



Acta

Medica



Croatica

Vol. 67 2013.  
Broj 5  
Zagreb

UDC 61 • AMCREF 67 (5)  
393-460 (2013)  
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

*Urednik – 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 350,00 kn, za pojedince 150,00 kn, a uplaćuje se na broj računa 2360000-1101481831. Pretplata u inozemstvu iznosi protuvrijednost US \$ 150.- koju treba uplatiti na račun Privredna banka Zagreb, d.d. No. 70310998200-137182; Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, 10 000 Zagreb, Praška 2/III, Hrvatska (za Acta Medica Croatica).

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

*Lektor – Language Editor*  
**Antonija Redovniković**

*Omotna stranica – Cover design*  
**Ivan Picelj**

*Tisak – Printed by*  
**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

# KLINIČKA CITOLOGIJA: ZAŠTO I KAKO?

ŽELJKA ZNIDARČIĆ

*Hrvatsko društvo za kliničku citologiju HLZ-a, Zagreb, Hrvatska*

*Uspomeni naše učiteljice INGE ČREPINKO*

Klinička citologija je morfološka dijagnostička struka koja u današnjoj medicini nije odgovarajuće iskorištena ponajviše zbog nedovoljne obaviještenosti liječnika o njenim dijagnostičkim mogućnostima i prednostima. Ovim osvrtom na povijesni razvoj kliničke citologije i na njezino dijagnostičko značenje želimo pridonijeti boljoj obaviještenosti o današnjim mogućnostima citološke dijagnostike i njezinom budućem usmjeravanju u eri ubrzanog tehnološkog razvoja i skretanju medicine u profitabilnost, što donosi brojne negativne posljedice. Bitne osobine citološke dijagnostike: neagresivnost, jednostavnost, brzina i točnost moraju se sačuvati i uz praćenje novih tehnoloških mogućnosti. Standardna citomorfologija je osnova na temelju koje se donosi odluka o dodatnim tehnologijama iz citološkog uzorka i/ili direktno na citološkim razmazima (citokemija, imunocitokemija, protočna citometrija, molekularna analiza i citogenetika), kako u svrhu točnije dijagnoze tako i subtipizacije i prognoze novotvorina. Uvjet za to je odgovarajuća izobrazba citologa i citotehničara kao i odgovarajuća organizacija citološke struke pri čemu je potrebna uska suradnja s kliničarima, patolozima i ostalim dijagnostičkim strukama. Kao i u povijesnom razvoju citologije, važan je entuzijazam pojedinaca da se sačuva i unaprijedi sve njezine mogućnosti za dobrobit bolesnika.

*Ključne riječi:* razvoj kliničke citologije, primjena citološke dijagnostike, edukacija u citologiji, budućnost kliničke citologije

*Adresa za dopisivanje:* Doc. dr. sc. Željka Znidarčić, dr. med.  
Bulićeva ul. 8  
10000 Zagreb, Hrvatska  
Tel: 4620 672; e-pošta: zznidarevic@inet.hr

## UVOD

Kao i ostale grane medicine, citologija ima svoju povijest, iz koje slijedi njezin sadašnji stupanj razvoja, a može se, bar donekle, predmnijevati i budućnost. Današnja medicina obuhvaća veliki broj užih specijalnosti i postepeno se gubi uvid u cjelinu. U većine bolesnika potrebna je međudisciplinarna suradnja liječnika, naročito u dijagnostičkom postupku koji se, zahvaljujući tehnološkom razvoju, sve više širi.

Pogled na razvoj kliničke citologije, od znanstvene znatiželje, preko entuzijazma pojedinaca, do nastanka posebne kliničke grane medicine, omogućuje bolje razumijevanje njezina sadašnjeg stupnja razvoja i doprinosa današnjoj kliničkoj medicini. To je potrebno ne samo zbog što boljeg korištenja ove dijagnostičke struke za dobrobit zdravlja, nego i kao putokaz za potrebe njezina daljeg razvoja.

Ovaj osvrt želi pridonijeti boljem poznavanju kliničke citologije u ostalim medicinskim granama koje s njom

surađuju. U Hrvatskoj je klinička citologija, zahvaljujući naporima velikog broja stručnjaka, postigla visoki stupanj razvoja i ne smije se dopustiti da se rezultati tih napora ne iskoriste u našoj medicini – kako današnjoj tako i budućoj.

## POVIJEST CITOLOGIJE

Početak citologije kao znanosti zapravo određuje otkriće mikroskopa. Mikroskop je omogućio otkriće stanice kao osnovnog dijela strukture tijela svih više razvijenih živih bića: biljaka, životinja i čovjeka. Prvi, još vrlo primitivni mikroskop, otkriven je već krajem 16. stoljeća, a onda je započelo njegovo tehničko usavršavanje, tako da je Robert Hooke 1667. g. otkrio stanicu. Leeuwenhoek je 1673. g. već promatrao krvne stanice (eritrocite) ali je do shvaćanja mogućnosti mikroskopskog promatranja stanica ljudskog organizma u medicini prošlo ni manje ni više nego puna dva stoljeća (1). Iz literature je poznato da je Johannes Müller, njemački

fiziolog, na temelju svojih istraživanja shvatio vezu između oblika i funkcije stanica i uvidio ne samo da stanice malignih tumora imaju posebne citološke karakteristike, nego je već 1830. g. razlikovao dvije vrste tih tumora: karcinome i sarkome, a njegovi učenici, Schleiden (1838.) i Schwann (1839.) već izučavaju građu stanica (2). To su počeci razvoja kliničke citologije. Patolog Virchow smatra se osnivačem tzv. celularne patologije, jer shvaća da svaki patološki proces započinje na razini stanica (1847.) (2). Veliki broj entuzijasta bavi se u 19. stoljeću mikroskopskim istraživanjem stanica, najčešće odluštenih (u izljevima, mokraći, iskašljaju, želučanom soku) a pri tome se razvija i tehničko usavršavanje mikroskopskih preparata. Ehrlich već 1882. g. uvodi postupak bojanja suhih razmaza u mikrobiologiji, što se onda primjenjuje i za citološke razmaze (2). Sve to čini temelje razvoja kliničke citologije u prvoj polovici 20. stoljeća. O istraživanju velikog broja entuzijasta koji su svoju znanstvenu znatiželju usmjerili na praktičnu primjenu istraživanja stanica u kliničkoj medicini odnosno na mogućnost što točnije dijagnostike, dakle na pomoć bolesnom čovjeku, pišu u svojoj "Povijesti kliničke citologije" vrlo opsežno H. Grunze i A. I. Spriggs pa ovdje to nije potrebno ponavljati (2).

Za primjenu citologije kao znanosti u kliničkoj medicini, dakle za pojavu kliničke citologije u punom smislu riječi, u prvom je redu zaslužan Georgios Nikolaou Papanikolaou, grčki liječnik koji je radio u SAD-u kao anatom i istraživao hormonalni ciklus sisavaca. Počeo je u suradnji s kliničarima - ginekolozima mikroskopski istraživati vaginalne razmaze žena i tako otkrio cikličke citološke promjene u tim razmazima, ali i morfološke promjene stanica u razvoju maligniteta. Rezultate svojih istraživanja objavljivao je od 1925. g. nadalje u brojnim člancima, a uz vaginalni sekret ispitivao je i ostale tjelesne izlučevine (mokraću, izljeve i drugo), što je prikazao na brojnim crtežima u "Atlasu eksfolijativne citologije" 1954. g. (3). Prepoznajući do tada neslućene mogućnosti rane dijagnostike malignih tumora i njihovih predstadija razvio je i tehniku pripremanja razmaza za mikroskopsku analizu kao i sustav interpretiranja citoloških nalaza (tzv. Papa test - klasifikacija raka vrata maternice). Svoj entuzijizam uspio je prenijeti i na ginekologe i to je rezultiralo uvođenjem citološkog probira za otkrivanje raka vrata maternice i njegovih predstadija, čime su spašeni, a i dalje se spašavaju, brojni životi. Ovi rezultati najbolje pokazuju vrijednost suradnje citologa i kliničara u svakodnevnoj medicinskoj praksi.

Materijal za eksfolijativnu citologiju uzima se s površine kože i sluznica na različite načine, ovisno o ispitivanom organu. Razvoj medicinske tehnologije omogućio je dobivanje materijala i iz šupljih organa u unutrašnjosti organizma.

Za dobivanje stanica iz solidnih organa razvila se, također u prvim desetljećima 20. stoljeća, metoda punkcije tankom iglom i tako je nastala aspiracijska citologija. Iako je i u 19. stoljeću već bilo istraživača koji su pisali o punkciji tumora i mikroskopskoj dijagnozi malignih tumora takvom metodom (Lenert, 1851.) (2), tek se u 20. stoljeću počelo sustavno punktirati unutrašnje organe i tumorske tvorbe u dijagnostičke svrhe. Martin i Ellis bili su prvi zagovornici dijagnostičke punkcije različitih organa već 1930. g., ali su tehniku pripremu materijala prilagodili patohistološkoj dijagnostici, a citološka tehnika aspiracijskog materijala razvila se najprije u hematološkoj dijagnostici. Sternalnu punkciju za dobivanje koštane srži uveo je 1927. g. Arinkin i hematolozi, koji su u svojoj dijagnostici već analizirali razmaze periferne krvi, nastavili su analizirati krvne stanice i njihove predstadije u razmazima koštane srži, što je značajno unaprijedilo hematološku dijagnostiku (2). Pokazalo se da je za tehniku pripremanja razmaza stanica krvi i koštane srži pogodna ona po Pappenheimu, dakle bojanje osušenih razmaza, za razliku od metode po Papanikolaou u kojoj se stanice ne smiju osušiti.

Usporedo s razvojem hematološke citologije počela se razvijati i aspiracijska citologija u ostalim područjima medicine, posebno za dijagnozu malignih tumora. Citološkim proučavanjem malignih tumora ustanovljene su citološke karakteristike maligniteta, a i mogućnost citološkog razlikovanja pojedinih vrsta malignih tumora, kao i stupnja njihove malignosti. Aspiracijskom citodijagnostikom bavili su se pretežno kliničari, oduševljeni jednostavnim načinom dobivanja materijala i brzim postavljanjem dijagnoze s visokim stupnjem točnosti. Sredinom prošlog stoljeća bilo je već dovoljno iskustava s citološkom dijagnostikom, ali je bilo i nepovjerenja u nju, katkada od kliničara, ali posebno od patologa. Kliničari su se bojali punkcije (tankom iglom), ponajprije zbog eventualne mogućnosti rasapa stanica malignog tumora putem krvi, pa je trebalo višegodišnje iskustvo da se vidi da do toga ne dolazi. Kod patologa je dolazilo do nepovjerenja u citodijagnostiku kada su je pokušavali sami raditi, jer su kriteriji mikroskopske analize citoloških preparata bili različiti od onih kojima su se oni služili u patohistološkoj dijagnostici.

Moralo je proći dosta vremena da se sakupe iskustva i da dođe do suglasnosti da je citologija ne samo prikladna i pouzdana dijagnostička metoda, nego da se može smatrati zasebnom dijagnostičkom strukom koja obuhvaća i eksfolijativnu i aspiracijsku citodijagnostiku i koja zahtijeva stručnjake koji se bave samo citologijom, u svim kliničkim područjima i koji su odgovarajuće educirani za tu struku. Vrijeme bavljenja citologijom kao "hobby"-jem je prošlost, a sadašnja citologija je rezultat pionirskog rada pojedinaca, među kojima

se izrazito istaknuo nizozemski internist-hematolog, Paul Lopes Cardozo. On je najviše pridonio predstavljanju kliničke citologije kao zasebne grane kliničke medicine. Svoje veliko kliničko-citološko iskustvo, sveobuhvatno, kako u aspiracijskoj, tako i u eksfolijativnoj citologiji, uključivo i ginekološkoj, iznio je u Atlasu kliničke citologije (1976.) (4). Tu je, kako sam kaže, “kao doprinos preciznoj citodijagnozi i citološkoj diferencijalnoj dijagnozi” prikazao 3300 mikrofotografija malignih i benignih patoloških promjena iz svih područja citološke dijagnostike, uključivši mikrobiološke i parazitološke nalaze katkada prisutne u citološkim razmazima, te opisao tehničke postupke za obradu citoloških preparata. Posebno je opisao “umjetnost punktiranja”, a kao moto knjizi dao je citolozima od tada poznatu devizu: “*Cytology – love it or leave it*”.

Atlas sadrži i opširan uvod u kliničku citologiju: mogućnosti, prednosti, uvjete za kvalitetu citoloških nalaza, potrebu da citolog ima dobru komunikaciju s kliničarima i patolozima, ali da sam bude “*bed-side*” liječnik, dobro klinički i citološki educiran. Tekstualni dio ima izrazitu edukativnu vrijednost, kako za citologe, tako i za kliničare koji trebaju citološku dijagnozu za svoje bolesnike i moraju znati što mogu tražiti od citologije i kako treba interpretirati citološki nalaz. Usto, svako poglavlje ima opširan uvodni tekst, a i svaka slika u atlasu praćena je odgovarajućim opisom. U suradnji sa svim poznatim citolozima svoga vremena među kojima je bilo kliničara raznih specijalnosti, patologa kao i onih koji su se posve posvetili citologiji, Lopes Cardozo je inzistirao na kliničkoj citologiji kao zasebnoj medicinskoj struci sa specijalističkom edukacijom. O tome je provedena rasprava za okruglim stolom na XI. europskom kongresu citologije u Pragu, 1982. g., nakon slične rasprave na XI. svjetskom kongresu patologije u Jeruzalemu 1981., gdje su patolozi predložili specijalističku edukaciju iz citologije.

U Hrvatskoj se citologija razvijala paralelno s onom u ostalim europskim državama, a pojavila se najprije u hematologiji. Punkcijom i analizom koštane srži prvi su se počeli baviti Viktor Boić i Fran Mihaljević (1928.) (5). O profesorici Beati Brausil nije se puno pisalo, iako je ona uvela našu citologiju u laboratorijsku medicinu. Ona je već od 1939. započela u hematološkom laboratoriju Interne klinike održavati seminare iz hematološke morfologije i citodijagnostike za liječnike, farmaceute i veterinare iz Zagreba i ostalih medicinskih ustanova u Hrvatskoj. Poseban je naglasak stavljala na tehniku pravljenja razmaza kao i na minucioznu analizu stanica u razmazima. Educirala je čitav niz liječnika koji su se onda nastavili baviti citologijom u svojim specijalnostima-hematologiji, pulmologiji, endokrinologiji, ginekologiji i drugdje (6).

Internist hematolog, E. Hauptmann, nakon svog povratka iz SAD-a 1948. g. započeo je uvoditi citologiju i u ostale grane interne medicine, što su prihvatili posebno učenici prof. Brausil u svojim užim strukama – Harambašić u pulmologiji, Škrabalo u endokrinologiji, a neki i šire (Grgić, Premužić) i brojni drugi liječnici, u Zagrebu i ostalim gradovima, u Hrvatskoj i dalje (7).

Ginekološkom citologijom počeo se najprije baviti E. Baršić na Ginekološkoj klinici u Zagrebu 1953., a od 1959. nastavila je Jasna Ivić (8).

Inga Črepinko, također učenica B. Brausil, razvila je citologiju u sklopu hematološkog odjela biokemijskog laboratorija Interne klinike u Zajčevoj bolnici, iz čega je kasnije nastao hematološko-citološki laboratorij, u kojem se osim hematološke razvila i ostala neginekološka citologija. Tu je nastavljen edukacijski rad, jer je od svoje učiteljice Inga Črepinko preuzela i oduševljenje za učenje drugih liječnika zainteresiranih za citologiju. Od tada pa do kraja njezinog aktivnog rada svi su naši citolozi bili njezini učenici i oni su tada nastavili dalje prenositi mlađim generacijama ono što su od nje naučili. Tako je rastao interes za kliničku citologiju, te je 1970. g. osnovana Sekcija za citologiju u Zboru liječnika, a 1974. započela je specijalizacija iz medicinske citologije. Profesor Hauptmann je prvi uveo hrvatsku hematologiju i citologiju u društvo europskih stručnjaka, te je naša Sekcija od osnivanja Europske federacije citoloških društava (1971.) bila njezin član, a mnogi liječnici iz europskih zemalja posjećivali su naše citološke laboratorije i učili u njima. Na međunarodnim kongresima iz kliničke citologije naši su citolozi bili redovni sudionici (7).

Jednako tako, profesorica Črepinko je posvetila puno truda edukaciji citotehničara, svjesna da citologija ne može funkcionirati bez dovoljnog broja dobro izobrazjenih citotehničara. Prve informacije o citologiji, naročito hematološkoj, dobivali su zdravstveni tehničari već u srednjoj školi za zdravstvene tehničare, također od prof. Črepinko. Po njenom shvaćanju, a to je prenijela i na svoje učenike, svi zdravstveni djelatnici bi morali imati što točnije informacije o citodijagnostici, o mogućnostima njene primjene u kliničkoj medicini, o načinu dobivanja materijala za citološke pretrage, kao i o interpretaciji citoloških nalaza (9).

## SADAŠNJOST KLINIČKE CITOLOGIJE

Teško je govoriti o sadašnjosti kliničke citologije, jer se znanost sve brže razvija i promjene su prisutne i u citologiji. Već je pjesnik Petar Preradović pjevao: “Stalna na tom svijetu samo mijena jest”; sadašnjost je samo kratki tren i za čas postaje prošlost. Citologija je već



od početka bila usko povezana s tehnikom: mikroskop, uzimanje materijala za citološku pretragu, pripremanje citoloških razmaza, kao i uz razvoj drugih, pomoćnih mikroskopskih tehnika (fazni kontrast, elektronski mikroskop, fluorescentni mikroskop) a i drugih tehničkih mogućnosti za poboljšanje citodijagnostike (protočna citometrija, morfometrija, citokemija i imunocitokemija, PCR, FISH, molekularne analize, genetika i dr.). Uzimanje materijala za citodijagnostiku također se stalno mijenja razvojem novih tehnoloških mogućnosti, kako za eksfolijativnu tako i za aspiracijsku citologiju. Mikroskopska pretraga stanica ipak ostaje temelj citodijagnostike, bez obzira na sve ostale tehnike. Citolozi moraju pratiti razvoj znanosti i tehnologije i u radu primjenjivati nove metode koje mogu pomoći preciznijoj citološkoj dijagnozi, nakon temeljite morfološke analize razmaza, koju ne može nadomjestiti nikakva tehnika. Citolog mora ostati liječnik, ne smije se pretvoriti u tehnologa, što je opasnost u eri sve veće proizvodnje različitih modernih tehnologija. Osnovna zadaća kliničke citologije je rana dijagnoza opasnih bolesti, a katkada i njihovih predstadija. U sadašnjem času razvoja citologije mora se o tome razmišljati i ne dopustiti da se izgubi ono što se godinama razvijalo (10).

Najbitnije osobine citološke dijagnostike su jednostavnost, brzina i točnost što se u sadašnjoj situaciji u medicini poremetilo upravo zbog mnogobrojnih tehnologija u dijagnostičkom postupku općenito. U namjeri da se poveća točnost citoloških nalaza gubi se na jednostavnosti i brzini, ali se i znatno poskupljuje citodijagnostički postupak, što nikako nije nevažno. Mora se uzeti u obzir i smanjivanje interesa za preciznu morfološku analizu citoloških razmaza, zbog prevelikog oslanjanja na druge, dodatne dijagnostičke postupke, što je također važno. Vještina morfološke dijagnostike ne može se nadomjestiti nikakvim aparatima, ali je za to potrebna rutina. Točnost citoloških nalaza ovisi između ostalog o uzimanju materijala za citološku pretragu, što znači da citolog mora nad tim imati nadzor. Za eksfolijativni materijal potreban je kontakt osoblja koje ga uzima s citolozima odnosno s citotehničarima, a za aspiracijski materijal je u slučaju da punkciju provodi drugi kliničar (primjerice urolog za punkciju prostate) potrebna prisutnost citologa, dok se najbolji rezultati postižu kada citolog provodi punkciju. To je pokazalo dugogodišnje iskustvo što se vidi iz citološke literature (11).

Dodatne tehnologije u citologiji smanjuju jednostavnost i brzinu i stoga ih treba primijeniti nakon morfološke pretrage razmaza, ne rutinski nego u pojedinim slučajevima, za precizniju diferencijalnu dijagnostiku, najčešće u svrhu klasifikacije malignih tumora zbog što uspješnijeg liječenja.

Sadašnjost kliničke citologije zapravo je prekretnica u njenom razvoju i potrebno je nastojati da se sačuvaju njezine osnovne prednosti uz prilagodbu razvoju medicine. Mogućnosti citologije danas nisu svuda dovoljno iskorištene, jer je organizacija struke kao i način izobrazbe u svijetu vrlo neujednačen.

## BUDUĆNOST KLINIČKE CITOLOGIJE

Iako se budućnost nikada ne može sa sigurnošću predvidjeti, ipak je važno poznavanje prošlosti i promatranje sadašnjosti, ponajprije zbog potrebe da se budući razvoj usmjerava prema već utemeljenim zadacima i svrsi neke medicinske struke. Ako je osnovna svrha kliničke citologije rano postavljanje morfološke dijagnoze s minimalnom agresivnosti i što većom točnošću, onda njenu budućnost treba usmjeravati tako da znanstveni i tehnološki napredak ne poremeti bilo koji od čimbenika njene svrhe. To je moguće postići samo odgovarajućom edukacijom i odgovarajućom organizacijom citološke struke (12). Uz potrebno poznavanje kliničke medicine i patologije, u izobrazbi citologa se naglasak mora staviti na mikroskopsku analizu stanica, tehniku uzimanja materijala i pripremanja citoloških razmaza te stjecanje dovoljnog iskustva za samostalno obavljanje citološke dijagnostike. U izobrazbi citotehničara potrebno je osim odgovarajućeg teorijskog znanja iz osnova citodijagnostike staviti naglasak na praktično učenje mikroskopskog razlikovanja stanica s patološkim promjenama od normalnih stanica, što je potrebno za citološki probir u detekciji malignih tumora pri čemu citotehničari imaju značajnu ulogu. Moraju se usto upoznati i s novim tehnologijama koje se primjenjuju u citološkoj struci.

U organizaciji citološke struke u općoj zdravstvenoj strukturi citolozi moraju sudjelovati kao struka i moraju zadržati (ili steći) svoju autonomiju. Jasno je da i drugi stručnjaci u zdravstvu moraju biti odgovarajuće educirani o svrsi i mjestu citologije u organizaciji zdravstvene službe (5). Ipak, sve specifičnosti i mogućnosti citološke dijagnostike najbolje poznaju oni koji u tome imaju najviše iskustva, a to su bez sumnje citolozi.

U eri "profitabilne" medicine, postoji sve veća opasnost da citologija izgubi pravu svrhu i da ulogu citomorfološke analize potisnu nove tehnologije.

Ako se u organizaciji citološke struke, a i u izobrazbi citologa i citotehničara izgubi shvaćanje svrhe kliničke citologije, onda će njena budućnost ići drugim putem, prema zadovoljavanju interesa pojedinih interesnih skupina – medicinskih i nemedicinskih, u prvom redu profita. Interes bolesnika će u tom slučaju

biti zanemaren, jer ulogu citologije u ranom otkrivanju maligniteta, a i mnogih drugih bolesti ne može nadomjestiti ni jedna druga dijagnostička metoda. Razlog za očuvanje bitnih sastavnica kliničke citologije je i financijska situacija u današnjem zdravstvu, jer upravo tehnološko usavršavanje dovodi do prevelike potrošnje u nastojanju da se poboljša zdravstveno stanje ljudi, a citodijagnostika pruža mogućnost velikih ušteda, ako se ispravno shvati i organizira. Jasno da je i tu u pitanju interes bolesnika i zato se ne smije dopustiti da prevladaju drugi interesi i da budućnost citologije krene krivim putem.

U povijesti medicine bilo je situacija kada su pojedine struke bile iz različitih razloga, najčešće zbog nerazumijevanja, zanemarivane i potiskivane. Ako je bilo dovoljno entuzijazma pojedinaca, struka se ipak konačno izborila za mogućnost rada za dobrobit bolesnika (13). Stoga je bilo potrebno naglasiti ulogu brojnih entuzijasta u razvoju kliničke citologije kako bi i generacije koje dolaze shvatile vrijednost citološke struke i njenog doprinosa kliničkoj medicini. Budućnost medicine mora se usmjeravati u interesu očuvanja zdravlja svih ljudi, ne samo deklarativno, nego stvarno, što nije lako u eri tehnologizacije medicine gdje se često "od drveća ne vidi šuma" i može se izgubiti uvid u prave vrijednosti. Klinička citologija može i mora biti iskorištena za dobrobit bolesnika, u suradnji s drugim medicinskim strukama, kako u sadašnjem trenutku, tako i u budućem razvoju, ako svi liječnici, koji žele pomoći svojim bolesnicima na najbolji način, zajedničkim naporima zadrže medicinu na pravom mjestu.

Nema nikakve sumnje da je znanstveni i tehnološki napredak općenito, a napose u medicini, donio mnogo dobra za bolesnike i za očuvanje zdravlja, ali bez trijeznog vrednovanja mogućnosti njegovih negativnih učinaka mogla bi budućnost medicine krenuti pogrešnim putem. O tome treba voditi računa i kada razmišljamo o budućnosti kliničke citologije.

## L I T E R A T U R A

1. Streicher HJ, Sandkühler ST. *Klinische Zytologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1953.
2. Grunze H, Spriggs AI. *History of Clinical Cytology*. Darmstadt: G-I-T Verlag, 1983.
3. Papanikolaou GN. *Atlas of Exfoliative Cytology*. Cambridge: Harvard University Press, 1954.
4. Lopes Cardozo P. *Atlas of Clinical Cytology*. s'Hertogenbosch: Targa, 1976.
5. Znidarčić Ž, Črepinko I, Jeren T i sur. Uloga kliničara u citološkoj dijagnozi. *Lijec Vjesn* 2002; 124: 360-5.
6. Milić N. In memoriam prof. dr. Beata Brausil. *Lijec Vjesn* 1969; 1363-4.
7. Črepinko I. Sjećanja na razvoj kliničke citologije u Kliničkoj bolnici Merkur. *Acta Med Croatica* 2011; 65(Supl.1): 89-99.
8. Audy-Jurković S, Ivić J, U: Audy-Jurković S, ur. *Ginekološka citologija u Hrvatskoj 50 godina poslije*. Zagreb: HLZ, HDKC, 2003, 27-9.
9. Kardum-Skelin I. Zašto je citologija struka a ne metoda? Deset pravila za uspješnost citološke struke. *Acta Med Croatica* 2011; 65(Supl.1): 17-21.
10. Znidarčić Ž. Ethical problems in cytological practice. *Cytopathology* 2002; 60-1.
11. Kocjan G. Evaluation of the cost effectiveness of establishing of a fine needle aspiration cytology clinic in a hospital out-patient department. *Cytopathology* 1991; 2: 13-8.
12. Znidarčić Ž, Jeren T, Kaić G i sur. Cytology in primary health care of children and adults. *Coll Antropol* 2010; 34: 737-48.
13. Špišić B. *Moj životni put (život jednog ortopeda)*. Zagreb: HLZ-HOD, 2012.

## S U M M A R Y

### CLINICAL CYTOLOGY: WHY AND HOW?

Ž. ZNIDARČIĆ

*Croatian Society of Clinical Cytology, Croatian Medical Association, Zagreb, Croatia*

Clinical cytology is a morphological diagnostic profession, which has not been properly utilized in current medicine, primarily due to inadequate awareness among physicians of its diagnostic possibilities and advantages. The purpose of this historical review of clinical cytology and its diagnostic role is to contribute to higher awareness of the current possibilities offered by cytologic diagnosis and its future development in the era of technological progress and medical striking into profitability, with its negative connotations. The main features of cytologic diagnosis, i.e. non-aggressiveness, simplicity, promptness and accuracy, should be maintained while following new technological possibilities. Standard cytomorphology provides a basis for deciding on using additional technologies (cytochemistry, immunocytochemistry, flow cytometry, molecular analysis and cytogenetics) after thorough microscopic analysis, on cytologic samples or/and cytologic smears. The *conditio sine qua non* for that purpose is appropriate education of cytologists and cytotechnologists as well as appropriate organization of cytology in the healthcare system. As in the historical development of clinical cytology, enthusiasts are necessary to maintain and even improve all its possibilities to the benefit of our patients.

**Key words:** history of clinical cytology, actual use of cytodiagnosis, education in cytology, future development of clinical cytology



# A COMPARATIVE STUDY ON THE SEDATIVE EFFECT OF ORAL MIDAZOLAM AND ORAL CHLORAL HYDRATE MEDICATION IN LUMBAR PUNCTURE

HOJJAT DERAKHSHANFAR, MONA MODANLOO KORDI<sup>1</sup> AFSHIN AMINI<sup>2</sup> and MAJID SHOJAHEE<sup>2</sup>

*Pediatric Department, Mofid Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran,  
<sup>1</sup>Farmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Mazandaran and  
<sup>2</sup>Pediatric Department, Imam Hossein Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

**Objective:** Lumbar puncture (LP) is usually associated with anxiety and apprehension in children and their parents. This study was performed for controlling children's anxiety before and during LP and increasing the success of LP due to relaxation of the child following the use of sedative drugs and to compare the efficacy and side effects of oral midazolam and oral chloral hydrate. **Method:** This prospective randomized controlled clinical trial included 160 children aged 2-7 years, candidates for LP. They were divided into two randomized groups of 80 children each: group I received 80 mg/kg oral chloral hydrate and group II received 0.5 mg/kg oral midazolam before LP.

**Results:** The results indicated that the mean sedation grade was  $3.8 \pm 1.0$  in chloral hydrate group and  $2.3 \pm 0.9$  in midazolam group ( $P < 0.001$ ). The mean onset of sedative effect was  $30.9 \pm 8.8$  min in midazolam group and  $16.5 \pm 5.8$  min in chloral hydrate group ( $P < 0.001$ ). Prolonged sedation was the most common side effect in oral midazolam group (94.4%) versus 22.2% in chloral hydrate group.

**Conclusion:** Based on the level of sedation, side effects, time to onset of sedation and recovery time from sedation, oral chloral hydrate is a better sedative medication than oral midazolam.

**Key words:** lumbar puncture, chloral hydrate, midazolam, anxiety, premedication

**Address for correspondence:** Mona Modanloo Kordi  
Farmaceutical Sciences Research Center  
Mazandaran University of Medical Sciences  
Sari, Mazandaran, Iran  
Phone: +98 91 11 520 410; fax: +98 15 12 273 689  
E-mail: dr\_modanloo@yahoo.com

## INTRODUCTION

Chloral hydrate was the first therapeutic agent introduced as a synthetic central nervous system (CNS) depressant (1). It has been described as a safe and efficient medication (2,3). Midazolam is a short-acting benzodiazepine shown to be safe and effective when used for sedated pediatric procedure (4-6).

Lumbar puncture (LP) is indicated for both diagnostic and therapeutic purposes. It is used to obtain a cerebrospinal fluid (CSF) sample. Analysis of CSF is useful in the diagnosis of infectious processes and neurologic diseases. Therapeutically, LP can be used for injection of chemotherapeutic agents, anesthetic drugs and antibiotics in the subarachnoid space (7).

LP is a very painful procedure and causes severe anxiety and distress (8-10) that can persist for months after the procedure in some children (11).

The three main modalities reported to reduce preoperative anxiety in children include behavioral preparation programs of various kinds, parental presence during induction of anesthesia, and sedative premedication (12,13). Due to some limitations of behavioral preparation programs (14) and some findings about parental presence during induction (14,15), these options do not appear as suitable substitutes for sedative premedication.

The aim of this study was to compare the sedative effects of oral chloral hydrate versus oral midazolam and

assess their complications. We prescribe these drugs in common doses for patients.

## METHODS

This prospective randomized controlled clinical trial was conducted at Emergency Department of Mofid Children's Hospital in Tehran. The study was carried out from June 2010 to November 2010.

Study design was approved by the Mofid Children's Hospital Ethics Committee. Study group consisted of 160 children older than 2 years examined by an Emergency Medicine resident and presented for LP. The children were completely conscious. The parents of all patients gave their written informed consent before inclusion in the study.

Patients were randomly divided into two groups. Group I patients received oral chloral hydrate syrup 80 mg/kg and if after 20 min this dosage was not effective, an additional dose of 20 mg/kg up to 2 g was administered (1). Group II patients received oral midazolam syrup 0.5 mg/kg 50 minutes before LP (14). An additional dose of up to 8 mg was administered to the children with inadequate sedation (16).

Patients with hypersensitivity or known idiosyncrasy to the study medications or having a history of psychiatric disease and those aged <2 years were excluded.

The children should be monitored during sedation because the accumulation of chloral hydrate can cause some complications such as excessive CNS, respiratory and vasomotor depression (1).

The Wheeler's sedation level score was used to assess the level of patient sedation (4,5), as follows:

Level 1: agitated, clinging to parents and/or crying;

Level 2: alert, awake but willing to leave parent with coaxing;

Level 3: calm and not fighting, but eyes open most of the time; and

Level 4: eyes closing spontaneously but response to minor stimuli.

The heart rate (HR), respiratory rate (RR), blood pressure (BP) and oxygen saturation were monitored during sedation.

An expert nurse was responsible to record any side effects in patients of either group.

Upon data collection, statistical analysis was performed by SPSS-18 and independent t-test used to compare the groups. The level of significance was set at  $P < 0.05$ .

## RESULTS

The mean patient age was  $3.4 \pm 1.9$  (2.2-6.5) years in the chloral hydrate group and  $3.6 \pm 2.6$  (2.1-6.8) years in the midazolam group ( $P < 0.778$ ). The mean weight was  $16.8 \pm 5.1$  (11.0-29.3) kg in the chloral hydrate group and  $18.1 \pm 4.2$  (10.8-32.1) kg in the midazolam group ( $P < 0.123$ ). There were 42 girls and 38 boys in the chloral hydrate group as compared with 48 girls and 32 boys in the midazolam group ( $P < 0.473$ ). The two groups were similar with respect to age, gender and weight. Also, there was no significant between-group difference according to baseline HR, RR, BP and  $O_2$  saturation (Table 1).

The mean onset of sedation was  $30.9 \pm 8.8$  (12-50) min in the midazolam group and  $16.50 \pm 5.8$  (6-29) min in the chloral hydrate group ( $P < 0.001$ ). Total recovery time was  $68.9 \pm 15.6$  in the chloral hydrate group and  $92 \pm 20.9$  in the midazolam group ( $P < 0.012$ ).

Successful sedation (patient falling asleep or remaining calm enough (4) to complete the LP procedure was 92.5% (74/80) in the chloral hydrate group and 72.5% (58/80) in the midazolam group, which was significantly different ( $P < 0.045$ ).

Five percent (4/80) of children in the chloral hydrate group and 10% (8/80) in the midazolam group needed an extra dosage of the drug ( $P < 0.089$ ). The sedation level scores are shown in Table 2.

There was no significant change from baseline in vital signs and  $O_2$  saturation during sedation in either group.

The most frequent side effect seen in children was prolonged sedation (75% in the midazolam group and 20% in the chloral hydrate group), yielding a statistically significant between-group difference ( $P < 0.001$ ) (Table 3).

Table1.

*The basal amount of vital signs*

Vital sign	Chloral hydrate group	Midazolam group	P value
HR	120.7+16.7	120.1+12.3	<0.368
RR	27.0+4.9	25.8+7.3	<0.802
Systolic BP	98.8+16.9	100.7+21.3	<0.216
Diastolic BP	60.3+14.4	58.1+16.3	<0.070
O2 Sat	98.1+2.4	97.4+2.0	<0.407

Table2.

*The sedation level score in two groups*

	Chloral hydrate group %(n)	Midazolam group %(n)	P value
Level 1	5(4)	10(8)	<0.001
Level 2	5(4)	25(20)	
Level 3	13.75(11)	50(40)	
Level 4	76.25(61)	15(12)	

Table3.

*Side effects in 2 groups*

	Chloral hydrate group %(n)	Midazolam group %(n)	P value
Vomiting	2.5(2)	2.5(2)	<0.141
Headache	2.5(2)	1.25(1)	<0.087
Agitation	12.5(10)	16.25(13)	<0.208
Prolonged sedation	20(16)	75(60)	<0.001
Without side effects	62.5(50)	5(4)	<0.015

## DISCUSSION AND CONCLUSION

Pharmacological advantages observed in the present study included rapid onset of action and shorter recovery from sedation, which can accelerate patient recovery. These results were in contrast with those reported by Layangool *et al.* in 2008 and D'Agostino and Terndrup in 2000 (5,17). They concluded that the duration of sedation was shorter in children who were sedated by midazolam. Layangool *et al.* also report a shorter onset of sedation for midazolam; however, they used the intravenous form of midazolam sublingually (5).

Results of some other studies showed that midazolam needed shorter time to the onset of sedation compared with some other medications such as promethazine and chloral hydrate (11,18). On the contrary, another study found no significant difference between chloral hydrate and midazolam according to the onset of sedation or side effects, but just like our study, chloral hydrate was found to provide more suitable sedation than midazolam (4).

As in Wheeler *et al.* and Layangool *et al.* studies, we found that most of the children in the chloral hydrate group had a deeper level of sedation compared with those in the midazolam group (4,5).

According to Vade *et al.*, the children's level of sedation should be higher than in adults because of their separation anxiety and fear, and this is in line with our results (3).

Similar to Wheeler *et al.*, no significant hemodynamic changes occurred in our study groups (4). On the other hand, Layangool *et al.* report an O<sub>2</sub> saturation reduction by more than 5% in the chloral hydrate group (5).

The overall side effects from midazolam were recorded significantly more often than with chloral hydrate, mostly related to prolonged sedation. This finding is in contrast to Layangool *et al.* (5), but their findings included vomiting and it should be noted that they prescribed a different route of drug administration (sublingual midazolam) and initially used a lower dose of chloral hydrate than our study.

D'Agostino and Terndrup found no significant relation of side effects in the two groups (17).

The main advantage of our study in comparison with other studies was that our population were not candidates for surgery and did not need induction of general anesthesia. Therefore, we assessed the actual amount of

sedation medications without the interfering effect of anesthetic drugs.

However, there were several limitations to our study. Our sample size was small. In addition, we only studied children older than 2 years because chloral hydrate has a contraindication for children younger than 2 years. Thus, our findings cannot apply to children younger than 2 years.

Similar to Wheeler *et al.* and D'Agostino and Terndrup, we found that the deeper level of sedation with chloral hydrate compared to midazolam may suggest the former as a successful and safe medication to sedate children over 2 years of age (4,17). In addition, our findings showed less adverse effects for chloral hydrate compared to midazolam. In a recent study conducted in Iran by Fallah *et al.*, they report chloral hydrate as a safe and effective medication in some procedures like LP in children (19). In addition, some studies demonstrated a combination of promethazine and chloral hydrate to be better than midazolam for children sedation at pediatric intensive care unit (20,21).

On the other hand, Layangool *et al.* report that chloral hydrate and midazolam can be used equally in young children (5). However, a multicenter study in a larger population with more varieties of sedative drugs is obviously warranted.

#### ACKNOWLEDGMENT

We thank the Shahid Beheshti University Vice Chancellor of Research for his cooperation and the children and their families who participated in our study.

#### REFERENCES

1. Low E, O'Driscoll M, MacEaney B, O'Mahony O. Sedation with oral chloral hydrate in children undergoing MRI scanning. *Ir Med J* 2008;101: 80-2.
2. Çeçen E, Uygur Ö, Tosun A. Severe central nervous and respiratory system depression after sedation with chloral hydrate: a case report. *Turk J Pediatrics* 2009; 51: 497-9.
3. Vade A, Sukhani R, Dolenga M, Schuck CH. Chloral hydrate sedation of children undergoing CT and MR imaging: safety as judged by American Academy of Pediatrics. *AJR* 1995; 165: 905-9.
4. Wheeler DS, Jensen RA, Poss WB. A randomized, blinded comparison of chloral hydrate and midazolam sedation in children undergoing echocardiography. *Clin Pediatr (Phila)* 2001; 40: 381-7.
5. Layangool T, Sangtawesin C, Kirawittaya T et al. A comparison of oral chloral hydrate and sublingual midazolam sedation for echocardiogram in children. *J Med Assoc Thai* 2008; 91: S45-52.
6. Kutlu NO, Dogrul M, Yakinci C, Soylu H. Buccal midazolam for treatment of prolonged seizures in children. *Brain Dev* 2003; 25: 275-8.
7. Ellenby MS, Tegtmeier K, Lai S, Braner DAV. Lumbar puncture. *N Engl J Med* 2006; 355: e12.
8. Crock C, Olsson C, Phillips R et al. General anesthesia or conscious sedation for painful procedures in childhood cancer: the family's perspective. *Arch Dis Child* 2003; 88: 253-7.
9. Holdsworth MT, Raisch DW, Winter SS et al. Pain and distress from bone marrow aspirations and lumbar punctures. *Ann Pharmacother* 2003;37:17-22.
10. Ellis JA, Villeneuve K, Newhook K, Ulrichsen J. Pain management practices for lumbar punctures: are we consistent? *J Pediatr Nurs* 2007; 22: 479-87.
11. Mathai A, Nazareth M, Raju RS. Preanesthetic sedation of preschool children: comparison of intranasal midazolam versus oral promethazine. *Anesth Essays Res* 2011; 5: 67-71.
12. McCann ME, Kain ZN. The management of preoperative anxiety in children: an update. *Anesth Analg* 2001; 93: 98-105.
13. Kain ZN, Caldwell-Andrews AA. Psychological preparation of children undergoing surgery. *Anesth Clin North Am* 2005; 23: 597-614.
14. Wolf AR, Rosenbarum A, Kain ZN, Larsson P, Lönnqvist PA. The place of premedication in pediatric practice. *Paediatr Anaesth* 2009; 19: 817-28.
15. Yuen VM, Hui TW, Irwin MG, Yuen MK. A comparison of intranasal dexmedetomidine and oral midazolam for premedication in pediatric anesthesia: a double-blinded randomized controlled trial. *Anesth Analg* 2008; 106: 1715-21.
16. Connors K, Terndrup TE. Nasal versus oral midazolam for sedation of anxious children undergoing laceration repair. *Ann Emerg Med* 1994; 24: 1074-9.
17. D'Agostino J, Terndrup TE. Chloral hydrate versus midazolam for sedation of children for neuroimaging: a randomized clinical trial. *Pediatr Emerg Care* 2000; 16: 1-4.
18. Almenrader N, Passariello M, Coccetti B, Haiber R, Pietropaoli P. Premedication in children: a comparison of oral midazolam and oral clonidine. *Pediatr Anesth* 2007; 17: 1143-9.
19. Fallah R, Jalili S, Golestan M, Akhavan Karbasi S, Jarahzadeh MH. Efficacy of chloral hydrate and promethazine for sedation during electroencephalography in children: a randomised clinical trial. *Iran J Pediatr* 2013; 23: 27-31.
20. Parkinson L, Hughes J, Gill A, Billingham I, Ratcliffe J, Choonara I. A randomized controlled trial of sedation in the critically ill. *Paediatr Anaesth* 1997; 7: 405-10.
21. Crean P. Sedation and neuromuscular blockade in paediatric intensive care; practice in the United Kingdom and North America. *Paediatr Anaesth* 2004; 14: 439-42.

## S A Ž E T A K

### USPOREDNA STUDIJA O SEDATIVNOM UČINKU PERORALNO PRIMIJENJENIH MIDAZOLAMA I KLORAL HIDRATA KOD LUMBALNE PUNKCIJE

H. DERAKHSHANFAR, M. MODANLOO KORDI<sup>1</sup>, A. AMINI<sup>2</sup> i M. SHOJAHEE<sup>2</sup>

*Odjel za dječje bolesti, Bolnica Mofid, Sveučilište za medicinske znanosti Shahid Bezehti, Teheran,*

*<sup>1</sup>Istraživački centar farmakoloških znanosti, Sveučilište za medicinske znanosti Mazandaran, Sari, Mazandaran i*

*<sup>2</sup>Odjel za dječje bolesti, Bolnica Imam Hossein, Sveučilište za medicinske znanosti Shahid Beheshti, Teheran, Iran*

**Cilj:** Lumbalna punkcija (LP) je obično povezana s anksioznošću i nemirom djece i njihovih roditelja. Ova je studija provedena u cilju svladavanja anksioznosti djece prije lumbalne punkcije i u njenom tijeku te da se poveća uspješnost LP zahvaljujući opuštenosti djeteta nakon uporabe sedativnih lijekova, kao i da se usporede učinkovitost i nuspojave peroralno primijenjenih midazolama i kloral hidrata.

**Metoda:** Ova prospektivna randomizirana klinička studija provedena je na 160 djece u dobi od 2 do 7 godina kojima je trebalo učiniti lumbalnu punkciju. Podijeljeni su u dvije jednake randomizirane skupine po 80 ispitanika. Prva je skupina prije LP primila 80 mg/kg kloral hidrata peroralno, a druga skupina istim putem 0,5 mg/kg midazolama.

**Rezultati:** Pokazalo se da je prosječna razina sedacije iznosila  $3,8 \pm 1,0$  u skupini koja je primila kloral hidrat, a  $2,3 \pm 0,9$  u skupini koja je dobila midazolam ( $P < 0,001$ ). Produžena sedacija bila je najčešća nuspojava nakon primjene midazolama (94,4%), a nakon primjene kloral hidrata uočena je u 22,2% djece.

**Zaključak:** S obzirom na razinu sedacije, nuspojave, vrijeme početka sedacije i vrijeme oporavka, kloral hidrat u peroralnoj primjeni je bolji sedativ od midazolama u istoj primjeni.

**Ključne riječi:** lumbalna punkcija, kloral hidrat, midazolam, anksioznost, premedikacija



# VARIJACIJA UDARNOG VOLUMENA I TLAKA PULSA DOBRI SU POKAZATELJI HEMODINAMSKOG ODGOVORA NA NADOKNADU VOLUMENA U SEPSI

ŽELJKO DRVAR, MARIO PAVLEK, VILIM DRVAR<sup>1</sup>, BORIS TOMAŠEVIĆ, ROBERT BARONICA i MLADEN PERIĆ

*Klinički bolnički centar Zagreb, Klinika za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje i <sup>1</sup>Ustanova za hitnu medicinsku pomoć Zagreb, Zagreb, Hrvatska*

Tehnologijom LiDCOPlus™ ispitani smo vrijednost varijacije udarnog volumena (SVV - *Stroke Volume Variation*) i tlaka pulsa (PPV - *Pulse Pressure Variation*) u predviđanju odgovora na liječenje nadoknadom volumena u bolesnika sa sepsom nakon velikih abdominalnih kirurških zahvata. Ukupno je bilo 46 bolesnika (22 muškaraca u dobi od 46±6 godina, APACHE II zbroj 26±5; 24 žene u dobi od 41±6 godina, APACHE II zbroj 24±4). Sepsa je definirana prema međunarodnim kriterijima. Pozitivan odgovor na bolus 500 mL 6 % hidroksietil škroba smatrao se porast indeksa udarnog volumena (SVI - *Stroke Volume Index*) ≥15 %. Rezultati su uspoređeni Studentovim t-testom, korelacija Pearsonovim koeficijentom. Pozitivan odgovor primijećen je u 26 (57,4 %) bolesnika. Početne vrijednosti SVV korelirale su sa početnim vrijednostima PPV ( $r=0,92$ ,  $P<0,001$ ). SVV i PPV su bili značajno viši kod bolesnika s pozitivnim odgovorom. SVV: 14,4 ±3,3 vs. 7,1 ±3,1;  $P<0,001$ . PPV: 15,2±4,1 vs. 7,4±4,5;  $P<0,001$ . Nije bilo razlike između AUROC (*Area Under Receiver Operating Characteristic*) krivulja za SVV (0,96; 95 % *confidence interval* 0,859-0,996) i PPV (1,000; 95 % *confidence interval* 0,923-1,000). Optimalna vrijednost diskriminacijskog praga bila je 10 % za SVV (osjetljivost 96,15 %, specifičnost 100 %) i 12 % za PPV (osjetljivost 100 % i specifičnost 100 %). Rezultati upućuju da su SVV i PPV dobri pokazatelji hemodinamskog odgovora na nadoknadu tekućine u sepsi.

**Ključne riječi:** indeks udarnog volumena, varijacija udarnog volumena, varijacija tlaka pulsa, terapija volumenom, sepsa

**Adresa za dopisivanje:** Željko Drvar, dr. med.  
Klinika za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje  
KBC Zagreb  
Kišpatičeva 12,  
10000 Zagreb, Hrvatska  
Tel: 098 902 02 41  
E-pošta: zeljko.drvar@email.t-com.hr

## UVOD

Hemodinamika proučava fizikalne zakone gibanja krvi u ovisnom zatvorenom sustavu koji čine krvne žile i srčane komore. Isto tako, na temelju novih znanstvenih spoznaja grade se modeli koji sve plastičnije prikazuju sile iza gibanja krvi u sustavu koji je još 1628. opisao William Harvey (*“De motu cordis”*) (1,2). Osnovna svrha kardiovaskularnog sustava je isporuka kisika i hranjivih tvari stanicama, te istodobno distribucija produkata metabolizma stanice do mjesta gdje će se eliminirati. Svako stanje koje ima za posljedicu poremećaj homeostaze kardiovaskularnog sustava ugrožava život stanice (1). Takvo stanje je i sepsa.

Tijekom posljednjih desetljeća dogodio se značajan napredak u tehnologiji, koji je omogućio i razvoj hemodinamike, pa tako sada postoji niz uređaja za monitoring hemodinamskog statusa bolesnika, invazivnih i neinvazivnih. Cilj je monitoringa pravodobno otkriti promjene u kardiovaskularnom statusu bolesnika kako bi se odgovarajućom intervencijom spriječila, ili barem ublažila daljnja oštećenja metabolizma.

Sepsa je sustavni upalni odgovor organizma izazvan mikrobiološkim uzročnikom (3). Poznato je da u sepsi povećan minutni volmen nastaje kao odgovor na upalu i perifernu vazodilataciju uzrokovanu djelovanjem citokina i endotoksina. Razlikujemo tri oblika sepsa:



nekomplikirana sepsa, teška sepsa i septički šok (3). U teškoj sepsi i septičkom šoku izražena je hipotenzija koju se u prvom redu nastoji kompenzirati nadoknadom volumena a zatim vazoaktivnim lijekovima (3-5). Naime, iako je u sepsi dokazano da je vodeći problem nemogućnost utilizacije kisika zbog poremećaja u procesu oksidativne fosforilacije u membranskim kompleksima mitohondrija, važan utjecaj na metabolizam kisika ima i postojanje *shunt*-ova u mikrocirkulaciji kao posljedica djelovanja dušikovog oksida (NO) i proupalnih citokina (4-6).

Tumor nekrotizirajući čimbenik- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ; *tumor necrosis factor- $\alpha$* ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ; interleukin-1 $\beta$ ) i interleukin-6 (IL-6; interleukin-6) izlučuju stanice imunskog sustava, ali i gotovo sve stanice unutar miokarda koje sadrže jezgru, uključujući kardiomiocite (7,8). TNF- $\alpha$  djeluje vežući se na receptore niske aktivnosti (TNFR 1) i receptore visoke aktivnosti (TNFR 2). Oba receptora nalaze se na membrani kardiomiocita (7,8). Štetni učinci TNF- $\alpha$  ostvaruju se aktivacijom TNFR 1, što ima za posljedicu negativan inotropni učinak preko aktivacije neutralne sfingomijelinaze, kao i apoptozu kardiomiocita (7,8). Aktivacija TNFR 2 štiti miocite od hipoksičnog stresa i ishemijskog oštećenja, bez učinka na kontrakciju stanica. TNF- $\alpha$  aktivira metaloproteinaze koje razgrađuju ekstracelularni matriks (disrupcija kolagena tip 1), povećava aktivnost lipoproteinske lipaze i interferira s metabolizmom inzulina (8). IL-1 $\beta$  i IL-6 također uzrokuju neposredni negativno inotropni učinak (8). Proupalni citokini u sepsi uzrokuju remodeliranje lijevog ventrikula (LV) zahvaćajući miocitne i nemiocitne komponente srca (7,8). Mehanizmi remodeliranja LV su: promjena u biologiji miocita, promjene u ekstracelularnom matriksu i progresivni gubitak miocita (7,8). Posljedica je sistolička i dijasolička disfunkcija LV i poremećaj hemodinamskog statusa bolesnika.

Do sada je razvijen niz sustava i uređaja za monitoriranje hemodinamskog statusa, iako zlatni standard za sada još uvijek drži Swan-Ganzov kateter iz 1970. godine (9).

Danas je pozornost istraživača usmjerena prema dinamičkim pokazateljima kardiovaskularnog statusa (varijacija udarnog volumena i varijacija tlaka pulsa), koji pokazuju funkciju volumena/tlaka kontinuirano u vremenu, za razliku od statičkih pokazatelja (srednji venski tlak, srednji arterijski tlak, tlak u plućnoj arteriji i okluzijski tlak plućne arterije) koji pokazuju sliku kardiovaskularnog statusa u pojedinom vremenskom intervalu (10). Osim bolje ilustracije hemodinamskog statusa od novih se metoda očekuje da budu manje invazivne, jednostavnije za upotrebu te da poboljšaju ishod liječenja.

Varijacija udarnog volumena (SVV - *Stroke Volume Variation*) i varijacija tlaka pulsa (PPV - *Pulse Pressure Variation*) dobivene su upotrebom LiDCO tehnologije. U osnovi, radi se o promatranju interakcije kardiovaskularnog i dišnog sustava, tj. varijacije udarnog volumena i tlaka pulsa u jednom respiracijskom ciklusu (jednadžba 1. i 2.), te se na temelju dobivenih mjerenja pretpostavlja kako će pacijent reagirati na nadoknadu volumena.

Vrijednosti varijacije udarnog volumena veće od 10 % i tlaka pulsa veće od 13 % indikativne su za pozitivan odgovor na davanje tekućine (11,12).

## CILJ

Cilj ovog istraživanja je ispitati vrijednost varijacije udarnog volumena i tlaka pulsa kao dinamičkih pokazatelja predopterećenja srca u predviđanju odgovora na liječenje nadoknadom tekućine u bolesnika sa sepsom nakon velikih abdominalnih kirurških zahvata.

## METODE

Prospektivnom opservacijskom studijom, provedenom od rujna 2009. do prosinca 2011. godine u Klinici za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje KBC-a Zagreb, bilo je obuhvaćeno 46 bolesnika u sepsi nakon velikih abdominalnih kirurških zahvata (22 muškarca u dobi od 46 $\pm$ 6 godina, APACHE II zbroj 26 $\pm$ 5; 24 žene u dobi od 41 $\pm$ 6 godina, APACHE II zbroj 24 $\pm$ 4). Svi su bolesnici potpisali informirani pristanak. Dijagnoza sepse postavljena je prema međunarodno definiranim kriterijima, temeljenima na kliničkim znakovima i laboratorijskim nalazima (3). U tablici 1. prikazani su mikroorganizmi izolirani iz hemokultura bolesnika obiju skupina, kao i primijenjeni antibiotik prema antibiogramu. Isključni kriteriji navedeni su u tablici 2.

Poslije prijma u Jedinicu intenzivnog liječenja, a nakon učinjenog kirurškog zahvata, bolesnici su i dalje bili orotrahealno intubirani, mehanički ventilirani.

Za sedaciju bolesnika korišten je midazolam u dozi 0,05-0,15 mg/kg/h. Analgezija je održavana sufentanilom u dozi 0,2-0,6  $\mu$ g/kg. Oba su lijeka primijenjena intravenski, kontinuirano preko perfuzora. Cirkulacijski nestabilni bolesnici imali su vazoaktivnu potporu arterenolom (1,2  $\mu$ g/kg/min) i izračunati su SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) zbrojevi. Doza arterenola i postavke ventilatora bile su tijekom razdoblja istraživanja konstantne.

Tablica 1.

Prikaz mikroorganizama izoliranih iz hemokultura obiju skupina bolesnika (VR i VNR) i primijenjeni antibiotici prema antibiogramu.

Mikroorganizam izoliran iz hemokulture	Broj izolata		Primijenjeni antibiotici prema antibiogramu
	VR	VNR	
<i>S. aureus</i>	2	4	kloksacilin, klindamicin
<i>S. aureus MRSA</i>	3	5	teikoplanin, vankomicin
<i>S. koagulaza negativan</i>	3	2	teikoplanin, vankomicin
<i>P. aeruginosa</i>	6	9	meropenem, kolistin
<i>K. pneumoniae ESBL</i>	3	5	meropenem, cefepim
<i>A. baumannii</i>	1	3	meropenem
Ukupno	46		

VR-Volume Responders, VNR-Volume Non-Responders

Tablica 2.

Kriteriji isključivanja.

Kriteriji isključivanja
LVEF < 45 %
Fibrilacija atrija
Insuficijencija valvule aorte
Plućni edem
Djeca
Trudnice
Bolesnici koj su primali terapiju litijem
Bolesnici koji nisu potpisali informirani pristanak

Modalitet ventilacijske potpore bio je IPPV (*Intermittent Positive Pressure Ventilation*), bez spontanog disanja. Postavke ventilatora (*Evita R XL, Draeger, Lubeck, Germany*) bile su: udio kisika u udahnutoj smjesi ( $FiO_2$ ; *Fractional Inspired Oxygen*) 0,4, frekvencija disanja (FD) 12 x/min; dišni volumen (TV; *Tidal Volume*) 7mL/kg, odnos inspirij naspram ekspirij (I:E) 1:2, pozitivni tlak na kraju izdaha (PEEP - *Positive End-Expiratory Pressure*) 5 cm H<sub>2</sub>O. Navedene postavke ventilatora održavale su normokapniju. Srčani ritam svih bolesnika bio je sinusni, što je potvrđeno EKG-om. Svim bolesnicima postavljen je dvoluminarni centralni venski kateter (CVK - *Arrow International, 7F, 20 cm, Athlore, Ireland*) punkcijom vene jugularis interne, a pozicija provjerena radiografski. Istovremeno je postavljena i intraarterijska kanila, punkcijom arterije kubitalis. Preko pretvarača sustav je spojen s primarnim monitorom (*Drager, Infinity Delta XL, Germany*) i sa LiDCO™ plus (*LiDCO, Cambridge, U.K.*) sekundarnim monitorom.

SVV, PPV, indeks udarnog volumena (SVI - *Stroke Volume Index*) i indeks minutnog volumena (CI - *Cardiac Index*) dobiveni su analizom krivulje pulsa koristeći LiDCO™ plus tehnologiju u skladu s njenim ograničenjima (respiracijski volumen pri kontroliranoj mehaničkoj ventilaciji  $\geq 8$  mL/kg; pacijenti bez srčanih aritmija, bez prekomjernog pozitivnog tlaka na kraju ekspirija, PEEP < 10 cm H<sub>2</sub>O, bez disfunkcije desne kli-

jetke i bez konkomitantne primjene vazodilatatora) a nakon učinjene početne kalibracije (13).

Za početnu kalibraciju sustava korišten je litijev klorid u količini od 0,3 mmola (2 mL) injiciran u CVK.

Istodobno su bilježeni srčani indeks (CI - *Cardiac Index*), srednji arterijski tlak (MAP - *Mean Arterial Pressure*), srčana frekvencija (HR - *Heart Rate*), doprema kisika ( $DO_2$ ; *Oxygen Delivery*), potrošnja kisika ( $VO_2$ ; *Oxygen Consumption*) i centralna venska saturacija kisikom ( $ScvO_2$ ; *Central Venous Oxygen Saturation*). Mjerenja su rađena tijekom 8 sati u kontinuitetu.

Tijekom navedenog razdoblja bolesnici su primili bolus tekućine od 500 mL 6 % hidroksietil škroba (130/0,4; Voluven, Fresenius Kabi) tijekom 30 minuta, nakon čega je promatran indeks udarnog volumena (SVI - *Stroke Volume Index*). Porast SVI  $\geq 15$  % bio je značajan, te su prema tome bolesnici podijeljeni u dvije skupine: oni koji su reagirali na bolus tekućine (VR - *Volume Responders*) i oni koji nisu reagirali na bolus tekućine (VNR - *Volume Non-Responders*).

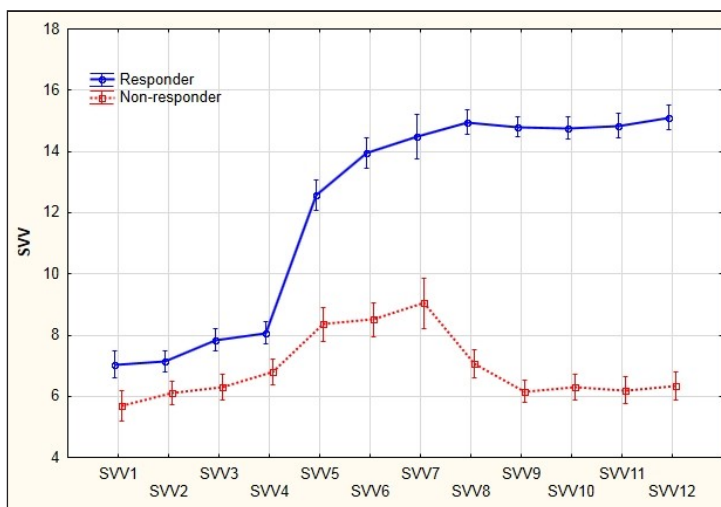
Ukupno je učinjeno 12 očitavanja navedenih pokazatelja za svakog bolesnika u obje skupine.

Dobiveni podaci uspoređeni su Studentovim t-testom. Korelacija je izračunata koristeći Pearsonov koeficijent. Vrijednosti  $P < 0,05$  smatrane su statistički značajnima.

## REZULTATI

Pozitivni odgovor na bolus 500 mL 6 % hidroksietil škroba primijećen je kod 26 (57,4 %) bolesnika. Početne vrijednosti varijacije udarnog volumena korelirale su s početnim vrijednostima varijacije tlaka pulsa ( $r=0,92$ ,  $P < 0,001$ ). I SVV i PPV su bili značajno viši u skupini bolesnika s pozitivnim odgovorom,

kao što je prikazano na tablici 3. Dinamika promjene i razlika u SVV, PPV i SVI između VR i VNR skupine bolesnika prikazana je grafički (graf. 1-3). I kod ostalih izmjerenih hemodinamskih vrijednosti utvrđena je statistički značajna razlika između dviju ispitivanih skupina. Jedino se vrijednosti DO<sub>2</sub> nisu statistički značajno razlikovale između VR i VNR skupine bolesnika (tablica 4). Nije bilo razlike između AUROC (Area Under Receiver Operating Characteristic) krivulja za SVV (0,96; 95 % konfidencijski interval 0,859-0,996), kako je i prikazano u graf. 4, niti za PPV (1,000; 95 % konfidencijski interval 0,923-1,00), graf. 5. Optimalna vrijednost diskriminacijskog praga između skupina bila je 10 % za SVV (osjetljivost 96,15 %, specifičnost 100 %) i 12 % za PPV (osjetljivost 100 %, specifičnost 100 %).



Graf. 1. SVV prije i nakon davanja bolusa tekućine.

Tablica 3.

Vrijednosti indeksa udarnog volumena, varijacije udarnog volumena (SVV) i tlaka pulsa (PPV) u obje ispitivane skupine.

	SVI (ml/m2/otkucaj)	SVV (%)	P<0,001	PPV (%)	P<0,001
VR	45±8	14,4±3,3		15,2±4,1	
VNR	30±5	7,1±3,1		7,4±4,5	

VR-Volume Responders, VNR-Volume Non-Responders.

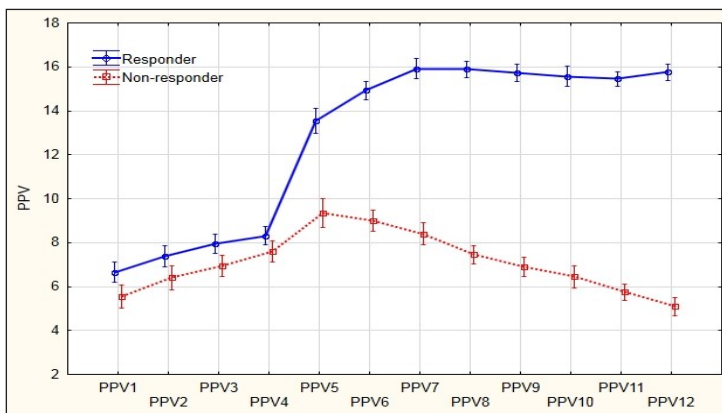
Tablica 4.

Ostale promatrane hemodinamske vrijednosti.

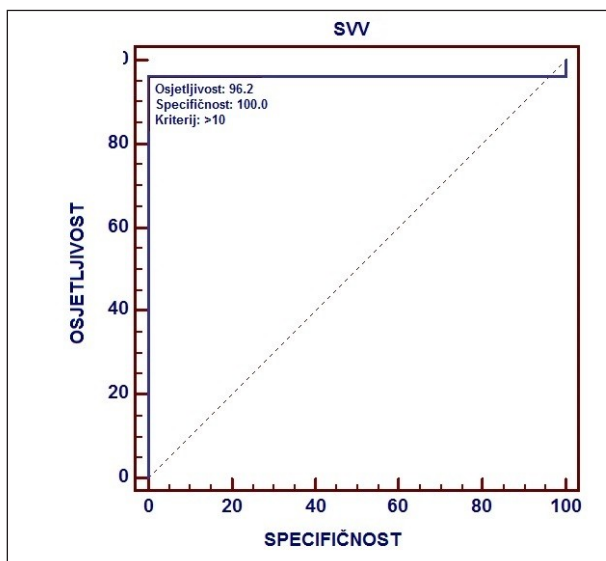
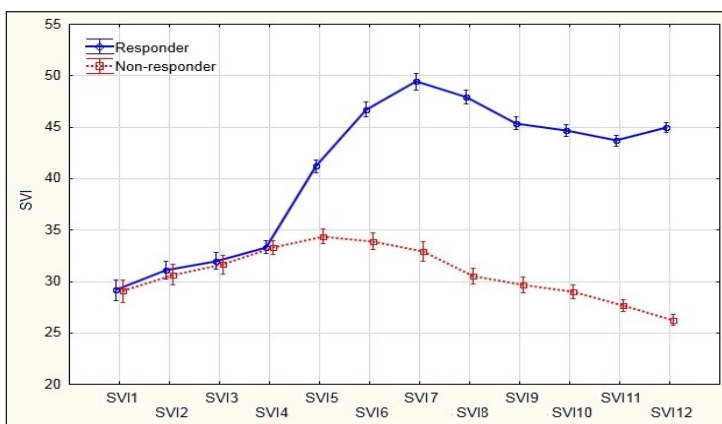
Skupina		N	Srednja vrijednost	SD	Srednja standardna pogreška	P
HR	VR	26	72,54	5,08	1,00	<0,001
	VNR	20	85,35	5,76	1,29	
MAP	VR	26	82,92	6,05	1,19	<0,001
	VNR	20	62,25	4,83	1,08	
DO <sub>2</sub>	VR	26	1020,50	64,31	12,61	0,268
	VNR	20	1003,35	25,87	5,79	
VO <sub>2</sub>	VR	26	229,08	13,17	2,58	<0,001
	VNR	20	247,55	6,39	1,43	
ScvO <sub>2</sub>	VR	26	72,50	1,70	0,33	<0,001
	VNR	20	76,25	1,33	0,30	
CI	VR	26	3,80	0,19	0,04	<0,001
	VNR	20	2,89	0,30	0,07	

(VR – Volume Responders; VNR – Volume Non-Responders)

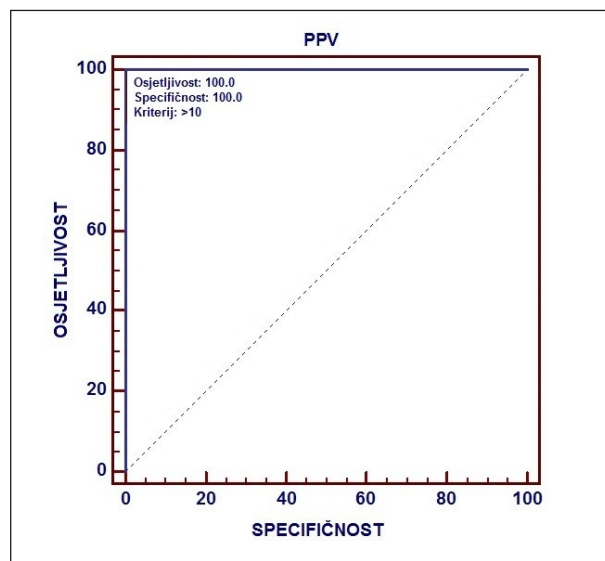
Graf. 2. PPV prije i nakon davanja bolusa tekućine.



Graf. 3. SVI prije i nakon davanja bolusa tekućine.



Graf. 4. AUROC za SVI.



Graf. 5. AUROC za PPV.

Jednadžba 1. Izračun varijacije tlaka pulsa (PPV).

$$PPV = \frac{PP_{maks} - PP_{min}}{(PP_{maks} + PP_{min}) / 2} \times 100$$

Jednadžba 2. Izračun varijacije udarnog volumena (SVI).

$$SVI = \frac{SV_{maks} - SV_{min}}{(SV_{maks} + SV_{min}) / 2} \times 100$$

## RASPRAVA

Navedeni rezultati istraživanja pokazuju da se varijacije udarnog volumena i tlaka pulsa mogu koristiti u procjeni nadoknade volumena u pacijenata sa sepsom. To pokazuju značajno više vrijednosti navedenih parametara u bolesnika u kojih je primijećen signifikantan porast indeksa udarnog volumena nakon primjene bolusa koloida – 500 mL 6 % hidroksietil škroba. Izmjerenе vrijednosti varijacije udarnog volumena i tlaka u obje skupine pacijenata u skladu su s dosadašnjim spoznajama iz literature (11-16). Noviji literaturni podaci još uvijek nisu odgovorili na pitanje koji je parametar SVV ili PPV bolji pokazatelj odgovora na nadoknadu volumena. Meta analiza provedena od Marika i sur. daje prednost PPV-u, što je donekle iznenađujuće, budući da fiziološki udarni volumen srca dovodi do promjene u tlaku pulsa (17). Bitno je i koja se otopina koristi u nadoknadi volumena, koloidna ili kristaloidna, volumen i brzina primjene. Rad Trofa i sur. daje prednost koloidima koji primijenjeni u malim brzo danim volumenima dovode do značajnog porasta volumena na kraju dijastole desnog ventrikula (18). Ceconi i sur. postupno su davali koloidnu otopinu do porasta središnjeg venskog tlaka za 2 mm Hg, što je imalo za posljedicu i porast intravaskularnog protoka (19).

Istraživanje se razlikuje od ranijih po tome što je indikator pozitivnog odgovora na nadoknadu volumena primjenom koloida u ovoj studiji bio SVI. Istraživani su pacijenti nakon velikih abdominalnih zahvata u sepsi, za razliku od drugih kirurških/anestezioških (uglavnom neurokirurških i kardiokirurških) područja ekspertize. Međutim, zanimljivo je da su dobiveni rezultati slični.

Kako je u sepsi važna inicijalna brza nadoknada intravaskularnog cirkulirajućeg volumena, a srčana depresija ima važnu ulogu u nastajanju šoka u septičnih pacijenata, nužna je što preciznija procjena sposobnosti kardiovaskularnog sustava u prihvaćanju bolusa tekućine – tu je uočena vrijednost dinamičkih hemodinamskih parametara varijacije udarnog volumena i tlaka pulsa u promatranoj populaciji.

Razumije se, kao i u svakom istraživanju i ovdje postoje nedostaci. Među njima treba istaknuti specifičnost promatrane populacije – kirurški bolesnici nakon laparotomije (i što je važnije, anestezije) i relativno mali broj subjekata.

U vrijeme pisanja ovog rada u tijeku su istraživanja koja pokušavaju preciznije definirati skupine bolesnika u kojih se mogu koristiti SVV i PPV (20).

Upitna je korist primjene tehnologije analize krivulje pulsa u dvije skupine bolesnika. Prvu skupinu čine oni

sa srčanim aritmijama, a drugu bolesnici na terapiji vazoaktivnim lijekovima. Naime, i jedna i druga skupina predstavljaju kritične bolesnike u kojih je potreban što manje invazivan hemodinamski nadzor, u cilju sprječavanja mogućih komplikacija.

Rezultati istraživanja u literaturi su dvojaki: jedni ne vide prepreke u korištenju ovog monitoringa u bolesnika sa srčanim aritmijama i na terapiji vazoaktivnim lijekovima te interpretaciji dobivenih mjerenja, dok su drugi skeptični prema monitoringu (17, 19-26).

## ZAKLJUČAK

Rezultati provedenog istraživanja u skladu su s očekivanjima i pretpostavkama izgrađenima na dosadašnjim spoznajama iz literature. Ako su zadovoljeni svi standardi i preduvjeti za primjenu LiDCO™plus monitora, dobiveni podaci o varijaciji udarnog volumena i tlaka pulsa u bolesnika sa sepsom dobri su pokazatelji preopterećenja, a kao takvi mogu se koristiti u ciljanoj nadoknadi volumena kod bolesnika sa sepsom. Međutim, za definitivnu potvrdu vrijednosti SVV i PPV u procjeni odgovora na terapiju volumenom u septičnih bolesnika potrebno je provesti daljnja istraživanja na većem broju bolesnika.

## LITERATURA

- Schlame M, Blanck TJ. Cardiovascular system. U: Gabrielli A, Layon AJ, Yu M, ur. Civetta, Taylor, & Kirby's Critical Care. 4. izdanje. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2009, 682-97.
- [http://en.wikipedia.org/wiki/William\\_Harvey](http://en.wikipedia.org/wiki/William_Harvey)
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC i sur. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Crit Care Med 2003; 31: 1250-6.
- Spronk PE, Zandstra DF, Ince C. Bench-to bedside review: Sepsis is a disease of the microcirculation. Crit Care Med 2004; 8: 462-8.
- De Backer D, Creteur J, Preiser JC i sur. Microvascular blood flow is altered in patients with sepsis. Am J Respir Crit Care Med 2002; 166: 98-104.
- Lush CW, Kvietys PR. Microvascular dysfunction in sepsis. Microcirculation 2000; 7: 83-101.
- Paschel T, Schonauer M, Thiele H i sur. Invasive assessment of bacterial endotoxin and inflammatory cytokines in patients with acute heart failure. Eur J Heart Failure 2003; 5: 609-14.
- Kumar A. Sepsis and septic shock. U: Gabrielli A, Layon AJ, Yu M, ur. Civetta, Taylor, & Kirby's Critical Care. 4. izdanje. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2009, 855-92.



- 9 Swan HJ, Ganz W, Forrester J i sur. Catheterization of the heart in man with use of a flow-directed balloon-tipped catheter. *N Engl J Med* 1970; 283: 447-51.
- 10 Mathews L. Paradigm shift in hemodynamic monitoring. *Internet J Anesthesiol* 2007;11(2) DOI:10.5580/2817.
- 11 Michard F, Boussat S, Chemla D i sur. Relation between respiratory changes in arterial pulse pressure and fluid responsiveness in septic patients with acute circulatory failure. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 134-8.
- 12 Berkenstadt H, Margalit N, Hadaani M i sur. Stroke volume variation as a predictor of fluid responsiveness in patients undergoing brain surgery. *Anesth Analg* 2001; 92: 984-9.
- 13 Kim H, Hadian M, Severyn D, Pinsky M. Cross-comparison of the trending accuracy of continuous cardiac output measurement devices in postoperation patients. Poster presentation SICEM, Brussels. *Crit Care* 2009;13(1):P209 DOI:10.1186/cc7373.
- 14 Brass P, Mills E, Latza J, Peters J, Berendes E. LiDCORapidTM and PICCOPlusTM preload response parameter validation study. ISICEM 2011 DOI:10
- 15 Willars C, Dada A, Green D. Functional haemodynamic monitoring – the relative merits of SVV, SPV and PPV as measured by the LiDCORapid in predicting fluid responsiveness in high-risk surgical patients. Poster presentation. 2011 DOI:10.1186/cc9486..
- 16 Zimmermann M, Feibicke T, Keyl C i sur. Accuracy of stroke volume variation compared with pleth variability index to predict fluid responsiveness in mechanically ventilated patients undergoing major surgery. *Eur J Anaesthesiol* 2010; 27: 555-61.
- 17 Marik PE, Cavallazzi R, Vasu T, Hirani A. Dynamic changes in arterial waveform derived variables and fluid responsiveness in mechanically ventilated patients: a systematic review of the literature. *Crit Care Med* 2009; 37: 2642-7. 1186/cc9481.
- 18 Trof RJ, Sukul SP, Twisk JW, Girbes AR, Groeneveld AB, Greater cardiac response of colloid than saline fluid loading in septic and non-septic critically ill patients with clinical hypovolemia. *Intensive Care Med* 2010; 36: 697-701
- 19 Cecconi M, Monti G, Hamilton MA i sur. Efficacy of functional hemodynamic parameters in predicting fluid responsiveness with pulse power analysis in surgical patients. *Minerva anesthesiologica* 2012; 78: 527-33.
- 20 Chew MS, Aneman A. Haemodynamic monitoring using arterial waveform analysis. *Curr Opin Crit Care* 2013; 19: 234-41.
- 21 Willars C, Dada A, Hughes T, Green D. Functional haemodynamic monitoring: the value of SVV as measured by the LiDCORapidTM in predicting fluid responsiveness in high risk vascular surgical patients. *Int J Surg* 2012; 10: 148-52.
- 22 Lamia B, Kim HK, Hefner A i sur. How accurate are different arterial pressure-derived estimates of cardiac output and stroke volume variation measures in critically ill patients? *Crit Care* 2008;12(suppl. 2): 40.
- 23 Hadian M, Severyn DA, Pinsky MR i sur. The effects of vasoactive drugs on pulse pressure and stroke volume variation in postoperative ventilated patients. *J Crit Care* 2011; 26: 328. e 1-8.
- 24 De Backer i sur. Pulse pressure variations to predict fluid responsiveness: influence of tidal volume. *Int Care Med* 2005; 31: 517-23. [PubMed: 15754196].
- 25 Pinsky M, Payen D. Functional hemodynamic monitoring. *Crit Care* 2005; 9: 566-72. [PubMed: 16356240].
- 26 Marik PE, Monnet X, Teboul JL. Hemodynamic parameters to guide fluid therapy. *Ann Int Care* 2011; 1: 1.



## S U M M A R Y

### STROKE VOLUME AND PULSE PRESSURE VARIATION ARE GOOD PREDICTORS OF FLUID RESPONSIVENESS IN SEPSIS PATIENTS

Ž. DRVAR, M. PAVLEK, V. DRVAR<sup>1</sup>, B. TOMAŠEVIĆ, R. BARONICA and M. PERIĆ

*Zagreb University Hospital Center, School of Medicine, University of Zagreb, Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care and <sup>1</sup>The City of Zagreb Institute of Emergency Medicine, Zagreb, Croatia*

Stroke volume variation (SVV) and pulse pressure variation (PPV) are dynamic preload indicators. Specific interactions of the cardiovascular system and lungs under mechanical ventilation cause cyclic variations of SVV and PPV. Real time measurement of SVV and PPV by arterial pulse contour analysis is useful to predict volume responsiveness in septic patients. Results of a prospective, 2-year observational study conducted at Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care, Zagreb University Hospital Center, are presented. Volume responders and non-responders were defined. Correlation between SVV, PPV, stroke volume index (SVI) and other hemodynamic data in septic patients was analyzed. The study was conducted from September 2009 to December 2011. Sepsis group included 46 patients (22 male, age 46±6, APACHE II score 26±5, and 24 female, age 41±6, APACHE II score 24±4) undergoing major abdominal surgery with clinically and laboratory confirmed sepsis, defined according to the international criteria. Exclusion criteria: patients with LVEF <45%, atrial fibrillation, aortic insufficiency, pulmonary edema, children, pregnant women, patients on lithium therapy, and patients who did not sign informed consent. Septic patients were divided into volume responders (VR) and volume non-responders (VNR). Responders were defined as patients with an increase in SVI of ≥15% after fluid loading. SVV, PPV and SVI were assessed by arterial pulse contour analysis using the LiDCO™ plus system continuously for 8 hours. Simultaneously, cardiac index (CI), mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), oxygen delivery (DO<sub>2</sub>), oxygen consumption (VO<sub>2</sub>) and central venous oxygen saturation (ScvO<sub>2</sub>) were assessed. Hemodynamic data were recorded before and after fluid administration of 500 mL of 6% hydroxyethyl starch over 30 min. All patients were sedated with midazolam (0.05-0.15 mg/kg/h). Analgesia was maintained with sufentanil (0.2-0.6 µg/kg). All patients were intubated and mechanically ventilated (IPPV; FiO<sub>2</sub> 0.4; TV 7 mL/kg; PEEP 5 cm H<sub>2</sub>O) in sinus cardiac rhythm. Circulatory unstable patients had vasoactive support and SOFA scores calculated. Ventilator settings and dosage of vasoactive drugs were all kept constant during the study. Data were compared using Student's t-test. Correlation was estimated using Pearson's coefficient. The level of statistical significance was set at  $P<0.05$ . Positive response to fluid loading was present in 26 (57.4%) patients. Baseline SVV correlated with baseline PPV ( $r=0.92$ ,  $P<0.001$ ). SVV and PPV were significantly higher in responders than in nonresponders. SVV: 14.4±3.3 vs. 7.1±3.1;  $P<0.001$ . PPV: 15.2±4.1 vs. 7.4±4.5;  $P<0.001$ . Other hemodynamic parameters measured were statistically different between the two groups. Only DO<sub>2</sub> values showed no statistical significance between the responders and non-responders. There was no difference between the area under receiver operating characteristic curves of SVV (0.96; 95% confidence interval 0.859-0.996) and PPV (1.000; 95% confidence interval 0.93-1.000). Optimal threshold value for discrimination between VR and VNR was 10% for SVV (sensitivity 96.15%, specificity 100%) and 12% for PPV (sensitivity 100%, specificity 100%). In conclusion, SVV and PPV measured by LiDCO™ plus system are reliable predictors of fluid responsiveness in mechanically ventilated septic patients in sinus cardiac rhythm.

**Key words:** stroke volume index, stroke volume variation, pulse pressure variation, fluid therapy, sepsis

# JE LI LIJEČENJE MIGRENE I TENZIJSKE GLAVOBOLJE U HRVATSKOJ ZADOVOLJAVAJUĆE?

VLASTA VUKOVIĆ CVETKOVIĆ

*Klinički bolnički centar "Sestre milosrdnice", Klinika za neurologiju, Referentni centar za glavobolje Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske, Referentni centar za akutnu i kroničnu bol Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske, Referentni centar za neurovaskularne poremećaje Ministarstva zdravstva Republike Hrvatske, Zagreb, Hrvatska*

Prema podacima iz epidemiološkog istraživanja provedenog u Hrvatskoj, od migrene pati 15 % stanovništva, od tenzijske glavobolje 20,6 %, a 2,4 % pati od kronične glavobolje. Premda je migrena česta primarna glavobolja i značajan je problem kako za pojedinca tako i za društvo u cjelini, smatra se da nije dovoljno dobro dijagnosticirana. Hrvatska studija je pokazala da liječnika nikada nije posjetila gotovo polovica ispitanika s glavoboljom i čak 36,3 % ispitanika s migrenom. Migrena i tenzijska glavobolja nisu ni zadovoljavajuće liječene; u hrvatskoj studiji načinom liječenja potpuno zadovoljna je bila oko jedna četvrtina ispitanika, nešto manje od polovice ispitanika je izjavilo da su djelomično zadovoljni, uglavnom nezadovoljna bila je jedna petina ispitanika, a potpuno nezadovoljno je bilo oko 10 % ispitanika. Neophodno je potrebno ukazati pacijentima da postoje specifični lijekovi za liječenje migrenskog napadaja, tzv. triptani koji se preporučuju kod umjerenih do jakih napadaja migrene. Lijekovi iz skupine triptana se premalo koriste ne samo u Hrvatskoj nego i u svijetu unatoč tome što studije pokazuju da njihova upotreba povećava produktivnost na poslu i poboljšava kvalitetu života pacijenata s migrenom. Profilaksa može značajno poboljšati kvalitetu života; hrvatska epidemiološka studija je pokazala da je profilaksu uzimalo svega 14 % osoba s migrenom. S obzirom da je migrena "skupa bolest", pravilno liječenje pacijenata s migrenom će smanjiti troškove koji uključuju posjete obiteljskom liječniku, službi hitne pomoći, troškove eventualne hospitalizacije, a smanjit će se i indirektni troškovi u koje se ubrajaju troškovi uzrokovani izostancima s posla i troškovi nastali zbog smanjene učinkovitosti na poslu. Potrebno je educirati stanovništvo o tome što je migrena i kako se liječi. Nedostatak vremena, slaba dijagnosticiranost migrene i nedovoljno poznavanje suvremenih načina liječenja migrene i ostalih glavobolja najvjerojatnije su razlozi zbog kojih pacijenti ne dobivaju adekvatni tretman. Kontinuirane kampanje koje bi uključivale predavanja i radionice za liječnike i uključenost medija u širenju informacija o primarnim glavoboljama u populaciji bi trebalo što više poticati.

**Ključne riječi:** primarna glavobolja, migrena, tenzijska glavobolja, liječenje glavobolje

**Adresa za dopisivanje:** Doc. dr. sc. Vlasta Vuković Cvetković, dr. med.  
Klinika za neurologiju  
Klinički bolnički centar "Sestre milosrdnice"  
10000 Zagreb, Hrvatska  
Tel.: 01 3787 751; faks: 01 376 8282  
E-pošta: vlasta.vukovic@uclmail.net

## EPIDEMIOLOGIJA MIGRENE

Migrena i ostale primarne glavobolje najčešće su kronični poremećaji koji kod većine oboljelih uzrokuju smanjenu kvalitetu života. Prema epidemiološkim istraživanjima u svijetu, 8-15 % osoba pati od migrene (3-6 % muškaraca i 15-18 % žena) te oko 60 % pati od tenzijske glavobolje, a 2-4 % stanovništva od kronične glavobolje (1).

Prema podacima iz Hrvatske, od migrene pati 15 % stanovništva ("striktna migrena" 6,2 % i vjerojatna migrena dodatnih 8,8 %), od tenzijske glavobolje pati 20,6

%, a 2,4 % pati od kronične glavobolje (2). Prema ovim epidemiološkim podacima, od primarnih glavobolja u Hrvatskoj pati oko 35 % osoba.

### *Ekonomski aspekt utjecaja glavobolja na društvo*

Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) (World Health Organization - WHO) rangira migrenu među prvih 20 uzroka koji dovode do razine značajne onesposobljenosti (3). Postoje brojne analize koje se bave opterećenjem koje stvara migrena pojedincu i društvu u cjelini: smanjena kvaliteta života za osobu s migre-

nom, povećani medicinski troškovi te smanjena produktivnost, a neliječeni su pacijenti značajno ekonomsko opterećenje društva (4-7).

Analize o procjeni troškova uzrokovanih migrenom se u osnovi dijele na direktne i indirektne, a troškovi se mjere u milijardama dolara (8). U direktne troškove koji čine 1/3 ukupnih troškova ubrajaju se posjeti liječniku obiteljske medicine, hitnoj službi, troškovi eventualne hospitalizacije te troškovi farmakoterapije. Indirektni troškovi čine 2/3 ukupnih troškova, a u njih se ubrajaju troškovi uzrokovani izostancima s posla te troškovi zbog smanjene produktivnosti. Osobe s migrenom, u usporedbi sa skupinom osoba slične dobi, spola, obrazovanja i sl. imaju dvostruko veću potrebu za medicinskom skrbi a sveukupni troškovi skupine su 1,5 puta veći u odnosu na usporednu skupinu osoba bez glavobolje (8). Razlozi visokog ekonomskog opterećenja su ponajprije neprepoznavanje migrene od liječnika, neinformiranost opće populacije, nerazvijenost sustava zdravstvene skrbi i nepostojanje planova i programa za sustavni pristup u pogledu zbrinjavanja osoba s glavoboljom. Zbog svih navedenih razloga u svijetu se provodi kampanja s ciljem poboljšanja liječenja primarnih glavobolja (9).

#### Dijagnostika migrene

Klasična slika obične migrene ili migrene s aurom ne zahtijeva posebnu dijagnostičku obradu (10,11). Dijagnoza migrene se ponajprije temelji na anamnezi i kliničkoj slici. Neuroradiološka i neurofiziološka obrada je indicirana kada se diferencijalno dijagnostički postavlja sumnja na sekundarni uzrok glavobolje (10,11). Najvažnija dijagnostička "metoda" je vođenje dnevnika glavobolja što je posebno korisno u razlučivanju između migrene i tenzijske vrste glavobolje (12).

Da bi se liječnicima olakšalo prepoznavanje pojedinih oblika glavobolja, a time i terapija, tiskana je klasifikacija svih medicinski opisanih vrsta glavobolja. Najnovija klasifikacija glavobolja, druga po redu objavljena je 2004. godine u sklopu Međunarodnog udruženja glavobolja, *International Headache Society (IHS): The International Classification of Headache Disorders, 2<sup>nd</sup> edition* (13) i dopunjeno je izdanje prve klasifikacije koje je objavljeno 1988. godine (14). Hrvatsko društvo za neurovaskularne poremećaje HLZ-a je izdalo smjernice za liječenje glavobolja prilagođene korisnicima u Republici Hrvatskoj (11).

#### Posjeti liječnicima

Epidemiološke studije u svijetu gotovo kontinuirano pokazuju da većina osoba s migrenom nikada nije posjetila liječnika (15-17).

U epidemiološkom istraživanju iz 2005. g. provedenom u Republici Hrvatskoj (18), od ukupnog broja ispitanika koji su naveli da imaju glavobolje (n = 616), gotovo polovica ispitanika (48,5 %) nikada nije posjetila liječnika. Gledano po podskupinama, 36,3 % ispitanika s migrenom nikada nije posjetilo liječnika, jednom je liječnika posjetilo 22,1 %, više puta bez uspjeha 24,8 %, a redovito liječnika posjećuje 16,8 % ispitanika. Preko polovice osoba koje pate od tenzijskih glavobolja nikada nije posjetilo liječnika, jednom 20,7 %, više puta bez uspjeha 13,2 %, a redovito posjećuje tek 10,7 %. Nadalje, ispitanici s migrenom najčešće su u odnosu na ostale podskupine posjetili liječnika opće medicine (49,6 %), te neurologa (44,4 %), dok osobe s tenzijskim oblikom glavobolje rijetko posjećuju neurologa (16,2 %). Razlog visokog postotka posjećenosti neurologa vjerojatno je stoga što je trenutno u Republici Hrvatskoj na snazi preporuka HZZO-a da liječnik specijalist neurolog mora potvrditi dijagnozu migrene te preporučiti liječenje triptanom kako bi liječnik obiteljske medicine smio izdati recept pacijentu. U drugim zemljama posjećenost neurolozima je uglavnom niska, ali u većini zemalja problem migrenskih glavobolja rješava liječnik obiteljske medicine.

U Europi također postoji sistem da liječnici obiteljske medicine upućuju pacijente na konzultaciju specijalistu, od 5 % do 15 % pacijenata posjeti specijalista (16,19,20). Studije u Kanadi, Danskoj, Nizozemskoj i SAD-u su pokazale da je 55-70 % pacijenata s migrenom posjetilo liječnika obiteljske medicine (15,16,19).

U Švedskoj 27 % posjećuje liječnika: 6 % redovno, 21 % povremeno; od onih koji posjećuju liječnika, 60 % je zadovoljno informacijama i liječenjem (21). U Japanu 72 % pacijenata koji imaju migrenu bez aure i 61 % pacijenata s migrenom koji imaju auru nikada nije posjetilo liječnika, oko 60 % je posjetilo liječnika obiteljske medicine, a 40 % specijalista u bolnici (22). U Austriji 39,6 % nikada nije posjetilo liječnika, 30,8 % jednom a 16,8 % povremeno a 12,8 % redovito; većinom su išli liječniku obiteljske medicine (23,8 %), neurologu (7,9 %) i internistu (3,0 %) (23).

U Francuskoj je 59,5 % posjetilo liječnika zbog svojih glavobolja; oni koji su odustali od daljnjeg liječenja, kao najčešći razlog navode nezadovoljstvo liječenjem (71 %), glavobolje blagog intenziteta (45 %) ili su napadaji prestali (27,5 %) (24). U drugoj francuskoj studiji 80 % ispitanika je znalo da ima migrenu, liječnika je konzultiralo 59 %, ali su potom prestali odlaziti liječniku (48 % jer su bili zadovoljni), a čak 68 % iz skupine MIDAS IV (značajna onesposobljenost zbog migrene) nije konzultiralo liječnike (25).

Studija koja je obuhvatila 6 zemalja Južne Amerike navela je da 59 % pacijenata s migrenom nikada nije po-

sjetilo liječnika, 14 % je posjetilo liječnika obiteljske medicine, 5 % neurologa; vjerojatnost da je migrena bila dijagnosticirana bila je 5 puta veća ako su pacijenti konzultirali neurologa (26). U jednoj brazilskoj studiji bilo je ispravno dijagnosticirano samo 55 % pacijenata s migrenom ako su posjetili liječnike koji nisu specijalisti za glavobolju, a bila su potrebna prosječno 3 posjeta raznim liječnicima da bi dobili dijagnozu migrene (27).

Istraživanja su pokazala da će osobe koje pate od migrene četiri puta češće potražiti pomoć u hitnoj službi (HS) u odnosu na ostale pacijente s drugim oblicima glavobolje a barem će jedan od pet posjetiti HS tijekom godine dana (28). Najčešći razlog zbog kojega pacijenti s migrenom često potraže pomoć u HS jest taj da uopće nemaju postavljenu dijagnozu migrene ili da nisu adekvatno liječeni. Studija provedena u jednom zagrebačkom KBC-u je pokazala da jedna petina pacijenata koji su pregledani u neurološkoj hitnoj ambulanti kao glavni razlog dolaska navodi glavobolju, a od te skupine pacijenata tri četvrtine je imalo primarnu glavobolju (29). Slični se podaci navode i u studijama u svijetu (30,31).

Posjeti liječniku i postotak pravilno postavljenih dijagnoza migrene među populacijom ovisi o kulturološkim razlikama, drugačijim sustavima zdravstvene zaštite - pod tim se podrazumijeva dostupnost liječnika, osobito specijalista, ali i o razini znanja odnosno obaviještenosti o migreni u populaciji. Rezultati pokazuju da je u većini zemalja, koji god bili razlozi, posjećenost liječnika zbog glavobolje uglavnom niska, osobito je niska posjećenost neurologa; isto tako je zamijećeno da je dijagnosticiranost migrene preniska, čak i kod onih koji su već posjetili liječnika.

## LIJEČENJE MIGRENE

### *Akutno liječenje migrene*

Osim što je migrena nedovoljno dijagnosticirana, ona je i nedovoljno učinkovito liječena; velik broj pacijenata s migrenom se "samoliječi" - uglavnom neuspješno, većina koristi tzv. OTC (*over the counter*) lijekove koji nisu specifični za migrenu. Liječenje migrene uključuje postavljanje točne dijagnoze, utvrđivanje učestalosti napadaja migrene, razvoj plana liječenja pri čemu se razmatra raspoloživost lijekova na tržištu, nuspojave lijekova, komorbiditet.

Terapija se dijeli na akutnu (nespecifičnu i specifičnu) i profilaksu.

U *nespecifičnu* terapiju se ubraja acetilsalicilna kiselina (ASK), nesteroidni antireumatici (NSAR) te drugi analgetici koji djeluju putem inhibicije sinteze prostaglandina i utječu na periferne receptore i otpuštanje medijatora upale. Najveću učinkovitost uz relativno malo nuspojava pokazali su ASK, naproksen, ibuprofen i diklofenak (10,11). U pojedinim slučajevima tek kombinacija supstancija poput paracetamola, ASK, kafeina, propifenazona i kodeina pokazuje učinkovito smanjenje bolova u akutnom napadaju migrene. Nespecifična terapija je indicirana u slučajevima blažih do umjereno jakih migrenskih napadaja u osoba kod kojih ta vrsta terapije dovodi do brzog i zadovoljavajućeg smanjenja bolova (10,11).

Već više od desetljeća na tržištu postoje *triptani* kao *specifični lijekovi* za migrenu; ti se lijekovi preporučuju kod umjerenih do jakih napadaja migrene (10,11). Na svjetskom tržištu danas postoji 7 vrsta triptana (sumatriptan, zolmitriptan, rizatriptan, naratriptan, eletriptan, frovatriptan i almotriptan) čije su učinkovitost, farmakokinetika i nuspojave istražene u brojnim studijama (32).

Na našem tržištu su dostupni sumatriptan u obliku tableta i spreja za nos, zolmitriptan u obliku tableta i u obliku pločice za otapanje te rizatriptan u obliku pločice za otapanje. Triptani se moraju uzeti što ranije u napadaju, a oblik i vrsta triptana koji ćemo propisati ovisi o popratnim simptomima migrene, nuspojavama jedinog lijeka, prethodno dokazanoj učinkovitosti lijeka i preferencijama samog bolesnika. Ako osoba nije imala odgovor na jedan triptan, treba preporučiti druge vrste triptana (33).

Uvođenjem triptana u akutnu terapiju migrene, ergotaminski i dihidroergotaminski lijekovi izgubili su na važnosti te se danas propisuju u izuzetnim situacijama, odnosno kada ostali nespecifični lijekovi i triptani nisu bili učinkoviti u migrenskom napadaju (10,11).

U jednoj studiji, od ukupno 663 ispitanih pacijenata s migrenom, 70 % je navelo da preferira triptane u odnosu na druge "ne-triptanske" lijekove; 52 % preferira samo triptane u akutnom napadaju, a 48 % kombinaciju triptana i nekog drugog "ne-triptanskog" lijeka; triptani su sveukupno ocijenjeni kao "bolji" zbog bolje učinkovitosti, boljeg općeg osjećanja te zbog manje nuspojava u odnosu na druge lijekove (34).

Premda se čini da osobe s migrenom "troše" puno novaca iz zdravstvenog budžeta, pravilno liječeni pacijenti s migrenom uzrokuju manji trošak nego ako se "samoliječe" i ne odlaze na kontrole liječniku. Lijekovi iz skupine triptana su samo naoko skupi. Kada se uzme u analizu ukupne troškove dolazaka u hitnu službu, smanjenu produktivnost i izostajanje s posla, manji trošak



nosi propisivanje "skupih" lijekova u odnosu na liječenje neučinkovitim lijekovima (tzv. "kućna apoteka") to se ne potvrđuje. Ekonomska analiza skupine autora s Klinike Mayo pokazala je zašto triptani nisu "skupi" lijekovi: u studiji su analizirani troškovi osoba koje su uzimale sumatriptan i onih koji su liječeni drugim lijekovima tijekom 6 mjeseci (35). Iz analize proizlazi da osobe koje uzimaju sumatriptan troše više novaca na same lijekove ali manje novaca zbog posjeta liječniku, a produktivnost na poslu je bila veća i pacijenti su manje izostajali s posla tako da je odnos dobrobiti i troška (*benefit-to-cost ratio*) na kraju računice bio na strani skupine koja je uzimala sumatriptan.

U hrvatskoj studiji o liječenju glavobolja u općoj populaciji (18), ukupno je 57,4 % ispitanika navelo da uzima ili je uzimalo specifičnu terapiju za migrenu, triptan (Imigran ili Zomig) ili ergotaminske preparate (Ava-migran ili Ditamin). U vrijeme provođenja ove studije samo su Imigran i Zomig bili dostupni na recept na hrvatskom tržištu. Od ukupnog broja ispitanika 35,6 % uzima triptane, a 21,8 % uzima ergotaminske ili dihidroergotaminske lijekove. S obzirom da je u Hrvatskoj potreban pregled neurologa za odobrenje lijekova iz skupine triptana, to bi mogao biti jedan od razloga što pacijenti manje uzimaju triptane (nedostatak vremena za odlazak liječniku po uputnicu, potom specijalistu). Preliminarni podaci studije iz 2013. g. (još nepublicirani podaci autorice ovog članka) pokazuju da triptane uzima samo 16,2 % pacijenata s migrenom, a dodatnih 2,2 % uzima ergotamine, što je značajan pad u odnosu na 2005. g; razloge toga još treba ispitati. Lijekovi iz skupine triptana se premalo koriste ne samo u Hrvatskoj nego i u svijetu unatoč tome što studije pokazuju da njihova upotreba povećava produktivnost na poslu i poboljšava kvalitetu života pacijenata s migrenom (36). Od tri tretirana napadaja migrene, 79-89 % pacijenata će povoljno reagirati na terapiju triptanom kod barem jednog napadaja (32).

Francuska studija je pokazala da od osoba koje bi uzimale triptan, 87 % je uzelo samo 1 tabletu za liječenje jednog napadaja i po tome se najviše razlikuju od osoba koje su uzimale druge skupine lijekova. Prosječan broj tableta po napadaju je bio 1 za triptane; 1,7 za NSAR; 2,5 za aspirin; 2,5 za opijate i 2,8 za paracetamol (25).

U hrvatskoj studiji (18), broj ukupno konzumiranih tableta za liječenje napadaja glavobolje bio je značajno veći u skupini migrena i vjerojatna migrena u odnosu na skupinu s tenzijskom glavoboljom, u kojoj su pacijenti uzimali većinom samo jednu vrstu lijeka za liječenje. Uspjeh liječenja bio je najbolji u skupini osoba s tenzijskom glavoboljom kod onih osoba koje su uzimale jedan ili dva lijeka.

### Profilaktičko liječenje migrene

Profilaksa može značajno poboljšati kvalitetu života kao što su pokazale talijanska i brazilaska studija (37,38). Preventivno liječenje se uvodi ako se mjesečno javlja više od 4-5 napadaja, napadaji traju duže od 48 sati, napadaji se ne mogu adekvatno liječiti akutnom terapijom, nuspojave akutne terapije su nepodnošljive, migrenski napadaji su dugotrajni s izraženim popratnim tegobama (11,39-42). Profilaktička terapija ima i ulogu da spriječi prekomjerno uzimanje specifičnih ili nespecifičnih lijekova i razvoj ovisnosti o lijekovima ili kroničnu glavobolju.

Profilaktičko liječenje u hrvatskoj studiji (18) uzimalo je 14 % osoba s migrenom i 6,9 % s "vjerojatnom migrenom"; u ovom istraživanju nije bilo ispitivano koje lijekove su pacijenti uzimali ni koliko dugo. Francuska studija je pokazala da samo 6 % ispitanika uzima profilaksu, od toga je 22 % bilo u skupini MIDAS III ili IV (jača onesposobljenost zbog migrene) (25).

U profilaksi migrene su indicirani sljedeći lijekovi (11,39-42):

- Beta blokatori – propisuju se kao prva linija profilakse osobama koje su normo- ili hipertenzivne; propranolol, atenolol, metoprolol i timolol su najučinkovitiji, dok profilaktička učinkovitost nije za-bilježena kod acebutolola, alprenolola, i pindolola. Prema podacima iz HALMED-a, za liječenje migrene u Hrvatskoj registriran je propranolol.
- Antidepresivi - triciklički antidepresivi: najispitivaniji a ujedno i najučinkovitiji je amitriptilin; nortriptilin ima manje nuspojave. Prema podacima iz HALMED-a, tablete Amyzol se primjenjuju za liječenje teške depresije, depresije udružene s tjeskobom, nekontroliranoga noćnog mokrenja u krevet (*enuresis nocturna*), a nisu registrirane za liječenje bilo koje vrste glavobolja. Selektivni inhibitori ponovne pohrane serotonina (SSRI) pokazali su se manje učinkovitim premda su studije s venlafaksinom i duloksetinom bile pozitivne. Antidepresivi se propisuju kao druga linija profilakse a osobito osobama koje kao komorbiditet imaju depresiju ili imaju mješovite migrenske i tenzijske glavobolje.
- Antiepileptici - valproatna kiselina, a u novije vrijeme gabapentin i topirammat su široko korišteni u profilaksi migrene. Antikonvulzivna terapija se sve više preporuča u profilaksi migrene jer su placebom kontrolirane, dvostruko slijepe studije pokazale učinkovitost ove skupine lijekova. Prema podacima iz HALMED-a, gabapentin i pregabalin se koriste za liječenje epilepsije, neuropatske boli a pregabalin i za liječenje generaliziranog anksioznog poremećaja; topirammat se koristi za liječenje epilepsije te za liječenje migrene odraslih. Nažalost, ni jedan od tih li-

jekova za profilaksu migrene ne ide na teret HZZO-a i stoga ih pacijenti moraju kupovati.

- d) Antagonisti serotonina - metisergid je učinkovit, ali se rijetko propisuje zbog relativno teških nuspojava, dok se pizotifen nije pokazao učinkovitijim, a ima i puno nuspojava; oba lijeka nisu dostupna u Hrvatskoj.
- e) Blokatori kalcijevih kanala: flunarizin se pokazao najučinkovitijim lijekom iz ove skupine, nije dostupan u Hrvatskoj.

U profilaksi migrene u posljednje vrijeme sve više se ispituju ACE inhibitori te angiotenzin II inhibitori a botulinum toksin se pokazao uspješnim u smanjenju učestalosti i jačine boli kod kroničnih migrena u kliničkim studijama.

Ako se tablete za akutnu glavobolju uzimaju u većim dozama, postoji opasnost od razvoja glavobolje uzrokovane prekomjernom konzumacijom lijekova (engl. *medication overuse headache*). Ova se vrsta glavobolje teško liječi, savjetuje se potpuni prekid uzimanja dotadašnje supstancije i uvođenje jednog od profilaktičkih lijekova i najčešće zahtijeva pomoć psihijatra (43).

S obzirom na nedvojbeno dokazanu učinkovitost anti-epileptičkih lijekova u terapiji profilakse migrene, bilo bi iznimno važno da se odobri da se lijekovi iz skupine antiepileptika (gabapentin, pregabalin, valproatnu kiselinu, topiramata i lamotrigin) dobivaju na teret HZZO-a kod pacijenata kojima druga profilaktička terapija nije učinkovita ili je njihova primjena kontraindicirana. Kao prvu liniju uvijek treba preporučiti lijekove iz skupine beta-blokatora, zatim tricikličke antidepressive, a kao treću antiepileptike s dokazanom profilaktičkom učinkovitošću.

#### *Alternativne metode liječenja*

Hrvatska studija (18) je nadalje pokazala da je alternativne metode liječenja pokušala otprilike jedna četvrtina osoba u svakoj skupini glavobolja (migrena 27 %, vjerojatna migrena 28 % i tenzijska glavobolja 27,2 %). U skupini osoba s migrenskom glavoboljom 51,6 % ispitanika nije bilo zadovoljno učinkovitošću alternativnih metoda liječenja, a zadovoljno je bilo 38,7 %; kod vjerojatne migrene nezadovoljnih je bilo 55,1 %, a zadovoljnih 40,8 %. U skupini osoba s tenzijskom glavoboljom 59,5 % ispitanika je navelo da su zadovoljni terapijom a 38,2 % da nisu zadovoljni alternativnim metodama liječenja.

Studije iz svijeta pokazuju da pacijenti relativno često posežu za metodama alternativne medicine. U talijanskom istraživanju koje je provedeno na klinici speci-

jaliziranoj za glavobolje, 31,4 % osoba je navelo da su iskušali jednu od metoda alternativne medicine (44). Američka studija je ispitala koliko pacijenti poznaju i koriste alternativne metode liječenja; 84 % ispitanika je iskušalo jednu ili više od 49 nabrojanih alternativnih metoda (45). Jedna populacijska studija je pokazala trend porasta u korištenju alternativnih metoda (46). Razlozi povećanog interesa za alternativne metode mogu biti relativno visoki troškovi, neindividualiziranosti te birokracija konvencionalne medicine, zatim predmnijevanje da alternativna medicina može bolje pomoći, da je bolje specijalizirana za individualne potrebe pacijenta, a osim toga je većini osoba i lako dostupna. Istodobno, pacijenti su privučeni alternativnim metodama zbog filozofije holističkog pristupa, potiču se na samopomoć, a alternativne metode uglavnom nemaju značajnih nuspojava.

Gledano sa strane konvencionalne medicine, postoji manjak znanstvenih dokaza i procjena rizika za mnoge metode alternativnog liječenja, djelomično zbog problema u dizajniranju istraživačkih studija. Najveći problem leži u tome što se većina metoda i rezultata alternativnih načina liječenja ne može ispitati u kontroliranim studijama, između ostaloga, placebo tretmani se teško mogu provesti u takvim istraživanjima, terapije se ne mogu "maskirati", rezultati nisu pouzdani i usporedivi. Zbog svega navedenoga teško je sistematski evaluirati učinkovitost alternativnih metoda liječenja te nuspojave i interakcije s konvencionalnim metodama liječenja.

Istraživanja pokazuju da većina pacijenata ne navodi svojim liječnicima da se koriste metodama alternativne medicine što može biti posljedica nerazumijevanja dijela liječnika prema takvim metodama, a s druge strane, liječnik koji pokaže zanimanje, ili još bolje razumijevanje za pacijentove želje da pokuša s metodama alternativne medicine, može poboljšati odnos pacijent – liječnik, pacijent može steći veće povjerenje u liječnika i time će prihvaćati i ostalu ponudenu (konvencionalnu) terapiju.

#### *Onesposobljenost zbog glavobolje*

Svjetska zdravstvena organizacija stavlja migrenu u sam vrh stanja koja uzrokuju značajnu onesposobljenost (3). Otprilike tri četvrtine pacijenata s migrenom ima smanjenu sposobnost funkcioniranja na poslu, a više od polovice ne može uopće funkcionirati; izostaju s posla jer im je potrebno kućno liječenje. Iz ovih podataka ali i epidemioloških studija proizlazi da veliki broj pacijenata s migrenom ne uzima adekvatnu terapiju. Razlozi toga su brojni: neinformiranost o suvremenim mogućnostima liječenja, krivo postavljena di-



jagnoza, krivo propisana terapija, komorbidne bolesti te nedovoljna suradnja liječnika i pacijenta.

Dugoročno gledajući, migrena uzrokuje lošiju kvalitete života, slabiji uspjeh u školi, veću stopu nezaposlenosti osoba s migrenom, a sa socijalnog aspekta uzrokuje povlačenje u sebe, nesigurnost, lošiju kvalitetu obiteljskog i općenito društvenog i emocionalnog života. Kada se mjeri kvaliteta života ili onesposobljenost zbog glavobolje raznim ljestvicama (npr. HRQoL - *health related quality of life*, zatim jedna od najčešće upotrebljavanih je *SF-36-short form* te MIDAS (*migraine disability assessment*), pacijenti s migrenom u pravilu imaju slabiji rezultat od pacijenata bez glavobolje (47-51).

#### Upitnik MIDAS

MIDAS je ljestvica kojom se rangira razina onesposobljenosti, tj. zbroj dana kada ispitanici uopće nisu išli u školu, fakultet, na posao, nisu normalno mogli obavljati posao, propustili su društvene i obiteljske aktivnosti (0-5 mala onesposobljenost, 6-10 blaga, 11-20 umjerenost, >20 značajna onesposobljenost).

Podaci iz moje doktorske disertacije "Prevalencija migrene i tenzijske glavobolje u hrvatskoj populaciji" (52) pokazali su da osobe s migrenom ili "vjerojatnom migrenom" imaju značajno veći ukupan zbroj MIDAS nego osobe s tenzijskom glavoboljom te je time njihova glavobolja okvalificirana kao funkcijski onesposobljavajuća (tablica 1). To znači da osobe s migrenom 9,7 dana u tri mjeseca nisu uopće mogle funkcionirati ili im je radna sposobnost bila smanjena, bilo na poslu, bilo u aktivnostima u svoje slobodno vrijeme (druže-

nje s obitelji ili prijateljima). Ta onesposobljenost još je veća u skupini osoba s "vjerojatnom migrenom".

Kada su analizirane samo osobe koje uzimaju triptane (ukupno 51 ispitanik), zbroj MIDAS je za tu skupinu bio 12,86. Osobe koje su navele da im triptani potpuno pomažu u liječenju napadaja glavobolje imale su zbroj MIDAS 5,6, a osobe kojima ne pomažu ili djelomično pomažu ti lijekovi imale su zbroj 19 (tablica 2). Iz tih se podataka vidi koliko je značajna razina onesposobljenosti osoba kojima lijekovi za liječenje glavobolje ne djeluju. Razlozi neučinkovitosti tih lijekova mogu biti različiti. Najčešći je razlog taj da pacijenti nisu dobro obaviješteni o načinu i vremenu uzimanja lijeka: liječnici im nisu objasnili da se lijekovi u napadaju migrene moraju uzeti što ranije, ili im nisu propisali najprimjereniji oblik lijeka, npr. osobe koje imaju jaku mučninu i rano u napadaju povraćaju, trebale bi uzimati triptan u obliku spreja za nos čime bi učinkovitost lijeka bila značajno veća.

#### Zadovoljstvo liječenjem

Gotovo dvije trećine ispitanika s migrenom u hrvatskoj je studiji (18) bilo zadovoljno učinkom specifičnih lijekova (ako su uzeti na vrijeme), jedna četvrtina je bila djelomično zadovoljna, a manje od 5 % uopće nije bilo zadovoljno. Općenito zadovoljstvo dosadašnjim liječenjem glavobolja nije se značajno razlikovalo između tri skupine ispitanika (migrena, "vjerojatna migrena" i tenzijska glavobolja). Potpuno zadovoljna je bila oko jedna četvrtina ispitanika (u sve tri skupine), nešto manje od polovice ispitanika iz sve tri skupine je izjavilo da su djelomično zadovoljni, uglavnom nezadovoljna bila je jedna petina ispitanika, a potpuno

Tablica 1.

Učestalost onesposobljujućih glavobolja prema podskupinama glavobolje

Onesposobljujuće glavobolje, broj dana (95% CI)	Migrena (n=115)	Tenzijska glavobolja (n=327)	Vjerojatna migrena (n=174)	P vrijednost
1) Uopće nisu išli u školu, na fakultet, na posao	1,14 (0,54-1,74)	0,35 (0,18-0,52)	0,85 (0,52-1,18)	<0,0001
2) Nisu normalno mogli obavljati posao, a ipak su išli na posao, fakultet...	2,91 (1,96-3,87)	2,14 (1,69-2,58)	4,85 (3,97-5,74)	<0,0001
3) Uopće nisu mogli raditi svakodnevnih posao u kućanstvu	1,64 (1,02-2,27)	0,66 (0,45-0,86)	2,11 (1,43-2,78)	<0,0001
4) Sposobnost obavljanja kućanskih poslova smanjena na pola	2,33 (1,43-3,22)	1,92 (1,54-2,31)	4,16 (3,27-5,05)	<0,0001
5) Propustili su društvene i obiteljske aktivnosti	1,69 (0,87-2,51)	0,83 (0,55-1,10)	2,53 (1,79-3,27)	<0,0001
Ukupno	9,71	5,9	14,5	

Tablica 2.  
 Učestalost onesposobljujućih glavobolja u bolesnika koji uzimaju Imigran i Zomig

Onesposobljujuće glavobolje, broj dana (95% CI)	Imigran i Zomig (n=51)	Pomaže potpuno (n=30)	Ne pomaže ili djelomično pomaže (n=17)	P vrijednost *
1) Uopće nisu išli u školu, na fakultet, na posao	1,25 (0,64-1,86)	1,16 (0,26-2,07)	1,34 (0,45-2,24)	0,7959
2) Nisu normalno mogli obavljati posao, a ipak su išli na...	3,66 (2,29-5,02)	2,92 (1,74-4,09)	5,18 (1,55-8,81)	0,1365
3) Uopće nisu mogli raditi svakodnevni posao u kućanstvu	2,21 (1,12-3,30)	1,30 (0,27-2,32)	3,66 (1,00-6,31)	0,0439
4) Sposobnost obavljanja kućanskih poslova smanjena napola	3,50 (1,98-5,02)	2,80 (1,42-4,18)	5,29 (1,43-9,15)	0,1329
5) Propustili su društvene i obiteljske aktivnosti	2,24 (1,03-3,46)	1,45 (0,52-2,38)	3,53 (0,26-6,81)	0,1099
Ukupno	12,86	5,6	19	

nezadovoljno bilo je oko 10 % ispitanika. Nadalje, četvrtina osoba s migrenom i "vjerojatnom migrenom" odlazila je liječniku višekratno, ali nisu bili zadovoljni terapijom. Ovi podaci trebali bi poslužiti u daljnjem istraživanju nezadovoljstva pacijenata i utvrditi koji su razlozi tome, jer će se time poboljšati kvaliteta zdravstvene skrbi za tu skupinu pacijenata.

U jednoj kanadskoj studiji više od polovice pacijenata koji su prestali odlaziti liječniku izjavilo je da su nezadovoljni s liječnikom ili su imali poteškoća s propisanim lijekovima (17). Studija u Velikoj Britaniji je pokazala da osobe koje su prestale posjećivati liječnika, u 23 % slučajeva nisu osjećale da im liječnik može pomoći, i dodatnih 25 % da im uopće nije pomogao (53).

Mnogi pacijenti koji posjete liječnika ne dobiju pravu dijagnozu. U studiji u Kanadi 40 % pacijenata s migrenom nije znalo da ima migrenu, odnosno liječnici im nakon konzultacije to nisu rekli (17). U drugoj studiji samo 45 % pacijenata s migrenom koji su posjetili liječnika dobilo je pravu dijagnozu migrene (54). Slaba dijagnostičarost migrene čak i nakon posjete liječnicima pridonosi nezadovoljstvu pacijenata, jer takvi pacijenti sigurno nisu adekvatno liječeni. Postoje razni razlozi za nezadovoljstvo: nezainteresiranost liječnika ili manjak vremena za komunikaciju, liječnici nedovoljno objasne pacijentu što je migrena, mogućnosti suvremenog liječenja i realne ciljeve liječenja (55).

Mnogi pacijenti, kojima su propisani lijekovi za akutno liječenje napadaja glavobolje nisu bili zadovoljni; studija u SAD-u je pokazala da je samo 29 % ispitanika "vrlo zadovoljno" načinom liječenja (56). U francuskoj studiji je 61,8 % pacijenata s migrenom izjavilo da je potpuno zadovoljno svojim liječenjem, nezadovoljstvo je izrazilo 54,6 % zbog toga što su smatrali da lijek nije

dovoljno učinkovit, a 60 % da sporo dovodi do poboljšanja (24).

U drugoj francuskoj studiji 61 % osoba iz skupine MIDAS III ili II je navelo da nema poboljšanja nakon uzetih lijekova u odnosu na 35 % osoba iz skupine MIDAS I (25). Nakon početnog poboljšanja (potpunog ili djelomičnog nestanka bolova) 21,6 % je imalo povratnu glavobolju. Većina osoba koje bi uzela drugi lijek, uzela bi isti lijek - što odražava neznanje tih osoba da bi trebale uzeti drugu vrstu lijeka. Međutim, ni uzimanje više vrsta lijekova za liječenje jednog napadaja nije po preporukama za liječenje glavobolja zbog toga što uzimanje više različitih lijekova nosi rizik od neželjenog jatrogenog djelovanja, zatim sistematsko uzimanje multiplih nespecifičnih lijekova nosi rizik za stvaranje ovisnosti o lijekovima s obzirom da 44 % osoba na početku glavobolje ne zna hoće li napadaj biti slabiji ili jači. Edukacija pacijenata o pravilnom liječenju trebala bi se temeljiti ponajprije na tome da se ukaže da je u većini slučajeva potreban jedan lijek i to jedan iz skupine triptana (25).

Liječnici obiteljske medicine bi trebali biti prvi koji će objasniti pacijentima što je migrena i kako se liječi. Nedostatak vremena, slaba dijagnostičarost migrene i nedovoljno poznavanje suvremenih načina liječenja migrene i ostalih glavobolja najvjerojatnije su razlozi zbog kojih pacijenti ne dobivaju adekvatni tretman.

#### Nužnost multidisciplinarnog pristupa liječenju migrene

Idealna antimigrenska terapija trebala bi uključivati promjenu načina života, naučiti izbjegavati provocirajuće čimbenike za glavobolju, izbor ispravne terapije za pojedinca, osobito kod onih s teškim i učestalim

migrenama, a u toj je skupini potrebno razmotriti potrebu za profilaktičkom terapijom. Konzultacija s medicinskim stručnjacima za glavobolju uvelike može pomoći da se smanji broj osoba koje nisu adekvatno liječene.

Multidisciplinarni pristup liječenju osoba koje pate od glavobolja, osobito onih s teškim učestalim glavoboljama ili koje su neadekvatno liječene, pokazao se uspješnim: u Danskoj je formiran tercijarni centar za liječenje glavobolja u kojemu rade neurolozi - specijalisti za glavobolju, zatim fizioterapeuti, psiholozi te medicinske sestre. Neurolozi dijagnosticiraju vrstu glavobolje na temelju anamneze, upitnika za pacijente, dnevnika koji vode u određenom vremenskom razdoblju, a praćenje pacijenata se redovito provodi. Po potrebi se pacijenti upućuju na tretman fizioterapeutu koji ih podučava provođenju aktivnih tjelovježbi i identifikaciji potencijalnih čimbenika za "mišićni stres". Psiholozi najčešće koriste metode grupne terapije. Uloga medicinskih sestara je koordinacija predviđenog programa liječenja pacijenata koji prekomjerno uzimaju lijekove a takvi pacijenti se uvode u višemjesečni specijalno dizajnirani program odvikavanja. Takvim multidisciplinarnim pristupom postignuto je značajno smanjenje glavobolja svih osoba s migrenom, tenzijskom glavoboljom te kod osoba s prekomjernim uzimanjem lijekova (57).

## ZAKLJUČAK

Zbog svega navedenoga, od izvanredne je važnosti pravilno postaviti dijagnozu kod pojedinog pacijenta kako bismo ga mogli adekvatno liječiti, poboljšati informiranost pacijenata te poboljšati suradnju između pacijenta i liječnika. Bitne odrednice uspješnog liječenja glavobolja su svjesnost problema, uspostavljanje točne dijagnoze, pravilni pristup liječenju (individualizirani pristup) uz upotrebu učinkovitih lijekova i poticanje pacijenata da nastave liječenjem što uključuje i redovite dolaske na kontrole.

Neprepoznati problemi u ovoj sferi javnog zdravstva ima za direktnu posljedicu da kompetentne osobe koje rade na programima zdravstvene skrbi ne stavljaju problem glavobolja kao prioritet i zbog toga se zdravstvena briga za osobe s glavoboljom ne popravlja. Jedan od bitnih razloga nezadovoljstva pacijenata zbog neučinkovitog liječenja glavobolja je neuspješnost sistema zdravstvene skrbi da provede mjere koje se na prvi pogled čine "skupe" ali dugoročno nose korist ne samo pojedincima koji pate od glavobolja nego i društvu u cjelini.

## LITERATURA

1. Stovner LJ, Hagen K, Jensen R i sur. The global burden of headache: a documentation of headache prevalence and disability worldwide. *Cephalalgia* 2007; 27: 193-210.
2. Vuković V, Plavec D, Pavelin S, Jančuljak D, Ivanković M, Demarin V. Prevalence of migraine, probable migraine and tension type headache in Croatia. *Neuroepidemiology* 2010; 35: 59-65.
3. World Health Organization. The World Health Report 2001. Geneva: WHO, 2001.
4. Serrano D, Manack AN, Reed ML, Buse DC, Varon SF, Lipton RB. Cost and predictors of lost productive time in chronic migraine and episodic migraine: results from the American Migraine Prevalence and Prevention (AMPP) Study. *Value Health* 2013; 16: 31-8.
5. Stokes M, Becker WJ, Lipton RB i sur. Cost of health care among patients with chronic and episodic migraine in Canada and the USA: results from the International Burden of Migraine Study (IBMS). *Headache* 2011; 51: 1058-77.
6. Buse D, Manack A, Serrano D i sur. Headache impact of chronic and episodic migraine: results from the American Migraine Prevalence and Prevention Study. *Headache* 2012; 52: 3-17.
7. Elston Lafata J, Moon C, Leotta C, Kolodner K, Poisson L, Lipton RB. The medical care utilization and costs associated with migraine headache. *J Gen Intern Med* 2004; 19: 1005-12.
8. Edmeads J, Mackell JA. The economic impact of migraine: an analysis of direct and indirect costs. *Headache* 2002; 42: 501-9.
9. Martelletti P, Haimanot RT, Láinez i sur. The Global Campaign (GC) to reduce the Burden of Headache worldwide. The International Team for Specialist Education (ITSE). *J Headache Pain* 2005; 6: 261-3.
10. Silberstein SD. Practice parameter-evidence-based guidelines for migraine headache (an evidence-based review): Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology for the United States Headache Consortium. *Neurology* 2000; 55: 754-62.
11. Vuković Cvetković V, Bašić Kes V, Šerić V, Vargek Solter V, Demarin V, Jančuljak D, Petravić D, Lakušić DM, Hajnšek S, Lušić I, Bielen I, Bašić S, Sporiš D, Soldo SB, Antončić I; Croatian Society for Neurovascular Disorders, Croatian Medical Association. Report of the Croatian Society for Neurovascular Disorders, Croatian Medical Association. Evidence based guidelines for treatment of primary headaches--2012 update. *Acta Clin Croat* 2012; 51: 323-78.
12. Phillip D, Lyngberg AC, Jensen R. Assessment of headache diagnosis. A comparative population study of a clinical interview with a diagnostic headache diary. *Cephalalgia* 2007; 27: 1-8.
13. The International Classification of Headache Disorders, 2<sup>nd</sup> edition. *Cephalalgia* 2004; 24 (suppl 1): 1-160.
14. Headache Classification Committee of the International Headache Society. Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain. *Cephalalgia* 1988; 8(suppl 7): 1-96.

15. Lipton RB, Stewart WF, Simon D. Medical consultation for migraine: results from the American Migraine Study. *Headache* 1998; 38: 87-96.
16. Holmes W, Laughey W, MacGregor AE i sur. Headache consultation and referral patterns in one UK general practice. *Cephalalgia* 1999; 19: 328-9.
17. Edmeads J, Findlay H, Tugwell P i sur. Impact of migraine and tension-type headache on life-style, consulting behaviour, and medication use: a Canadian population survey. *Can J Neurol Sci* 1993; 20: 131-7.
18. Vuković V, Plavec D, Lovrenčić Huzjan A, Budišić M, Demarin V. Treatment of migraine and tension-type headache in Croatia. *J Headache Pain* 2010; 11: 227-34.
19. Rasmussen BK, Jensen R, Olesen J. Impact of headache on sickness absence and utilization of medical services: a Danish population study. *J Epidemiol Community Health* 1992; 46: 443-6.
20. Van Roijen L, Essink-Bot ML, Koopmanschap MA i sur. Societal perspective on the burden of migraine in the Netherlands. *Pharmacoeconomics* 1995; 7: 170-9.
21. Dahlöf C, Linde M. One-year prevalence of migraine in Sweden: a population-based study in adults. *Cephalalgia* 2001; 21: 664-71.
22. Takeshima T, Ishizaki K, Fukuhara Y i sur. Population-based door-to-door survey of migraine in Japan: the Daisen study. *Headache* 2004; 44: 8-19.
23. Lampl C, Buzath A, Baumhackl U, Klingler D. One-year prevalence of migraine in Austria: a nation-wide survey. *Cephalalgia* 2003; 23: 280-6.
24. Lantéri-Minet M, Valade D, Géraud G, Chautard MH, Lucas C. Migraine and probable migraine – results of FRAMIG 3, a French nationwide survey carried out according to the 2004 IHS classification. *Cephalalgia* 2005; 25: 1146-58.
25. Lucas C, Chaffaut C, Artaz MA, Lantéri-Minet M. FRAMIG 2000: medical and therapeutic management of migraine in France. *Cephalalgia* 2004; 25: 267-79.
26. Morillo LE, Alarcon F, Aranaga N i sur. Prevalence of migraine in Latin America. *Headache* 2005; 45: 106-117.
27. Vincent MB, de Carvalho JJ. Primary headache care delivery by nonspecialists in Brazil. *Brazilian Headache Care Cooperative Group*. *Cephalalgia* 1999; 19: 520-4.
28. Clouse J, Osterhaus JT, Barron R. Healthcare resource use and costs associated with migraine in a managed healthcare setting. *Ann Pharmac* 1994; 28: 659-64.
29. Vuković Cvetković V, Strineka M, Knežević-Pavlič M i sur. Analysis of headache management in an emergency room. *Acta Clin Croat* 2013; 52: 281-8.
30. Goldstein JN, Camargo CA, Pelletier AJ, Edlow JA. Headache in United States Emergency Departments: demographics, work-up and frequency of pathological diagnoses. *Cephalalgia* 2006; 26: 684-90.
31. Cerbo R, Villani V, Bruti G i sur. Primary headache in Emergency Department: prevalence, clinical features and therapeutic approach. *J Headache Pain* 2005; 6: 287-9.
32. Ferrari MD, Goadsby PJ, Roon KI, Lipton RB. Triptans (serotonin, 5-HT<sub>1B/1D</sub> agonists) in migraine: detailed results and methods of meta-analysis of 53 trials. *Cephalalgia* 2002; 22: 633-58.
33. Dahlöf C. Infrequent or non-response to oral sumatriptan does not predict response to other triptans-review of four trials. *Cephalalgia* 2005; 26: 98-106.
34. Dahlof C, Fabri M, Loftus J, Jones M, Mansbach H, Scott A. Triptan efficacy and preference: results of a randomized, multi-centre, open-label, crossover study of sumatriptan, naratriptan, rizatriptan and zolmitriptan tablets in acute treatment of migraine. *Cephalalgia* 2001; 21: 410.
35. Lofland JH, Kim SS, Batenhorst AS i sur. Cost-effectiveness and cost-benefit of Sumatriptan in patients with migraine. *Mayo Clin Proc* 2001; 76: 1093-1101.
36. Dahlöf C, Bouchard J, Cortelli P i sur. A multinational investigation of the impact of subcutaneous sumatriptan. II Health-related quality of life. *Pharmacoeconomics* 1997; 11(suppl 1): 24-34.
37. D'Amico D, Solari A, Usai S, Santoro P, Bernardoni P, Frediani F, De Marco R, Massetto N, Bussone G for the Progetto Cefalee Lombardia Group. Improvement in quality of life and activity limitations in migraine patients after prophylaxis. A prospective longitudinal multicentre study. *Cephalalgia* 2006; 26: 691-6.
38. Bordini CA, Mariano da Silva H, Garbelini RP, Teixeira SO, Speciali JG. Effect of preventive treatment on health-related quality of life in episodic migraine. *J Headache Pain* 2005; 6: 387-91.
39. Ad hoc committee for the diagnostic and therapeutic guidelines for migraine and cluster headache. Prophylactic treatment of migraine. *J Headache Pain* 2001; 2: 147-61.
40. Silberstein SD, Goadsby PJ. Migraine: preventive treatment. *Cephalalgia* 2002; 22: 491-512.
41. Pringsheim T, Davenport W, Mackie G, Worthington I, Aubé M, Christie SN, Gladstone J, Becker WJ; Canadian Headache Society Prophylactic Guidelines Development Group. Canadian Headache Society guideline for migraine prophylaxis. *Can J Neurol Sci*. 2012; 39(2 Suppl 2): S1-59.
42. Evers S, Afra J, Frese A, Goadsby PJ, Linde M, May A, Sándor PS; European Federation of Neurological Societies. EFNS guideline on the drug treatment of migraine--revised report of an EFNS task force. *Eur J Neurol*. 2009; 16: 968-81. doi: 10.1111/j.1468-1331.2009.02748.x.
43. Evers S, Jensen R; European Federation of Neurological Societies. Treatment of medication overuse headache--guideline of the EFNS headache panel. *Eur J Neurol* 2011; 18: 1115-21. doi: 10.1111/j.1468-1331.2011.03497.x.
44. Rossi P, Lorenzo MG, Faroni J, Cesarino F, Di Lorenzo C, Nappi G. Prevalence, pattern and predictors of use of complementary and alternative medicine (CAM) in migraine patients attending a headache clinic in Italy. *Cephalalgia* 2005; 25: 493-506.
45. von Peter S, Ting W, Scrivani S i sur. Survey on the use of complementary and alternative medicine among patients with headache syndromes. *Cephalalgia* 2002; 22: 395-400.
46. Eisenberg DM, Davis SL, Ettner S i sur. Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-97. *JAMA* 1998; 280: 1569-75.
47. Stewart WF, Lipton RB, Kolodner K, Liberman J, Sawyer J. Reliability of the migraine disability assessment score in a population-based sample of headache sufferers. *Cephalalgia* 1999; 19: 107-14.



48. Stewart WF, Lipton RB, Dowson AJ, Sawyer J. Development and testing of the Migraine Disability Assessment (MIDAS) Questionnaire to assess headache-related disability. *Neurology* 2001; 56(suppl 1): 20-8.

49. Raggi A, Leonardi M, Bussone G, D'Amico D. A 3-month analysis of disability, quality of life, and disease course in patients with migraine. *Headache*. 2013; 53: 297-309. doi: 10.1111/j.1526-4610.2012.02279.x. Epub 2012 Oct 24.

50. Leonardi M, Raggi A, Bussone G, D'Amico D. Health-related quality of life, disability and severity of disease in patients with migraine attending to a specialty headache center. *Headache*. 2010; 50: 1576-86. doi: 10.1111/j.1526-4610.2010.01770.x. Epub 2010 Oct 1.

51. Blumenfeld AM, Varon SF, Wilcox TK i sur. Disability, HRQoL and resource use among chronic and episodic migraineurs: results from the International Burden of Migraine Study (IBMS). *Cephalalgia*. 2011; 31: 301-15. doi: 10.1177/0333102410381145. Epub 2010 Sep

52. Vuković V. Prevalencija migrenske i tenzijske glavobolje u hrvatskoj populaciji (disertacija). Zagreb: Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2007, str. 121.

53. Lipton RB, Stewart WF, Liberman J i sur. Patterns of healthcare utilization for migraine in England. *Cephalalgia* 1999; 19: 305. Abstract.

54. Stang PE, Von Korff M. The diagnosis of headache in primary care: factors in the agreement of clinical and standardized diagnoses. *Headache* 1994; 34: 138-42.

55. Micieli G. Suffering in silence. U: Edmeads J, ur. *Migraine: a brighter future*. Worthing: Cambridge Medical Publications, 1993, 1-7.

56. Lipton RB, Stewart WF. Acute migraine therapy: do doctors understand what patients with migraine want from therapy. *Headache* 1999; 39(suppl 2): 20-6.

57. Zeeberg P, Olesen J, Jensen R. Efficacy of multidisciplinary treatment in a tertiary referral headache centre. *Cephalalgia* 2005; 25: 1159-67.

## SUMMARY

### IS THE MANAGEMENT OF MIGRAINE AND TENSION HEADACHE IN CROATIA SATISFACTORY?

V. VUKOVIĆ CVETKOVIĆ

*Sestre milosrdnice University Hospital Center, Clinical Department of Neurology, Reference Center for Headache of the Ministry of Health of the Republic of Croatia, Reference Center for Acute and Chronic Pain of the Ministry of Health of the Republic of Croatia, Reference Center for Neurovascular Disturbances of the Ministry of Health of the Republic of Croatia, Zagreb, Croatia*

According to the epidemiological study conducted in Croatia, 15% of the population suffer from migraine, 20.6% from tension-type headache and 2.4% from chronic headache. Although migraine is a frequent primary headache and poses a major problem to both the affected individuals and the society, it is considered that migraine is underdiagnosed. The study revealed half of patients with headache and even 36.3% of respondents with migraine to have never visited a doctor. Migraine and tension-type headache are not satisfactorily treated; in the study, one-quarter of the respondents were fully satisfied with the treatment of their headaches, approximately half were partially satisfied, one-fifth were mostly unsatisfied, and 10% were completely unsatisfied. It should be noted that specific therapy for migraine attacks, i.e. triptans, are available on the market and can be administered for moderate and severe headache attacks. Triptans are prescribed rarely, not only in Croatia but also in the world, although studies have shown that the use of triptans increases productivity at work and improves the quality of life in migraineurs. Prophylaxis may significantly improve the quality of life; the Croatian epidemiological study showed only 14% of respondents with migraine to have ever used prophylactic therapy. Considering that migraine is an 'expensive disorder', appropriate treatment of patients with migraine will decrease the costs that include visits to general practitioners, emergency departments and cost of hospitalization. Even indirect costs will decrease as well, including the costs caused by absenteeism from work and costs caused by reduced efficiency at work. It is necessary to educate the population about migraine and therapeutic options. Lack of time, unrecognized patients and insufficient knowledge about current treatment of migraine and other primary headaches are probably the reasons why patients do not receive appropriate therapy. Continuous campaigns, which should include lectures and workshops for physicians and inclusion of media for better spread of information about primary headaches among the population should be encouraged.

**Key words:** primary headache, migraine, tension headache, treatment of headaches

# MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA ORALNIH INFEKCIJA

MAGDALENA GRCE

*Institut Ruđer Bošković, Zavod za molekularnu medicinu, Zagreb, Hrvatska*

Usnu šupljinu nastanjuju mnogi virusi, gljive i bakterije. Dok se većina tih mikroorganizama može lako uzgojiti i identificirati klasičnim mikrobiološkim testovima, neki od njih se mogu identificirati samo metodama molekularne biologije, kao npr. humani papiloma virus. Neki mikroorganizmi su prisutni u premaloj količini pa se ne mogu utvrditi klasičnim metodama tako da i u tom slučaju molekularna dijagnostika postaje logična alternativa. Testovi molekularne biologije osjetljivi su, objektivni, lako izvodljivi i manje su zahtjevni od klasičnih mikrobioloških metoda, u smislu edukacije i osiguranja kvalitete. U ovom radu su opisane molekularne metode koje se najčešće koriste za dokazivanje mikroorganizama koji koloniziraju usnu šupljinu.

**Ključne riječi:** virusi, gljive, bakterije, usta, dijagnostika

**Adresa za dopisivanje:** Dr. sc. Magdalena Grce, znanstvena savjetnica  
 Institut Ruđer Bošković  
 Zavod za molekularnu medicinu  
 Laboratorij za molekularnu virologiju i bakteriologiju  
 Bijenička 54  
 10002 Zagreb, Hrvatska  
 Tel: +385 1 4561110, 098 260 331; faks: +385 1 4561010  
 E-pošta: grce@irb.hr

## UVOD

Sluznica usne šupljine dobar je medij za rast brojnih mikroorganizama. Većina njih su sastavni dio normalne flore, a u nekim slučajevima mogu biti i patogeni. Najčešće patogene promjene u usnoj šupljini koje se povezuju s virusnim, gljivičnim i bakterijskim infekcijama navedene su u tablici 1. Humani papiloma virusi (HPV) uzrokuju obične bradavice (*verruca vulgaris*), papilome (dobročudna proliferacija stanica pločastog epitela) i Heckovu bolest (fokalna epitelijalna hiperplazija), a povezani su s leukoplakijom (promjene mukoznih membrana sa zloćudnim potencijalom) (1). Teški oblik infekcije HPV-om su karcinom stanica pločastog epitela usne šupljine i orofaringealni karcinom, uzrokovani u oba slučaja tzv. visokorizičnim (karcinogenim) HPV tip 16, te rekurentna respiratorna papilomatoza, teška komplikacija infekcijom niskorizičnim HPV tipovima 6 ili 11 (2). Virus *herpes simplex* (HSV) tipa 1 i 2 uzrokuje tipične erozije epitelnog tkiva u usnoj šupljini (*gingivostomatitis herpetica*) i na samoj usnici (*herpes labialis*) (3). Drugi pripadnici obitelji herpes virusa, citomegalovirus (CMV) i Epstein-Barrov virus (EBV) povezani su s upalom žlijezda slinovnica (*sialoadenitis*) (4). CMV je također povezan sa

oralnom ulceracijom, dok EBV s infekcijskom mononukleozom (5,6).

U zdravih osoba, kandidate, poglavito *Candida albicans*, smatraju se normalnim kvascima u usnoj šupljini. Međutim, *C. albicans* može djelovati kao oportunistički patogen, naime, povezana je s upalom sluznice usta (*stomatitis*) (7).

Najčešće bakterije koje koloniziraju usnu šupljinu su streptokokne vrste, iako su česte i druge vrste kao *Veillonella*, *Geamella*, *Rothia*, *Fusobacterium* i *Neisseria* (8). Dugo se sumnjalo da brojne bakterije uzrokuju zubni karijes i parodontitis (bolesti desni). Međutim, istraživanja genoma bakterija su pokazala da se skupina bakterija koje uzrokuju karijes znatno razlikuje od mikroorganizama prisutnih u zdravoj usnoj šupljini (9). U slučaju parodontitisa, anaerobna bakterija *Porphyromonas gingivalis* smatra se etiološkim čimbenikom parodontnog gubitka koštane mase (10). *Helicobacter pylori*, uzročnik mnogih gastrointestinalnih poremećaja (11), u oralnoj medicini se također može povezati sa sindromom pečenja usta (stomatopiroza) (12) kao i infekcija kandidom (13).



Mnogi virusi se teško ili nikako ne mogu izolirati u kulturi stanica *in vitro* te je jedini način njihovog dokazivanja analiza njihovog genoma (DNA, deoksiribonukleinska kiselina) ili transkripata (mRNA, *messenger*/glasnička ribonukleinska kiselina), odnosno komplementarne DNA (cDNA, *complementary* DNA). Tako npr. dokazivanje prisutnosti HPV-a jedino je moguća molekularnim metodama, dok se HSV vrlo lako može izolirati u *in vitro* kulturi stanica i potom tipizirati imunokolorimetrijskim metodama. Unatoč tome, sve više mikrobioloških laboratorija koriste molekularne metode za dokazivanje HSV-a, EBV-a, CMV-a i ostalih virusa, i to zbog brzine, osjetljivosti i specifičnosti testova. Molekularne metode su se također pokazale vrlo korisnima u dokazivanju gljiva i bakterija. Stoga je cilj ovog rada dati sažeti pregled molekularnih metoda koje se koriste za dokazivanje mikroorganizama koji koloniziraju usnu šupljinu, ali i druga sijela.

Tablica 1.

Promjene usne šupljine i mogući uzročnici

Klinička dijagnoza	Suspektni patogeni
<i>Verruca vulgaris</i> Papilom Heckova bolest Leukoplakija	HPV
<i>Gingivostomatitis herpetica</i> <i>Herpes labialis</i>	HSV
<i>Sialoadenitis</i> Infekciозна mononukleozа	EBV
<i>Sialoadenitis</i> Oralna ulceracija	CMV
Stomatitis	kandida
Stomatopiroza	<i>Helicobacter pylori</i>
Parodontitis	<i>Porphyromonas gingivalis</i>

HPV: humani papiloma virus; HSV: *herpes simplex* virus;  
EBV: Epstein-Barrov virus; CMV: citomegalovirus

## OSNOVE METODA MOLEKULARNE DIJAGNOSTIKE

### Uzorkovanje

Za detekciju gljiva, bakterija i većinu virusa koji se prvo uzgajaju u *in vitro* uvjetima, dovoljno je uzeti obrisak na predilekcijskom mjestu usne šupljine, a potom iz dobivene kulture izolirati nukleinsku kiselinu, DNA ili RNA. Međutim, za viruse koji se teško uzgajaju i ne nalaze se u vanstaničnom prostoru, kao što je to slučaj kod HPV-a, potrebno je uzeti obrisak, strugotinu ili mikrobiopsiju koji sadrži dovoljan broj epitelnih stanica sluznice usne šupljine za istodobnu izolaciju stanične i virusne nukleinske kiseline. Dvolančana molekula DNA je vrlo stabilna i ne zahtijeva specijalne

uvjete pohranjivanja biološkog uzorka, međutim bolje se izolira ako je sačuvana u vodenoj otopini (fiziološka, Tris-EDTA-pufer) nego dehidrirana. Za razliku od DNA, jednolančane molekule RNA su podložne brzom enzimatskoj (ribonukleaze) razgradnji i stoga se odmah nakon uzimanja biološki materijal mora pohraniti u odgovarajući pufer kako bi se sačuvao integritet RNA (14).

### Izolacija nukleinskih kiselina

Inaktivirani biološki materijal na visokoj temperaturi (95° C) može poslužiti kao kalup za analizu DNA. Međutim, takav materijal sadrži bjelančevine i tvari (inhibitori) koje mogu smanjiti ili potpuno spriječiti enzimске reakcije koje se široko primjenjuju u molekularnoj biologiji, kao npr. umnažanje DNA pomoću DNA-polimeraze. Stoga je korisno pročistiti DNA jednom od mogućih metoda izolacije DNA, od kojih su mnoge i komercijalno dostupne. Čistoj DNA se može odrediti koncentracija spektrofotometrijom te koristiti u poznatoj količini (14).

### Hibridizacija

Pojam hibridizacija (*hybridisation*) znači sparivanje homolognog slijeda nukleinske kiseline, DNA ili RNA sa DNA ili RNA. Da bi nastale hibridne molekule potrebno je razdvojiti (denaturirati) dvolančanu molekulu DNA (kalup) u dvije jednolančane molekule u visoko alkalnoj otopini ili na visokoj temperaturi (95° C), a potom smanjiti pH otopine ili temperaturu kako bi se probe mogle vezati za komplementarnu sekvencu. S obzirom da se adenzin (A) veže s timinom (T) ili uracilom (U; u RNA) s dvije vodikove veze, a guanin (G) sa citozinom (C) s tri vodikove veze, uvjeti hibridizacije ovise o udjelu [G + C]; što je on veći to uvjeti razdvajanja i sparivanja moraju biti strožiji (14).

Prvobitna metoda hibridizacije (tablica 1) koja se najčešće koristila u molekularnoj biologiji je tzv. *Southern blot* hibridizacija koja je dobila ime po svom izumitelju, britanskom biologu Edwinu Southeru (15). Metoda se zasniva na specifičnom fragmentiranju DNA restrikcijским enzimom (*restriction endonuclease*), razdvajanju fragmenata DNA elektroforezom, prijenosu na solidnu membranu, fiksiranju DNA na membranu (nitroceluloza na 80° C, a najlon izlaganjem ultraljubičastom zračenju), hibridizaciji s poznatom sondom/probom DNA obilježenom radioizotopom, fluorescentnom bojom ili kromogenom, te konačno detekcija hibrida autoradiografijom ili kemoluminiscencijom. Metode sličnog principa su analogijom dobile ime, *Northern blot* i *Western blot* u kojima kao obilježena proba služe RNA ili protein.

Tablica 2.

Glavne molekularne tehnike i metode korištene za ispitivanje raznih mikroorganizama.

Molekularne tehnike	Metode	Primjer mikroorganizma
Hibridizacija nukleinske kiseline sa specifičnim probama	hibridizacija na solidnoj podlozi tekućinska hibridizacija <i>in situ</i> hibridizacija	HPV, CMV
Umnažanje ciljane molekule nukleinske kiseline	umnažanje DNA (PCR)	većina virusa, bakterija i gljiva
	reverzna transkripcija te umnažanje cDNA (RT-PCR)	RNA virusi ili mRNA DNA virusa
	ugniježđen ( <i>nested</i> ) PCR	herpes virusi
	višestruki ( <i>multiplex</i> ) PCR	herpes virusi, HPV
	PCR u stvarnom vremenu ( <i>real-time</i> PCR)	većina virusa
	petljom posredovano izotermno umnažanje (LAMP)	CMV, HSV, HPV
	helikazom ovisno umnažanje (HDA)	HSV 1 i 2
Umnažanje specifične probe	ligazom posredovano umnažanje klivazom posredovano umnažanje izotermno umnažanje kružne probe	HPV, HSV
Mikrotehnologija	mikročip sa DNA probama	HPV
	višestruki test posredovan mikrokuglicama	HPV, HSV, CMV
Određivanje slijeda nukleotida	razne metode sekvencioniranja produkata PCR	većina virusa, bakterija i gljiva

HC, *hybrid capture*, vezivanje hibrida; PCR: *polymerase chain reaction*, lančana reakcija polimerazom; cDNA: *complementary* DNA, DNA komplementarni molekuli RNA; LAMP: *loop-mediated isothermal amplification*; HDA: *helicase-dependent amplification*; HPV: humani papiloma virus; CMV: citomegalovirus; HSV: Herpes simplex virus.

Princip tekućinske hibridizacije je stvaranje hibrida u otopini, vezivanje hibrida za solidnu podlogu (mikrotitarska ploča) te detekcija hibrida imunokolorimetrijskom metodom. Komercijalni test *Hybrid Capture*<sup>®</sup> 2 (HC2; Qiagen Gaithersburg, Inc, MD, USA [prethodno Digene Corp]) zasniva se na tekućinskoj hibridizaciji probe RNA sa ciljnom DNA te se široko koristi u kliničkim laboratorijima za detekciju CMV-a i visokorizičnih HPV-a (tablica 2).

Analogno imunohistokemiji koja omogućava lokalizaciju proteina u tkivu (*in situ*), koju je izumio Joseph G. Gall (16), hibridizacija *in situ* omogućava lokalizaciju ribonukleinske kiseline unutar tkiva ili slobodnih stanica (npr. citološki obrisak). Fluorescentna hibridizacija *in situ* s DNA-probom, primjerice, koristi se za određivanje strukture kromosoma. Hibridizacija *in situ* s RNA-probom često se koristi za određivanje i lokalizaciju RNA (mRNA, glasničke RNA, transkript), kao npr. u dijagnostici HPV-a i CMV-a, odnosno mjerenju virusnih transkripata (tablica 2).

#### Umnažanje DNA

Umnažanje ili amplifikacija DNA moguća je lančanom reakcijom polimeraze (PCR, *polymerase chain reaction*) kojom se umnaža dio DNA iz jedne ili malog broja kopija na tisuću i nekoliko milijuna kopija (17). Princip PCR je jednostavan: u prvom koraku se DNA razgrađuje na visokoj temperaturi (94-96° C), zatim hibri-

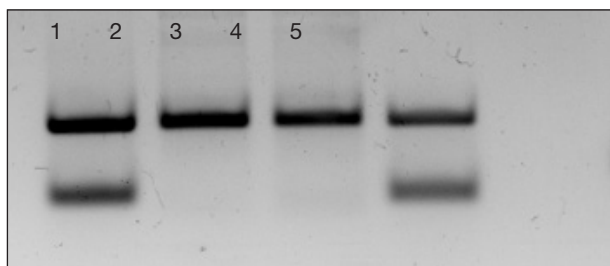
dizira s početnim oligonukleotidima (početnice) na nižoj temperaturi (55-65° C), a potom se dvolančana DNA sintetizira (elongacija početnica na 72° C) pomoću Taq DNA-polimeraze (izolirana iz bakterije *Thermus aquaticus*) i to tijekom 20-40 ciklusa. Za metodu PCR Kary Banks Mullis je dobio Nobelovu nagradu za biokemiju 1993. godine. Danas je PCR prvi korak u većini metoda molekularne biologije koje omogućavaju široku primjenu u raznim genetskim istraživanjima. Najčešće metode detekcije oralnih infekcija u kojima se primjenjuje PCR navedene su u tablici 2.

Da bi se povećala specifičnost PCR-a i smanjila količina nespecifičnih produkata PCR-a često se koristi ugniježđen (*nested*) PCR; produkt prve reakcije PCR-a koristi se kao kalup za drugu PCR-reakciju koja je dizajnirana da generira manji produkt PCR-a od prvog što zahtijeva detaljnije poznavanje ciljane sekvence koja se želi umnožiti.

Kako bi se umnožio genom RNA-virusa ili transkripti DNA-virusa potrebno je prepisati RNA u cDNA, reverznom transkriptazom (RT) te potom umnožiti cDNA (RT-PCR). Nedostatak široke kliničke primjene RT-PCR-a je stabilnost RNA koja je lako razgradiva. Treba imati u vidu adekvatno prikupljanje i obradu uzorka; treba ga što prije pohraniti u otopinu koja čuva integritet molekule RNA, što prije dostaviti u laboratorij, izolirati RNA i prepisati ga u cDNA. Primjerice, u slučaju RT-PCR-a na HPV, RNA izolirana iz uzoraka prikupljenih u mediju za tekućinsku citologiju (LBC,

*liquid base cytology*) je bila dobro očuvana i nakon nekoliko tjedana (18). Prednost RT-PCR-a je detekcija transkripata onkogeni E6 i E7 HPV-a (19) koji ukazuju na aktivnost virusa u smislu njegove karcinogeneze u stanici domaćina, dok PCR na virusnu DNA može ukazivati jednako na latentnu (netransformirajuću) kao i aktivnu infekciju; naime, transkripcija onkogeni je znatno povećavana u cervikalnim lezijama visokog stupnja (20).

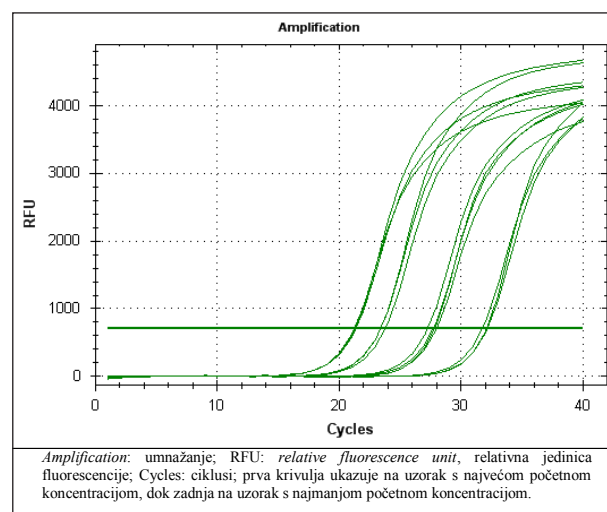
Višestruki (*multiplex*) PCR sastoji se od više setova početnica koje omogućavaju istodobno umnažanje većeg broja različitih produkata PCR u jednoj reakciji. Jednim testom se može dobiti više rezultata i time se štedi na vremenu i sredstvima za izradu testa. Preduvjet je da temperatura mekšanja DNA mora biti slična za sve setove početnica. Poželjno je da su produkti PCR-a različite veličine tako da ih se lako može razdvojiti elektroforezom u gelu agaroze (sl. 1). Višestruki PCR se koristi za detekciju i identifikaciju raznih skupina virusa kao što su HPV-i (21) i herpesvirusi (22,23). Komercijalna metoda višestrukog PCR-a SeptiFast test (*Roche Molecular Systems*, Mannheim, Germany) omogućava identifikaciju 20 patogenih prokariota (8 gram-negativnih bakterija, 6 gram-pozitivnih bakterija i 6 vrsta gljiva) (24).



Sl. 1. Primjer elektroforeze produkata PCR u 2%-om gelu agaroze; DNA dobivena PCR-om je vizualizirana bojenjem etidijum bromidom pri 254 nm te korištenjem sustav ImageMaster VDS (*Pharmacia Amersham Biotech*) i UVitec Cambridge (program Alliance 4,7); jažica 1-5: produkt PCR umnoženog  $\beta$ -globina (268 pb – viša trakica) i HPV-a zajedničkim početnicama GP5+/6+ (produkt 150 pb – niža trakica); jažica 1: pozitivna kontrola – DNA izolirana iz stanica HeLa koje sadrže HPV tip 18; jažica 2-4: DNA izolirana iz obrisaka usne šupljine – uzorak u jažici 4 je HPV pozitivan; jažica 5: negativna kontrola.

PCR u stvarnom vremenu (*real-time* PCR) je ujedno i kvantitativni PCR (qPCR, *quantitative* PCR) u usporedbi s običnim PCR-om koji je kvalitativan i iz kojega se teško može precizno odrediti količina proizvedenog produkta PCR-a. PCR u stvarnom vremenu se obično koristi kako bi se utvrdilo je li određena DNA ili cDNA prisutna u uzorku i u kojem broju kopija (sl. 2). PCR u stvarnom vremenu je vrlo precizan s obzirom da metoda koristi fluorescentne boje ili fluorofor kojeg sadrži proba DNA (TaqMan, FRET) (25,26).

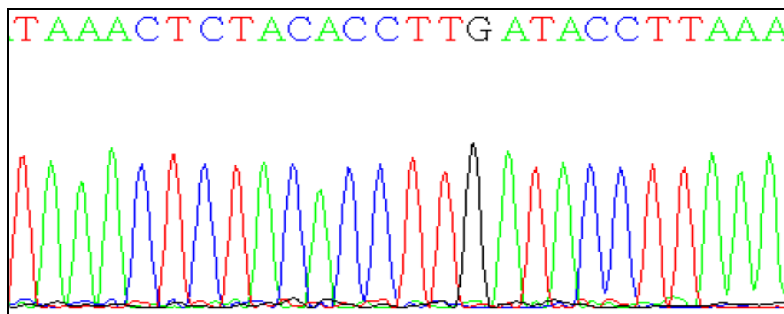
Umnažanje specifične probe, a ne ciljne DNA, ligazom posredovanog PCR-a pokazalo se vrlo korisnim pristupom kod djelomično poznatog slijeda nukleotida ciljne DNA te se koristi za otkrivanje genotipova HPV-a i HSV-a (27).



Sl. 2. Primjer obrasca PCR-a u stvarnom vremenu.

Druge metode umnažanja DNA su se razvile u svrhu što jednostavnije detekcije i tipizacije pojedinih virusa kao petljom posredovano izotermno umnažanje (LAMP, *loop-mediated isothermal amplification*) i helikazom ovisno umnažanje (HDA, *helicase-dependent amplification*). Prednost tih metoda je da ne zahtijevaju aparat za umnažanje DNA već se odvijaju na jednoj temperaturi u vodenoj kupelji ili termobloku. LAMP se uspješno koristi za otkrivanje HSV-a, CMV-a i HPV-a (28–30), dok HDA za otkrivanje HSV-a (31).

Iako je skupa, sve češće se koristi mikrotehnologija kao npr. mikročip s probama DNA za otkrivanje brojnih genotipova HPV-a u jednom testu (HPVDNA Chip®, Biomedlab Co., Seoul, Korea) (32), te test posredovan mikrokuglicama (Luminex® technology) za višestruku detekciju HPV-a, HSV-a i CMV-a (33).

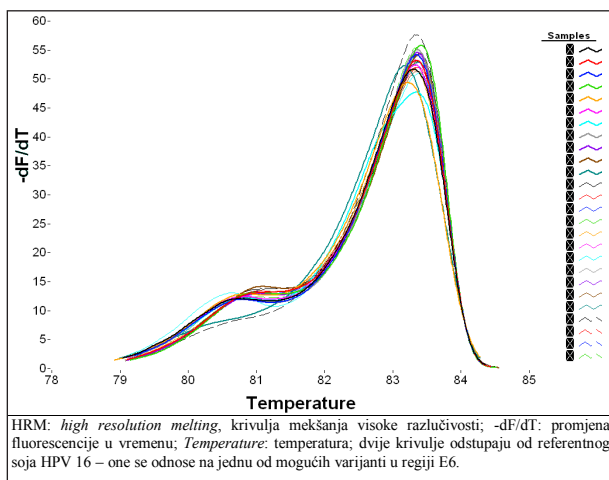


Sl. 3. Prikaz slijeda nukleotida određenog sekvencioniranjem.

#### Određivanje slijeda nukleotida

Metoda određivanje slijeda nukleotida ili sekvencioniranje (34), za koju su Frederick Sanger i Walter Gilbert dobili Nobelovu nagradu za kemiju 1980. godine, omogućila je očitavanje cjelokupnog ljudskog genoma. Metoda se uglavnom koristi u istraživačkim laboratorijima, međutim sve češće i u kliničkim laboratorijima. Sekvencioniranje (sl. 3) daje točan profil slijeda nukleotida određenog produkta PCR-a i nakon usporedbe s referentnim sekvencama ([www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/) i druge baze podataka) omogućava spoznaju o vrsti, tipu ili varijanti određenog mikroorganizma. U bakteriologiji sekvencioniranje djelomičnog ili cjelokupnog genoma se često koristi za određivanje rezistencije na antibiotike (35).

Metoda koja se bazira na analizi krivulja mekšanja visoke razlučivosti (HRM, *high resolution melting*) omogućava detekciju razlike u jednom nukleotidu te se često koristi za razlučivanje različitih sekvenci od referentnih (sl. 4) (36). Metoda se može koristiti kao brza metoda probira (*screening*) prije selektivnog sekvencioniranja samo onih krivulja HRM koje se razlikuju. Najveća prednost je ta što metoda HRM omogućava uštedu vremena i novca.



HRM: *high resolution melting*, krivulja mekšanja visoke razlučivosti; -dF/dT: promjena fluorescencije u vremenu; Temperature: temperatura; dvije krivulje odstupaju od referentnog soja HPV 16 – one se odnose na jednu od mogućih varijanti u regiji E6.

Sl. 4. Primjer obrasca metode analize krivulje mekšanja DNA visoke razlučivosti varijanti HPV tipa 16 u regiji E6.

#### ZAMKE UMNAŽANJA DNA

Metode molekularne biologije nude mnoge prednosti, veću osjetljivost i specifičnost testa, ali kriju i mnoge zamke koje mogu dovesti do lažno pozitivnih ili lažno negativnih rezultata (37).

#### Odabir početnica i proba

Prvi korak upotrebe metode PCR je dobar odabir početnih oligonukleotida koji se vežu za ciljnu DNA te služe kao kalup Taq DNA-polimerazi; početnice su najčešće dužine 20 parova baza s ne više od 50 % udjela [G + C] kako bi temperatura sparivanja početnice na ciljnu DNA bila od 55 do 65° C. Potom se PCR mora optimizirati mijenjanjem jednog po jednog parametra (koncentracija početnica, magnezija i drugih komponenti reakcije) (38).

Za brzu detekciju obitelji mikroorganizma često se koriste početnice odabrane u sačuvanoj regiji genoma. Primjerice, za identifikaciju prokariota koriste se početnice odabrane u vrlo konzerviranoj ribozomalnoj DNA (regija između 16S i 23S bakterijskog rDNA te 18S i 5.8S rDNA gljiva) (39). Slično, za detekciju obitelji virusa, npr. HPV-a, koriste se zajedničke početnice komplementarne regiji L1 koja kodira za kapsidni protein virusa (40). Za detekciju spolnih HPV-tipova najčešće se koriste tzv. početnice MY09/11 (41) i GP5+/GP6+ (42); ove posljednje se mogu koristiti u izravnom ili ugniježđenom PCR-u nakon umnažanja s prethodnim početnicama. Za detekciju još šireg spektra HPV-tipova, kožnih (b-HPV) i genitalnih (a-HPV) koriste se početnice FAP59 i FAP64 koje su također komplementarne regiji L1 HPV-a (43). Za određivanje pojedinog tipa HPV-a najjednostavnije je odabrati početnice u varijabilnim regijama genoma HPV-a, kao npr. E6 i E7, te ih koristiti u pojedinačnom ili višestrukome PCR-u (21). Mnoge metode genotipizacije HPV-a zasnivaju se na analizi produkta PCR-a dobivenog zajedničkim početnicama koji se može pocijepati restriktivnim enzimima, dobiveni fragmenti razdvojiti elektroforezom te prema dobivenom profilu fragmenata DNA odrediti tip HPV-a (40); metoda nije idealna i vremenski je



zahtjevna. Alternativna metoda je metoda hibridizacije produkta PCR sa HPV-tip-specifičnim probama vezanim na najlon membranu gdje se hibrid detektira kolorimetrijski; komercijalne metode na tom principu su INNO-LiPA HPV *Genotyping Assay* (Innogenetics Group, Gent, Belgium) i Roche LBA (*Molecular Systems*, Pleasanton, CA, USA), obje dizajnirane za identifikaciju visokorizičnih i niskorizičnih tipova HPV-a. Međutim, ti komercijalni testovi genotipizacije HPV-a su korisni za epidemiološke studije, ali ne i za klinička ispitivanja zbog svojih prednosti i mana (44). Jedini klinički validirani testovi za primarni cervikalni probir HPV-om su HC2, GP5+/6+ PCR, Cobas® 4800 PCR (Roche Molecular Systems Inc., Alameda, CA, USA) i Abbott Real Time PCR (Abbott Molecular, Des Plaines, IL, USA) (45).

#### Provjera uspješnosti reakcije

Da bi reakcija PCR bila uspješna, treba voditi računa o kontroli kvalitete izrade reakcije PCR. Za svaku seriju reakcija treba uzeti u obzir nekoliko parametara: 1) negativna (smjesa bez DNA te smjesa sa neutralnom DNA) i pozitivna kontrola (pročišćena DNA mikroorganizma ili poznate ciljane DNA koja se želi umnožiti); 2) interna (geni prisutni u svim uzorcima kao npr. albumin,  $\beta$ -globin,  $\alpha$ - i  $\beta$ -aktin,  $\alpha$ - i  $\beta$ -tubulin, 18S i 28S rRNA) ili egzogena kontrola (dodana u uzorak prije ekstrakcije DNA ili u smjesu PCR-reakcije prije umnažanja); te 3) čista (primjerice, stolica i sputum sadrže više inhibitora od seruma ili plazme, a izolirana DNA najmanje) i optimalna količina DNA koja se umnaža (uvijek je bolje u reakcijsku smjesu staviti manje nego više ciljane DNA) (38).

#### Kontaminacije

U molekularnom laboratoriju se treba ponašati kao u visoko zaraznom okruženju i voditi računa o dobroj laboratorijskoj praksi kako bi se izbjegle kontaminacije s jednog biološkog uzorka na drugi, pogotovo ako se radi o dijagnostici virusa. Najbolje je postupke izolacije DNA, pripreme smjese PCR-a, reakciju PCR i analizu produkata PCR-a raditi u posebnim prostorijama ili radnim prostorima. Osim toga, svaki postupak treba raditi s posebnim mikropipetama i novim rukavicama uz čišćenje mikropipeta nakon svakog pipetiranja novog uzorka biološkog materijala ili DNA. Stoga je za uspješnost PCR-a i sestrinskih metoda iznimno važno voditi računa o edukaciji djelatnika koji rade molekularne metode te redovnom održavanju laboratorijskih instrumenata (38).

## ZAKLJUČAK

Testovi molekularne biologije, hibridizacija, konvencionalni PCR-u i PCR u stvarnom vremenu, osjetljivi su, objektivni, lako izvodljivi i manje su zahtjevni od klasičnih mikrobioloških metoda, u smislu edukacije i osiguranja kvalitete i stoga sve češće nadopunjuju ili zamjenjuju klasične testove u kliničkim laboratorijima. Kako mnogi virusi, gljive i bakterijske vrste nastanjuju usnu šupljinu, PCR u kombinaciji sa sekvencioniranjem DNA omogućit će njihovu bolju dijagnostiku i epidemiološku sliku. Sljedeći logičan korak bit će analiza transkripata kako bi se razumjele veze između razra i promjena usne šupljine. U tome će zasigurno pomoći nova generacija sekvencioniranja (46,47).

## ZAHVALA

Zahvaljujem ing. Jasminki Golubić Talić i dr.sc. Ivanu Sabolu na ustupljenim slikama prikazanim u ovom radu.

## LITERATURA

1. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Human papillomaviruses. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, World Health Organization; 2007.
2. Gillison ML, Alemany L, Snijders PJF i sur. Human Papillomavirus and Diseases of the Upper Airway: Head and Neck Cancer and Respiratory Papillomatosis. *Vaccine* 2012; 30 (Supplement 5): F34-F54.
3. Arduino PG, Porter SR. Herpes Simplex Virus Type 1 infection: overview on relevant clinico-pathological features. *J Oral Pathol Med Off Publ Int Assoc Oral Pathol Am Acad Oral Pathol* 2008; 37: 107-21.
4. Maitland N, Flint S, Scully C, Crean SJ. Detection of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in labial salivary glands in Sjogren's syndrome and non-specific sialadenitis. *J Oral Pathol Med Off Publ Int Assoc Oral Pathol Am Acad Oral Pathol* 1995; 24: 293-8.
5. Vouloumanou EK, Rafailidis PI, Falagas ME. Current diagnosis and management of infectious mononucleosis. *Curr Opin Hematol* 2012; 19: 14-20.
6. Bravender T. Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and infectious mononucleosis. *Adolesc Med State Art Rev* 2010; 21: 251-64, ix.
7. Lalla RV, Patton LL, Dongari-Bagtzoglou A. Oral candidiasis: pathogenesis, clinical presentation, diagnosis and treatment strategies. *J Calif Dent Assoc* 2013; 41: 263-8.

8. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 5721-32.
9. Belda-Ferre P, Alcaraz LD, Cabrera-Rubio R i sur. The oral metagenome in health and disease. *ISME J* 2011; 6: 46-56.
10. Hajishengallis G, Liang S, Payne MA i sur. Low-Abundance Biofilm Species Orchestrates Inflammatory Periodontal Disease through the Commensal Microbiota and Complement. *Cell Host Microbe* 2011; 10: 497-506.
11. Sonnenberg A. Review article: historic changes of *Helicobacter pylori*-associated diseases. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 329-42.
12. Gall-Troselj K, Mravak-Stipetić M, Jurak I, Ragland WL, Pavelić J. *Helicobacter pylori* colonization of tongue mucosa--increased incidence in atrophic glossitis and burning mouth syndrome (BMS). *J Oral Pathol Med Off Publ Int Assoc Oral Pathol Am Acad Oral Pathol* 2001; 30: 560-3.
13. Brailo V, Vučević-Boras V, Alajbeg IZ, Alajbeg I, Lukenda J, Aeurkovic M. Oral burning symptoms and burning mouth syndrome-significance of different variables in 150 patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; 11: E252-5.
14. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning - A laboratory manual*. 2nd ed. Cold Spring Harbor, New York; Cold Spring Harbor Laboratory, 1982.
15. Southern EM. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* 1975; 98: 503-17.
16. Gall JG, Pardue ML. Formation and detection of RNA-DNA hybrid molecules in cytological preparations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1969; 63: 378-83.
17. Mullis K, Faloona F. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* 1987; 155: 335-50.
18. Cuschieri KS, Beattie G, Hassan S, Robertson K, Cubie H. Assessment of human papillomavirus mRNA detection over time in cervical specimens collected in liquid based cytology medium. *J Virol Methods* 2005; 124: 211-5.
19. Mürger K, Howley PM. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus Res* 2002; 89: 213-28.
20. Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci* 2006; 110: 525.
21. Husnjak K, Grce M, Magdić L, Pavelić K. Comparison of five different polymerase chain reaction methods for detection of human papillomavirus in cervical cell specimens. *J Virol Methods* 2000; 88: 125-34.
22. Markoulatos P, Georgopoulou A, Siafakas N, Plakokefalos E, Tzanakaki G, Kourea-Kremastinou J. Laboratory Diagnosis of Common Herpesvirus Infections of the Central Nervous System by a Multiplex PCR Assay. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 4426-32.
23. Vrioni G, Kalogeropoulos C, Gartzonika C, Priavali E, Levidiotou S. Usefulness of Herpes Consensus PCR methodology to routine diagnostic testing for herpesviruses infections in clinical specimens. *Virol J* 2007; 4: 59.
24. Lehmann LE, Hunfeld K-P, Emrich T i sur. A multiplex real-time PCR assay for rapid detection and differentiation of 25 bacterial and fungal pathogens from whole blood samples. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 2008; 197: 313-24.
25. Gunson RN, Collins TC, Carman WF. Practical experience of high throughput real time PCR in the routine diagnostic virology setting. *J Clin Virol* 2006; 35: 355-67.
26. Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM i sur. Real-Time PCR in Clinical Microbiology: Applications for Routine Laboratory Testing. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 165-256.
27. Wu DY, Wallace RB. The ligation amplification reaction (LAR)--amplification of specific DNA sequences using sequential rounds of template-dependent ligation. *Genomics* 1989; 4: 560-9.
28. Enomoto Y, Yoshikawa T, Ihira M i sur. Rapid Diagnosis of Herpes Simplex Virus Infection by a Loop-Mediated Isothermal Amplification Method. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 951-5.
29. Suzuki R, Yoshikawa T, Ihira M i sur. Development of the loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of cytomegalovirus DNA. *J Virol Methods* 2006; 132: 216-21.
30. Hagiwara M, Sasaki H, Matsuo K, Honda M, Kawase M, Nakagawa H. Loop-mediated isothermal amplification method for detection of human papillomavirus type 6, 11, 16, and 18. *J Med Virol* 2007; 79: 605-15.
31. Kim H-J, Tong Y, Tang W i sur. A rapid and simple isothermal nucleic acid amplification test for detection of herpes simplex virus types 1 and 2. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol* 2011; 50: 26-30.
32. Kim CJ, Jeong JK, Park M i sur. HPV oligonucleotide microarray-based detection of HPV genotypes in cervical neoplastic lesions. *Gynecol Oncol* 2003; 89: 210-7.
33. Rautava J, Kuuskoski J, Syrjänen K, Grenman R, Syrjänen S. HPV genotypes and their prognostic significance in head and neck squamous cell carcinomas. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol* 2012; 53: 116-20.
34. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74: 5463-7.
35. Pulido MR, García-Quintanilla M, Martín-Peña R, Cisneros JM, McConnell MJ. Progress on the development of rapid methods for antimicrobial susceptibility testing. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68: 2710-7.
36. Sabol I, Čretnik M, Hadžisejdić I, Si-Mohamed A i sur. A new approach for the evaluation of the human papillomavirus type 16 variability with high resolution melting analysis. *J Virol Methods* 2009; 162: 142-7.
37. Grce M, Matovina M, Milutin-Gasperov N, Sabol I. Advances in cervical cancer control and future perspectives. *Coll Antropol* 2010; 34: 731-6.
38. Park DJ, ed. *PCR Protocols (Methods in Molecular Biology)*, 2011.
39. Louie RF, Tang Z, Albertson TE, Cohen S, Tran NK, Kost GJ. Multiplex polymerase chain reaction detection enhancement of bacteremia and fungemia. *Crit Care Med* 2008; 36: 1487-92.
40. Milutin Gašperov N, Sabol I, Matovina M, Spaventi Š, Grce M. Detection and Typing of Human Papillomaviruses Combining Different Methods: Polymerase Chain Reaction,



Restriction Fragment Length Polymorphism, Line Probe Assay and Sequencing. *Pathol Oncol Res* 2008; 14: 355-63.

41. Manos MM, Ting Y, Wright DK, Levvis AJ, Broker TR, Wolinsky SM. The use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomaviruses. *Cancer Cells* 1989; 7: 209-14.

42. Van den Brule AJC, Pol R, Fransen-Daalmeijer N, Schouls LM, Meijer CJLM, Snijders PJF. GP5+/6+ PCR followed by reverse line blot analysis enables rapid and high-throughput identification of human papillomavirus genotypes. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 779-87.

43. Forslund O, Antonsson A, Nordin P, Stenquist B, Göran Hansson B. A broad range of human papillomavirus types detected with a general PCR method suitable for analysis of cutaneous tumours and normal skin. *J Gen Virol* 1999; 80: 2437-43.

44. Sabol I, Salakova M, Smahelova J i sur. Evaluation of Different Techniques for Identification of Human Papillomavirus Types of Low Prevalence. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 1606-13.

45. Arbyn M, Ronco G, Anttila A i sur. Evidence Regarding Human Papillomavirus Testing in Secondary Prevention of Cervical Cancer. *Vaccine* 2012; 30 (Supplement 5):F88-F99.

46. Zaura E. Next-generation sequencing approaches to understanding the oral microbiome. *Adv Dent Res* 2012; 24: 81-5.

47. Kamalakaran S, Varadan V, Janevski A i sur. Translating next generation sequencing to practice: Opportunities and necessary steps. *Mol Oncol* 2013; 7: 743-55.

## S U M M A R Y

### MOLECULAR DIAGNOSIS OF ORAL INFECTIONS

M. GRCE

*Rudjer Bošković Institute, Department of Molecular Medicine, Zagreb, Croatia*

Many viruses, fungi and bacteria inhabit the mouth. Most of these microorganisms can be easily cultured and identified by classical microbiological tests, but some of them, such as human papilloma virus, can only be identified by the methods of molecular biology. Some microorganisms are present in a very small amount and cannot be detected by classical tests; therefore, in this case, molecular diagnosis is also a logical alternative. Molecular biology assays are sensitive, objective, easy to perform and less demanding than conventional microbiological methods in terms of training and quality assurance. This paper describes the molecular methods that are commonly used for the detection of microorganisms that colonize the oral cavity.

*Key words:* viruses, fungi, bacteria, mouth, diagnosis

## AUTOIMUNE BOLESTI ORALNE SLUZNICE

IVANA MARTINAC BABIĆ i BRANKA MARINOVIĆ

*Klinički bolnički centar Zagreb, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu,  
Klinika za dermatovenerologiju, Zagreb, Hrvatska*

Autoimune bolesti nastaju kao posljedica djelovanja imunološkog sustava protiv stanica vlastitog organizma. Ovisno o ciljnim stanicama autoimune bolesti možemo podijeliti na organ specifične, tj. one koje zahvaćaju samo jedan organ odnosno organski sustav te sistemske autoimune bolesti. U velikom broju bolesti koje pripadaju ovoj skupini može biti zahvaćena sluznica usne šupljine, a kliničke slike kojima se manifestiraju mogu biti vrlo raznolike. Oralne se lezije mogu pojaviti u najranijim stadijima autoimunih bolesti, a nekima od njih mogu biti prva, pa čak i jedina manifestacija. S obzirom da mnoge od tih bolesti mogu imati ozbiljnu životnu prognozu važno je promjene na sluznici usne šupljine pravodobno prepoznati, dijagnosticirati te započeti odgovarajuće liječenje. U ovome su radu obrađene autoimune bolesti koje se najčešće manifestiraju na sluznici usne šupljine kao što su autoimune bulozne dermatoze te eritemski lupus.

**Ključne riječi:** autoimune bolesti, oralna sluznica, *lupus erythematosus*, autoimune bulozne dermatoze

**Adresa za dopisivanje:** Prof. dr. sc. Branka Marinović, dr. med.  
Klinički bolnički centar Zagreb  
Klinika za dermatovenerologiju  
Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu  
Šalata 4  
10000 Zagreb, Hrvatska

### UVOD

Autoimune bolesti posljedica su djelovanja vlastitog imunološkog sustava prema različitim stanicama vlastitog organizma. Ovisno o ciljnim stanicama razlikujemo organ specifične i sistemske autoimune bolesti. U velikom broju bolesti koje pripadaju skupini autoimunih bolesti može biti zahvaćena sluznica usne šupljine, a u nekima od njih promjene na sluznici usne šupljine mogu biti prva, pa čak i jedina manifestacija bolesti, kao što je to na primjer kod paraneoplastičkog pemfigusa ili pemfigoida sluznica. Stoga je vrlo važno prepoznati o kojoj se dijagnozi radi i započeti liječenje na vrijeme kako bi se spriječile daljnje komplikacije koje u pojedinim slučajevima mogu bolesnika i životno ugroziti. Važno je biti svjestan raznolikosti kliničkih slika kojima se autoimune bolesti mogu prezentirati na sluznici usne šupljine, kao i mogućih diferencijalno dijagnostičkih dvojbi. U ovom ćemo radu opisati kliničke manifestacije, te osnovne dijagnostičke i terapijske postupke kod eritemskog lupusa, vulgarnog i paraneoplastičnog pemfigusa, pemfigoida sluznica, buloznog pemfigoida, te stečene bulozne epidermolize kao glavnih predstavnika autoimunih bolesti koje zahvaćaju sluznicu usne šupljine.

*Eritemski lupus (lupus erythematosus (LE))* je multifaktorski uzrokovana autoimuna bolest vezivnog tkiva koja može zahvatiti jedan ili više organa. Bolest se klasificira u tri temeljna oblika: 1) kronični kutani LE; 2) subakutni kutani lupus eritematozus, i 3) sistemske LE. Kod kroničnog kutanog kao i subakutnog LE dominantni su simptomi na koži dok oko 80 % bolesnika sa sistemskim LE ima u nekoj fazi bolesti simptome na koži. U svakom od oblika bolesti moguća je pojava promjena i na sluznici usne šupljine. Prema revidiranim kriterijima Američkog reumatološkog društva objavljenima 1982. godine, oralne ulceracije su jedan od kriterija za postavljanje dijagnoze SLE (1). Učestalost oralnih promjena u bolesnika sa SLE kreće se između 9 % i 45 % (2-3) dok je učestalost kod bolesnika s kroničnim kutanim LE od 3 % do 24 % (4). Najčešći simptomi su bol, suhoća (kserostomija), uz promjene parodonticija, a zabilježeni su u više od 75 % bolesnika s LE (5). Studije koje su koristile dobro definirane kriterije za Sjögrenov sindrom pokazale su da se simptomi karakteristični za ovaj sindrom pojavljuju i u oko 20 % bolesnika sa SLE (6). Ti se simptomi mogu pojaviti i nekoliko godina prije definitivne potvrde dijagnoze SLE, iako se češće pojavljuju u kasnijem tijeku bolesti i to u bolesnika starije životne dobi (7). Karakteristič-

ne promjene u bolesnika s LE nađu se na usnicama, te na sluznici. Najčešće lokalizacije lezija su tvrdo nepce, bukalna sluznica, te rub usnice (2,8). Na usnicama su najčešće prisutne diskoidne lezije karakterizirane eritemom, atrofijom, te depigmentacijama. Na bukalnoj sluznici te na mekom i tvrdom nepcu mogu biti prisutni neoštro ograničeni bjelkasti keratotični plakovi, eritematozni areali, bjelkaste ožiljkaste lezije, te bule, erozije i ulceracije uz okolni eritem (3). U oko 4 % bolesnika istodobno su prisutne i ulceracije na sluznici nosne šupljine (9).

Oralne su lezije većinom asimptomatskog tijeka (10). Bolnost ovisi o tipu lezija, a prema literaturnim podacima oko 80 % oralnih ulceracija je bezbolno, bezbolne su i eritematozne lezije, dok su diskoidne lezije bolne (8,11).

Učestalost lezija prema dosadašnjim studijama ne korelira s aktivnošću sistemskog oblika bolesti, međutim, diskoidne lezije i ulceracije su češće prisutne u bolesnika s aktivnom bolesti (2).

Dijagnoza se postavlja na temelju anamneze, kliničke slike, probatorne ekscizije za patohistološku analizu i direktnu imunofluorescenciju te hematoloških, imunoloških i biokemijskih nalaza. U patohistološkom nalazu lezija na sluznici usne šupljine nalaz odgovara onom kod lezija na koži – nalazi se hiperkeratoza, atrofija epitela, vakuolarna degeneracija bazalnih keratinocita, perivaskularni upalni infiltrati, te edem lamine proprije (3,12,13). U direktnoj imunofluorescenciji (DIF) biopata promijenjene kože vide se linearni depoziti uglavnom IgG, ali i IgM i IgA, te frakcije komplekta duž epidermodermalne granice, što se naziva i lupus band test (3). Diferencijalno dijagnostički lezije moramo klinički i histološki razlikovati od lihen planusa, leukoplakije, kandidijaze, aftoznog stomatitisa, autoimunih buloznih dermatitoza, intraoralnog herpesa, ugriza, te planocelularnog karcinoma. Stoga su histopatološka analiza i DIF pretraga značajan dijagnostički kriterij, osobito za razlikovanje LE od lihen planusa i leukoplakije (3). U terapiji promjena na usnicama primjenjuju se glukokortikoidi lokalno ili intralezionalno. Lezije na oralnoj sluznici većinom pokazuju dobar terapijski odgovor na lokalnu primijenu glukokortikoida (0,1 % triamcinolon ili 0,5 % klobetazol u Orobazi), intralezionalno primijenjene glukokortikoidne (triamcinolon acetamid), 0,1 %-tnu mast takrolimus i sistemske antimalarike uz odgovarajuću simptomatsku terapiju (ispiranje vodikovim peroksidom, lokalna antimikotička, te antibiotska terapija). Do terapijskog odgovora na lokalne glukokortikoidne pripravke uobičajeno dolazi tijekom nekoliko dana do nekoliko tjedana, dok se odgovor na terapiju hidroksiklorokinom očekuje nakon nekoliko tjedana terapije. Ako su oralne lezije rezistentne na prije navedenu terapiju, potrebna je terapija

imunosupresivima (azatioprin, ciklosporin, mikofenolat-mofetil) ili metotreksatom. Od velike su važnosti preventivna njega i higijena usne šupljine.

#### *Autoimune bulozne dermatitoze*

Autoimune bulozne dermatitoze su skupina bolesti kože i/ili sluznica kojima je primarna eflorescencija bula odnosno vezikula. Nastanak tih lezija posljedica je djelovanja autoantitijela usmjerenih prema strukturnim komponentama dezmosoma u skupini pemfigusa, prema strukturnim proteinima zone bazalne membrane kod skupine pemfigoida i stečene bulozne epidermolize, te strukturnim komponentama tkivne transglutaminaze kod herpetiformnog dermatitisa (14,15). Oralne lezije se najčešće pojavljuju kod vulgarnog i paraneoplastičkog pemfigusa, pemfigoida sluznica, buloznog pemfigoida, te stečene bulozne epidermolize, dok se u drugih bolesti iz ove skupine pojavljuju vrlo rijetko.

#### DIJAGNOSTIKA BULOZNIH LEZIJA NA KOŽI I SLUZNICAMA

Suvremena dijagnostika tih bolesti temelji se na anamnezi, kliničkoj slici, patohistološkom nalazu, nalazu direktne i indirektno imunofluorescencije, dokazom specifičnih cirkulirajućih protutijela metodom ELISA (engl. *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) i nalazu *imunoblotting*-a (14,15). Važno je napomenuti da za patohistološku evaluaciju bilo koje od buloznih dermatitoza treba učiniti probatornu eksciziju čitavog mjehurica ili ako to nije moguće, biopsiju ruba mjehura koja zahvaća i nepromijenjeni dio kože odnosno sluznice. Za direktnu imunofluorescenciju (DIF) koja je zlatni standard za postavljanje dijagnoze kod ovih bolesti, potrebno je uzeti probatornu eksciziju perilezionalno (do 1 cm udaljeno od mjehura) (14). Kod bolesnika s pemfigusom u direktnoj imunofluorescenciji nalazimo u gotovo 100 % bolesnika depozite IgG i C3 smještene intercelularno, dok je u bolesnika s pemfigoidom nalaz DIF-a pozitivan u oko 80 % bolesnika i to u obliku linearnih depozita IgG i C3 smještenih duž epidermodermalne granice (14,15). Indirektnom imunofluorescencijom (IIF) možemo dokazati cirkulirajuća protutijela u serumu bolesnika, a ovisno o dijagnozi pretragu možemo izvoditi na različitim supstratima, tj. tkivima. Za bolesti iz skupine pemfigusa najbolji supstrat za izvođenje IIF-a smatra se jednjak majmuna te se tom metodom u 90 % bolesnika dokažu cirkulirajuća IgG protutijela smještena intercelularno. Kod bolesti iz skupine pemfigoida za IIF se koristi u slojeve rascijepljena ljudska koža koja se dobije kada se komadić kože ostavi 72 sata u 1M otopini NaCl te posljedično dolazi do separacije u području *lamina lucida* te se u

tom slučaju utvrde linearni depoziti IgG na krovu arteficialno nastale pukotine (14,15). Suвременa dijagnostika pemfigusa nadopunjena je dokazom protutijela usmjerenih prema dezmogleinu 1 i 3 metodom ELISA. Kod pemfigusa koji primarno zahvaća sluznicu, pozitivna su protutijela prema dezmogleinu 3, a kod pemfigusa koji zahvaća kožu i sluznicu pozitivna su protutijela prema dezmogleinu 1 i 3 (16). Smatra se da titar protutijela korelira s aktivnošću bolesti, stoga se, osim za postavljanje dijagnoze, ova metoda koristi i u praćenju bolesti (17). Kod buloznog pemfigoida metodom ELISA dokazuju se protutijela prema antigenima buloznog pemfigoida 1 i 2 (BP 230 i BP 180), s tim da je BP 180 značajniji za dijagnosticiranje i praćenje aktivnosti bolesti kod bolesnika s buloznim pemfigoidom (18).

*Pemphigus vulgaris* je najčešći oblik pemfigusa karakteriziran bulama, odnosno erozijama na sluznici usne šupljine i koži koje nastaju intraepidermalno. Bolest je kronična i teška, a ako se pravodobno ne prepozna i ne započne liječenje, može biti smrtonosna. Bolest se pojavljuje najčešće između četvrtog i šestog desetljeća života, podjednako u oba spola. Etiopatogenetski kao mogući uzrok pemfigusa navode se i lijekovi ( $\beta$ -blokatori, cefalosporini, penicilin, rifampicin) (15).

U više od 60 % bolesnika bolest započinje bolnim erozijama na sluznici usne šupljine, stoga stomatolozi vrlo često prvi dijagnosticiraju lezije (19). Promjene na koži se pojavljuju i do 5 mjeseci nakon oralnih lezija u obliku mlohavih mjehura na klinički nepromijenjenoj koži (19). S obzirom da mjehuri ubrzo pucaju, kod pregleda često nalazimo samo erozije. U području sluznice usne šupljine najčešće lokalizacije erozija su bukalna sluznica i nepce (20). Na usnicama nalazimo većinom erozije prekrivene hemoragijskim krustama. Erozije se također, ali znatno rjeđe, mogu vidjeti i na sluznici nosa, ždrijela, grkljana te jednjaka. Oralne lezije su izrazito bolne, stoga otežano žvakanje i gutanje dodatno pogoršavaju opće stanje bolesnika. Kao što je prethodno rečeno, važno je postaviti dijagnozu čim prije kako bi se terapiju započelo na vrijeme. Temelj terapije vulgarnog pemfigusa su sistemski kortikosteroidi koji se primjenjuju tijekom duljeg razdoblja, a ponekad i doživotno. Prednizolon se primjenjuje u dozi 1,0-1,5 mg/kg tjelesne težine na dan sve dok ne prestane izbijanje novih mjehura (15). U našoj svakodnevnoj praksi terapiju najčešće započinjemo dozom od 1 mg/kg tjelesne težine. Nakon toga se započne postupno snižavanje doze do doze održavanja. Radi smanjivanja nuspojava kortikosteroidne terapije, u terapiju se uvode lijekovi za adjuvantnu terapiju pemfigusa, najčešće azatioprin u dozi 1,5-2,5 mg/kg na dan. Osim azatioprina kao adjuvantna terapija mogu se primijeniti i mikofenolat-mofetil, ciklofosamid, metotreksat, visoke doze intravenskih imunoglobulina, plazmafereza i rituksimab (15).

*Paraneoplastički pemfigus* je vrlo rijedak oblik pemfigusa koji se najčešće pojavljuje uz hematološke neoplazme, i to uz non-Hodgkinov limfom i kroničnu limfocitnu leukemiju, te uz timom i Castelmanov tumor. U kliničkoj slici dominiraju perzistentne, izrazito bolne erozije na usnicama i na oralnoj sluznici koje se mogu proširiti i na sluznicu ždrijela, grkljana i jednjaka, te sluznicu oka. Promjene na koži su polimorfne. U dijagnostici, specifična pretraga je IIF kojom se utvrde intercelularna protutijela ne samo na jednjaku majmuna nego i na prijelaznom epitelu mokraćnog mjehura što tu bolest diferencira od ostalih oblika pemfigusa (15). Dijagnoza se potvrđuje dokazom protutijela prema plakinima, BP230 i dezmogleinu 3, rjeđe dezmogleinu 1 (21). Oralne lezije su izrazito rezistentne na terapiju. Prognoza bolesti ovisi o podliježećem tumoru. U diferencijalnoj dijagnozi treba isključiti vulgarni pemfigus, pemfigoid sluznica, multiformni eritem, Stevens-Johnsonov sindrom, lihen planus i akutna reakcija transplantata protiv primatelja (*graft-versus-host syndrome*).

*Pemfigoid sluznica* uključuje heterogenu skupinu subepidermalnih buloznih dermatoza kod kojih se kliničke promjene nalaze primarno na sluznicama (22). Neki autori u tu skupinu uključuju i linearnu IgA-dermatozu, te stečenu buloznu epidermolizu u slučajevima kada su primarno zahvaćene sluznice (22). Bolest najčešće zahvaća sluznicu usne šupljine (85 %), potom spojnicu oka (64 %), kožu (24 %), sluznicu ždrijela (19 %), sluznicu nosa (15 %) dok su u 4-10 % slučajeva zahvaćene ostale sluznice (23). Sve lezije, osim onih na sluznici usne šupljine, epiteliziraju ožiljkom, što može dovesti do funkcionalnog oštećenja zahvaćenog organa. U usnoj šupljini lezije su najčešće lokalizirane na gingivi i bukalnoj sluznici. Oralne lezije najčešće imaju kliničku sliku erozivnog ili deskvamacijskog gingivitisa (24) ili su u blažim slučajevima karakterizirane eritemom i edemom gingive (25). Rijetko se uočavaju vezikule i bule. U usporedbi s oralnim lezijama kod pemfigusa, bol je značajno manje izražena. Za postavljanje dijagnoze klinička slika je od osobitog značenja s obzirom da se patohistološkim i imunofluorescentnim pretragama teško diferencira od buloznog pemfigoida. Cilj je terapije smanjenje upalnih promjena i prevencija ožiljkavanja. Blaže promjene na oralnoj sluznici mogu se liječiti lokalno kortikosteroidnim pripravcima ili takrolimusom te intralezionalno triamcinolon-acetonidom (15). U težim slučajevima treba primijeniti sistemske kortikosteroide u dozi od 1-2 mg/kg tjelesne težine. U adjuvantnoj terapiji mogu se dodati azatioprin, ciklofosamid, mikofenolat-mofetil, intravenski imunoglobulini, te rituksimab kod refraktornih lezija (15). Na temelju literaturnih podataka kao i osobnog iskustva, odgovor na terapiju kod pemfigoida sluznica je vrlo spor i ograničen. U terapiji tih bolesnika nužan je multidisciplinarni pristup.



*Bulozni pemfigoid* je najčešća subepidermalna autoimuna bulozna dermatozna, koja se češće pojavljuje u starijih muškaraca. Bule se pojavljuju na koži koja može biti klinički nepromijenjena ili upalno promijenjena. U određenog broja bolesnika bolest započinje prodromalnom fazom koja može trajati nekoliko tjedana, pa i mjeseci, u kojoj dominiraju ekcematoidne lezije, urtikarijski plakovi i intenzivan svrbež (26). Oralna sluznica je zahvaćena u oko 20 % bolesnika u obliku erozija, ali za razliku od pemfigusa kod buloznog pemfigoida se lezije na sluznicama u većini slučajeva pojavljuju nakon pojave lezija na koži. Lezije cijele bez ožiljaka. Bulozni pemfigoid se liječi sistemskim ili lokalnim kortikosteroidima ovisno o proširenosti kliničke slike, dobi bolesnika, te pratećim bolestima koje su u starijoj životnoj dobi, u kojoj se bulozni pemfigoid najčešće pojavljuje, česte. Ovisno o težini kliničke slike uvode se sistemski kortikosteroidi (prednizolon) u početnoj dozi 0,5 mg/kg tjelesne težine/dan. Adjuvantno, ako je potrebno, uvodi se azatioprin, mikofenolat-mofetil ili dapson.

*Lichen planus pemphigoides* je rijetka varijanta buloznog pemfigoida kod koje se subepidermalni mjehur pojavljuje nekoliko tjedana odnosno mjeseci nakon nastanka lichen planusa i to na nepromijenjenoj koži ili sluznicama (27).

*Linearna IgA dermatozna* je subepidermalna bulozna dermatozna uzrokovana depozitima IgA duž epidermodermalne granice. U odrasloj dobi zahvaća sluznicu usne šupljine u više od 50 % bolesnika. U dječjoj dobi je jedna od najčešćih buloznih dermatozna i zahvaća sluznicu u oko 90 % bolesnika (15). Klinički može nalikovati buloznom pemfigoidu, herpetiformnom dermatitisu ili pemfigoidu sluznica. U DIF-u se nalaze linearni depoziti IgA duž epidermodermalne granice. Depoziti IgA u IIF-u nalaze se u oko 80 % djece i oko 30 % odraslih. Terapija izbora je dapson, eventualno u kombinaciji sa sistemskim kortikosteroidima. Prije uvođenja dapsona u terapiju potrebno je isključiti deficit glukoza-6-fosfat-dehidrogenaze, a tijekom terapije potrebno je redovito kontrolirati methemoglobin.

*Epidermolysis bullosa acquisita (EBA)* je rijetka subepidermalna bulozna dermatozna kod koje su IgG protutijela usmjerena prema kolagenu tipa VII koji se nalazi u području zone bazalne membrane (14). Razlikuje se više kliničkih oblika bolesti. Klasični (neupalni) oblik karakteriziran je pojavom vezikula i bula na lokalizacijama koje su izložene mehaničkoj traumi, poput dorzuma šaka i stopala, koljena i laktova. Nakon pucanja mjehura zaostaju erozije koje cijele ožiljcima, a karakteristična je i pojava milija. Upalni oblik može biti nalik buloznom pemfigoidu ili pemfigoidu sluznica. U oba oblika može biti zahvaćena sluznica usne šupljine na kojoj nalazimo erozije i adhezije, zatim sluzni-

ca nosne šupljine, sluznica oka, farinksa, larinksa kao i anogenitalna sluznica (28). Oblik nalik pemfigoidu sluznica može konačno dovesti do trajnih posljedica zbog ožiljkavanja konjunktive te posljedične sljepoće, kao i striktura u području jednjaka. Bolest se češće pojavljuje u odraslih, ali se može pojaviti i u djece u koje je onda često zahvaćena sluznica (29). Bolest je terapijski dosta rezistentna, uz napomenu da kod djece ima bolju prognozu. U retrospektivnoj studiji kod 30 EBA bolesnika koji su bili inicijalno liječeni metilprednizonom, dapsonom i kolhicinom, 33 % bolesnika je došlo u kompletnu remisiju, a 21 % je postiglo djelomičnu remisiju unutar godine dana (30).

## ZAKLJUČAK

Kod različitih lezija na sluznici usne šupljine važno je u diferencijalnoj dijagnozi pomišljati i na različite autoimune bolesti. Upravo ti bolesnici, s obzirom da su autoimune bolesti relativno rijetke, često mjesecima žive bez dijagnoze ili s pogrešnom dijagnozom. Osim rane dijagnostike izrazito je važna pravodobna i učinkovita terapija s obzirom na mnogobrojne komplikacije koje se mogu razviti i u nekim slučajevima imati letalni ishod. Oralne lezije su nerijetko prva ili jedina manifestacija autoimunih bolesti, stoga je multidisciplinarni pristup tim bolesnicima od iznimne važnosti.

## LITERATURA

1. Tan EM, Cohen AS, Fries JF i sur. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-7.
2. Jonsson R, Heyden G, Westberg NG, Nyberg G. Oral mucosal lesions in systemic lupus erythematosus-a clinical, histopathological and immunopathological study. *J Rheumatol* 1984; 11: 38-42.
3. Lourenço SV, Nacagami Sotto M, Constantino Vilela MA i sur. Lupus erythematosus: clinical and histopathological study of oral manifestations and immunohistochemical profile of epithelial maturation. *J Cutan Pathol* 2006; 33: 657-62.
4. Burge SM, Frith PA, Juniper RP, Wojnarowska F. Mucosal involvement in systemic and chronic cutaneous lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 1989; 121: 727-41.
5. Jensen JL, Bergem HO, Gilboe IM, Husby G, Axell T. Oral and ocular sicca symptoms and findings are prevalent in systemic lupus erythematosus. *J Oral Pathol Med* 1999; 28: 317-22.
6. Andonopoulos AP, Skopouli FN, Dimou GS, Drosos AA, Moutsopoulos HM. Sjogren's syndrome in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1990; 17: 201-4.
7. Zufferey P, Meyer OC, Bourgeois P, Vayssairat M, Kahn MF. Primary systemic Sjogren syndrome (SS) preceding systemic lupus erythematosus: a retrospective study of 4 cases in a cohort of 55 SS patients. *Lupus* 1995; 4: 23-7.



8. Urman JD, Lowenstein MB, Abeles M, Weinstein A. Oral mucosal ulceration in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1978; 21: 58-61.
9. Rahman P, Gladman DD, Urowitz MB. Nasal-septal perforation in systemic lupus erythematosus-time for a closer look. *J Rheumatol* 1999; 26: 1854-5.
10. Meurer M. *Lupus erythematosus*. U: Burgdorf WHC, Plewig G, Wolff HH, Landthaler M. *Braun-Falco's Dermatology*. Berlin: Springer; 2009, 716-30.
11. Sultan SM, Ioannou Y, Isenberg DA. A review of gastrointestinal manifestations of systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 1999; 38: 917-32.
12. Karjalainen TK, Tomich CE. A histopathologic study of oral mucosal lupus erythematosus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989; 67: 547-54.
13. Schiodt M. Oral discoid lupus erythematosus. III. A histopathologic study of sixty-six patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1984; 57: 281-93.
14. Schmidt E, Zillikens D. Modern diagnosis of autoimmune blistering skin diseases. *Autoimmun Rev* 2010; 10: 84-92.
15. Marinović B, Lakoš Jukić I. Autoimunosne bulozne dermatoze. U: Lipozenčić J i sur. *Alergijske i imunodne bolesti*. Zagreb: Medicinska naklada, 2011, 315-25.
16. Amagai M, Tsunoda K, Zillikens D, Nagai T, Nishikawa T. The clinical phenotype of pemphigus is defined by the anti-desmoglein autoantibody profile. *J Am Acad Dermatol* 1999; 40(2 Pt 1): 167-70.
17. Schmidt E, Dahnrich C, Rosemann A i sur. Novel ELISA systems for antibodies to desmoglein 1 and 3: correlation of disease activity with serum autoantibody levels in individual pemphigus patients. *Exp Dermatol* 2010; 19: 458-63.
18. Di Zenzo G, Thoma-Uszynski S, Fontao L i sur. Multi-center prospective study of the humoral autoimmune response in bullous pemphigoid. *Clin Immunol* 2008; 128: 415-26.
19. Sirois D, Leigh JE, Sollecito TP. Oral pemphigus vulgaris preceding cutaneous lesions: recognition and diagnosis. *J Am Dent Assoc* 2000; 131: 1156-60.
20. Venugopal SS, Murrell DF. Diagnosis and clinical features of pemphigus vulgaris. *Dermatol Clin* 2011; 29: 373-80.
21. Zhu X, Zhang B. Paraneoplastic pemphigus. *J Dermatol* 2007; 34: 503-11.
22. Chan LS, Ahmed AR, Anhalt GJ i sur. The first international consensus on mucous membrane pemphigoid: definition, diagnostic criteria, pathogenic factors, medical treatment, and prognostic indicators. *Arch Dermatol* 2002; 138: 370-9.
23. Ahmed AR, Hombal SM. Cicatricial pemphigoid. *Int J Dermatol* 1986; 25: 90-6.
24. Rogers RS 3rd, Sheridan PJ, Nightingale SH. Desquamative gingivitis: clinical, histopathologic, immunopathologic, and therapeutic observations. *J Am Acad Dermatol* 1982; 7: 729-35.
25. Fleming TE, Korman NJ. Cicatricial pemphigoid. *J Am Acad Dermatol* 2000; 43: 571-94.
26. Schmidt E, della Torre R, Borradori L. Clinical features and practical diagnosis of bullous pemphigoid. *Dermatol Clin* 2011; 29: 427-38.
27. Kasperkiewicz M, Zillikens D, Schmidt E. Pemphigoid diseases: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Autoimmunity* 2012; 45: 55-70.
28. Luke MC, Darling TN, Hsu R i sur. Mucosal morbidity in patients with epidermolysis bullosa acquisita. *Arch Dermatol* 1999; 135: 954-9.
29. Callot-Mellot C, Bodemer C, Caux F i sur. Epidermolysis bullosa acquisita in childhood. *Arch Dermatol* 1997; 133: 1122-6.
30. Kim JH, Kim YH, Kim SC. Epidermolysis bullosa acquisita: a retrospective clinical analysis of 30 cases. *Acta Derm Venereol* 2011; 91: 307-12.

## S U M M A R Y

### AUTOIMMUNE DISEASES OF ORAL MUCOSA

I. MARTINAC BABIĆ and B. MARINOVIĆ

*Zagreb University Hospital Center, Department of Dermatology and Venereology,  
School of Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia*

Autoimmune diseases occur as a consequence of activity of one's own immune system against the body's own cells. Depending on target cells, autoimmune diseases are divided into organ-specific, i.e. those that affect only one organ or organ system, and systemic autoimmune diseases. In a large number of diseases belonging to this group, oral mucosa may be affected and the clinical picture can be very diverse. Oral lesions may occur in the earliest stages of autoimmune diseases, and some of them may be the first, or even the only manifestation. Given that many of these diseases can have serious life prediction, it is important to recognize changes in oral mucosa, diagnose them and start appropriate treatment on time. This paper deals with autoimmune diseases that often manifest on oral mucosa, such as autoimmune blistering diseases and lupus erythematosus.

**Key words:** autoimmune diseases, oral mucosa, lupus erythematosus, autoimmune blistering diseases

# MANIFESTACIJE SPOLNO PRENOSIVIH BOLESTI NA ORALNOJ SLUZNICI

SUZANA LJUBOJEVIĆ, MIHAEL SKERLEV i IVAN ALAJBEG<sup>1</sup>

*Klinički bolnički centar Zagreb i Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu,  
Klinika za dermatovenerologiju i <sup>1</sup>Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu,  
Zavod za oralnu medicinu, Zagreb, Hrvatska*

Mnogi vjeruju kako je oralni seks siguran način seksa i nije rizik za dobivanje spolno prenosive bolesti. Unatoč učestalosti oralnog seksa, broj dijagnosticiranih oralnih i faringealnih spolno prenosivih infekcija je manji nego kod analnog i vaginalnog seksa. Tijekom oralnog kontakta mogu nastati sitne mikroozljede preko kojih može doći do prijenosa patoloških mikroorganizama koji su prisutni u tjelesnim izlučevinama ili lokalnim lezijama. Prikazan je pregled literature o ulozi oralnog seksa u prijenosu spolno prenosivih bolesti i odgovarajućoj kliničkoj slici oralnih bolesti.

**Ključne riječi:** spolno prenosive bolesti, oralni seks, bolesti usta

**Adresa za dopisivanje:** Doc. dr. sc. Suzana Ljubojević, dr. med.  
Klinika za dermatovenerologiju  
Klinički bolnički centar Zagreb  
Šalata 4  
10000 Zagreb, Hrvatska  
Tel: 2368 930; e-pošta: suzana.ljubojevic@gmail.com

## UVOD

Oralni seks je čest i u hetero- i u homoseksualaca. Mnogi vjeruju kako je oralni seks siguran način seksa i nije rizik za dobivanje spolno prenosive bolesti. Unatoč učestalosti oralnog seksa, broj dijagnosticiranih oralnih i faringealnih spolno prenosivih infekcija je manji nego kod analnog i vaginalnog seksa. To se može objasniti i time što se mali broj bolesnika rutinski testira za oralne i faringealne infekcije jer su takve infekcije često asimptomatske. Smatra se da je realni broj oralnih i faringealnih infekcija podcijenjen. U usnoj šupljini, od bakterijskih spolno prenosivih bolesti, opisani su: sifilis, donovanoza, *ulcus molle*, orofaringealna gonoreja, infekcija bakterijom *Chlamydia trachomatis* i primarna lezija *lymphogranuloma venereum*, a od virusnih: infekcija Epstein Barrovim virusom, virusom *Herpes simplex* tip 1 i 2, humanim papiloma virusom (HPV), virusom hepatitisa B i citomegalovirusom. Virus humane imunodeficijencije (engl. *human immunodeficiency virus*-HIV) nađen je u slini 44 % virusom zaraženih osoba, te se smatra se da je biološki moguć prijenos infekcije oralnim putem (1). Međutim, potrebno je naglasiti da više ko-faktora može povećati rizik od prijenosa HIV-a putem oralnog seksa, kao što su ulceraci-

je u usnoj šupljini, krvarenja u sluznici usne šupljine, krvarenje desni, ulceracije na genitalijama i prisutnost još jedne spolno prenosive bolesti.

Tijekom oralnog kontakta s genitalijama mogu nastati sitne mikroozljede preko kojih može doći do kontakta s lokaliziranom kontaminacijom i prijenosom patoloških mikroorganizama koji su prisutni u tjelesnim izlučevinama ili lokalnim lezijama.

Oralni seks je široki pojam koji uključuje *fellatio* (oralni kontakt s penisom), *cunnilingus* (oralni kontakt s vaginom) i *anilingus* (oralni kontakt s anusom).

## I. VIRUSNE INFEKCIJE

### HPV INFEKCIJA

Infekcija HPV-om smatra se najučestalijom virusnom spolno prenosivom bolešću. Može se pronaći i do 40 % uredne oralne sluznice (2). Prema nekim istraživanjima navedeno je da se HPV može naći u sluznici usne šupljine između 0,6 % do 81 % (3). Sluznice

(oralna, genitalna) uz kožu ciljno su tkivo kolonizacije i infekcije HPV. U ustima može biti prisutan ne uzrokujući kliničke promjene, ali može uzrokovati hiperplastične lezije oralne sluznice: *papilloma*, *condyloma acuminatum*, *verruca vulgaris* i *hyperplasia epithelialis focalis* (2). *Oralni papilom* je benigni tumor sluznice, uglavnom uzrokovan genotipovima HPV 6 i HPV 11, a vjerojatno i HPV 2 i HPV 16 (2, 4). *Oralna veruka vulgaris* najčešće se vidi u djece zbog autoinokulacije kožnih bradavica s ruku (2, 4). *Oralni šiljasti kondilomi* (*condylomata acuminata oris*) su obično multiple sitne, verukozne, mekane, egzofitične papule boje kože/sluznice koje se mogu postepeno povećavati veličinom i brojem i činiti plakove (5,6). Učestalost oralnih šiljastih kondiloma i simultana pojava genitalnih kondiloma nije poznata, a često je posljedica orogenitalnog kontakta (2).

Osim u ustima, HPV može izazvati bradavice u grkljenu i dušniku izazivajući *recidivirajuće respiratorne papilomatoze*, a najčešće ih izazivaju tipovi 6 i 11. Papilomi glasnica i drugih dijelova dišnog sustava u djece mogu nastati tijekom infekcije novorođenčeta, tj. vertikalnim prijenosom virusa tijekom porođaja od roditelja na dijete.

*Laringealna papilomatoza* je benigna bolest, ali zbog opetovanog ponavljanja zahtjeva radi otklanjanja ponavljane operacije ponekad je potrebno i do 150 operacija kod djece, pa je time kvaliteta života takve djece narušena.

*Fokalna epitelijalna hiperplazija* (Heckova bolest) rijetka je oralna lezija koju karakteriziraju brojne oštro ograničene niske i mekane papule, rasprostranjene po oralnoj sluznici. Povezana je HPV genotipovima 13 i 32 (u 90 % slučajeva) i potpuno je benigna (2).

HPV je važan kofaktor za nastanak nekih oblika *karcinoma usne sluznice* (7,8). U oko 55 % slučajeva javljaju se na jeziku. Mogu se javiti i na tvrdom nepcu, bukalnoj sluznici, desnama, usnicama, krajnicima i uvuli. Tumori koji imaju najlošiju prognozu smješteni su na dnu usne šupljine ili na jeziku (3).

## INFEKCIJE VIRUSOM HERPESA

### *Humani virus herpesa 1 i 2 (Herpes simplex virusi)*

Više od 95 % populacije inficirano je virusom *Herpes simplex*. HSV je ektodermalni virus, a kod ljudi uzrokuje različite promjene na koži, sluznicama i središnjem živčanom sustavu. U 40-60 % HSV infekcije javljaju se u pubertetu i adolescenciji. Glavni način prijenosa HSV-1 je izravni kontakt s inficiranim oralnim sekretom, a HSV-2 inficiranim genitalnim sekretom.

Primarne infekcije virusom HSV-1 događaju se u dječjoj dobi, a primarne infekcije HSV-2 u dobi seksualne zrelosti, najčešće od 15. do 29. godine (9). Orogenitalni kontakti mogu rezultirati pojavom genitalnih HSV-1 i oralnih HSV-2 infekcija. Genitalne infekcije uzrokovane HSV-2 reaktiviraju se 8-10 puta češće od genitalnih HSV-1 infekcija, a orolabijalne infekcije uzrokovane HSV-1 recidiviraju češće od onih uzrokovanih HSV-2. Lezije izazvane HSV1 su blaže i rjeđe recidiviraju, nego u slučaju HSV-2.

HSV se može prenijeti i putem simptomatskih kao i asimptomatskih infekcija (engl. *viral shedding*). Kod simptomatskih infekcija postoji veći titar virusa te su takve infekcije učestalije u etiologiji prijenosa infekcije. Inkubacija traje oko 7 dana. Primarna infekcija naziva se *gingivostomatitis herpetica*. Bolest počinje s prodromima poput povišene temperature, zimice, tresavice, praćenih općom slabošću, mučninom te povećanim limfnim čvorovima. U početku se u usnoj šupljini javljaju vezikule koje brzo pucaju te zaostaju bolne erozije koje mogu mjestimično konfluirati. Lezije mogu nastati samostalno ili uz labijalni herpes. Recidivirajuće HSV infekcije usta razvijaju se u oko 15-25 % populacije (10). Ako je lezija ekstraoralna, razvija se *herpes labialis*. Ako se radi o intraoralnoj infekciji, tada se promjene javljaju na keratiniziranoj sluznici (onoj pod kojom se nalazi perioral), obično unilateralno i to kao *herpes gingivae* ili *herpes palati duri* (10). Oralni seks s osobom koja ima aktivni rekurentni oralni herpes, u osobe bez prethodne serokonverzije, dovest će do genitalne infekcije herpes virusom (10). Rizik prijenosa HSV-2 infekcije putem oralnog virusnog "odluštivanja" (engl. *viral shedding*) te intimnog nespornog kontakta je minimalan (11).

### *Human herpes virus 4 (Epstein-Barrov virus)*

Epstein-Barrov virus (EBV) uzrokuje brojne bolesti od kojih su na oralnoj sluznici infektivna mononukleoza i oralna vlaknasta leukoplakija (engl. *oral hairy leukoplakia*).

*Infektivna mononukleoza*, poznata i kao bolest poljupca, zarazna je bolest uzrokovana EBV u 90 % slučajeva, a u preostalih 10 % citomegalovirusom (CMV). Kada se djeca zaraze ovim virusom, infekcija obično prolazi bez simptoma. Većina bolesnika je asimptomatska te stoga obično nemaju nikakve simptome ili su simptomi blagi i najčešće prolaze spontano. Otprilike 90 % odraslih osoba pokazuje serološke znakove prijašnje infekcije. Inkubacija EBV infektivne mononukleoze je između 1-2 mjeseca. Ako se zaraze odrasli, 25-75 % razvit će simptome ove bolesti, za koju su tipična tri simptoma: povišena tjelesna temperatura, povećani limfni čvorovi i upala grla (5). Najčešće se radi o ubi-

kvitarnoj (uvjetno patogenoj) infekciji koja se prenosi subklinički. U mladoj odrasloj dobi i adolescenciji često se povezuje sa spolnim načinom prenošenja, jer se virus izolira iz sline (5). Infektivna mononukleoza je povezana s nekoliko nespecifičnih nalaza poput petehija na nepcu, eritema ždrijela i hipertrofije tonzila. U težim slučajevima može biti povezana s nekrozom gingive (12).

*Oralna vlaknasta leukoplakija* je benigna asimptomatska bolest karakterizirana bijelim, hiperkeratotičkim plakovima na postraničnim dijelovima jezika. Najčešće nastaje u HIV pozitivnih bolesnika, iako je opisana i u bolesnika nakon transplantacije organa te u bolesnika s bolestima bubrega i Fabrijevom bolesti (13). Oralna vlaknasta leukoplakija je indirektna manifestacija EBV, a potencijalno se može prenijeti i spolnim kontaktom. U oko 5 % slučajeva prvi je klinički znak HIV infekcije (14). Smatra se da nastaje zbog replikacije EBV i povećane virulencije zajedno s oslabljenom lokalnim i sistemskim imunitetom domaćina. S obzirom da su danas na tržištu prisutni potentni retrovirusni lijekovi, sve rjeđe vidimo HIV bolesnike s oralnom vlaknastom leukoplakijom.

#### *Humani herpes virus 5 (citomegalovirus)*

Citomegalovirus (CMV) je uvjetno patogeni virus. Primarna infekcija je najčešće subklinička i nastaje u djetinjstvu ili ranoj mladosti. Može se dobiti i spolnim kontaktom preko orofaringealnih sekrecija (5). Promjene na sluznici usne šupljine su rijetke u imunokompetentnih osoba. Obično se javljaju u obliku upale žlijezda slinovnica te klinička slika može nalikovati onoj kod mumpsa. CMV nakon infekcije ostaje u žlijezdama slinovnicama u "mirnoj" fazi te se može reaktivirati ovisno o imunološkom statusu pojedinca. U imunosuprimiranih bolesnika dolazi do reaktivacije te može nastati diseminirana bolest s CMV retinitisom koji može dovesti do sljepoće (5). To se najčešće događa u HIV pozitivnih bolesnika koji mogu imati i jače diseminirane aftozne ulceracije.

#### *Humani herpes virus 8*

Iako biologija humanog herpes virusa 8 (HHV-8) nije u potpunosti jasna, smatra se da se može ubrojiti u spolno prenosive infekcije (3). HHV-8 se prije zvaao i herpes virus Kaposijeva sarkoma. Promjene izazvane ovim virusom nalazile su se u osoba koje su imale AIDS. No, HHV-8 je povezan i s ostalim oblicima Kaposijeva sarkoma. Dokazano je da u oralnim sekrecijama bolesnika s Kaposijevim sarkomom stalno dolazi do virusnog ljuštenja (3). Opisani su slučajevi oroanalnog kontakta i prijenosa HHV-8 (3). Kaposijev sarkom

je vaskularna neoplazma klinički karakterizirana pojavom eritematoznih, lividnih i smeđih makula, plakova, i nodusa. Česte su afekcije sluznice, posebice usne šupljine, no mogu se pojaviti i na licu, posebice nosu, kaptima i uškama, kao i na gotovo cijelom tijelu.

#### *POX VIRUS (MOLLUSCUM CONTAGIOSUM)*

*Mollusca contagiosa* (MC) je česta virusna infekcija kože uzrokovana virusom *Molluscipox* (MCV), koja se viđa u djece i u odraslih (15). Karakterizirane su malenim, umbiliciranim papulama voštana sjaja. Dok su MC relativno česta u djece od 1. do 5. godine i mogu biti smještena bilo gdje na tijelu, njihova pojavnost u odraslih uglavnom se smatra spolno prenosivom infekcijom (15). Virus ulazi u kožu direktno kroz male ne površinske defekte kože ili indirektno putem ručnika ili odjeće. MCV se može izravno prenositi s osobe na osobu ili znatno češće autoinokulacijom (najčešće češanjem, depilacijom). Ekstragenitalni smještaj kod odraslih se tipično viđa u imunosuprimiranih bolesnika, osobito u bolesnika s HIV-om/AIDS-om (16). Iako rijetko, MC se mogu pojaviti na usnici i perioralno. Ako se nađu u velikom broju, često mogu biti znak uznapredovale HIV bolesti (5).

#### *INFEKCIJE VIRUSOM HEPATITISA B I HEPATITISA C*

Infekcija *virusom hepatitis B* može se prenijeti preko kontaminirane krvi, znoja, suza, sline, sjemena, vaginalnog sekreta, menstruacijske krvi i mlijeka za dojenje. Postoje jasni dokazi kako se hepatitis B može prenijeti vaginalnim i analnim spolnim odnosom, ali nije dokazano može li se prenijeti oralnim seksom (17). Zbog zaraznosti postoji teorijski rizik prijenosa hepatitisa B preko kunilingusa, felacija ili anilingusa. Prvi se simptomi javljaju 1-6 mjeseci nakon zaraze. Javljaju se umor, svrbež, žutica, mučnina, gubitak apetita i mršavljenje.

*Hepatitis C* se rijetko prenosi spolnim putem. Prenosi se putem krvi kada inficirana krv od jedne osobe uđe u krvotok druge osobe (transfuzije zaražene krvi i krvnih pripravaka te intravenskim uživanjem opojnih droga). Iako postoji malo dokaza koji pokazuju dobivanje hepatitisa C preko oralnog seksa, teorijski rizik postoji ako je prisutna krv osobe koja prima ili daje (17). Zbog toga postoji rizik od prijenosa hepatitisa C preko kunilingusa, felacija ili anilingusa u slučaju prisustva menstrualne krvi, krvarenja desni, infekcije grla, rana, genitalnih bradavica, hemoroida ili bilo kojih drugih pukotina u koži kod uključenih dijelova tijela – vagina, klitoris, vulva, penis, testisi, anus, perineum, usne, jezik ili bilo gdje drugdje na genitalijama ili unutar usne šu-



pljine (17). U 85 % zaraženih osoba dolazi do asimptomatske progresije u kroničnu infekciju, od čega u 30 % inficiranih tijekom 20-tak godina dolazi do razvoja ciroze, pa se danas smatra da je kronična infekcija hepatitisom C glavni uzrok terminalne faze jetrene bolesti i potrebe za transplantacijom jetre. Iako rizik od prijenosa virusnog hepatitisa za vrijeme oralnog seksa nije velik, pacijentima se savjetuje apstinencija ako postoje bilo kakve rana u ustima ili na područjima genitalija. Dodatno, neki stručnjaci savjetuju izbjegavanje četkanje zubi ili čišćenje koncem prije ili poslije oralnog seksa zbog toga što te aktivnosti mogu stvoriti male abrazije ili dovesti do krvarenja desni (17).

### HIV INFEKCIJA

Primarni način prenošenja HIV-a je putem spolnog odnosa, zaraženih krvnih pripravaka (transfuzija), zaražene igle (intravensko uživanje opojnih droga) te transplacentno prenošenje (s majke na fetus). Poljupcem se HIV ne prenosi. Zaštitni mehanizmi koji se nalazi u slini inaktiviraju virus (10). Slina sadržava elemente koji inaktiviraju HIV (sekretorni leukocitni proteazni inhibitor, trombospondin), međutim njih nadjača volumen virusa u spermi osobe s visokim virusnim opterećenjem (18). Mogućnost prijenosa HIV-a oralno-genitalnim odnosom manja je nego analnim i vaginalnim putem, ali je ipak realna (10). Procjenjuje se da je za 8 % zaraze odgovoran receptivni oralni seks (10, 18). U tih je ljudi bio prisutan i neki oblik oralne infekcije što je povećalo vjerojatnost prijenosa HIV-a. Identificirani su faktori rizika genito-oralne transmisije HIV-a: receptivni oralni odnos s ejakulacijom, visoki titar virusa i oštećenje integriteta oralne sluznice. Iako je ta povezanost etablišana u slučajevima receptivnog oralnog seksa mora se napomenuti da postoje i slučajevi prijenosa na insertivnog partnera prilikom felacije, kao i rijetki slučajevi gdje se sumnja na prijenos prilikom kunilingusa i anilingusa (10).

Za osobe koje ne znaju HIV status, pojave promjena u usnoj šupljini često su indikatori za testiranje na HIV (19). Unatrag više godina kada nije bilo učinkovite anti-retrovirusne terapije (engl. *highly active antiretroviral therapy* - HAART), 50 % bolesnika koji su bili HIV pozitivni i u oko 80 % AIDS bolesnika imalo je promjene u usnoj šupljini (3). Ako se radi o HIV pozitivnoj osobi koja još nije na anti-retrovirusnoj terapiji, pojava promjena u usnoj šupljini može značiti progresiju HIV-a, dok kod HIV pozitivnih osoba koje su na anti-retrovirusnoj terapiji, pojava promjena na sluznici usne šupljine može biti znak povećanih vrijednosti HIV-1 RNA u plazmi (19).

Oralne manifestacije HIV infekcije nalaze se u 30 % - 80 % HIV pozitivnih pojedinaca (19). One nisu karak-

teristične za samu bolest, one nastaju zbog komplikacije kronične imunosupresije. Najčešće se javljaju oralne HPV infekcije, oralna vlaknasta leukoplakija i reaktivacija CMV. Navedene oralne virusne infekcije su agresivnije, refraktornije i dugotrajne u HIV pozitivnim bolesnicima. Bolesti usne šupljine kod HIV pozitivnih bolesnika mogu se podijeliti u tri skupine (3). U prvu skupinu ubrajamo sedam bolesti koje se najčešće javljaju u osoba s HIV infekcijom: oralna kandidoza, oralna vlaknasta leukoplakija, Kaposijev sarkom, linearni eritem gingive, nekrotizirajući ulcerativni gingivitis, nekrotizirajući ulcerativni periodontitis te non-Hodgkinov limfom. U drugu se skupinu ubrajaju bakterijske infekcije (*Mycobacterium avium intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*), virusne infekcije (CMV, HSV, HPV i herpes zoster), bolesti žlijezda slinovnica, melanocitne hiperpigmentacije, nekrotizirajući ulcerozni stomatitis i trombocitopenična purpura. U treću skupinu, koja se rjeđe pojavljuje, ubrajaju se bolesti usne šupljine povezane s reakcijom na lijekove koje bolesnici primaju (*erythema multiforme maior*, lihenoidna toksična epidermoliza), bacilarna angiomatoza, gljivične infekcije osim kandidijaze i skvamocelularni karcinomi. Sindrom akutne serokonverzije koja nastaje nakon prijenosa HIV-a može povremeno biti praćen crvenilom oralne sluznice i stvaranjem ulceracija u oko 30 % bolesnika, no navedene promjene nisu specifične (20).

## II. BAKTERIJSKE INFEKCIJE

### GONOREJA

Gonoreja je zarazna spolna bolest uzrokovana bakterijom *Neisseria (N.) gonorrhoeae*, koja ponajprije zahvaća urogenitalne sluznice, a znatno rjeđe i druge organe. Budući da je stanište bakterije u muškaraca mokraćna cijev, najveći rizik za dobivanje gonoreje imaju partneri koji obavljaju felacio. U žena se bakterija nastanjuje na vratu maternice, tako da je rizik za dobivanje gonoreje kod obavljanja kunilingusa manji (3). Gonoreja je u usnoj šupljini vrlo rijetka ili možda ne postoji (10). Upala nastaje na sluznicama zahvaćenim cilindričnim epitelom (uretra i vrat maternice), stvarajući gnojnu upalu. Upala je karakterizirana osjećajem pečenja i boli u uretri, žuto-zelenim gustim gnojnim iscjetkom uz povećane i bolne ingvinalne limfne čvorove. Orožnjeli epitel otporan je na infekciju *N. gonorrhoeae*. Orožnjeli mnogoslojni pločasti epitel i slina imaju antimikrobni učinak koji onemogućuje razvoj zahtjevnih mikroorganizama kao što je gonokok. Danas postoje mišljenja da gonokokni stomatitis najvjerojatnije ne postoji (10). Naime prije pronalaska selektivnih medija za *N. gonorrhoeae* (*Thayer Martin, NYC-medij*) selektivnost podloga nije mogla razlikovati *N. gonorrhoeae* od



drugih vrsta naiserija (ili *Branchamella sp.*) i stoga je bilo nemoguće isključiti saprofitne oralne gonokoke. Iz starijih literaturnih navoda oralna gonoreja je opisana kao multiple ulceracije pokrivene bijelim pseudembranoznim naslagama (5).

*Faringalna gonoreja* je rijetka, a najčešće se manifestira kao nespecifična upala praćena crvenilom, bolovima i otežanim gutanjem. *N. gonorrhoeae* možemo izolirati iz područja faringealne sluznice, vjerojatnije kratko nakon oralnogenitalnog kontakta sa zaraženom osobom. Međutim, nije jasno radi li se o kratkotrajnoj kolonizaciji ili pravoj infekciji (10). Sama prisutnost *N. gonorrhoeae* u ždrijelu nije pouzdan dokaz bolesti već bi mogao značiti kratkotrajnu kolonizaciju specijaliziranoga cilindričnog epitela mikroorganizmima koji su, inače, znatno bolje prilagođeni urogenitalnoj sluznici. Dok je orožnjeli epitel usta vjerojatno otporan na infekciju *N. gonorrhoeae*, faringealna je sluznica znatno nježnija i ne posjeduje obrambene mehanizme karakteristične za slinu (10). Smatra se da faringealni gonokok spontano, bez liječenja, nestaje za oko 12 tjedna, bez dokazane mogućnosti oralno-oralnog prijenosa tijekom tog vremena (3,10).

#### INFEKCIJA KLAMIDIJOM

*Chlamydia trachomatis* je najčešća bakterijska spolno prenosiva bolest. U približno 80 % žena, te u 50 % muškaraca nema vidljivih znakova infekcije (asimptomatska infekcija) (21). Klamidija se također može prenijeti oralnim seksom, a najveći rizik za dobivanje imaju partneri koji obavljaju felacio. Infekcija usne šupljine klamidijom se smatra rijetkom. U usnoj šupljini klamidija se manifestira kao nespecifična upala ždrijela praćena crvenilom, bolovima i otežanim gutanjem. Sluznica usne šupljine i farinksa nije pogodna za kolonizaciju klamidija, te se one nađu u malom broju. Unatoč velikom prijenosu klamidije tijekom spolnog odnosa, PCR metodama dijagnostike detektira se samo između 2 % i 8 % (3).

Oralni nalaz povezan s klamidijom javlja se u sklopu kompleksa nazvanog *Reiterov sindrom*. *C. trachomatis* izoliramo u 80 % slučajeva Reiterova sindroma. Sindrom je kombinacija triju simptoma: uretritisa, konjunktivitisa i artritisa. Uretritis se očituje pečenjem, bolovima pri mokrenju i gustim serozno-žučkastim iscjetkom. Katkad se upala proširi na sluznicu glansa penisa pa nastaje balanitis circinata. Konjunktivitis nastupa akutno i često recidivira, ali može proći i blago pa se i ne zapazi. Artritis se obično javlja nekoliko tjedana nakon uretritisa. Može zahvatiti jedan veći zglob (obično gležanj ili koljeno), traje nekoliko tjedana, ali se može pokazati i kao poliartritis. Na koži dlanova i tabanima nastaje hiperkeratoza i ljuštenje (*ke-*

*ratitis blenorragica*), dok od oralnih promjena može nastati *erythema circinatum migrans*, odnosno tzv. ekotopični geografski jezik. Radi se o morfološkoj varijaciji jezičnog pokrova, a ne patološkom stanju (10). U slučaju Reiterova sindroma umjesto na pokrovu dorzuma jezika, serpiginozna i cirkularna područja u kojima bjeličaste linije zaokružuju eritematozna atrofična područja javljaju se na sluznici obraza i nepca. *Erythema circinatum migrans* može se javiti i u bolesnika s psorijazom.

#### SIFILIS

Sifilis je kronična zarazna bolest uzrokovana spirohetom *Treponema (T.) pallidum*. S obzirom na vrijeme pojavljivanja te na kliničku sliku, sifilis se dijeli na primarni, sekundarni i tercijarni. Između svakog od tih stadija postoji latentni stadij, bez kliničkih znakova bolesti. Novija podjela sifilis dijeli na rani koji obuhvaća primarni i sekundarni, te latentni stadij do pojave tercijarnog sifilisa. Sifilis se osim genito-genitalnim i genito-analnim putem lako može prenijeti i putem genito-oralnoga spolnog kontakta (22). Bolest se može prenijeti i transplacentno. Spiroheta je vrlo infektivna i mogućnost prijenosa jednim spolnim kontaktom iznosi 30-50 % (otprilike 1/3 osoba će dobiti sifilis nakon spolnog odnosa s osobom zaraženom sifilisom) (10). Bolest se može prenijeti kontaminiranom slinom bolesnika sa sekundarnim sifilisom. Sifilis se prenosi u primarnom, sekundarnom i ranom latentnom stadiju (3).

*Primarni sifilis* nastaje nakon inkubacije od 3 do 4 tjedna. Primarna lezija se u oko 85 % javlja na spolovilu, 10 % na anusu, 4 % orofaringealno i 1 % na ekstragenitalnim lokalizacijama (3, 22, 23). Na mjestu ulaska nastaje primarni afekt ili *ulcus durum* (tvrđi čankir). U početku je prisutna eritematozna papula koja puca te nastaje bezbolna ulceracija. Dno ulkusa je glatko, sjajno, a rubovi su izdignuti i indurirani. Nakon anogenitalne regije, drugo najčešće mjesto primarne afekcije je sluznica usne šupljine. Primarni sifilis u usnoj šupljini posljedica je orogenitalnog ili oroanalnog kontakta s inficiranom lezijom. Najčešće se opisuje na usnicama, jeziku, mekom nepcu, bukalnoj sluznici, gingivi i na farinksu (10, 22). Gornja usna je češće zahvaćena u muškaraca, dok je donja češće zahvaćena u žena (3). Zbog prolazne infekcije, oralne ulceracije kod primarnog sifilisa su često asimptomatske i prođu neprepoznate. Infekcija se vrlo rijetko može prenijeti ljubljem (24). Treponeme koje su prisutne u primarnoj leziji mogu se otkriti mikroskopijom u tamnom polju. Međutim, taj test nema dijagnostičko značenje kod promjena u usnoj šupljini zbog brojnih drugih komenzalnih treponema koje su normalni nalaz u usnoj šupljini, što bi često dovelo do lažno pozitivnog nalaza (10,22). Ulkus

durum je uvijek praćen povećanjem regionalnih limfnih čvorova, obično submentalnih ili submandibularnih. Traje 4-6 tjedana te nakon toga spontano cijeli bez stvaranja ožiljka. Bolesnik koji ima primarnu leziju na usnama ili sluznici usne šupljine je zarazan.

*Sekundarni stadij sifilisa* započinje 6-7 tjedana nakon pojave primarne lezije. Nastaje zbog hematogenog širenja *T. pallidum*. Simptomi sekundarnog sifilisa su vrlo raznoliki, a u usnoj šupljini prisutni su u oko 30 % bolesnika, iako su vrlo rijetko i jedini oblik manifestacije infekcije treponemom (3,22). Oralne lezije u sekundarnom sifilisu visoko su infektivne. Najčešće se javljaju: nespecifični faringitis, mukozni plakovi, makulopapularne lezije, ali mogu se javljati i nodularne lezije (5). Za razliku od oralnih ulkusa koji se javljaju u primarnom sifilisu, koji su obično solitarni i bezbolni, ulkusi u sekundarnom sifilisu su multipli i bolni (3). *Mukozni plakovi* su plitki, neoštro ograničeni, povremeno ulcerirani plakovima pokrivenim sivo-bijelom nekrotičnom membranom s okolnim eritemom. Promjene su povremeno bolne, a mogu se pojaviti bilo gdje na jeziku, usnicama, bukalnoj sluznici, nepcu i distalnim dijelovima usne šupljine. Na gingivama se ne opisuju. Iako rijetko, mogu se javiti i *nodularne promjene*. Predilekcijska mjesta za stvaranje nodularnih promjena su lice, mukozne membrane, dlanovi i tabani i noge (3). *Ulceracije nalik "tragu puža"* (engl. *snail-track ulcer*) nastaju konfluiranjem mukoznih plakova, a najčešće nastaju na jeziku, mekom i tvrdom nepcu i na tonzilama (3). *Ulceronodularna bolest (lues maligna)* je generalizirani oblik sekundarnog sifilisa koji je praćen povišenom temperaturom, glavoboljom i mialgijom uz papulo-pustularnu erupciju (5, 22). Promjene brzo prelaze u nekrotične, oštro ograničene ulceracije s hemoragičnom, smeđom krustom. Najčešće lokalizacije su lice i vlasište. Mukoza je zahvaćena u 1/3 bolesnika. Obično se promjene nalaze na gingivama, bukalnoj sluznici, jeziku, usnici i nepcu u obliku multiplih erozija. *Condyloma latum* su sivkaste, plosnate, papule koje povremeno mogu konfluirati u plakove. Javljaju se najčešće na intertriginoznim područjima (vulva, anus, skrotum, aksila), a rijetko se mogu javiti i na sluznici usne šupljine (10, 25).

Lezije sekundarnog sifilisa nastaju za 3-12 tjedana bez obzira na terapiju, a oko 25 % neliječenih bolesnika imaće recidiv sekundarnog sifilisa (22). Iako se i u sekundarnom sifilisu treponema može izolirati s površine promjena, kako je ranije navedeno, taj test nije od dijagnostičkog značenja. Sumnja na sifilis potvrđuje se serološkim testovima.

*Latentni stadij sifilisa* karakteriziran je regresijom kliničkih simptoma na koži i ostalim organima. U ranom latentnom sifilisu (obično 12 mjeseci nakon sekundar-

nog stadija) bolesnici su zarazni, dok u kasnom latentnom stadiju nisu.

*Tercijarni stadij sifilisa* se razvija nakon 3-5 godina, iako se ponekad razvije i nakon 20 godina. Zahvaljujući današnjem liječenju tercijarni se oblici sifilisa gotovo ne susreću. Promjene u tom stadiju karakterizira destrukcija tkiva. Karakteristični su tuberozni nodularni sifilidi i gume, sifilitička leukoplakija te promjene na drugim organima i tkivima, najčešće na krvnim žilama, središnjem živčanom sustavu (neurosifilis) i kostima. Guma je pojam koji označava kronični, destruktivni granulomatozni proces, a nastaje kao posljedica preosjetljivosti na treponemu. Gume nisu infektivne. Oralne lezije u tercijarnom sifilisu nastaju najčešće na nepcu i jeziku, ali iako rijetko, mogu biti zahvaćene i žlijezde slinovnice i čeljusne kosti (22). Može doći i do destrukcije kosti, perforacije nepca te nastanka oronazalne fistule.

*Konatalni sifilis* je bolest koja nastaje zbog transplacentnog prijenosa *T. pallidum*. Infekcija ploda obično uslijedi nakon 16. tjedna trudnoće (3, 5). Može doći do porođaja zdravog djeteta, ali može se roditi dijete s kliničkim simptomima ranog konatalnog sifilisa. Ako je došlo do infekcije potkraj trudnoće, pri porođaju ili infekcije ploda s malim brojem treponema radi se o latentnom konatalnom sifilisu. Rani konatalni sifilis karakteriziraju difuzni makulopapulozni osip, periostitis, rinitis. Konatalni kasni sifilis karakteriziran je gluhoćom, intersticijskim keratitisom, poremećajem zubi, sedlastim nosom i "gotskim nepcem".

#### ULCUS MOLLE

Sinonim: šankroid, meki čankir. Ubraja se u "klasične" spolne bolesti. Bolest se karakteristično javlja u tropskom području te se često javlja epidemijski. Uzročnik je gram-negativna bakterija *Haemophilus (H.) ducrey*. Inkubacija je 1-4 dana. Muškarci obolijevaju 20 puta češće od žena, dok su žene često asimptomatski nosioci bolesti. Bolest je karakterizirana pojavom ulceracije na glansu ili skrotumu u muškaraca, te na stidnim usnama i stražnjoj komisuri u žena. Ulkus je bolan na dodir, subminiranih rubova, neravnog dna. Obično se nakon nekoliko dana ili tjedana pojavljuje i regionalni limfangitis obilježen bolnim limfnim čvorovima (*bubodolens*). Limfni čvorovi srastu s podlogom, omekšaju i mogu fistulirati.

Orogenitalni prijenos je opisan u 3 slučaja (3,26). U jednom od tri navedena slučaja. *Haemophilus (H.) ducrey* je izoliran iz genitalnog ulkusa žene čiji je partner imao dokazanog uzročnika u orofarinksu (26, 27).

### DONOVANOSIS (GRANULOMA INGUINALE)

Granuloma venerum je "klasična" spolna bolest, izrazito kroničnog tijeka, uzrokovana bakterijom *Calymmatobacterium (C.) granulomatis*. Bolest se pojavljuje u tropskim krajevima. Muškarci obolijevaju znatno češće od žena. Inkubacija je duga i traje 8 do 12 tjedana. Na mjestu ulaska uzročnika javlja se jedna ili više pustula kojima brzo nestaje pokrov te se stvaraju granulomatozne ulceracije uzdignutih policikličkih rubova. Širenje ulceracija traje tjednima i mjesecima. Limfni čvorovi nisu povećani. Najčešća je lokalizacija promjena u području genitala, a autoinokulacijom infekcija se može prenijeti na bedra, trbuh i druge predjele kože. Autoinokulacijom se promjene mogu javiti i u oralnoj šupljini (3). Mada o tome postoje kontradikcije jer je opisano samo nekoliko slučajeva smatra se da usta nisu rezervoar infekcije (28).

### LYMPHOGRANULOMA INGUINALE

*Lymphogranuloma inguinale* (LGV) je uzrokovana serotipovima L1-3 *Chlamydia trachomatis*. Pojavljuje se uglavnom u tropskim i subtropskim krajevima. LGV je oko pet puta češći u muškaraca nego u žena. Inkubacija iznosi oko 2 tjedna (često i dulje). Primarna lezija pojavljuje se kao sitna papula koja prelazi u papulovezikulu, a ubrzo nastaje mala plitka ulceracija. Regionalni limfadenitis (buboni) vodeći je simptom bolesti. Do otoka i upale limfnih čvorova dolazi obično 2-4 tjedna nakon pojave primarne lezije. Limfni se čvorovi postupno povećavaju, sraštavaju međusobno i s kožom, omekšavaju te fistuliraju. Nakon 8-12 tjedana na mjestu prethodnih fistula zaostaju čvrsti fibrozni ožiljci

Iako rijetko, nakon primarne orofaringealne infekcije opisana je naglašena adenopatija na neuobičajenim mjestima kao vrat i tonzile (3,29-31).

### III. GLJIVIČNE INFEKCIJE

U 90 % slučajeva gljivične upale uzrokuje *Candida albicans*, a u ostalim slučajevima *Candida glabrata* i *Candida tropicalis*. *Candida albicans* komenzalni je stanovnik usne šupljine, genitane i analne sluznice. U oko 20-25 % žena nađe se u rodnici bez kliničkih znakova upale, a umnoži se i uzrokuje upalu u nekim uvjetima kao u osoba s dijabetesom melitusom, u imunosuprimiranih bolesnika, bolesnika na antibiotskoj terapiji, terapiji kortikosteroidima. Oralno-vaginalni spolni odnos može biti uzrok razvoja recidivirajuće vulvovaginalne kandidijaze (10). Dva su mehanizma kojima se to objašnjava: jedan je infekcija iz usta oralnog partnera, a drugi je prisutnost sline koja prilikom ku-

nilingusa mijenja lokalne uvjete u vulvi i vagini (10). Antimikrobni učinci sline koji u ustima kontroliraju razinu bakterija (tiocijanati, lizozim, laktoferin) poremete oralnu floru nenaviknutu na te sustave pritom omogućavajući pojačani razvoj gljiva na račun suprimiranih bakterija (27). Kunilingus predisponira rekurentnoj vaginalnoj kandidijazi, ali ne razvoju vaginalne kandidijaze uopće, što upućuje na to da je češće riječ o patološkoj reaktivaciji postojeće gljive zbog prisutnosti sline nego o novoj infekciji prenesenoj iz usta oralnog partnera (10).

U usnoj šupljini najčešće se manifestira kao *eritematozna kandidijaza*, koju karakteriziraju crvenilo sluznice i depilacija jezika (10). *Pseudomembranozna kandidijaza* karakterizirana je bijelim naslagama koje je moguće ukloniti s površine, a sastoji se od kolonija kvasnica, produkata njihova metabolizma, epitelnog detritusa i leukocita. U ustima se javlja i *kronična hiperplastična kandidijaza*, koju obilježava hiperkerotični epitel karakteristično lociran na obraznoj sluznici iza kuta usana, tj. retrokomisuralno (10).

### ZAKLJUČAK

Oralne manifestacije spolno prenosivih bolesti relativno su rijetke. Pravodobno prepoznavanje karakterističnih kliničkih znakova u oralnoj sluznici omogućava pravodobnu dijagnozu i liječenje. Pregled usne šupljine bi trebao biti sastavni dio kliničkog pregleda svakog bolesnika sa sumnjom na spolno prenosivu bolest. Pristup bolesniku bi trebao biti interdisciplinarni, te uz specijaliste dermatovenerologije, oralne medicine i infektologije, u timu su potrebni i liječnici obiteljske medicine, stomatolozi, urolozi, ginekolozi i mikrobiolozi.

### LITERATURA

1. Plummer FA, Simonsen JN, Cameron DW i sur. Cofactors in male-female sexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* 1991; 163: 233-9.
2. Alajbeg I. Humani papiloma virusi i oralne bolesti. *Medix* 2005; 11: 98-101.
3. Mastrolorenzo A, Giomi B, Tiradritti L, Zuccati G. Oral manifestations of sexually transmitted infections. *G Ital Dermatol Venereol* 2012; 147: 373-88.
4. Terai M, Takagi M, Matsukura T, Sata T. Oral wart associated with human papillomavirus type 2. *J Oral Pathol Med* 1999; 28: 137-40.
5. Bruce AJ, Rogers RS 3rd. Oral manifestations of sexually transmitted diseases. *Clin Dermatol* 2004; 22: 520-7.
6. Ljubojević S, Skerlev M. Bolesti povezane s humanim papiloma virusom. *Medix* 2011; 94: 62-7.

7. Gogilashvili K, Shonia N, Burkadze G. The role of human papillomavirus in oral squamous cell carcinoma. *Georgian Med News* 2012; 213: 32-6.
8. Schwartz SR, Yueh B, McDougall JK, Daling JR, Schwartz SM. Human papillomavirus infection and survival in oral squamous cell cancer: a population-based study. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 125: 1-9.
9. Westley S, Seymour R, Staines K. Recurrent intra-oral herpes simplex 1 infection. *Dent Update* 2011; 38: 368-70, 372-4.
10. Alajbeg I. Usta i spolno prenosive bolesti. *Medicus* 2012; 21: 123-34.
11. Fatahzadeh M, Schwartz RA. Human herpes simplex virus infections: epidemiology, pathogenesis, symptomatology, diagnosis, and management. *J Am Acad Dermatol* 2007; 57: 737-6.
12. Glick M, Muzyka BC, Lurie D, Salkin LM. Oral manifestations associated with HIV-related disease as markers for immune suppression and AIDS. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 77: 344-9.
13. Kabani S, Greenspan D, deSouza Y, Greenspan JS, Cataldo E. Oral hairy leukoplakia with extensive oral mucosal involvement. Report of two cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989; 67: 411-5.
14. Lynch DP. Oral manifestations of HIV disease: an update. *Semin Cutan Med Surg* 1997; 16: 257-64.
15. Husar K, Skerlev M, Husar D. Mollusca Contagiosa. *Medicus* 2009; 18: 95-9.
16. Husak R, Garbe C, Orfanos CE. Mollusca contagiosa bei HIV-Infektion Klinische Manifestation, Beziehung zum Immunstatus und prognostische Wertigkeit bei 39 Patienten. *Hautarzt* 1997; 48: 103-9.
17. Možete li dobiti hepatitis C preko oralnog seksa? <http://www.hepatos.hr/arhiva-vijesti-iz-svijeta/387-moete-li-dobiti-hepatitis-c-preko-oralnog-seksa.html>. Pristupljeno 6 rujna 2013.
18. Hawkins DA. Oral sex and HIV transmission. *Sex Transm Infect* 2001; 77: 307-8.
19. Reznik DA. Oral manifestations of HIV disease. *Top HIV Med* 2005-2006; 13: 143-8.
20. Kinloch-de Loës S, de Saussure P, Saurat JH, Stalder H, Hirschel B, Perrin LH. Symptomatic primary infection due to human immunodeficiency virus type 1: review of 31 cases. *Clin Infect Dis* 1993; 17: 59-65.
21. Domeika M, Savicheva A, Sokolovskiy E, Frigo N, Brilene T, Hallén A, Unemo M, Ballard RC, Ward M; EE SRH Network. Guidelines for the laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infections in East European countries. *J EADV* 2009; 23: 1353-63.
22. Leão JC, Gueiros LA, Porter SR. Oral manifestations of syphilis. *Clinics (Sao Paulo)* 2006; 61: 161-6.
23. Allison SD. Extragenital syphilitic chancres. *J Am Acad Dermatol* 1986; 14: 1094-5.
24. Neinstein LS, Goldenring J, Carpenter S. Nonsexual transmission of sexually transmitted diseases: an infrequent occurrence. *Pediatrics* 1984; 74 :67-76.
25. de Swaan B, Tjiam KH, Vuzevski VD, Van Joost T, Stolz E. Solitary oral condylomata lata in a patient with secondary syphilis. *Sex Transm Dis* 1985; 12: 238-40.
26. Kinghorn GR, Hafiz S, McEntegart MG. Oropharyngeal Haemophilus ducreyi infection. *BMJ (Clin Res Ed)* 1983; 287: 650.
27. Edwards S, Carne C. Oral sex and transmission of nonviral STIs. *Sex Transm Infect* 1998; 74: 95-100.
28. Garg BR, Lal S, Bedi BM, Ratnam DV, Naik DN. Donovanosis (granuloma inguinale) of the oral cavity. *Br J Vener Dis* 1975; 51: 136-7.
29. White JA. Manifestations and management of lymphogranuloma venereum. *Curr Opin Infect Dis* 2009; 22: 57-66.
30. Andrada MT, Dhar JK, Wilde H. Oral lymphogranuloma venereum and cervical lymphadenopathy. Case report. *Mil Med* 1974; 139: 99-101.
31. Watson DJ, Parker AJ, Macleod TI. Lymphogranuloma venereum of the tonsil. *J Laryngol Otol* 1990; 104: 331-2.

## S U M M A R Y

### MANIFESTATIONS OF SEXUALLY TRANSMITTED DISEASES ON ORAL MUCOUS MEMBRANES

S. LJUBOJEVIĆ, M. SKERLEV and I. ALAJBEG<sup>1</sup>

*Zagreb University Hospital Center, Department of Dermatology and Venereology, School of Medicine, University of Zagreb and <sup>1</sup>School of Dental Medicine, University of Zagreb, Department of Oral Diseases, Zagreb, Croatia*

Many believe that oral sex is safe sex and does not pose a risk of getting sexually transmitted diseases. Despite the prevalence of oral sex, the number of diagnosed oral and pharyngeal sexually transmitted infection is lower than that of anal and vaginal sex. Oral contact with the genitals can cause tiny micro traumas through which pathological microorganisms that are present in body fluids can come into contact and be transmitted. This article reviews the literature on the role of oral sex in the transmission of sexually transmitted diseases and the corresponding clinical presentation or oral diseases.

**Key words:** sexually transmitted diseases, oral sex, mouth disease



## KALCIFICIRANA DUBOKA VENSKA TROMBOZA KOD BOLESNICE S RECIDIVIRAJUĆOM TROMBOZOM I SARKOIDOZOM

DUBRAVKA ŽUPANIĆ KRMEK, IVANA BRAJKOVIĆ, DINKO BEKIĆ, ANTUN KRNIĆ<sup>1</sup>, PETAR JURKOVIĆ<sup>1</sup> i TOMISLAV PAVLOVIĆ<sup>1</sup>

*Klinička bolnica Sveti Duh, Klinika za unutarnje bolesti, Odjel za hematologiju i koagulaciju i  
<sup>1</sup>Zavod za radiologiju, Zagreb, Hrvatska*

Opisan je rijedak slučaj kalcificirane duboke venske tromboze u 42-godišnje bolesnice koja se od 1995. godine liječi od plućne sarkoidoze sa čestim recidivima. Godine 2012. je hospitalizirana zbog opsežne tromboze femoralne vene dijagnosticirane obojnim doplerom. Istodobno joj je MSCT-om trbuha dijagnosticiran okluzivni kalcificirani tromb donje šuplje vene od razine renalnih vena do konfluensa hepatalnih vena. DSA flebografijom je pokazano da se kao posljedica dugotrajne okluzije donje šuplje vene dobro razvila kolateralna venska cirkulacija kroz paravertebralne vene, venu azigos i venu hemiazigos. Osim sarkoidoze bolesnica je bolovala i od šećerne bolesti kao klasičnog rizičnog čimbenika tromboze dok postojanje drugih rizičnih čimbenika za vensku trombozu nije utvrđeno. U sarkoidozi je duboka venska tromboza (DVT) rijetko opisivana komplikacija ali se prema do sada objavljenim radovima pojavljuje kao recidivirajuća i istodobno na multiplim lokacijama. Za sada se ne može sa sigurnošću tvrditi radi li se o bolesti s povećanim rizikom za DVT ili o istodobnoj kombinaciji više rizičnih čimbenika.

**Ključne riječi:** sarkoidoza, duboka venska tromboza, kalcifikacija venskog tromba

**Adresa za dopisivanje:** Dr. sc. Dubravka Županić Krmek, dr. med.  
 Odjel za hematologiju i koagulaciju  
 Klinika za unutarnje bolesti  
 KB Sveti Duh  
 Sveti Duh 64  
 10000 Zagreb, Hrvatska  
 E-pošta: zupanicd@gmail.com

### UVOD

Sarkoidoza je multisistemska upalna bolest nepoznatog uzroka. Obilježava je pojava nekazeoznih granuloma u raznim organima, ali najčešće zahvaća pluća i limfne čvorove. Dijagnoza se postavlja na temelju kliničke slike u kombinaciji s patološkim laboratorijskim nalazima. Koncentracija kalcija u serumu i urinu kao i serumska koncentracija angiotenzin konvertirajućeg enzima (ACE) pretrage su od koristi za postavljanje dijagnoze sarkoidoze. Nema ciljane terapije ove bolesti. Kod težih oblika bolesti se za kontrolu simptoma uvode kortikosteroidi.

Opisujemo slučaj 42-godišnje bolesnice koja se niz godina liječi od plućne sarkoidoze. U bolesnice je dijagnosticirana recidivirajuća duboka venska tromboza (DVT) s negativnim testovima za povećani rizik od stečene ili urođene venske tromboze. U radu smo tražili poveznicu između sarkoidoze i duboke venske tromboze.

### PRIKAZ BOLESNICE

Bolesnica u dobi od 42 godine, učiteljica iz Zagreba, hospitalizirana je nakon što je pregledana u hitnoj službi zbog opsežne naglo nastale otekline desne noge. Nije imala traumu ni povišenu temperaturu. Bolesnica je nepušačica i nije koristila hormonalnu terapiju ni intravenske droge. Dva tjedna prije bolesti primala je nesteroidne antireumatike zbog bolova u lumbosakralnoj kralježnici, ali tom prilikom CD pregledom vena nije utvrđena DVT.

Iz povijesti bolesti se saznaje da se bolesnica od 1995. godine liječi zbog plućne sarkoidoze zbog čega uzima kortikosteroide koji su primijenjeni kao terapija održavanja zbog učestalih recidiva bolesti. Redovito se kontrolira kod kliničkog imunologa i pulmologa. Zadnja kontrola je bila 3 mjeseca prije ove hospitalizacije. Tada je u laboratorijskim nalazima imala granične vrijednosti krvne slike i gamaglobulina, nalaz spirometrije je ukazivao na smetnje ventilacije restriktivnog tipa lakšeg stupnja uz blaže poremećenu difuziju, dok je kon-





Sl. 1. Prikaz tromba u veni kavi inferior (visina portalne vene) obojenim doplerom



Sl. 2. MSCT prikaz donje šuplje vene s defektom punjenja



Sl.3. DSA flebografija s prikazom kolateralne cirkulacije

centracija ACE bila u granicama referentnih vrijednosti. U rtg nalazu srca i pluća nisu utvrđene promjene plućnog intersticija ni hilarna adenopatija. U nalazu scintigrafije cijelog tijela galijem nije bilo nakupljanja u plućima, a patološka nakupljanja radiofarmaka ustanovljena su u području lijevog lobusa jetre. Zadnjih 6 godina liječi se peroralnim hipoglikemikom zbog jatrogeno uzrokovane šećerne bolesti. Godine 2009. liječena je zbog apscesa lijeve noge i ima kronični LS sindrom. Prije 15-tak godina imala je kamenac u desnom bubregu koji je izmokrila. Od lijekova uzima metilprednizolon, metformin i pantoprazol.

U statusu bolesnice koja je krupnije građe, nađena je jako voluminozna desna noga do ingvinuma, lividne boje kože. Kardijalni status kao i nalaz na plućima bio je uredan. Nije bilo drugih odstupanja u fizikalnom statusu.

Od laboratorijskih testova smo izdvojili: E  $4,77 \times 10^{12}/L$ ; Hgb 103 g/L; Htc 0,329; MCV 69,02; L  $9,6 \times 10^9/L$ ; CRP 14,9 mg/L; SE 36 mm/3.6 ks; APTV 37,2 s; d-dimeri 1570 mcg/L, fibrinogen 7,1 g/L; negativna antikardilipinska antitijela, serumske koncentracije proteina C i antitrombina III bile su unutar referentnih vrijednosti; vrijednosti hepatskih aminotransferaza su bile unutar referentnih vrijednosti, Ca 2,23 mmol/L; Ca io.1,4 mmol/L; Ca uk (24h urin) 0,7 mmol/dU; Mg 0,77 mmol/L; P 1,22 mmol/L. Svi tumorski biomarkeri su bili negativni. Genotipizacijom FII, FV, plazminogen aktivator inhibitora 1, metiltetrahidrofolat reduktaze nisu nađene mutacije tipične za trombofiliju.

Ultrazvučnim pregledom nađena je povećana i hiperhoga jetra, dok je nalaz nad ostalim organima bio uredan. Obojenim doplerom (CD) vena nogu dijagnosticirana je tromboza distalne vene iliake i tromboza vene femoralis uz razvijene površinske kolaterale.

CD-om vena abdomena nije se mogao utvrditi protok kroz donju šuplju venu (sl. 1).

MSCT-om abdomena opisana je promijenjena jetra u smislu steatoze, a u donjoj šupljoj veni od razine bubrežnih arterija do jetrenog konfluenta hiperdenzna struktura koja u diferencijalnoj dijagnozi odgovara starom kalcificiranom trombu (sl. 2).

SDA flebografijom opisana je prohodnost ilijačnog segmenta lijevo, kompletna obliteracija donje šuplje vene uz kolateralni protok preko paravertebralnog pleksusa, vene azigos i vene hemiazigos, vene brahiocefalike i gornje šuplje vene (sl. 3).

Duboku vensku trombozu smo kod bolesnice liječili niskomolekularnim heparinom uz postupni prelazak na peroralnu antikoagulantnu terapiju. Na primijenjenju terapiju koju je bolesnica nastavila uzimati tijekom više mjeseci nakon otpusta iz bolnice nastupila je potpuna regresija oteklina uz dobru rekanalizaciju femoralne vene.

## RASPRAVA I ZAKLJUČAK

Prikazujemo rijedak slučaj kalcificirane tromboze donje šuplje vene. Do sada nismo našli ni jedan opis kalcificirane tromboze duboke vene. Bolesnica s recidivirajućom trombozom dubokih vena liječi se od kronične sarkoidoze. Sarkoidoza je sistemna upalna bolest koja zahvaća pluća, limfne čvorove, kožu, jetru, a može zahvatiti i sve druge organe u ljudskom organizmu. Do sada je opisano nekoliko slučajeva sarkoidoze s dubokom venskom trombozom ekstremiteta, ali se nisu mogli isključiti ni ostali rizični faktori kao što su pušenje, oralni kontraceptivi, debljina ili venska staza zbog

kompresije povećanih limfnih čvorova (1, 2). Naša je bolesnica imala kliničku sliku duboke venske tromboze desne noge. Tijekom dijagnostičke obrade nađena je okluzija donje šuplje vene. Utvrđeno je da se radi o kalcificiranom trombu koji se proteže od renalnih vena do konfluensa hepatalnih vena i da je uspostavljena dobra kolateralna venska cirkulacija kroz paravertebralne vene, venu asigos i venu hemiasigos prema gornjoj šupljoj veni. Tromboza donje šuplje vene je protekla klinički bez simptoma ili nije bila prepoznata. Uz sarkoidozu bolesnica je imala šećernu bolest i bila je adipozna. Stečeni i urođeni biljezi za trombofiliju bili su negativni. Do sada je opisan slučaj tromboze donje šuplje vene u 56-godišnjeg bolesnika s neurosarkoidozom i antifosfolipidnim sindromom (3). Opisan je i slučaj multiplih dubokih venskih tromboza gornjih i donjih ekstremiteta kod mlađeg crnog muškarca sa sarkoidozom (2). U naše bolesnice nisu nađeni dodatni rizični čimbenici za duboku vensku trombozu osim ako se kao dodatni rizični faktor za trombozu ne uzme šećerna bolest, budući da klasični rizični čimbenici za arterijsku trombozu mogu povećati i rizik venske tromboze (4). Također je u ovom slučaju malo vjerojatna povezanost tromboze s uzimanjem medikamentne terapije, budući da je s uzimanjem pantoprazola pojava duboke venske tromboze opažena u 0,79 % slučajeva, s uzimanjem metformina u 0,03 %, a s uzimanjem metilprednizolona u 0,82 % slučajeva (5 do 7). Može se zaključiti da je duboka venska tromboza kod sarkoidoze rijetko opisivana nuspojava. Prema do sada objavlje-

nim slučajevima i na primjeru naše bolesnice duboka venska tromboza je kod sarkoidoze često recidivirajuća ili se javlja na multiplim lokacijama. Na temelju sadašnjih saznanja ne može se tvrditi da sarkoidoza povećava rizik od duboke venske tromboze, ali da je rizik vrlo vjerojatno povećan u kombinaciji s drugim rizičnim faktorima i s težim oblikom bolesti.

## L I T E R A T U R A

1. McLaughlin AM, McNicholas WT. Sarcoidosis presenting as upper extremity venous thrombosis. *Thorax* 2003; 58: 552
2. Vahid B, Wildemore B, Marik PE. Multiple venous thromboses in a young man with sarcoidosis: is there a relation between sarcoidosis and venous thrombosis. *South Med J* 2006; 99: 998-9.
3. Satti SD, Bartholomew J, Gordon SM, Longworth DL, Adal KA. Antiphosfolipid antibody syndrome in a patient with neurosarcoidosis. *Vasc Med* 1999; 4: 37-9.
4. Prandoni P, Bilora F, Marchiori A i sur. An association between atherosclerosis and venous thrombosis. *N Engl J Med* 2003; 348: 1435-41.
5. <http://www.ehealthme.com/ds/metformin/dvt>
6. <http://www.ehealthme.com/ds/pantoprazole+sodium/dvt>
7. <http://www.ehealthme.com/ds/prednisolone/deep+vein+thrombosis>

## S U M M A R Y

### CALCIFIED DEEP VEIN THROMBOSIS IN A PATIENT WITH RECURRENT DEEP VEIN THROMBOSIS AND SARCOIDOSIS

D. ŽUPANIĆ KRMEK, I. BRAJKOVIĆ, D. BEKIĆ, A. KRNIĆ<sup>1</sup>, P. JURKOVIĆ<sup>1</sup> and T. PAVLOVIĆ<sup>1</sup>

*Sveti Duh University Hospital, Clinical Department of Internal Medicine, Division of Hematology and Coagulation, and <sup>1</sup>Department of Radiology, Zagreb, Croatia*

In this article, we present a rare case of calcified deep vein thrombosis in a 42-year-old female patient with frequent relapses of pulmonary sarcoidosis since 1995, for which she was on maintenance therapy with corticosteroids and with consequential secondary diabetes. Recent femoral vein thrombosis was diagnosed with color Doppler in 2012. At the same time, calcified occlusive thrombus in vena cava inferior from the level of renal vein to the confluence of hepatic veins was diagnosed on abdominal multi-slice computed tomography (MSCT). Digital subtraction venography (DSV) revealed a well-developed collateral circulation through the paravertebral veins, azygos and hemiazygos vein. There were no risk factors for thrombosis other than sarcoidosis and diabetes. Deep vein thrombosis is rarely described with sarcoidosis, but according to literature reports, it usually appears as a recurrence and simultaneously at multiple locations. According to the current knowledge, we cannot say for sure whether it is a disease with an increased risk of deep vein thrombosis or there is a combination of multiple risk factors present simultaneously.

**Key words:** sarcoidosis, recurrent deep vein thrombosis, vena cava inferior thrombosis, calcified vein thrombosis

# acta medica croatica

The Journal of the Academy of Medical Sciences of Croatia

Acta Med. Croatica • Vol. 67 No. 5 • pp 393-460, Zagreb, December 2013.

## Table of Contents

### Leading Article

- 395 **Clinical cytology: why and how?**  
*Ž. Znidarčić*

### Original Articles

- 401 **A comparative study on the sedative effect of oral midazolam and oral chloral hydrate medication in lumbar puncture**  
*H. Derakhshanfar, M. Modanloo Kordi, A. Amini, M. Shojahee*
- 407 **Stroke volume and pulse pressure variation are good predictors of fluid responsiveness in sepsis patients**  
*Ž. Drvar, M. Pavlek, V. Drvar, B. Tomašević, R. Baronica, M. Perić*

### Reviews

- 415 **Is the management of migraine and tension headache in Croatia satisfactory?**  
*V. Vuković Cvetković*
- 425 **Molecular diagnosis of oral infections**  
*M. Grce*
- 433 **Autoimmune diseases of oral mucosa**  
*I. Martinac Babić, B. Marinović*
- 439 **Manifestations of sexually transmitted diseases on oral mucous membranes**  
*S. Ljubojević, M. Skerlev, I. Alajbeg*

### Clinical Observation

- 447 **Calcified deep vein thrombosis in a patient with recurrent deep vein thrombosis and sarcoidosis**  
*D. Županić Krmek, I. Brajković, D. Bekić, A. Krnić, P. Jurković, T. Pavlović*
- 450 **Members of Academy of Medical Sciences of Croatia Passed Away in 2013**

### Obituaries

- 451 **Professor emeritus Fedor Valić**  
*D. Beritić*
- 453 **Professor emeritus Eugenija Žuškin**  
*J. Mustajbegović*

- 454 **Subjects and Authors Index for Volume 67/2013**

- 458 **Reviewers of Articles Published in 2013**  
460 **Notes For Contributors**

# acta medica croatica

Časopis Akademije medicinskih znanosti Hrvatske  
Acta Med. Croatica • Vol. 67 Br. 5 • Str. 393-460, Zagreb, prosinac 2013.

## Sadržaj

### Uvodnik

- 395 **Klinička citologija: zašto i kako?**  
*Ž. Znidarčić*

### Izvorni radovi

- 401 **Usporedna studija o sedativnom učinku peroralno primijenjenih midazolama i kloral hidrata kod lumbalne punkcije (na engl.)**  
*H. Derakhshanfar, M. Modanloo Kordj, A. Amini, M. Shojahee*
- 407 **Varijacija udarnog volumena i tlaka pulsa dobri su pokazatelji hemodinamskog odgovora na nadoknadu volumena u sepsi**  
*Ž. Drvar, M. Pavlek, V. Drvar, B. Tomašević, R. Baronica, M. Perić*

### Pregledi

- 415 **Je li liječenje migrene i tenzijske glavobolje u Hrvatskoj zadovoljavajuće?**  
*V. Vuković Cvetković*

- 425 **Molekularna dijagnostika oralnih infekcija**  
*M. Grce*

- 433 **Autoimune bolesti oralne sluznice**  
*I. Martinac Babić, B. Marinović*

- 439 **Manifestacije spolno prenosivih bolesti na oralnoj sluznici**  
*S. Ljubojević, M. Skerlev, I. Alajbeg*

### Klinička zapažanja

- 447 **Kalcificirana duboka venska tromboza u bolesnice s recidivirajućom trombozom i sarkoidozom**  
*D. Županić Krmek, I. Brajković, D. Bekić, A. Krnić, P. Jurković, T. Pavlović*

- 450 **Članovi AMZH preminuli u 2013. godini**

### In memoriam

- 451 **Professor emeritus Fedor Valić**  
*D. Beritić*

- 453 **Professor emeritus Eugenija Žuškin**  
*J. Mustajbegović*

- 454 **Predmetno i autorsko kazalo za volumen 67/2013**

- 458 **Recenzenti radova tiskanih u 2013. godini**

- 459 **Upute autorima**