjim uvjetima rada i razvoju anestezije i anesteziološke struke u Bjelovaru do dolaska prvog anesteziologa iznjedrila je knjiga ove godine (3).

Opisani slučajevi dvije uspjele reanimacije, s jednim preživjelim bolesnikom i kasnijim normalnim životom, u uvjetima od prije gotovo pola stoljeća, reanimacijom izravnom masažom srca, doista je potvrdio pravi naziv oživljavanja; od lat. *re-ponovno*, i *animare-oživjeti*, njemački *Wiederbelebung*, ili pak spiritualistički gdje se pojam lat. *Anima-duša*, tumači ponovnim spajanjem tijela s dušom (24). Evidentni prikaz drugog i trećeg bolesnika koji su na isti dan i pod istim rednim brojem u operacijskom protokolu imali zadesni zastoj rada srca i oživljavani izravnom masažom srca, ostavit ćemo tumačenju Murphyeve zakona i filozofije slučajnosti.

L I T E R A T U R A

1. Jukić M, Bolčić-Wickerhauser J. Povijest anestezije u Hrvatskoj. U: Mlinarić I, ur. i sur. Povijest kirurških struka u Hrvatskoj. Zagreb: Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, 2002, 265-98.
2. Habek D. Povijest primaljstva, porodništva i ginekologije bjelovarskog kraja. Grad Bjelovar i Županija bjelovarsko-bilogorska. Čvor Bjelovar, 2008.
3. Habek D. Bjelovarska antologija anestezije. Čvor Bjelovar, 2010.
4. Dolezil V. Problematika kirurškog rada u pokrajini s osvrtom na razvoj kirurškog odjela u Bjelovaru. Lijec Vjesn 1961; 83:705-8.
5. Mlinarić I. Usmeno priopćenje. 10. svibnja 2009.
6. Operacijski protokol kirurškog odjela Medicinskog centra Bjelovar 1961.-1963. Državni arhiv Bjelovar 71/1.
7. Povijest bolesti kirurškoga odjela Medicinskog centra Bjelovar br. 4479/63. Državni arhiv Bjelovar (nesređeni inventar).
8. Operacijski protokol kirurškog odjela Medicinskog centra Bjelovar 1963.-1965. Državni arhiv Bjelovar 71/2.
9. Operacijski protokol kirurškog odjela Medicinskog centra Bjelovar 6.7.1965.-27.9.1966. Državni arhiv Bjelovar 71/3.
10. Povijesti bolesti i karta anestezije 10.3.1966. Državni arhiv Bjelovar 1966/1.
11. Mlinarić I. i sur. Povijest kirurških struka u Hrvatskoj. Zagreb: Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, 2002.
12. Miculinić R. Iz starije prošlosti bjelovarske bolnice. U: Medar M, Kudumija B. Bjelovarski zbornik 6. Matica Hrvatska ogranak Bjelovar i Opća bolnica Bjelovar. Bjelovar, 2003;15-30.
13. Berghofer M. Povijest zdravstvene službe u Bjelovaru. Zbornik stručnih radova Medicinskog centra „Dr Emilija Holik“ u Bjelovaru. Povodom 125-godišnjice postojanja bolnice. Bjelovar. Medicinski centar Bjelovar, 1970, 7-69.
14. Operacijski protokol kirurškog odjela Medicinskog centra Bjelovar 1956.-1961. Državni arhiv Bjelovar 23.
15. Operacijski protokol kirurškog odjela Medicinskog centra Bjelovar 1966.-1969. Državni arhiv Bjelovar 17/22.
16. Operacijski protokol kirurškog odjela Medicinskog centra Bjelovar 1969.-31.4.1971. Državni arhiv Bjelovar 71/13.
17. Operacijski protokol Kirurško-ginekološkog odjela Opće bolnice Bjelovar od 18.10.1937.-31.12.1943.
18. Operacijski protokol kirurškog odjela Opće bolnice Bjelovar 1948.-1952.
19. Operacijski protokol Kirurškog i Ginekološko-porođajnog odjela Opće bolnice Bjelovar 1953.-1958.
20. Čačković M. O izravnoj masaži srca kao sredstvu oživljavanja. Lijec Vjesn 1908; 30:193-201.
21. Hromadko M, Fatović-Ferenčić S. Prva operacija na otvorenom srcu u hipotermiji u Hrvatskoj izvedena 1957. godine. Lijec Vjesn 2009; 131: 339-41.
22. Čačković pl. M. Napredak moderne kirurgije. Zagreb: Tisak kraljevske zemaljske tiskare, 1915, 19.
23. Hirsch H, Ungehauer E, Hartel W. Extra- oder intrathorakaler Herzmassage beim akuten Kreislaufstillstand. Thorax Chir 1963;11:131-133.
24. Longhino A. Reanimacija. U: Medicinska enciklopedija. Svezak 5. Zagreb: Jugoslavenski leksikografski zavod, 1970, 542-4.
25. P. Kardiopulmonalno cerebralna reanimacija. Svjetska federacija anestezioloških društava. Zagreb: Viša tehnička škola za sigurnost pri radu i zaštiti od požara, 1984, 186-8.
26. Hrastović Ž. Usmeno priopćenje. 20. travnja 2010.

SUMMARY

RESUSCITATION BY DIRECT HEART MASSAGE IN THE HISTORY OF SURGERY AND ANESTHESIA OF BJELOVAR HOSPITAL

D. HABEK

University Department of Gynecology and Obstetrics, Sveti Duh University Hospital, Zagreb, Croatia

This historical review presents cases of direct heart massage in patients with intraoperative cardiac arrest performed at Department of Surgery, Bjelovar General Hospital. Out of five cases recorded in the 1960-1970 period, resuscitation proved successful in two patients, but one patients living normal life free from any subsequent complications. The patient critical general condition, comorbidities and anesthesiology incidents as the possible causes of cardiac arrest are discussed, and the staffing and logistic problems encountered in a small-town hospital are presented.

Key words: history, anesthesia, surgery, thoracotomy, reanimation, cardiac massage

Akademija medicinskih znanosti Hrvatske
Tajništvo AMZH
Praška 2/III, 10000 Zagreb, CROATIA
tel: +385 1 4640 586;
+385 1 4828 662
fax: +385 1 4828 038

From: Ljiljana Majerus [mailto:ljiljana.majerus@hi.t-com.hr]
Sent: Friday, May 06, 2011 3:28 PM
To: amzh@zg.t-com.hr
Subject: BIOMEDLIB

Poštovani,

U zadnjem broju Acta Medica Croatica na zadnjoj stranici vidjela sam „*Top 10 Articles published in the same domain since your publication*“ koju Vam je poslala prof. Jušić.

Ja sam isto sa svojim radom „*Post-encefalitički sindrom u bolesnika s krpeljnim meningoencefalitisom*“, koji je objavljen u Vašem časopisu, isto na prvom mjestu „*Top 10 articles ...*“ (lista je objavljena koncem prošle godine). Može li se i ova informacija smatrati priznanjem za Vaš časopis?

S poštovanjem,
Prim. dr. Ljiljana Mišić-Majerus

KOMENTAR UREDNIŠTVA

Smatramo da je i uvrštenje rada prim. Mišić-Majerus u „*Top 10 articles*“, objavljenog u Acta Medica Croatica, još jedno priznanje našem časopisu.

Cijenjena urednice,

tijekom korespondencije između mene kao autora rada „*Komparativna studija praćenja kongenitalnih kolornih poremećaja neselektirane muške populacije kontinentalne i mediteranske Hrvatske*“, i Vašeg uredništva došlo je do lapsusa (zaprimljenim u uredništvu Vašeg časopisa Glasila AMZH pod brojem 1866/10).

Naime ispušten je nakon recenzije kao šesti (6) koautor kolega dr. sc. Nikola Kolja Poljak, koji je sudjelovao u izradi ovog rada. Kolega Poljak je inače dobio i potvrdu datiranu od 6. prosinca 2010. od strane uredništva da je koautor na radu.

Molim Vas da ovaj tipfeler ispravite i to objavite kako je dogovoreno u slijedećem broju Vašeg Glasila AMZH.

Unaprijed zahvaljujem, s štovanjem
Prim. Doc. dr. Veljko Rogošić
(mob. 0912005430 ili 0915218280)
Oftalmološka Klinika KBC Split

22. MEĐUNARODNI SIMPOZIJ KOMPARATIVNE PATOLOGIJJE „LJUDEVIT JURAK“

22. međunarodni simpozij komparativne patologije „Ljudevit Jurak“ održan je pod pokroviteljstvom Europskog udruženja patologa i Hrvatske akademije medicinskih znanosti u Zagrebu, 3. i 4. lipnja 2011. godine.

Glavna tema Simpozija bila je patologija kože. Nakon otvaranja Simpozija dodijeljena je nagrada dr. Suzani Tkalčić iz Pomone, SAD za doprinos razvoju hrvatske patologije. Nagradu je uručila dr. Inge Heim u ime akademika Željka Reiner, predsjednika Hrvatske akademije medicinskih znanosti.

Pozvana predavanja prvog dana Simpozija održali su dr. Eduardo Calonje sa *St. John's Institute of Dermatology* iz Londona o pseudolimfomima kože, dr. Thomas Bren iz *Western General Hospital* u Edinburgu o problematičnim melanocitnim lezijama u djece, prof. Boštjan Luzar s Instituta za patologiju u Ljubljani o mekotkivnim tumorima kože, prof. Mihael Skerlev s Klinike za dermatovenerologiju KBC-a Zagreb o multidisciplinarnom pristupu u liječenju HPV infekcija, dr. Sanja Poduje s Klinike za dermatovenerologiju KBC-a Sestre milosrdnice na temu histopatoloških prognostičkih čimbenika u melanomu i dr. Sonja Levanat s Instituta Ruđer Bošković na temu molekularne patologije kožnih tumora. Drugog dana Simpozija predavanja su održali dr. Tkalčić o patologiji kožnih bolesti u domaćih životinja, dr. Andrea Gudan-Kurilj s Veterinarskog fakulteta u Zagrebu o kožnim tumorima pasa u Hrvatskoj te dr. Relja Beck s Veterinarskog instituta u Zagrebu o kožnim zoonozama.

Autori su u obliku postera predstavili rezultate svojih istraživanja o dijagnostici, protokolima te patohistološkim i imunohistokemijskim nalazima u

različitim bolestima, poglavito bolestima kože, kao i zanimljive slučajeve.

Tijekom Simpozija održan je i Godišnji sastanak Hrvatskog udruženja patologa i sudskih medicinar. U organizaciji Hrvatskog udruženja laboratorijske medicine (HULM), laboratorijski inženjeri i laboranti održali su radionicu patomorfoloških tehnika u histopatološkom laboratoriju Zavoda za patologiju KBC-a Sestre milosrdnice.

Tijekom Simpozija održan je *slide* seminar na temu kirurške patologije i patologije kože koji su vodili prof. Mikuz iz Innsbrucka, dr. Calonje, dr. Brenn i prof. Luzar.

Nagrada za najbolji poster dodijeljena je dr. Marti Himmelreich iz Zagreba za rad o razvoju epiglotisa, a nagrada „*One Health*“, sponzorirana od strane dr. Tkalčić, dodijeljena je Ivani Šimić za rad na temu komparativne patologije atopičnog dermatitisa u pasa.

Tema sljedećeg simpozija koji će se održati 1.-2. lipnja 2012. godine u Zagrebu bit će patologija limfnih čvorova i slezene, a simpozij će biti posvećen pokojnom profesoru Marinu Noli sa Zavoda za patologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Svi podaci o tom i prošlim simpozijima, odnosno o sljedećem simpoziju mogu se naći na stranici <http://www.mef.hr/Jurak/symposium.htm>.

Kongresni radovi i sažeci radova bit će objavljeni u *Acta Clinica Croatica* i moći će se naći na web stranici (<http://www.acta-clinica.kbsm.hr>).

ZLATKO MARUŠIĆ
tajnik Simpozija

UPUTE AUTORIMA

Časopis ACTA MEDICA CROATICA objavljuje uvodne, izvorne radove, preglede, klinička zapažanja, osvrtne, 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. Prihvaćanje 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 disketi u Wordu. Rad ne smije imati više od 20 stranica, tipkanih dvostrukim poredom (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 omogućuje ponavljanje opisana istraživanja. Poznate se metode ne opisuju, nego se navode izvorni literaturni podaci. 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 dokazati 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-ja) 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. I 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 tintanom 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 Vancouveru, a za naslove časopisa treba rabiti kraticu navedenu u Index medicus.

Uz rad je obvezno priložiti izjavu o suglasnosti koautoru a publiciranju rada te o nepostojanju sukoba 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 Web

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

Morse SS. Factors in the emergence of infectious disease. Emrg Infect Dis [elektronički časopis na internetu] 1995; [24 ekrana/stranice] Dostupno na URL adresi: <http://www.cdc/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 predlaže 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 diskette 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 detail 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), institution(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 (N 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 must 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 where 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: mechanism of disease. 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, Softver (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.

acta medica croatica

The Journal of the Academy of Medical Sciences of Croatia
Acta Med Croatica • Vol. 65 No. 3 • pp 217-296 Zagreb, June 2011

Table of Contents

Original Papers

- 219 **Epidemiological characteristics of thyroid cancer in Dalmatia, Croatia**
N. K. Poljak, I. Didolić, Z. Čolović, M. Kontić, I. Jerončić, R. Mulić
- 227 **Histologic assessment of tissue healing of hyaline cartilage by use of semiquantitative evaluation scale**
A. Vukasović, A. Ivković, D. Ježek, I. Cerovečki, D. Vnuk, M. Kreszinger, D. Hudetz, M. Pećina
- 237 **Virologic and epidemiological characteristics of non-polio infection in Croatia over a ten-year period (2000-2009)**
S. Ljubin-Sternak, T. Vilibić-Čavlek, B. Kaić, B. Aleraj, S. Šoprek, M. Sviben, G. Mlinarić-Galinović
- 243 **Lower levels of HDL2 cholesterol are associated with microalbuminuria in patients with type 1 diabetes**
T. Bulum, L. Duvnjak, I. Prkačin

Review

- 251 **Leprosy – today forgotten in Croatia?**
A. Bakija-Konsuo, R. Mulić

Clinical Observations

- 257 **Clinico-epidemiological analysis of choroidal melanoma in Split region, Croatia**
P. Ivanišević, L. Bojić, S. Tomić, K. Bućan, M. Ivanišević, M. Lešin, I. Pleština-Borjan, R. Stanić
- 263 **Epidemiological characteristics of acute lymphoblastic leukemia in children from Tuzla Canton**
A. Hadžiselimović, H. Tahirović
- 271 **Secondary (AA) amyloidosis in Crohn's disease**
T. Bulum, I. Prkačin, G. Cavrić, N. Sobočan, B. Škurla, L. Duvnjak, S. Bulimbašić

Case Report

- 279 **Ileus caused by metastasis of cutaneous malignant melanoma: case report**
J. Fajdić, D. Đurović, N. Gotovac, D. Gugić, T. Stastny, F. Slišurić

Short Annotation

- 285 **Resuscitation by direct heart massage in the history of surgery and anesthesia of Bjelovar Hospital**
D. Habek
- 291 **Letters to the Editor**
- 293 **News**
- 296 **Notes for Contributors**

acta medica croatica

Časopis Akademije medicinskih znanosti Hrvatske
Acta Med Croatica • Vol. 65 Br. 3 • Str. 217-296 Zagreb, lipanj 2011.

Sadržaj

Izvorni radovi

- 219 **Karcinom štitnjače u Dalmaciji: neke epidemiološke osobitosti**
N. K. Poljak, I. Didolić, Z. Čolović, M. Kontić, I. Jerončić, R. Mulić
- 227 **Histološka procjena cijeljenja zglobne hrskavice upotrebom semikvantitativne ocjenske ljestvice**
A. Vukasović, A. Ivković, D. Ježek, I. Cerovečki, D. Vnuk, M. Kreszinger, D. Hudetz, M. Pečina
- 237 **Non-polio enterovirusne infekcije u Hrvatskoj tijekom desetogodišnjeg razdoblja (2000.-2009.): virološke i epidemiološke značajke**
S. Ljubin-Sternak, T. Vilibić-Čavlek, B. Kaić, B. Aleraj, S. Šoprek, M. Sviben, G. Mlinarić-Galinović
- 243 **Sniženi HDL2 kolesterol je povezan s mikroalbuminurijom u bolesnika sa šećernom bolešću tipa 1**
T. Bulum, L. Duvnjak, I. Prkačin

Pregled

- 251 **Lepra – danas zaboravljena u Hrvatskoj?**
A. Bakija-Konsuo, R. Mulić

Klinička zapažanja

- 257 **Kliničko-epidemiološka analiza melanoma žilnice u splitskom području u Hrvatskoj**
P. Ivanišević, L. Bojić, S. Tomić, K. Bučan, M. Ivanišević, M. Lešin, I. Pleština-Borjan, R. Stanić
- 263 **Epidemiološke značajke akutne limfoblastne leukemije u djece Tuzlanske županije**
A. Hadžiselimović, H. Tahirović
- 271 **Sekundarna (AA) amiloidoza u bolesnika s Crohnovom bolešću**
T. Bulum, I. Prkačin, G. Cavrić, N. Sobočan, B. Škurla, L. Duvnjak, S. Bulimbašić

Prikaz bolesnika

- 279 **Ileus izazvan metastazom kožnog malignog melanoma: prikaz bolesnika**
J. Fajdić, D. Đurović, N. Gotovac, D. Gugić, T. Stastny, F. Slišurić

Kratki osvrt

- 285 **Reanimacija izravnom masažom srca u povijesti kirurgije i anestezije bjelovarske bolnice**
D. Habek

291 Pisma Urednici

293 **Vijest**

295 **Upute autorima**