Uvodnik
Leading article

NA KRAJU ZANIMLJIVOG I DRAGOCJENOG ISKUSTVA

AT THE END OF AN INTERESTING AND PRECIOUS EXPERIENCE

Prije dvanaest godina, kad sam u kišno i hladno predvečerje posljednjeg dana najavljenog natječaja za glavnog i odgovornog urednika Liječničkog vjesnika, jedina predala svoju molbu sa životopisom i programom rada profesoru Dražančiću, predsjedniku Hrvatskoga liječničkog zbora, nisam slutila da će mi taj opsežni posao koji zahtijeva toliko strpljenja u radu, postati tako zanimljivo, bogato i drago iskustvo. U tom razdoblju imala sam prigode upoznati područja znanstvenog interesa i rezultate medicinskih istraživanja u Hrvatskoj, domete naše praktične medicine, razvoj suvremene medicinske tehnologije u nas; u tom poslu surađivala sam s mnogim autorima. Posebno sam bila radosna kad sam u početnome radu mladoga neiskusnog autora prepoznala zainteresiranog i nadarenog budućeg suradnika koji je uz pomoć recenzenata i uredničkog odbora stekao iskustvo te kasnije objavljivao vrijedne radove. Stekla sam mnoge spoznaje o univerzalnosti medicinske publicistike, a opet sekvestrirane u svoje lokalno okružje, o interakciji između akademske i strukovne zajednice, društvenoj odgovornosti i ugledu liječničke profesije, o značenju dobro vođene administracije, utjecaju financijskih uvjeta. Imala sam veliki osjećaj odgovornosti prema autorima koji su nam povjerili rukopis, prema recenzentima koji su ulagali veliki trud, a posebice prema čitateljima Liječničkog vjesnika.

U proteklih dvanaest godina nastojala sam zadovoljiti zadaće koje Liječnički vjesnik ima kao nacionalni općemedicinski časopis, o kojima sam već pisala.[1] Od časopisa se očekuje da ostvari interese hrvatske medicinske zajednice: promovira medicinsku znanost i umijeće, podiže razinu javnog zdravstva. Da bi ostvario te ciljeve Liječnički vjesnik mora omogućiti hrvatskim autorima da objave rezultate svojega znanstvenog ili stručnog rada, ponuditi trajnu edukaciju liječnika prikazujući nove medicinske spoznaje i dostignuća, pa tako posredovati u razmjeni znanja sa svjetskom javnosti. Časopis također mora prepoznati svoju društvenu odgovornost, postići visoku razinu etičnosti medicinske publicistike uz uredničku neovisnost, objektivnost i odgovornost. Kao glasilo Hrvatskoga liječničkog zbora mora istodobno poštovati politiku Zbora te bilježiti događaje i vijesti iz hrvatske medicinske i akademske zajednice. Časopis bi trebao redovito izlaziti, postići da ga čitatelji rado čitaju. S članovima Uredničkog odbora nastojali smo da Liječnički vjesnik ostvari te ciljeve, a u tom su se nastojanju isticali pojedini zadatci i specifičnosti. Također su se prepoznale zapreke i teškoće, neke od njih tipične za sve medicinske časopise, posebno časopise u maloj zajednici, koji se ne objavljuju na engleskom jeziku.[2] U ovom izvješću na kraju dugog uredničkog puta željela bih naglasiti neke aspekte našeg rada.

Valja istaknuti posebno važnu ulogu Liječničkog vjesnika u razvitku hrvatske medicinske terminologije; u svojem uredničkom radu, zajedno s lektorom hrvatskog jezika doktorom i profesorom Brankom Erdeljcem, nastojala sam definirati tu ulogu. Značenje stručne terminologije u medicini očituje se na dvije razine. U prvom redu to je komunikacija među stručnjacima, posebice u okviru podučavanja studenata medicine i liječnika. Druga je razina primjene strukovnog jezika u komunikaciji između liječnika i bolesnika. Budući da se medicinska terminologija trajno popunjava novim nazivima koji često potječu iz engleskoga govornog područja, potrebno je procijeniti njihovu primjenu u hrvatskom jeziku. Postavlja se pitanje uvođenja tih termina, koji često postaju globalizmi, u hrvatski jezik u kroatiziranom obliku ili pronalaženja prikladne hrvatske riječi. Autori članaka upućenih u Liječnički vjesnik često su u svojem rukopisu nudili smione terminološke prijedloge, katkada su pitali za savjet ili jednostavno prepustili odluku lektoru. Osim pojedinačnih razgovora s autorima na tom sam polju s Brankom vodila mnoge razgovore, kojih ću se uvijek rado sjećati, u kojima sam od njega mnogo naučila. Obično bismo započeli razgovor o pojedinom nazivu, a zatim nastavili o drugim, sličnim pitanjima, često i vrlo načelnim temama jezikoslovlja. Zahvalna sam dr. Erdeljcu na suradnji i postizanju ravnoteže u hrvatskoj medicinskoj terminologiji u Liječničkom vjesniku. Lijepu suradnju ostvarila sam i s prevoditeljicom i lektoricom engleskog jezika prof. Mirjanom Marečić kojoj zahvaljujem na vrsnosti i preciznosti u njezinu poslu.

Jasno je da edukacijska uloga općemedicinskog časopisa kakvu bi u hrvatskoj medicini trebao imati Liječnički vjesnik, mora imati posebno značenje u vrednovanju rada sveučilišnih nastavnika u postupku njihovih napredovanja i reizbora; pregledni članak objavljen u Liječničkom vjesniku ostvarit će bolju nastavnu funkciju nego pismo uredniku ili prikaz slučaja bolesnika objavljeni u poznatom časopisu s velikim faktorom utjecaja. Napominjem da su članci u Liječničkom vjesniku podvrgnuti strogoj procjeni: svaki rukopis pomno se prikazuje na sjednici Uredničkog odbora, zatim se šalje na najmanje dvije neovisne anonimne recenzije, a nakon autorova popravka urednik uz pomoć uredničkog odbora odlučuje o konačnoj sudbini rukopisa. Recenzenti su eminentni stručnjaci iz zemlje i inozemstva. Uz to Liječnički vjesnik je međunarodno prepoznatljiv, jer se navodi u najvećoj i najdostupnijoj bazi Medline/Index medicus te u ostalim manje važnim bazama podataka. Smatram da unatoč prijekoj potrebi i obvezi svakog znanstvenika da objavljuje u utjecajnijim časopisima prema scijentometrijskim pokazateljima, ostaje naša trajna obveza da svoje znanje i iskustvo prenesemo na one kojima je najdostupniji njihov nacionalni časopis i tako pridonesemo trajnoj edukaciji hrvatskih liječnika.

Vjerojatno najviše pozornosti posvećivala sam recenzentima s kojima sam imala ugodna i neugodna iskustva. Pojedinci su me zadivili poznavanjem problema, temeljitošću analize rukopisa, spremnošću da velikim trudom, katkada opetovanim intervencijama u već popravljani tekst savjetuju autoru daljnje popravke dok ne nastane izvrstan članak. Razočarali su me i ljutili oni koji nisu odgovarali na molbu za recenziju ili su posao obavili površno i loše. Premda se recenzija prepoznaje kao nenadoknadiva metoda procjene rada, općenito su poznate i teškoće koje prate recenzentski posao, katkada posebno vezane uz recenziju u medicini.[3] I drugi urednici spominju teškoće u radu s recenzentima, pa tako na primjer moj prethodnik u Liječničkom vjesniku Beritić[4] i urednik časopisa Annals of Internal Medicine Davidoff.[5] Richard Smith, ugledan, dugogodišnji urednik časopisa British Medical Journal, opraštajući se nedavno od uredničkog posla, ističe neriješene probleme recenzije, no smatra da recenzija nema alternative te je najbolja

strategija pokušaj poboljšavanja, a nikako ne nadomještanja recenzije.[6] Ostaju pitanja vrednovanja recenzentskog rada te edukacije recenzenata u čemu su neki časopisi poduzeli značajne korake.[7–9]

Tijekom proteklih dvanaest godina Uredнički odbor Liječničkog vjesnika sastao se više od stotinu puta. Na sastancima smo odgovorno raspravljali o novim rukopisima, spornim recenzijama, odlučivali o sudbini članaka koje nismo mogli prihvatiti za objavljivanje. U tom odgovornom poslu nastojali smo njegovati kolegijalnu, ugodnu i studioznu atmosferu. Zahvaljujem članovima Uredničkog odbora na trudu koji su ulagali u napredak časopisa, a posebice svojemu prvom tajniku docentu Branimiru Aniću s kojim sam mnogo i izvrsno surađivala te je radeći sve samostalnije, stekao znanje i vještinu uredničkog posla. Savjet Liječničkog vjesnika, Glavni i Izvršni odbor Hrvatskoga Iječničkog zbora trajno su podupirali rad Uredničkog odbora, pa svima zahvaljujem.

Prvu tajnicu redakcije, gospodju Štefaniju Deduš naslijedila sam od prijašnjih urednika profesora Drobnjaka i Bakrana te sam uz nju učila o administraciji časopisa. Zatim je vrijedna tajnica redakcije bila gospođica Zdenka Glamočak. Posebnu zahvalnost dugujem gospođi Draženki Kontek, našoj sadašnjoj tajnici koja je unaprijedila tehnologiju administrativnog rada, a svojom urednošću i komunikativnošću učinila suradnju članova Uredničkog odbora sa svim vanjskim suradnicima ugodnom i uspješnom. Suradnja s dr. Anom Marijom Laboš u izradi deskriptora bila je ugodna, a osobitu su mi potporu pružali grafički stručnjaci u tvrtkama Gredice i Kratis.

U razdoblju u kojem sam bila urednica proslavili smo sto dvadeset i petu obljetnicu Liječničkog vjesnika obilježivši je osvježenjem izgleda naslovne stranice časopisa i simpozijem posvećenim medicinskoj publicistici te iskustvima Liječničkog vjesnika. Tim povodom članovi Uredničkog odbora odlučili su započeti s projektom objavljivanja Liječničkog vjesnika i u mrežnom obliku na stručnome medicinskom portalu Plivamed.net; za sada je to sadržaj broja sa sažetcima članaka objavljenih u časopisu te cjelokupni tekst pojedinih članaka. Mnogo je zadaća ostalo pred nama: Liječnički vjesnik još nije značajnije napredovao u nastojanju da razluči autore od *non-autora*, definira doprinos svakog autora; ostaju pitanja utjecaja medicinskog časopisa na kontroverzne situacije koje zahvaćaju medicinu i zdravstvo, percepciju liječničkog staleža u društvu, financiranja časopisa, redovitijeg izlaženja itd.

Budući da sam u međuvremenu preuzela posao dekana Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, željela bih i dalje kao član Uredničkog odbora pomagati novom uredniku Liječničkog vjesnika da ostvari daljnji razvoj časopisa s ciljem da liječnicima ponudimo najbolje iz medicinske struke i znanosti kako bi razvijali intelektualnu i humanu dimenziju naše profesije, zadovoljavali potrebu i odgovornost u dnevnom učenju te za svoje pacijente mogli ostvariti najbolju moguću skrb.

Nada Čikeš
Glavna i odgovorna urednica
Liječničkog vjesnika

LITERATURA

1. *Čikeš N*. Liječnički vjesnik na pragu trećeg milenija. Liječ vjesn 2001; 123:1–3.
2. WAME. Report of the World Association of Medical Editors: Agenda for the future. Croat Med J 2001;42:121–6.
3. *Godlee F, Jefferson T, ur*. Peer review in health sciences. 2. izdanje, London: BMJ Books, 2003.
4. *Beritic T*. Medical reviews and the importance of being a »peer« in science. Isr J Med Sci. 1996;32:573–5.
5. *Davidoff F*. Masking, blinding and peer review. Ann Intern Med 1998;126: 66–8.
6. *Smith R*. Travelling but never arriving: reflections of a retiring editor. BMJ 2004;329:242–4.
7. *Schroter S, Black N, Carpenter J, Godlee F, Smith R*. Effects of training on quality of peer review: randomised controlled trial. BMJ 2004;328: 673–8.
8. *Schroter SW, Groves T*. BMJ training for peer reviewers. BMJ 2004;328: 658–9.
9. *Marušić M, Sambunjak D, Marušić A*. Guide for peer reviewers of scientific articles in the Croatian medical journal. Croat Med J 2005;46:326–32.

USPOREDBA VRIJEDNOSTI CITOLOŠKE I HISTOLOŠKE ANALIZE BIOPTIČKOG UZORKA ŽELUČANE SLUZNICE U DIJAGNOZI MALIGNIH BOLESTI

COMPARISON OF CYTOLOGICAL AND HISTOLOGICAL ANALYSIS OF GASTRIC MUCOSA BIOPSY IN DIAGNOSING MALIGNANT DISEASES

IVANA KNEŽEVIĆ ŠTROMAR, JASMINKA JAKIĆ-RAZUMOVIĆ, ANKA KNEŽEVIĆ-OBAD, JOZO KNEŽEVIĆ*

Deskriptori: Želučani tumori – patologija, dijagnostika; Želučana sluznica – patologija; Citodijagnostika – metode

Sažetak. Cilj je rada pokazati vrijednost citološke analize otiska biopsije sluznice želuca u dijagnozi malignih bolesti, u usporedbi s patohistološkom analizom. U studiju je uključeno 70 bolesnika s promjenama sluznice želuca endoskopski sumnjivim na zloćudnu bolest, kod kojih je učinjena biopsija sluznice radi postavljanja dijagnoze patohistološkom analizom, a istodobno su učinjeni i otisci biopsije na staklu radi citološke analize uzorka. U istraživanoj skupini bolesnika 46 (65,7%) bilo je muškog, a 24 (34,2%) ženskog spola. Prosječna dob bolesnika bila je 60 godina, u rasponu od 36 do 83 godine. U 34 bolesnika endoskopskim pregledom postavljena je sumnja na zloćudni proces, u 23 bolesnika opisan je želučani vrijed, tri bolesnika imala su vrijed dvanaesnika, u 5 bolesnika nađena je polipozna tvorba, dok su u 5 bolesnika nađene promjene koje odgovaraju gastritisu. U 42 bolesnika histološki je potvrđena dijagnoza zloćudnog tumora, dok je u preparatima otiska biopsije dijagnoza zloćudnog tumora citološki postavljena u 46 bolesnika. U 5 bolesnika citološki su pronađene zloćudne stanice, koje nisu dokazane patohistološki. U jednog bolesnika patohistološkom analizom nađen je zloćudni tumor u bioptičkom materijalu, dok u preparatu otiska citološki nije nađeno zloćudnih stanica. Rezultati su pokazali da je citološka analiza otiska bioptičkog materijala sluznice želuca prikladna metoda za dokazivanje zloćudnih tumora. U slučaju pozitivne citološke analize, a negativnog patohistološkog nalaza treba preporučiti ponavljanje biopsije uz citološku i patohistološku analizu uzorka.

Descriptors: Stomach neoplasms – pathology, diagnosis; Gastric mucosa – pathology; Cytodiagnosis – methods

Summary. The aim of this study was to determine the value of cytological analysis of an imprint of gastric mucosa biopsy compared to the histological evaluation, in diagnosing malignant diseases of gastric mucosa. In this study 70 patients, with changes of gastric mucosa endoscopically suspect of malignancy were included. Biopsy and imprint of gastric mucosa were performed in order to obtain morphological diagnosis. In the investigated group 46 patients (65.7%) were male, 24 patients (34.2%) were female, mean age 60 years (36–83). In 34 patients endoscopy finding suggested malignancy, in 23 endoscopy finding was described as gastric ulcer, in three as duodenal ulcer, in five as polyp, and in five as gastritis. In 42 patients malignancy was proved by pathohistological examination while in imprint smears of gastric mucosa biopsy the diagnosis of malignancy was made in 46 patients. In five patients malignant cells were found on cytological examination of imprint smears, and pathohistological examination did not find malignant tumour. In one patient malignant tumour was found on pathohistological examination, and cytological examination of an imprint smear did not find malignant cells. The results indicate that cytological examination of an imprint smear of gastric mucosa biopsy is satisfactory for proving malignant changes. In case of positive cytological and negative pathohistological analysis, it is recommended to repeat biopsy and imprint cytology in order to obtain morphological diagnosis.

Liječ Vjesn 2004;126:287–290

Najčešći maligni tumor želuca je karcinom, koji je nakon karcinoma pluća najčešći maligni tumor u svijetu. U Hrvatskoj se karcinom želuca po učestalosti nalazi na trećem mjestu nakon karcinoma bronha i debelog crijeva. Incidencija karcinoma želuca u Hrvatskoj je još uvijek visoka te se u populaciji muškaraca javlja u 30/100 000, dok se u žena javlja u 24/100 000, premda pokazuje trend opadanja. Najčešći tip karcinoma želuca je adenokarcinom koji čini 90% svih slučajeva zloćudnih tumora želuca. Od zloćudnih tumora želuca još se mogu naći nehočkinski limfomi i maligni gastrointestinalni stromalni tumori (GIST – od engl. gastrointestinal stromal tumors).[1,2]

Endoskopski pregled sluznice želuca je nuždan u algoritmu dijagnostike sumnjivih promjena u želucu. Prema podacima iz literature osjetljivost i specifičnost ove dijagnostičke metode vrlo je visoka (oko 100%) pod uvjetom da se iz sumnjive promjene uzme najmanje 5 uzoraka tkiva za histološku i citološku analizu.[1,3]

Karcinom želuca otkriven u ranoj fazi (Tis, T1) bit će izliječen u visokom postotku. Petogodišnje i desetogodišnje preživljenje bolesnika s ranim karcinomom prelazi 90%. Upravo to bi trebao biti cilj organiziranih akcija ranog otkrivanja karcinoma želuca po uzoru na Japan koji je visoko razvijena zemlja s visokom incidencijom karcinoma želuca. S obzirom na brzinu i cijenu usluge, citološka analiza bioptičkog materijala sluznice želuca, upravo bi u procesu probira (engl. screening) mogla pokazati svoju vrijednost.[1,4,5]

* **Ordinacija za unutarnje bolesti »Dr. Jozo Knežević«, Novi Marof** (Ivana Knežević Štromar, dr. med.; Jozo Knežević, dr. med.), **Klinički zavod za patologiju, Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb** (prof. dr. sc. Jasminka Jakić-Razumović, dr. med.), **Klinički zavod za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja, Medicinskog fakulteta i KBC Zagreb** (mr. sc. Anka Knežević-Obad, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Dr. I. Knežević Štromar, Ordinacija za unutarnje bolesti »Dr. Jozo Knežević«, Zagrebačka 14, 42 220 Novi Marof

Primljeno 4. ožujka 2004., prihvaćeno 5. studenoga 2004.

Dosadašnja iskustva o vrijednosti citološke analize preparata otiska učinjenog od bioptičkog materijala sluznice želuca su oskudna. Objavljeno je nekoliko radova koji se bave konkretno problematikom svrhovitosti citološke analize preparata otiska u dijagnozi promjena želučane sluznice,[4–8] dok se više podataka nalazi u vezi s dijagnozom zloćudnih promjena dojke,[9–12] pluća[13,14] i limfnih čvorova.[15,16]

Cilj ovog rada bio je usporediti vrijednost citološke analize s patohistološkom analizom biopsije sluznice želuca u otkrivanju malignih promjena.

Ispitanici i postupci

U ovom radu korišteni su retrospektivno dobiveni podaci iz arhive Ordinacije za unutarnje bolesti »Dr. Jozo Knežević« u Novome Marofu. U Ordinaciji se od siječnja 1995. g. uz standardnu patohistološku analizu bioptičkog materijala sluznice želuca, dobivenog tijekom ezofagogastroduodenoskopije, istodobno radi i citološka analiza preparata otiska istog bioptičkog materijala. Svrha istraživanja bila je usporediti vrijednost citološke i histološke analize uzorka u otkrivanju zloćudnih procesa sluznice želuca.

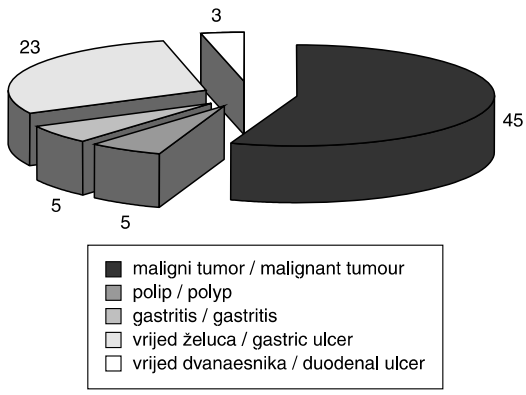
Tijekom perioda od 4. siječnja 1995. g. do 28. studenog 2003. u Ordinaciji je učinjeno 3460 ezofagogastroduodenoskopija (instrumentom OLYMPUS GIF-XQ20). Pretraga je rađena zbog različitih indikacija, ponekad na zahtjev bolesnika zbog neodređenih tegoba, čime se može objasniti nerazmjer između broja učinjenih pretraga i indiciranih uzimanja bioptičkog materijala. U 81 (2,34%) bolesnika bilo je tijekom pretrage, na temelju makroskopskog nalaza suspektnog na zloćudnu promjenu, indicirano uzimanje bioptičkog materijala za daljnju analizu. U ovom istraživanju nisu razmatrane biopsije želučane sluznice uzete radi dokazivanja infekcije s *Helycobacter pylori* i biopsije koje su analizirane samo patohistološki, bez istodobne citološke analize, a uzete u svrhu gradacije upalnih promjena želučane sluznice. U 11 bolesnika makroskopski nalaz upućivao je na zloćudni proces koji je zauzimao veliku površinu želučane sluznice. Materijal nije uzet iz nekoliko objektivnih razloga kao što je izrazita vulnerabilnost procesa s posljedičnim krvarenjem, rizik kojega ne dopušta uzimanje biopsije u ambulantnim uvjetima te odbijanje daljnjih dijagnostičkih postupaka, kao i operativnog liječenja od bolesnika. Svim bolesnicima preporučena je daljnja hospitalna obrada i liječenje.

U 70 bolesnika (2,02% od ukupnog broja pregleda) učinjena je biopsija sluznice želuca s 3–6 mjesta, s istodobnom patohistološkom i citološkom analizom materijala. Od svakog je uzorka učinjen najprije otisak na staklu, laganim pritiskanjem uzorka, bez razmazivanja uzorka po staklu. Preparat je sušen na zraku, bojen po May-Grünwald-Giemsi (MGG) i analiziran svjetlosnim mikroskopom (OLYMPUS BH-20). Nakon što je učinjen preparat otiska na staklu, ostatak bioptičkog materijala fiksiran je u 10% puferiranom formalinu, uklopljen u parafin iz čega su rezani rezovi debljine 4–5 μm, bojeni hemalaun-eozinom (HE), 2% Giemsinom metodom te PAS-alcian metodom bojenja i analizirani svjetlosnim mikroskopom.

Statistička analiza podataka učinjena je uz pomoć programa Analyse-it (General + Clinical laboratory static vrs.1.71, 1997–2000 Analyse-it Softwere Ltd.), a određivana je specifičnost i osjetljivost te pozitivna i negativna prediktivna vrijednost metode preparata otiska u pronalaženju malignih promjena sluznice želuca.

Rezultati

Od ukupno 70 bolesnika uključenih u ovu studiju 46 (65,7%) bilo je muškog, 24 (34,2%) ženskog spola, prosječne dobi 60 godina (36–83 godine).



Slika 1. *Makroskopski nalaz tijekom endoskopije*
Figure 1. *Macroscopic finding during endoscopy*

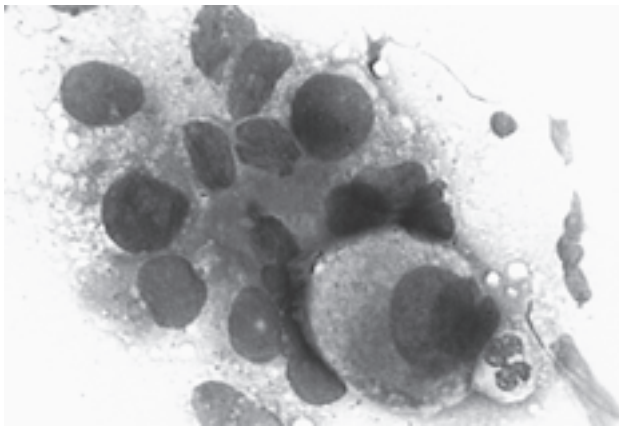
Analizirajući endoskopske nalaze u tih 70 bolesnika, u 34 nalaza kao dijagnoza upisana je neoplazma želuca, u 23 vrijed želuca, u 5 nalaza polip želuca, u 5 nalaza gastritis i u 3 nalaza vrijed duodenuma (slika 1).

Kod biopsije sluznice želuca uzimana su 3–6 uzoraka po bolesniku, a analizirane su završne dijagnoze patohistološke ili citološke analize, dobivene analizom svih uzetih uzoraka kod pojedinog bolesnika. U 46 bolesnika zloćudne stanice nađene su citološkom analizom biopsije sluznice želuca, dok je patohistološkom analizom zloćudni tumor nađen u 42 bolesnika. U 5 bolesnika citološki su nađene maligne stanice, a histološki nije potvrđena dijagnoza zloćudnog tumora, dok je u jednog bolesnika histološki nađen zloćudni tumor, a u citološkom preparatu nisu nađene zloćudne stanice (tablica 1). Bolesnicima kod kojih je citološka analiza upućivala na zloćudnu promjenu, a bez potvrde patohistološkom analizom, ponovljeno je uzimanje uzorka želučane sluznice, a u ponovljenim biopsijama i patohistološki nalaz potvrdio je zloćudnu primjenu. Kod jednog bolesnika kod kojega je citološka analiza bila negativna, a patohistološka pozitivna nije ponavljana biopsija želučane sluznice. U tog bolesnika citološki je opisana nekroza. U 5 bolesnika u kojih je citološki opisana zloćudna promjena (adenokarcinom), a patohistološki nije nađen zloćudni tumor, u histološkom nalazu u dva slučaja opisana je nekroza, u jednom slučaju displazija epitela i u dva slučaja nalaz je opisan kao ulkus želuca.

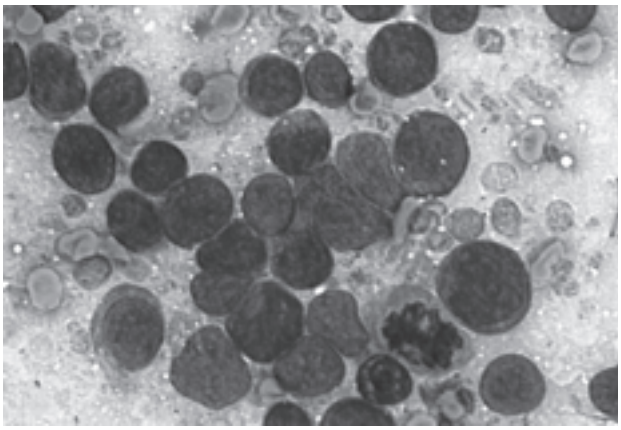
Citološki je opisan adenokarcinom sluznice želuca (slika 2) u 42 slučaja, dok je histološki dijagnoza adenokarcinoma (slika 3) postavljena u 39 slučajeva. Nehodgkinov limfom (slika 4) opisan je u 4 citološka nalaza, dok je nehodgkinov limfom s jasnim limfoepitelnim lezijama (slika 5) opisan u 3 patohistološka nalaza. Uvidom u opis nalaza u bolesnika kod kojeg je citološki postavljena dijagnoza nehodgkinovog limfoma, a histološki adenokarcinoma, nađene su slabo diferencirane epitelne stanice koje su imunohistokemijski bile pozitivne na citokeratin.

Tablica 1. *Usporedba rezultata patohistološke i citološke analize preparata otiska*
Table 1. *Correlation of pathohistological and imprint smears analyses*

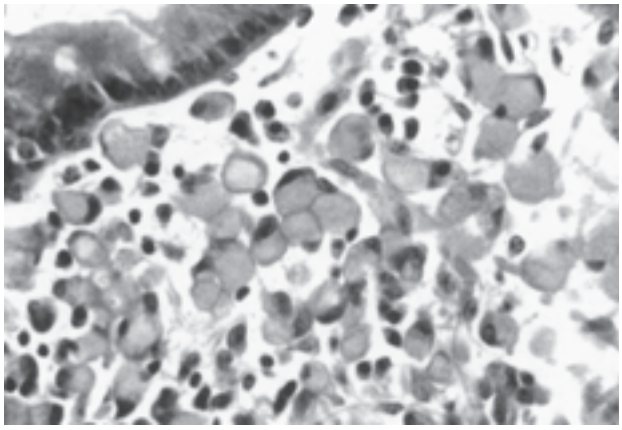
Citološka analiza preparata otiska Cytological analysis of imprint smear	Histološka dijagnoza Histological diagnosis maligno malignant	 benigno benign	Ukupno Total
maligno / malignant	41	5	46
benigno / benign	1	23	24
Ukupno / Total	42	28	70



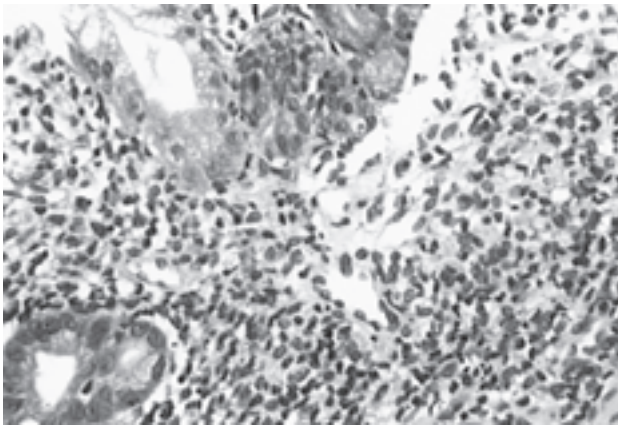
Slika 2. *Citološka slika adenokarcinoma želuca (May-Grünwald-Giemsa × 1000)*
Figure 2. *Cytological picture of gastric adenocarcinoma (May-Grünwald-Giemsa × 1000)*



Slika 4. *Citološka slika nehočkinskog limfoma želuca (May-Grünwald--Giemsa × 1000)*
Figure 4. *Cytological picture of gastric non Hodgkin lymphoma (May--Grünwald-Giemsa × 1000)*



Slika 3. *Histološka slika adenokarcinoma želuca sa stanicama izgleda prstena pečatnjaka (hemalaun-eozin × 400)*
Figure 3. *Histological picture of gastric carcinoma with signet-ring cells (Hematoxilin-eosin × 400)*



Slika 5. *Histološka slika infiltracije sluznice želuca nehočkinskim limfomom s limfoepitelnom lezijom (hemalaun-eozin × 400)*
Figure 5. *Histological finding which shows infiltration of lamina propria with non Hodgkin lymphoma with lymphoepithelial lesion (Hematoxilin-eosin × 400)*

Analizom makroskopskog endoskopskog nalaza u slučajevima neslaganja histološkog i citološkog nalaza vidjelo se da je u tri bolesnika opisana nekroza sluznice, što je vjerojatno uvjetovalo lošu kvalitetu uzorka. Kod otiskivanja preparata na staklo moguće je da je došlo do odvajanja malignih stanica (lošije međustanične veze u malignom tkivu) te su one citološki identificirane, dok je uzorak tkiva uklopljen u parafinski blok pokazivao samo nekrotičnu masu u kojoj se nije moglo identificirati tkivo. U preostala dva bolesnika makroskopski se opisuje rigidna sluznica i tehničke poteškoće kod uzimanja materijala, što ponovno može biti razlog dobivanja neadekvatnog materijala za patohistološku analizu. U uzorku u kojem je patohistološki dokazan malignitet, u citološkom nalazu se opisuje nekroza, a u makroskopskom nalazu opsežan infiltrativni proces, djelomično nekrotičan.

Statističkom analizom podataka pokazano je da je osjetljivost metode otiska 97,6%, a specifičnost 82,1%. Pozitivna prediktivna vrijednost citološke metode u otkrivanju zloćudne promjene je 89,1%, a negativna prediktivna vrijednost 95,8% (tablica 2), uz napomenu da je histologija uzeta kao »zlatni standard«, tj. da je patohistološka dijagnoza smatrana uvijek točnom. Navedene vrijednosti odnose se dakle na prvu seriju biopsija, a različite su ako se u obzir uzmu ponavljane biopsije koje su potvrdile prvobitni nalaz citologije koji je zapravo smatran lažno pozitivnim nalazom.

Tablica 2. *Statistička analiza podataka*
Table 2. *Statistical analysis*

		95% CI
Osjetljivost / Sensitivity	97,6%	87,4% to 99,9%
Specifičnost / Specificity	82,1%	63,1% to 93,9%
Pozitivna prediktivna vrijednost Positive predictive value	89,1%	
Negativna prediktivna vrijednost Negative predictive value	95,8%	

Rasprava

U medicinskoj literaturi postoje različiti podaci o vrijednosti određenih dijagnostičkih metoda u dijagnostici bolesti probavnog sustava, a u posljednje vrijeme nameće se pitanje je li citološka analiza materijala otiska biopsije želučane sluznice dovoljno pouzdana metoda za otkrivanje malignih promjena. Više radova vezano je uz vrijednost citološke analize prepara-

ta dobivenog četkicom (brushing).[17,18] Međutim, metoda preparata otiska ima najmanje jednu prednost. Ona ne produžava trajanje pretrage, a prema objavljenim radovima osjetljivost i specifičnost metode četkicom ne prelaze vrijednosti dobivene za metodu preparata otiska.[5,6,17,18]

Iz prije navedenih podataka, kao i iz literature,[5–7] vidi se da u usporedbi sa standardnom patohistološkom analizom istog materijala, citološka analiza preparata otiska ima visoku specifičnost i osjetljivost te pozitivnu i negativnu prediktivnu vrijednost (97,6%, 82,1%, 89,1%, 95,8%-vlastiti rezultati). Vrijednosti su i više ako se rade ponavljane biopsije u citološki pozitivnim nalazima uz negativan patohistološki nalaz, odnosno ako se za statističku analizu uzmu samo uzorci koji su adekvatni za istodobnu analizu korištenjem obiju metoda.

Veći broj citoloških nalaza u kojima su nađene maligne stanice mogao bi se objasniti kvalitetom uzorka dobivenog prilikom biopsije. U nekoliko bolesnika kod kojih se razlikovao nalaz citologa i patologa (5 citoloških nalaza koji govore za zloćudnu promjenu koja nije dokazana histološkom analizom te jedan patohistološki nalaz koji govori za zloćudnu promjenu, dok citološki nije nađeno zloćudnih stanica), kvaliteta uzorka nije zadovoljavala. Naime u patohistološkom nalazu opisivana je nekroza, a već i u opisu endoskopskog nalaza nalazimo nekrozu sluznice ili pak tehničke poteškoće kod uzimanja materijala, zbog izrazitog rigiditeta sluznice. Razlog dobivanja materijala prikladnog za citološku analizu može se pak naći u činjenici da zloćudno tkivo ima oslabljene međustanične veze, što omogućuje deskvamaciju stanica prilikom pripreme preparata otiska na staklu. Tu se postavlja pitanje narušavanja kvalitete uzorka za daljnju patohistološku analizu predmanipulacijom pri pripremi preparata otiska. No, imajući u vidu način pripreme uzorka za patohistološku analizu te način pripreme preparata otiska, ta dilema postaje manja. Mirsa i suradnici te Cubucku i suradnici pokazali su da nema razlike u kvaliteti uzoraka od kojih je najprije učinjen otisak na staklu i uzoraka koji su odmah fiksirani.[19,20] Dijagnostički problem može nastati i u citološkom i histološkom razlikovanju anaplastičnog karcinoma želuca i nehodgkinovog limfoma, kao što smo imali u svome materijalu. Nakon imunohistokemijskog bojanja dokazano je da su tumorske stanice citokeratin-pozitivne, što je uputilo na to da se radi o tumoru epitelnog podrijetla.

Citološka analiza preparata otiska biopsije želučane sluznice brza je i jednostavna metoda za dobivanje morfološke dijagnoze. Način dobivanja uzorka također je brz i jednostavan. Za razliku od metode četkicom (brushing), ne produžuje trajanje pretrage (ezofagogastroduodenoskopije), a materijal je ovom metodom sigurno dobiven s istog mjesta s kojeg je uzet i za patohistološku analizu, dok se kod metode četkicom može dogoditi da se mjesta uzimanja materijala ne poklapaju.

S obzirom na visoku pozitivnu i negativnu prediktivnu vrijednost citološka analiza preparata otiska biopsije sluznice želuca mogla bi poslužiti kao metoda probira i komplementarna metoda histološkoj analizi pri pronalaženju zloćudnih promjena sluznice želuca.[5,6,21] Citološki nalaz zloćudnih stanica svakako treba shvatiti kao dokaz zloćudnog tumora, koji mora biti potvrđen patohistološkom analizom istog materijala, ali s obzirom na brzinu kojom citološka analiza može biti učinjena dobivamo vrijeme potrebno za preoperativnu pripremu.[5,16,21] Isto tako, u svjetlu potrebe za dvostrukom evaluacijom nalaza, ovdje imamo na raspolaganju dvije usporedive metode, dva neovisna dijagnostičara. Ako se nalazi podudaraju, možemo s velikom sigurnošću govoriti da je dijagnoza točna. Ovdje svakako treba napomenuti da uzorak na kojem je analiza provedena nije dovoljno velik za izvođenje konačnih zaključaka. Međutim, ideja o pronalaženju brze te dovofjno specifične i osjetljive metode za probir zloćudnih promjena dobrodošla je u svjetlu podataka o incidenciji karcinoma želuca u našoj populaciji.

Zaključak

U zaključku želimo naglasiti da premda ne daje dodatnu informaciju u dijagnostici malignih promjena želučane sluznice, citološka analiza preparata otiska omogućuje nam da ranije dođemo do dijagnoze. Metoda je brza, jednostavna, osjetljiva i specifična za otkrivanje malignih promjena želučane sluznice, što bi joj moglo omogućiti uporabu za probir bolesnika. Svaki pozitivan nalaz citološke analize preparata otiska treba potvrditi patohistološkom analizom bioptata, a ako se citološki i patohistološki nalaz ne slažu, potrebno je ponoviti pretragu uz ponovnu citološku i patohistološku analizu.

LITERATURA

1. *Roth A*. Tumori želuca. U: Vucelić B. i suradnici, Gastroenterologija i hepatologija, Medicinska naklada, Zagreb 2002; str. 548–557.
2. *Rosandić M*. Rak debelog crijeva. U: Vucelić B. i suradnici, Gastroenterologija i hepatologija, Medicinska naklada, Zagreb 2002; str. 895–909.
3. *Clark GW, De Meester TR*. Biopsy of upper gastrointestinal tract lesions. Indications and clinical significance. Surg Oncol Clin N Am 1995;4(1): 81–102.
4. *Geisinger KR, Wang HH, Ducatman BS, Teot LA*. Gastrointestinal cytology. Clin Lab Med 1991;11(2):403–4.
5. *Sharma P, Misra V, Singh PA, Misra SP, Gupta SC*. A correlative study of histology and imprint cytology in the diagnosis of gastrointestinal tract malignancies. Indian J Pathol Microbiol 1997;40(2):139–46.
6. *Cubucku A, Gonollu NN, Kocar SO, Alponat A, Paksoy N*. Imprint cytology in the endoscopic diagnosis of gastrointestinal malignancies. Hepatogastroenterology, 2002;49(43):198–200.
7. *Mysorekar VV, Dandekar CP, Satyaprakash BS, Sarkar A*. Role of imprint cytology in the diagnosis of gastrointestinal tract malignancies. Indian J Pathol Microbiol. 2003;46:37–43.
8. *Sharma P, Misra V, Singh PA, Misra SP, Gupta SC*. A correlative study of histology and imprint cytology in the diagnosis of gastrointestinal tract malignancies. Indian J Pathol Microbiol. 1997;40:139–46.
9. *Veneti S, loannidou-Mouzaka L, Toufexi H, Xenitides J, Anastasiadis P*. Imprint cytology. A rapid, reliable method of diagnosing breast malignancy. Acta Cytol. 1996;40:649–52.
10. *Albert US, Duda V, Hadji P i sur*. Imprint cytology of core needle biopsy specimens of breast lesions. A rapid approach to detecting malignancies, with comparison of cytologic and histopathologic analyses of 173 cases. Acta Cytol. 2000;44:57–62.
11. *Carmichael AR, Berresford A, Sami A, Boparai R*. Imprint cytology of needle core-biopsy specimens of breast lesion: is it best of both worlds? Breast 2004;13:232–4.
12. *Kass R, Henry-Tillman RS, Nurko J i sur*. Touch preparation of breast core needle specimens is a new method for same-day diagnosis. Am J Surg 2003;186:737–41; discussion 742.
13. *Tamiolakis D, Mikroulis D, Lambropoulou M i sur*. Imprint cytology for rapid evaluation of lung and mediastinal lesions. Minerva Med 2003;94: 97–102.
14. Paulose RR, Shee CD, Abdelhadi IA, Khan MK. Accuracy of touch imprint cytology in diagnosing lung cancer. Cytopathology 2004;15:109–2.
15. *Llatjos M, Castella E, Fraile M i sur*. Intraoperative assessment of sentinel lymph nodes in patients with breast carcinoma: accuracy of rapid imprint cytology compared with definitive histologic workup. Cancer 2002; 96:150–6.
16. *Sauer T, Engh V, Holck AM, Sorpebol G, Heim M, Furu I, Schlichting E*. Imprint cytology of sentinel fymph nodes in breast cancer. Experience with rapid, intraoperative diagnosis and primary screening by cytotechnologists. Acta Cytol. 2003;47:768–3.
17. *Geramizadeh B, Shafie A, Seberfirruzi M, Kumar PK, Shaheem A*. Brush cytology of gastric malignancies. Acta Cytol 2002;46: 693–6.
18. *Qizilbash AH, Castelli M, Kowalski MA, Churly A*. Endoscopic brush cytology and biopsy in the diagnosis of cancer of the upper gastrointestinal tract. Acta Cytol 1980;24:313–8.
19. *Cubucku A, Gonollu NN, Ercin C, Alponat A, Kaur AC, Canturk Z, Pakosy N*. Imprint cytology in the diagnosis of Helicobacter pylori, Does imprinting damage the biopsy specimen? Acta Cytol 2000;44:124–7.
20. *Misra SP, Misra V, Dwivedi M, Singh PA, Gupta SC*. Diagnosing Helicobacter pylori by imprint cytology: can the same biopsy specimen be used for histology? Diagn Cytopathol, 1998;18:330–2.
21. *Thompson H*. Histological and cytological diagnosis of carcinoma of the oesophagus. Eur J Cancer Prev 1992;1:317–22.

POJAVNOST CD30 NA LIMFOCITIMA U UPALNOM INFILTRATU AKUTNE FAZE ATOPIJSKOG DERMATITISA

THE PRESENCE OF CD30 ON T CELLS IN THE INFLAMMATORY INFILTRATE OF ACUTE ATOPIC DERMATITIS

DUBRAVKA BOBEK, JASNA LIPOZENČIĆ, JASMINKA JAKIĆ-RAZUMOVIĆ, DAVOR IVANKOVIĆ, OLGA BADOVINAC*

Deskriptori: Atopijski dermatitis – imunologija; Antigeni, CD30 – analiza, imunologija; T limfociti – imunologija

Sažetak. Atopijski dermatitis (AD) sadržava stanične imunohistokemijske značajke slične onima kod kontaktnog alergijskog dermatitisa (KAD). Postoji obilje dokaza za T-staničnu aktivaciju u AD-u kao što su nazočnost T-limfocita koji nose biljege CD3, CD4 i CD45RO. Cilj ovog rada bio je prikazati pojavnost površinskih limfocitnih antigena uključujući CD30, CD45RO, CD4 i CD3 u bolesnika s akutnim AD-om te usporediti pojavnost tih molekula u bolesnika s akutnim KAD-om na nikal radi mogućeg morfološkog razlikovanja tih dvaju entiteta. Pojavnost navedenih molekula evaluirana je imunohistokemijski u bioptatima ledirane kože u dermisu i epidermisu. Biopsije su uzete od 12 pacijenata koji su bolovali od akutnog AD i od 13 pacijenata s KAD-om. Rezultati pokazuju statistički značajno viši prosjek pojavnosti, a također bitno veći raspon pojavnosti limfocita CD30+, CD45RO+, CD3+ i CD4+ u dermisu i epidermisu bolesnika s AD-om, u odnosu na prosjek i raspon pojavnosti u bolesnika s KAD-om. Pri tome uočena je statistički značajno veća pojavnost CD30, CD45RO, CD3 i CD4 u dermisu nego u epidermisu u obje skupine bolesnika. Povišeni broj CD30+ limfocita u bolesnika s akutnim AD-om, međutim, ne korelira s težinom kliničke slike procijenjene po kliničkom skoru za evaluaciju težine bolesti, tzv. SCORAD-indeksu (engl. Severity Scoring of Atopic Dermatitis). Naši rezultati pokazuju povezanost ekspresije CD30 i akutne faze AD-a, ali ne i KAD-a, što bi moglo utvrditi CD30 kao koristan biljeg u diferenciranju tih dviju bolesti.

Descriptors: Dermatitis, atopic – immunology; Antigens, CD30 – analysis, immunology; T-lymphocytes – immunology

Summary. Atopic dermatitis (AD) has cellular immunohistochemical features similar to those of allergic contact dermatitis (ACD). There is plenty of evidence for T-cell activation in this disease such us the presence of T-lymphocytes which carry CD30, CD3, CD4, CD45RO markers. The aim of this study was to show the presence of lymphocyte-surface antigens including CD30, CD3, CD4, CD45RO in patients with acute AD and to compare the presence of the same molecules in patients with acute ACD (nickel-induced) because of the possible morphologic difference of these two entities. The presence of the stated molecules is immunohistochemically evaluated in biopsies of lesional skin in dermis and epidermis. Biopsies were obtained from twelve patients suffering from acute AD and from thirteen patients with ACD. The results show statistically significant higher average of presence and also much higher range of presence of CD30+, CD3+, CD4+, CD45RO+ lympohocytes in dermis and epidermis of patients with AD compared to the average and range in patients with ACD. Statistically much higher average of CD30, CD3, CD4, CD45RO is noticed in those occasions more in dermis than in epidermis in both groups of patients. High number of CD30+ lymphocytes in patients with acute AD does not however correlate with the severity of the disease evaluated according to clinical score for the evaluation of the severity of the disease, so called the SCORAD-index (Severity Scoring of Atopic Dermatitis). Our results showed an association betwen CD30 expression and acute AD but not with acute ACD which could evaluate CD3 as the useful marker in differentiating these two diseases.

Liječ Vjesn 2004;126:291–297

Atopijski dermatitis (AD), neurodermitis, pruridermatitis allergica chronica constitutionalis je recidivirajuća upalna bolest kože karakterizirana jakim svrbežom i kožnim promjenama koja se pojavljuje u osoba s genskom predispozicijom.[1] Broj oboljelih u svim dobnim skupinama je u stalnom porastu. Godine 1986. prevalencija je bila 2–3%, a 1996. god. već 10% populacije boluje od AD-a. Promjene na koži mogu se pojaviti u bilo kojoj dobi, a tipičan je početak između 3. i 6. mjeseca života.[2] U 80% pacijenata bolest započne prije navršene l. godine života, a tek u oko 2% nakon 20. godine života.[3]

AD se klinički manifestira jakim svrbežom, eritemom, ekskorijacijama i lihenifikacijom. Općenito se može reći da su akutne lezije karakterizirane intenzivnim svrbežom s papulama na eritematoznoj koži, ekskorijacijama, erozijama te seroznim eksudatom.[4]

Pojava bolesti uvjetovana je atopijskom dijatezom. Termin »atopija« od početka je označavao gensku sklonost alergijskoj reaktivnosti. Odavno se naime zna da je učestalost alergijskih bolesti u obiteljima atopičara oko tri puta veća nego u obiteljima zdravih osoba.[5] Kromosomske regije za koje se smatra da su povezane s atopijom velike su i u prosjeku sadržavaju više od 20 Mb DNA i na tisuće gena. Još uvijek veliki izazov predstavlja identificiranje gena koji uzrokuju bolest.[6] Oštećenje tkiva i propagacija upale čini se da je uvjetovana interakcijom između Th-2-limfocita, odnosno njihovih citokina, stanica koje predočavaju antigen, mastocita i eozinofila. Histopatološke studije pokazuju da se mononuklearni stanični infiltrat u AD sastoji od limfocita i monocita predominantno u perivaskularnoj regiji dermisa s manjim širenjem u epidermis.[7]

Braathen i sur. opisuju da se mononuklearne stanice u dermalnom perivaskularnom infiltratu sastoje pretežno od T-limfocita, dok Leung i sur. napominju da su većina limfocita koji infiltriraju kožu pacijenta s AD-om CD4+ T-stanice.[8,9]

AD ima celularne imunohistokemijske značajke slične onima kod KAD-a. Postoji obilje činjenica za T-staničnu aktivaciju u AD-u kao što su nazočnost staničnih infiltrata T-limfocita, i

* **Odjel za fizikalnu medicinu i rehabilitaciju Kliničke bolnice Dubrava** (mr. sc. Dubravka Bobek, dr. med.; Olga Badovinac, dr. med.), **Klinika za kožne i spolne bolesti KBC-a i Medicinskog fakulteta u Zagrebu** (prof. dr. sc. Jasna Lipozenčić, dr. med.), **Klinički zavod za patologiju KBC-a i Medicinskog fakulteta u Zagrebu** (prof. dr. sc. Jasminka Jakić-Razumović, dr. med.), **Katedra za medicinsku statistiku, Škola narodnog zdravlja »Andrija Štampar« Medicinskog fakulteta u Zagrebu** (prof. dr. sc. Davor Ivanković, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Mr. sc. D. Bobek, Odjel za fizikalnu medicinu i rehabilitaciju KB Dubrava, Avenija Gojka Šuška 6, 10000 Zagreb

Primljeno 15. travnja 2003., prihvaćeno 5. studenoga 2004.

to onih koji nose biljege CD4, CD3 i CD45RO. CD4-molekula, molekularne težine 55 kDa prisutna je na pomoćničkim limfocitima normalne periferne krvi, na monocitima te normalnim timocitima.[10,11] Također, CD4-antigen predstavlja receptor za virus humane imunodeficijencije (engl. human immunodeficiency virus HIV). Osobe inficirane HIV-om pokazuju kontinuirani gubitak CD4+-limfocita.[12] CD3-antigen prisutan je na 61 do 85% limfocita normalne periferne krvi, 60 do 85% timocita te na Purkinjeovim stanicama cerebeluma.[13]

Kompleks T-limfocitnog antigenskog receptora s kojim je CD3-molekula povezana preko epsilon-lanca sastoji se od najmanje šest proteina čija molekularna težina iznosi od 20 do 30 kDa.[14] CD45RO-molekula član je CD45-porodice koja uključuje CD45, CD45RA i CD45RB, ima molekularnu težinu 180 kDa i prisutna je na oko 40% T-limfocita periferne krvi te na monocitima, makrofazima i granulocitima.[15–17] CD30 je na membrani vezani glikoprotein molekularne težine 120 kDa s pleotropnim biološkim aktivnostima za različite CD30+-tipove limfoma, ali i za imunosni sistem, pogotovo T-limfocite jer je uključen u aktiviranje i funkcioniranje imunosnog odgovora ovisnog o T-limfocitima. CD30 funkcionira kao citokinski receptor.[18] Stein i suradnici su 1982. god. CD30 opisali kao površinsku molekulu prepoznatu Ki-1 monoklonskim protutijelom na Hodgkinovim i Reed-Sternbergovim stanicama kod pacijenata s Hodgkinovom bolesti.[19–21]

U posljednje vrijeme CD30 se opisuje na membrani T-1imfocita kao član receptora faktora tumorske nekroze (engl. tumor necrosis factor – TNF).[22–25] Fiziološki, CD30+-stanice ne cirkuliraju u perifernoj krvi, nego su ograničene na male površine B-staničnim folikulima limfnog tkiva.[26]

Pojavnost CD30 većinom je ograničena na limfocite napadnute virusom, neoplazme limfnog podrijetla i podtip T-limfocita koji producira Th-2-tip citokina. Uloga CD30 je pleotropna i razumije se u kontekstu kostimulatornih signala. Signalna transdukcija CD30 zajednička je s drugim članovima porodice TNF-receptora.[27]

U novije vrijeme prikazuje se povezanost između serumskog CD30 i AD-a, ali ne i između CD30 i KAD-a.[8,29,30] Naime, unatoč tomu što rutinski histološki test u AD-u pokazuje sličnost s tipom IV kasne faze reakcije preosjetljivosti kao u KAD-u, neke činjenice u posljednje vrijeme upućuju na to da u AD-u i KAD-u postoje različite reakcije kasne faze, što je histološki nemoguće razlikovati. Stoga je cilj ovog ispitivanja prikazati pojavnost aktivacijskog biljega CD30 na T-limfocitima u akutnom AD-u i KAD-u, kao i CD45RO+, CD3+ i CD4+-limfocita u bioptatima kože bolesnika s AD-om i KAD-om radi mogućeg morfološkog razlikovanja tih dvaju entiteta.

Bolesnici i metode

Bolesnici

U ovom radu istraživani su uzorci kože 25 osoba podjeljenih u ispitnu i kontrolnu skupinu. Ispitnu skupinu činili su uzorci kože 12 bolesnika u fazi akutne egzarcebracije AD-a. Klinička dijagnoza postavljena je prema kriteriju Hanifina i Rajke.[1] Prema navedenim autorima za postavljanje dijagnoze AD-a nužno je dokazati prisutnost najmanje triju temeljnih (svrbež, tipična distribucija i morfologija kožnih promjena, kronična egzacerbacija bolesti te pozitivna osobna ili obiteljska anamneza na atopiju) i triju ili više manje karakterističnih simptoma, tj. značajke (generalizirano suha koža, povišene vrijednosti IgE, pozitivni intradermalni testovi na suspektne antigene, mlada životna dob, učestale kožne infekcije, alergija na hranu, keratokonus itd.).

Za ocjenu težine kliničke slike AD-a rabili smo tzv. SCORAD-indeks – klinički sistem za evaluaciju težine bolesti (engl. Severity Scoring of Atopic Dermatitis).[31] SCORAD indeks uključuje ukupnu količinu zahvaćenog područja kože, intenzitet promjena (označen s 0 = bez, 1 = blag, 2 = umjeren, 3 = jak), opis tipa promjena (eritem, edem/papule, vlaženje/kruste, ekskorijacije, lihenifikacija, suhoća kože) te subjektivne simptome (pruritus i poremećaj spavanja – prema vizualnoj analognoj skali).

Osim tipične kliničke slike bolesnici s AD-om uključeni u studiju imali su pozitivnu osobnu i/ili obiteljsku anamnezu za atopiju, pozitivan kožni ubodni test (engl. skin prick test) koji je primijenjen na inhalacijske i nutritivne alergene te povišen nivo ukupnih IgE-protutijela. Svi ispitanici bili su odrasle osobe, i to 6 muškaraca i 6 žena u dobi od 19 do 36 godina. Ni jedna od osoba nije bolovala od astme ili koje druge atopijske bolesti. Također ispitanici nisu bili tretirani antibioticima, sistemskim kortikosteroidima, antihistaminicima ili imunosupresivnom terapijom u toku uzimanja biopsije. Kontrolna skupina bolesnika bila je 13 uzoraka kože bolesnika s akutnim KAD-om na nikal.

Ispitanici su bili odrasle osobe, i to 2 muškarca i 11 žena, životne dobi od 18 do 35 godina. Svi su imali negativnu anamnezu za atopiju i normalnu razinu ukupnih IgE-protutijela. Zbog nezadovoljavanja svih postavljenih kriterija za uključivanje u ispitnu ili kontrolnu skupinu 5 bolesnika nije pristupilo ispitivanju. Za izvođenje svih pretraga tražena je suglasnost ispitanika.

Imunohistokemija

Na parafinskim rezovima debljine 4–5 μm metodom imunohistokemijskog bojenja odredi se pojavnost CD30, CD3, CD4 i CD45RO na staničnim membranama limfatičnih stanica. Pri tome se rabila metoda Streptavidin-Avidin-Biotin (ABC). Histološki rezovi bili su inkubirani s neimunim konjskim serumom u trajanju od 20 minuta, nakon čega se serum odstranio i preparati inkubirani s primarnim protutijelom. Nakon toga rezovi su bili oprani 3 po 5 minuta u fosfatnom puferu (PBS) te se apliciralo biotinizirano sekundarno protutijelo (Multilink Swine anti-Goat-Mouse-Rabbit Immunoglobulins biotinylated) (Dako Kopenhagen, Danska). Rezovi su bili inkubirani u trajanju od 30 minuta, oprani u PBS-u te inkubirani s konjugatom biotin-avidin peroksidaze (ABC/HRP kit, Dako, Kopenhagen, Danska) u trajanju od 30 minuta. Nakon pranja u PBS-u imuni produkt bojenja se vizualizirao 3,3-2 diaminobenzidinom (DAB; Dako, Kopenhagen, Danska) u PBS-u s 0,01% H_2O_2. Preparati su bili kontrastno obojeni hemalaun-eozinom u trajanju od 3 minute i uklopljeni u sintetski medij DPX. Evaluacija bojenja izvršena je svjetlosnim mikroskopom. Broj pozitivnih stanica za svako korišteno protutijelo kvantificiran je brojenjem (+) stanica svjetlosnim mikroskopom, i to na mm dužine epidermisa i mm^2 dermisa. Dobiveni rezultati uspoređeni su s kliničkom slikom bolesnika prema SCORAD-indeksu.

Statističke metode

Podaci su prikazani tablično i grafički. Sve distribucije testirane su na normalnost unutargrupno (AD, KAD) Kolmogorov-Smirnovljevim testom. Samo dvije varijable (CD30 i CD4 u epidermisu), i to u skupini KAD pokazale su statistički značajan otklon od normalne distribucije. Stoga se u analizi za sve normalno distribuirane varijable primjenjuje Studentov test (t-test), a za dvije varijable koje nisu normalno distribuirane odgovarajući neparametrijski Mann-Whitneyev test. Grafički su za sve varijable koje su normalno distribuirane prikazani i uspoređeni međugrupno prosjek, 95%-tni interval pouzdanosti te minimalna i maksimalna vrijednost. Za varijable u kojih se pokazalo statistički značajno odstupanje od normalne distribucije u barem jednoj uspoređivanoj skupini grafički su prikazani medijan, interkvartalni raspon, minimum i maksimum, kao i statistička značajnost među grupama. Unutar grupne us-

poredbe prikazane su t-testom diferencijacije za normalne distribucije i Wilcoxonovim testom sume rangova za distribucije koje odstupaju od normale. Također je prikazana regresijska i korelacijska analiza, pri čemu je SCORAD-indeks predstavljao prediktora; a CD30 zavisnu varijablu. Rezultati statističkih analiza za koje je utvrđen $p<0,05$ i niže smatrani su statistički značajnima.

Rezultati

U ovom radu istraživani su uzorci kože 25 osoba podjeljenih u ispitnu i kontrolnu skupinu. Ispitnu skupinu činili su uzorci kože 12 bolesnika u fazi akutne egzacerbacije atopijskog dermatitisa (AD). Svi ispitanici bili su odrasle osobe, i to 6 muškaraca i 6 žena u dobi od 19 do 37 godina. Također, svi ispitanici imali su pozitivan ubodni test, a testirani su na inhalacijske i nutritivne alergene. Najčešće zastupljeni inhalacijski alergeni bili su: D. pteronyssinus i kućna prašina, a od nutritivnih alergena najčešće su bili zastupljeni jaja i mlijeko.

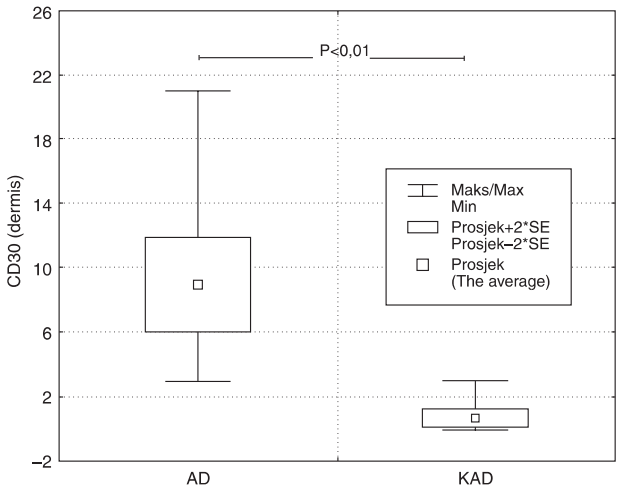
Kontrolnu skupinu činilo je 13 uzoraka kože bolesnika s akutnim alergijskim kontaktnim dermatitisom (KAD) na nikal. Ispitanici su bili 2 muškarca i 11 žena životne dobi od 18 do 35 godina. Na tablici 1. prikazane su karakteristike pacijenata s AD-om. Prikazana je životna dob, spol, trajanje bolesti i ukupna vrijednost IgE u serumu. Također su prikazani pojedini alergeni na koje su ispitanici pozitivno reagirali pri izvođenju ubodnog testa (engl. skin prick test) te izračunani SCORAD-indeks u pacijenata ispitne skupine.

Iz navedene tablice može se utvrditi da je najniža vrijednost SCORAD-indeksa u naših ispitanika iznosila 21, a najviša 62. Ako ispitanike podijelimo prema vrijednosti SCORAD-a na one s blagom kliničkom slikom (indeks 0 do 30), zatim na one s umjereno teškom (indeks od 31 do 65) i teškom kliničkom slikom (indeks od 66 do 100), vidljivo je da se naša ispitna skupina sastojala pretežno od pacijenata s umjereno teškom kliničkom slikom (10 bolesnika ili 83%). Mala je bila zastupljenost bolesnika s blagom kliničkom slikom (2 bolesnika ili 17%).

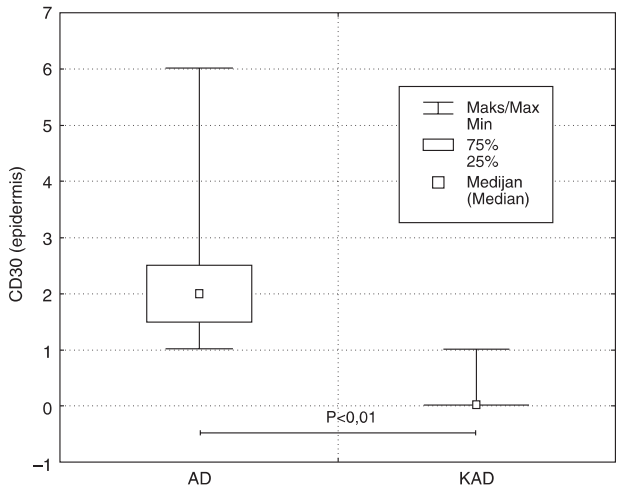
Slikama od 1. do 4. prikazana je pojavnost CD30, CD45RO, CD3 i CD4 na staničnim membranama limfatičnih stanica bolesnika s akutnim AD-om i KAD-om. Pojavnost je određena metodom imunohistokemijskog bojenja na parafinskim rezovima debljine 4–5 μm. Evaluacija bojenja izvršena je svjetlosnim mikroskopom. Broj pozitivnih stanica za svako korišteno protutijelo kvantificiran je brojenjem (+) stanica svjetlosnim

Tablica 1. *Karakteristike bolesnika s atopijskim dermatitisom*
Table 1. *Characteristics of the atopic dermatitis patients*

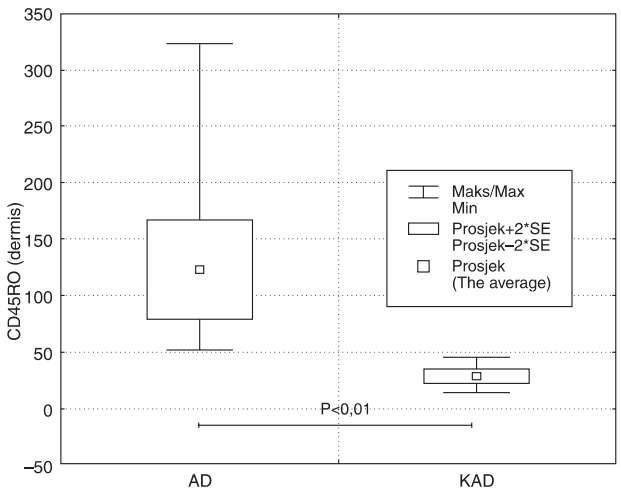
Bolesnici Patients	Spol Sex	Dob (godine) Age (years)	Trajanje AD-a (godine) Duration of AD (years)	IgE RIST (U/ml) Total serum IgE level (U/ml)	Rezultati ubodnog testa (20 minuta) Results of prick test (20 minutes)	SCORAD-indeks SCORAD index
B. S.	m	24	2	38	D. pteronyssinus	35
M. K.	f	25	7	812	Kućna praćina / House dust	55
P. M.	f	29	5	32	D. pteronyssinus	50
B. S.	f	28	4	245	Jaje / Egg	62
V. M.	m	35	10	21000	Mlijeko / Milk	37
B. A.	m	37	19	320	Kućna praćina / House dust	24
G. G.	f	36	14	178	Kućna prašina / House dust	42
B. N.	f	22	10	450	Kućna prašina / House dust	37
P. V.	f	19	3	17000	D. pteronyssinus	43
I. S.	m	28	1	14	Jaje / Egg	32
K. J.	m	26	5	780	D. pteronyssinus	21
B. S.	m	19	8	659	Jaje/ Egg	49



Slika 1.a. *Pojavnost CD30+-limfocita u mm² dermisa ispitanika s AD-om i u kontrolne skupine bolesnika s KAD-om*
Figure 1a. *Expression of CD30 on T cells in the mm² of dermis in patients with AD and patients with ACD*

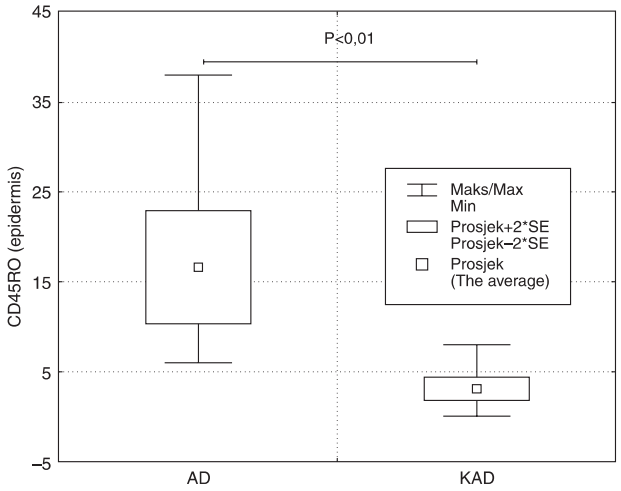


Slika 1.b. *Pojavnost CD30+-limfocita u mm epidermisa bolesnika s AD-om i KAD-om*
Figure 1b. *Membrane CD30 expression in mm epidermis derived from skin infiltrates of patients with AD compared with membrane CD30 expression in patients with ACD*



Slika 2.a. *Pojavnost CD45RO+-limfocita u mm² dermisa u bolesnika akutne faze AD-a i KAD-a*

Figure 2a. *Membrane CD45RO+ expression in mm² dermis derived from skin infiltrates of patients with AD compared with membrane CD30 expression in patients with ACD*



Slika 2.b. *Pojavnost CD45RO+-limfocita u mm dužine epidermisa u bolesnika akutne faze AD-a i KAD-a*

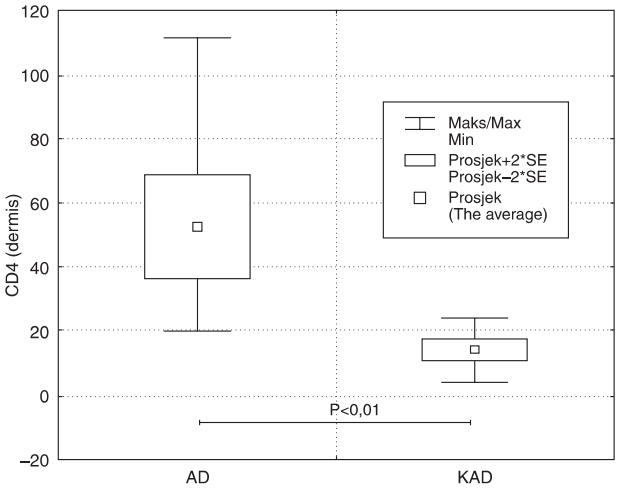
Figure 2b. *Membrane CD45RO+ expression in mm epidermis derived from skin infiltrates of patients with AD compared with membrane CD30 expression in patients with ACD*

mikroskopom, i to na mm dužine epidermisa i mm² dermisa. Sve su varijable testirane na normalnost unutargrupno (grupa AD i grupa KAD) Kolmogorov-Smirnovljevim testom. Samo dvije varijable (CD30 i CD4 u epidermisu), i to u skupini bolesnika s KAD-om, pokazale su statistički značajan otklon od normalne distribucije. Stoga se u analizi za sve normalno distribuirane varijable primjenjuje Studentov test (t-test), a za dvije varijable koje nisu normalno distribuirane odgovarajući neparametrijski Mann-Whitneyev test. Grafički su za varijable koje su normalno distribuirane prikazani i uspoređeni međugrupno prosjek, 95%-tni interval pouzdanosti, minimalna i maksimalna vrijednost. Za varijable u kojih se pokazalo statistički značajno odstupanje od normalne distribucije u barem jednoj uspoređivanoj skupini (CD30 i CD4 u epidermisu) grafički su prikazani medijan, interkvartalni raspon, minimum i maksimum, kao i statistička značajnost razlike među grupama.

U bolesnika s AD-om utvrđene su vrijednosti CD30 na membranama limfocita u rasponu od 3 do 21 na mm² dermisa, istodobno taj se raspon kretao od 0 do 3 kod bolesnika s KAD-om (slika 1.a). Prosjek pojavnosti CD30 u bolesnika s AD-om bio je statistički značajno viši ($p<0,05$) u odnosu na prosjek u bolesnika s KAD-om.

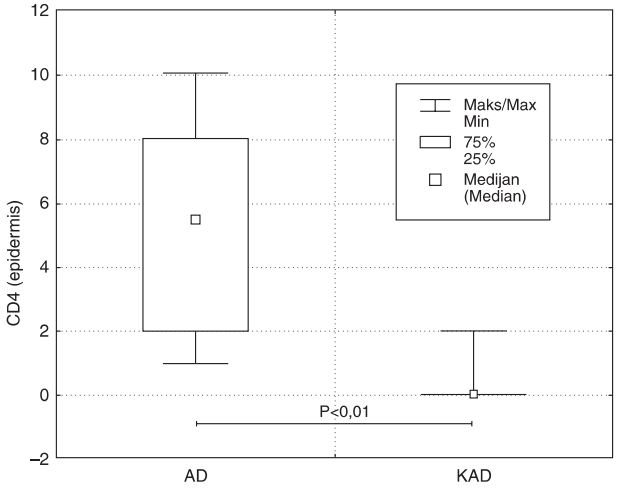
Slika 1.b prikazuje pojavnost CD30+-limfocita u epidermisu ispitanika s AD-om i KAD-om u kojih se Kolmogorov-Smirnovljevim testom pokazalo statistički značajno odstupanje od normale. Grafički su prikazani medijan, interkvartalni raspon, minimum i maksimum, kao i statistička značajnost razlike među grupama (AD i KAD). Iz prikaza je vidljivo da su bolesnici s AD-om imali viši medijan za pojavnost CD30+-limfocita u epidermisu u odnosu na bolesnike s KAD-om. Razlika je bila statistički značajna ($p<0,05$). Također, vidljiv je znatno veći raspon (od 1 do 6) za ekspresiju CD30 u epidermisu bolesnika s AD-om u odnosu na bolesnike s KAD-om (od 0 do 1).

Iz slike 2.a i 2.b je vidljivo da su bolesnici s AD-om imali viši prosjek pojavnosti CD45RO-molekule na membranama



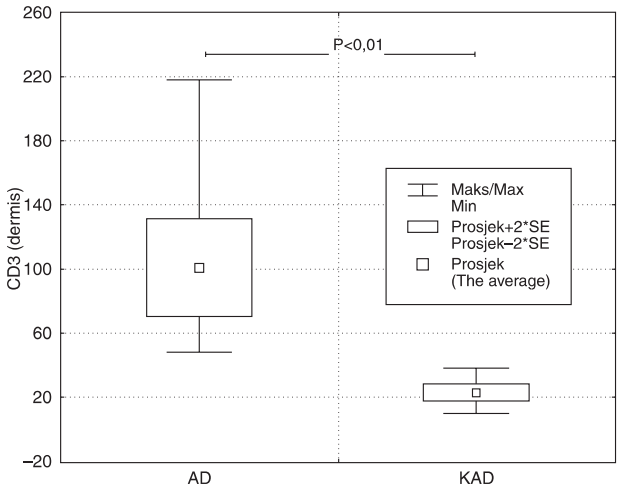
Slika 3.a. *Pojavnost CD4+-limfocita u mm² dermisa bolesnika s AD-om i KAD-om*

Figure 3a. *Membrane CD4+ expression in mm² dermis derived from skin infiltrates of patients with AD compared with membrane CD30 expression in patients with ACD*



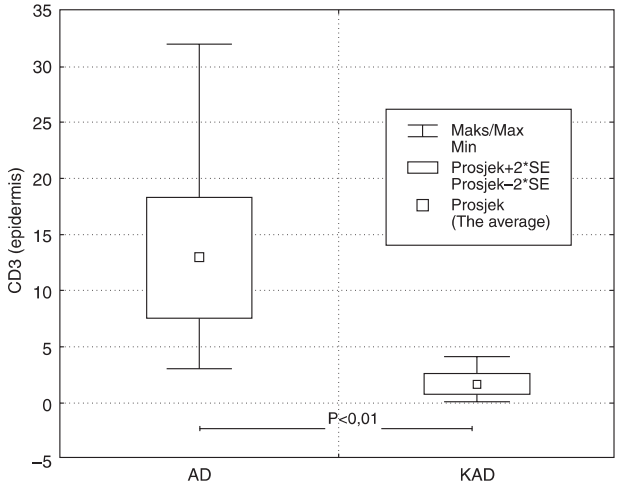
Slika 3.b. *Pojavnost CD4+-limfocita u mm epidermisa bolesnika s AD-om i KAD-om*

Figure 3b. *Membrane CD4+ expression in mm epidermis derived from skin infiltrates of patients with AD compared with membrane CD30 expression in patients with ACD*



Slika 4.a. *Pojavnost CD3+-limfocita u mm² dermisa bolesnika s AD-om i s KAD-om*

Figure 4a. *Membrane CD3+ expression in mm epidermis derived from skin infiltrates of patients with AD compared with membrane CD30 expression patients with ACD*



Slika 4b. *Pojavnost CD3+-limfocita u mm epidermisa bolesnika s AD-om i KAD-om*

Figure 4b. *Membrane CD3+ expression in mm epidermis derived from skin infiltrates of patients with AD compared with membrane CD30 expression in patients with ACD*

limfocita i u dermisu i u epidermisu u odnosu na bolesnike s KAD-om. Razlika je bila statistički značajna ($p<0.05$). Pojavnost CD4+-molekule u dermisu bolesnika s AD-om pokazuje raspon vrijednosti od 20 do 112, a u bolesnika s KAD-om od 4 do 24.

Srednja vrijednost iskazana prosjekom bila je statistički značajno viša u pacijenata s AD-om (slika 3.a). U bolesnika s AD-om utvrđen je raspon vrijednosti pojavnosti CD4+-limfocita u epidermisu od 1 do 10, istodobno u bolesnika s KAD-om taj se raspon kretao u puno užim granicama od 0 do 2.

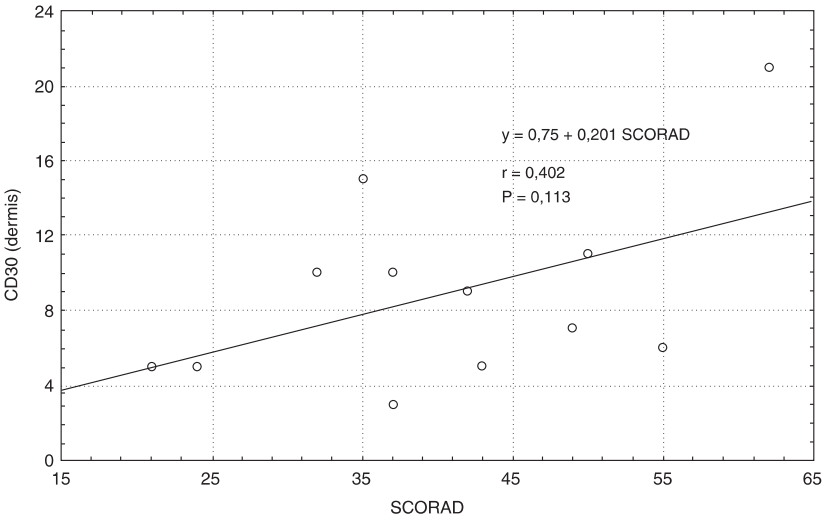
Medijan u bolesnika s AD-om bio je statistički značajno viši ($p<0,05$) u odnosu na medijan u bolesnika s KAD-om (slika 3.b).

Iz slike 4.a i 4.b vidljiv je za ekspresiju CD3-molekule na membrani limfocita znatno veći raspon u bolesnika s AD-om (od 48 do 218 u mm^2 dermisa i od 3 do 32 mm dužine epidermisa) u odnosu na raspon istog pokazatelja u bolesnika s KAD-om (od 10 do 38 u mm^2 dermisa i od 0 do 4 mm dužine epidermisa). Iz istih grafova također je vidljivo da su bolesnici s AD-om imali viši prosjek pojavnosti CD3 u odnosu na bolesnike s KAD-om. Razlika je bila statistički značajna ($p<0,05$) i za dermis i za epidermis. Također je prikazana regresijska i korelacijska analiza, pri čemu je SCORAD-indeks predstavljao prediktor, a CD30 zavisnu varijablu.

Iz slike 5. vidljiva je pozitivna korelacija između ekspresije CD30 i težine bolesti evaluirane prema SCORAD-indeksu, koja međutim nije statistički značajna ($p=0,113$; $r=0,402$). Koeficijent determinacije (r^2) iznosi 23,2%, što znači da se s pomoću SCORAD-vrijednosti dade objasniti svega 23,2% varijabilnosti CD30 u dermisu.

Rasprava

Sve veća učestalost atopijskog dermatitisa (AD) u kliničkoj praksi uvjetuje pronalaženje novih seroloških i imunoloških pokazatelja koji bi mogli poboljšati objektivno praćenje ovih bolesnika. U ovom radu prikazana je prisutnost CD30 u bioptatima kože bolesnika u akutnoj fazi AD, ali ne i u bioptatima bolesnika s KAD-om. Naši rezultati sugeriraju specifičnu regulatornu funkciju CD30+ obilježenih T-limfocita u akutnom AD-u. Isto se može zaključiti i iz studije Bengtssona, Capronija i Dummera koji su dokazali povezanost između u serumu topljivog CD30 (sCD30) i AD-a, ali ne sCD30 i KAD-a.[33,34] Imajući u vidu stajalište da je CD30-molekula biljeg za Th-2-limfocite, naše istraživanje potvrđuje prethodne pretpostavke da je Th-2-odgovor dominantan u infiltratu pretežno akutne faze AD-a.



Slika 5. *Korelacija SCORAD indeksa s pojavnosti CD30+-limfocita u dermisu bolesnika s AD-om*

Figure 5. *Correlation between presence of CD30+ cells in the lesional skin of adults with AD and clinical score (SCORAD index)*

Naši rezultati poklapaju se s rezultatima Dummera i suradnika, koji su dokazali pojavnost CD30 na membranama limfocita u AD-u, ali ne i u KAD-u i predložili CD30 kao koristan biljeg u histološkom diferenciranju tih dviju bolesti.[35] Caproni i suradnici su imunohistokemijski također dokazali pojavnost CD30 na CD4+ T-limfocitima u kožnim lezijama bolesnika s AD-om, međutim u tom radu autori nisu pravili razliku između akutne i subakutne/kronične faze bolesti.[36] Najinteresantniji rezultat njihove studije je demonstracija značajnog broja CD30+ T-limfocita u lediranoj koži bolesnika s AD-om koji odgovara visokoj vrijednosti topljivog oblika CD30-molekule u serumu, što podupire koncepciju da je AD Th-2/Th-0 dominantna bolest. U istom radu autori su dokazali da ekspresija CD30 na T-staničnim klonovima iz kože bolesnika s AD-om usko korelira sa sposobnošću tih stanica da produciraju IL-4 i IL-5, dok je bila sasvim inverzna s njihovom sposobnošću da produciraju IFN-γ.

I druge studije in vitro podupiru stajalište da kožna infiltracija CD4+ T-stanicama u pacijenata s AD-om uglavnom pripada Th-2-fenotipu te da CD4+ T-stanice iz kožnih lezija atopičara produciraju veliku količinu IL-4, a malo ili ništa IFN-γ, tako pokazuju Th-2/Th-0 profili. Međutim, rezultati kliničkog testa (engl. atopy patch test – APT) pokazuju da se u koži atopičara osim IL-4 producira i IFN-γ ili se producira samo IFN-γ bez IL-4.[37–39] Taj nesklad mogao bi se objasniti bifazičnim odgovorom na određeni alergen u AD-u koji je karakteriziran, početnim Th-2 dominirajućim odgovorom koji kasnije zamjenjuje Th-1 dominantan odgovor in situ. Imunohistokemijski s anti-IL-4 i anti-IFN-γ primijenjenim u APT-u dokazana je IL-4-pojavnost u početnoj fazi upalnog odgovora nakon koje je uslijedila u kasnijoj i kroničnoj fazi promjena u INF-γ-predominacija.[36]

S obzirom na to da još uvijek nije utvrđeno da li pozitivna APT-reakcija zaista znači AD ili je tek reakcija iritacije koju je lako izazvati kod atopičara[40] evaluacija pojavnost CD3 u tkivu mogla bi pojasniti prirodu pozitivne APT. Iako je uloga CD30 kao biljega za Th-2-limfocite kontroverzna,[33,41] njegova pojavnost jasno je udružena s AD-om, ali ne i s KAD-om. Navedeni rezultati pokazuju da dokazivanje pojavnosti CD30 na limfocitima u tkivu može biti jednostavan i koristan alat za detekciju imunosnog odgovora u kojem dominira Th-2-tip citokina u akutnoj fazi AD.

Naši su rezultati pokazali da je povezanost između pojavnosti CD30+-limfocita u dermisu bolesnika s AD-om i težine iste bolesti evaluirane prema SCORAD-indeksu pozitivna, međutim bez statistički signifikantne značajnosti. Također, u ovom radu nismo utvrdili statistički značajnu povezanost između pojavnosti CD30+-limfocita u dermisu i pojedinih SCORAD-parametara u bolesnika s AD-om, iako je korelacija među njima bila pozitivnog smjera. Želimo li usporediti ove rezultate s rezultatima sličnih radova, moramo poći od činjenice da u dostupnoj literaturi nailazimo na proturječne podatke. Caproni i suradnici u svojoj su studiji istraživali pojavnost CD30 u bioptatima kože odraslih bolesnika s AD. U toj studiji i broj CD30+-stanica i razina topljivog CD30 bili su povećani. Dapače, T-stanični klonovi derivirani iz kože ledirane AD-om secernirali su Th-2-tip citokina i iskazivali membranski CD30.[36] Pojavnost CD30-molekule na stanicama koje infiltriraju lediranu kožu u djece s AD-om istraživali su Cavagni i suradnici.[41] Oni su također utvrdili povećan broj CD30-molekule kao i Frezzolini i suradnici,[42] međutim u svojoj studiji nisu dokazali korelaciju između CD30 i aktivnosti bolesti, niti korelaciju sa sistemskim biljezima IgE-reakcije. Ti rezultati u skladu su s rezultatima Bengtssona i suradnika[33] u odraslih, ali u suprotnosti sa zaključcima Frezzolinija i suradnika kod djece. Naime, prema rezultatima studije Frezzolinija i suradnika prisutnost visoke razine sCD30 u atopijskih pacijenata potvrđuje ulogu te molekule kao aktivacijskog biljega upotrebljivog na evaluaciju *in vivo* Th-2-imunosnog odgovora, dok korelacija s kliničkim skorom (SCORAD-indeksom) prikazuje molekulu CD30 kao dodatni biljeg aktivnosti bolesti pedijatrijskih pacijenata s AD-om.[42]

Takvi konfliktni rezultati mogu biti uzrokovani različitim karakteristikama bolesnika i kontrolne skupine ili metodološkim problemima. Pomanjkanje povezanosti može također biti uzrokovano malim uzorkom. Naši rezultati najviše se podudaraju s navodima Cavagnija i suradnika. Na smjer i jačinu povezanosti dvaju obilježja može utjecati više čimbenika. U citiranim radovima bolesnici su bili različite dobi, a ispitne su se skupine razlikovale i po težini kliničke slike prilikom uzimanja uzoraka kože za analizu. To u značajnoj mjeri otežava međusobne usporedbe dobivenih rezultata. Što se tiče naših rezultata, za procjenu korelacije između ekspresija CD30 na limfocitima i SCORAD-indeksa svakako je značajno mogla utjecati relativno mala učestalost pacijenata s visokim odnosno niskim SCORAD-indeksom. Osim toga neki autori[43] drže da se pri usporedbi kvantitativnih vrijednosti, kao što je broj limfocita s CD30-molekulama na membrani limfocita u koži bolesnika, sa semikvantitativnim obilježjima (ocjena težine bolesti) ne može očekivati izravna korelacija.

Zaključak

Imajući u vidu postavljene ciljeve i utvrđene rezultate, u zaključku možemo istaknuti da u ovom radu utvrđena statistički značajno viša pojavnost CD30-molekule na membranama limfocita u bioptatima kože bolesnika u akutnoj fazi AD-a, ali ne i u bioptatima bolesnika s akutnim KAD-om prikazuje CD30-molekulu kao koristan biljeg u diferenciranju AD-a i KAD-a. Također, pojavnost CD30 u koži bolesnika u akutnoj fazi AD-a mogla bi pojasniti prirodu pozitivne APT-reakcije. Stoga, bi određivanje CD30-molekule u bioptatima kože bilo opravdano kao dodatna metoda u praćenju i liječenju bolesnika s AD-om.

Biopsija i histopatološka pretraga pacijenata ispitne (akutni atopijski dermatitis) i kontrolne (akutni kontaktni alergijski dermatitis) skupine vršena je u Klinici za kožne i spolne bolesti KBC-a i MF-a u Zagrebu, gdje je postavljena dijagnoza ovih bolesti. Imunohistokemijska pretraga učinjena je u Kliničkom zavodu za patologiju KBC-a i Medicinskog fakulteta u Zagrebu (prof. dr. sc. Jasminka Jakić-Razumović).

LITERATURA

1. *Hanifin JM, Rajka G*. Diagnostic features of atopic dermatitis. Acta Derm Venerol (Stock) 1980; 92(Suppl. 92):44–7.
2. *Aberg N, Hasselmar B, Aberg B, Eriksson B*. Increase of asthma, allergic rhinits and eczema in Swedish schoolchildren between 1979 and 1991. Clin Exp Allergy 1995;25:815–9.
3. *Queille-Roussel C, Raunaud F, Saraut JH*. A prospective computerized study of 500 cases of atopic eczema in childhood. Initial analyses of 250 parameters. Acta Derm Venerol (Stockh) 1985;114:87–92.
4. *Diepgen TL, Fartasch M, Hornstein OP*. Evaluation and relevance of atopic basic and minor features in patiens with atopic dermatitis and in the general population. Acta Derm Venerol (Stockh) 1989;144:50–4.
5. *Dekaris D*. Reakcije tipa I anafilaktične reakcije ili reakcije ovisne o reaginima. U: Temeljna alergologija. Zagreb: Školska knjiga, 1983:29–84.
6. *Moffatt MF, Cookson WO.* Genetics of asthma and inflammation: the status. Current Opinion in immunology 1999;11:606–9.
7. *Mihm MC, Soter NA, Dvorak HF i sur*. The structure of normal skin and the morphology of atopic eczema. J Invest Dermatol 1976;67:305–12.
8. *Braathen LR, Forre O, Natvig JB i sur*. Predominance of T lymphocytes in the dermal infiltrate of atopic dermatitis. Br J Dermatol, 1979;100:511–9.
9. *Leung DYM, Ghan AK, Schneeberger EE i sur*. Characterization of the mononuclear cell infiltrate in atopic dermatitis using mononuclear antibodies. J Allergy Clin Immunol 1983;71:47–56.
10. *Evans RI, Wall DW, Platsoucas CD i sur*. Thymus-dependent membrane antigens in man: Inhibition of cell-mediated lympholysis by monoclonal antibodies to the Th2 antigen. Proc Nat Acad Sci USA. 1981;78:544–8.
11. *Ledbetter JA, Evans RL, Lipinski M, Cunningham-Rundles C, Good RA, Herzenberg LA*. Evolutionary conservation of surface molecules that dis-

tinguish T lymphocyte helper/inducer and T cytotoxic/suppressor subpopulations in mouse and man. J Exp Med. 1981;153:310–23.
12. *Dalgleish AG, Beverley PCL, Clapham PR i sur*. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. Nature. 1984;312:763–7.
13. *Garson JA, Beverley PCL, Coakham HB, Harper EJ*. Monoclonal antibodies against human T lymphocytes label Purkinje neurons of many species. Nature. 1982;298:375.
14. *Brenner MB, Groh V, Porcelli SA i sur*. Plenary papers: Structure and distribution of the human T-cell receptor. In: Knapp W, Dorken B, Gilks WR, et al, eds. Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens. Oxford: Oxford University Press; 1989:1049.
15. *Norton AJ, Ramsay AD, Smith SH, Beverley PC, Isaacson PG*. Monoclonal antibody (UCHL-1) that recognizes normal and neoplastic T cells in routinely fixed tissues. J Clin Pathol. 1986;39:399–405.
16. *Akbar AN, Terry L, Timms A, Beverley PC, Janossy G*. Loss of CD45R and gain of UCHL-1 reactivity is a feature of primed T cells. J Immunol. 1988;140:2171–8.
17. *Smith SH, Brown MH, Rowe D, Callard RE, Beverley PC*. Functional subsets of human helper-inducer cells defined by a new morioclonal antibody, UCHL-1. J Immunol. 1986;58:63–70.
18. *Gruss H-J, Herrmann F*. CD30 ligand, a member of the TNF ligand superfamily, with growth and activation control CD30+ lymphoid and lymphoma cells. Leuk Lymphoma 1996;20(S-6):397–409.
19. *Schwab U, Tein H, Gerds N, Lemke H, Kirchner H, Schaadt M, Diehl V*. Production of a amonoclonal antibody specific for Hodgkins and Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease and a subset of normal lymphoid cells. Nature 1982;299:65–7.
20. *Chialre R, Podda A, Prolla G, Gong J, Thorbecke GJ, Inghirami G*. CD30 in normal and neoplastic cells. Clin Immunol 1999;90(2):157–64.
21. *Falini B, Pileri S, Pizzolo G, Durkop H, Flenghi L, Stirpe F, Martelli MF, Stein H*. CD30 (Ki-1) molecule: a new cytokine receptor of the tumor necrosis factor receptor superfamily as. a tool for diagnosis and immunotherapy. Blood 1995;85(1):1–14.
22. *Smith C, Davis T, Anderson D i sur*. A receptor for tumor necrosis factor defines an unusual family of cellular and viral proteins. Science 1990;248: 1019–23.
23. *Lotz M, Setareh M, von Kompis J, Schwarz H*. The nerve growth factor/tumor necrosis factor receptor family. J Leukoc Biol 1996;60(1):1–7.
24. *Gedrich RW, Gilfillan MC, Duckett CS, Van Dongen JL, Thompson CB*. CD30 contains two binding sites with different specificities for members of the tumor necrosis factor receptor-associated factor family of signal transducing proteins. J Biol Chem 1996;271:12852.
25. *De Bruin PC, Gruss HJ, van der Valk P, Willemze R, Meijer CJ*. CD30 expression in normal and neoplastic lymphoid tissue: biological aspects and clinical implications. Leukemia 1995;9(10):1620–7.
26. *Stein H, Mason DY, Gerders J, O'Connor N i sur*. The expression of the Hodgkin's disease associated antigen Ki-1 in reactive and lymphoid neoplastic tissue: evidence that Reed-Sternberg cells and histiocytic malignancies are derived from activated lymphoid cells. Blood 1985;66:848–58.
27. *Horie R, Watanabe T*. CD30: expression and function in health and disease. Semin Immunol 1998;10(6):547–70.
28. *Romagnani S, Del Prete G, Maggi E, Chilosi M, Caligaris-Cappio F, Pizzolo G*. CD30 and type 2 T helper (Th2) responses. J Leukoc Biol 1995;57:726–30.
29. *Younes A, Carbone A*. CD30/CD30 ligand and CD40/CD40 ligand in malignant lymphoid disorders. Int J Biol Markers 1999;14(3):135–43.
30. *Bengtsson A, Johannson C, Linden MT, Hallden G, Ploeg I van der, Scheynius A*. Not only Th2 cells, but also Thl and Th0 cells express CD30 after activation. J Leukoc Biol 1995;58:683–9.
31. European Task Force on Atopic dermatitis. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index (Consensus report of the European Task Force on atopic dermatitis). Dermatology 1993;186:23–31.
32. *Halbert AR, Weston WL, Morelli JG*. Atopic dermatitis: Is it an allergic disease? J Am Acad Dermatol 1995;33:1008–18.
33. *Bengtsson A, Johannson C, Linden MT, Hallden G, Ploeg I van der, Scheynius A*. Not only Th2 cells, but also Thl and Th0 cells express CD30 after activation. J Leukoc Biol 1995;58:683–9.
34. *Dummer V, Brocker EB, Basman BC*. Elevated serum levels of soluble CD30 are associated with atopic dermatitis, but noth with respiratory atopic dermatitis and allergic contact dermatitis. Br J Dermatol 1997;137: 185–7.
35. *Dummer W, Rose C, Brocker EB*. Expression of CD30 on T helper cells in the inflammatory infiltrate of acute atopic dermatitis but not of allergic contact dermatitis. Arch Dermatol Res 1998;290:598–602.
36. *Caproni M, Bianchi B, D'Elios M, De Carli M, Amedei A, Fabbri P*. In vivo relevance of CD30 in atopic dermatitis. Allergy 1997;52:1063–70.
37. *Grewe M, Gyuflco K, Schopf E, Krutmann J*. Lesional expression of interferon-γ in atopic eczema. Lancet 1994;343:25–6.
38. *Sager N, Feldmann A, Schilling G, Kreitsch P, Neumann C*. House dust mite-specific T cells in the skin of subjects with atopic dermatitis: freqency and lymphokine profle in the allergen patch test. J Allergy Clin Immunol 1992;89:801–10.
39. *Virtanen T, Maggi E, Menetti R i sur*. No relationship between skin-infiltrating Th2-like cells and allergen-specific IgE response in atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol 1995;96:411–20.
40. *Hanifin JM*. Assembling the puzzle pieces in atopic inflamation. Arch Dermatol 1996;132:1230–2.
41. *Cavagni G, Caffarelli C, Facchetti F, Brugnoni D, Notaragelo LD, Tosoni C, Altobelli R*. Cutaneous CD30+ cells in children with atopic dermatitis. Int Arch Allergy Immunol 2000;121:224–8.
42. *Frezzolini A, Paradisi M, Ruffelli M, Cadoni S, De Pita O*. Soluble CD30 in pediatric patients with atopic dermatitis. Allergy 1997;52:106–9.
43. *Gebhardt M, Wenzel HC, Hipler UC, Herrmann D, Wolina U*. Monitoring of serologic immune parameters in inflammatory skin diseases. Allergy 1997;52:1087–94.

❦ ❦ ❦

Vijesti
News

1st INTERNATIONAL SYMPOSIUM
ON REGIONAL ANAESTHESIA AND PAIN CONTROL
1st CROATIAN CONGRESS OF REGIONAL ANAESTHESIA AND ANALGESIA

European Society of Regional Anaesthesia
Croatian Society of Regional Anaesthesia and Analgesia
Croatian Medical Association, CSRAA-CMA

June 16–19, 2005, Hotel »Excelsior«, Dubrovnik, Croatia

Za sve potrebne obavijesti obratite se:
Prof. dr. sc. Kata Šakić, 098/318317; tel./fax: 2902440; e-mail: ksakic@kdb.hr
e-mail: hdraa@kbd.hr www.mef.hr/hdraa,

Kongresni servis/Congressional service:
EURO-VAL d.o.o., Mirna 11, 10040 ZAGREB,
http://www.euroval.hr; e-mail: milenka@euroval.hr; tel.: 385 1 2917183; fax: (0)1 2988004

Klinička zapažanja
Clinical observations

TRANSKUTANA ELEKTROSTIMULACIJA SRCA U IZVANBOLNIČKIM UVJETIMA

OUT-OF-HOSPITAL USE OF TRANSCUTANEOUS CARDIAC PACING

DAVOR PODBEVŠEK, SEBASTIJAN FABRIS, JOSIP PODBEVŠEK, IVO PRIZMIĆ*

Deskriptori: Bradikardija – liječenje; Elektrostimulacija srca – metode; Hitna medicinska služba

Sažetak. Transkutana elektrostimulacija srca (TES) neinvazivna je metoda za terapiju teških bradikardija i srčane asistolije. To je metoda koja zbog svoje jednostavnosti ne zahtijeva dugotrajnu edukaciju. Može se primijeniti brzo, pri čemu su izbjegnuti svi rizici vezani za kanulaciju centralnoga venskog puta. Zbog navedenih prednosti TES je u svijetu postala metoda izbora za urgentnu, privremenu elektrostimulaciju srca. To se posebno odnosi na uporabu TES u udaljenim izvanbolničkim centrima. U radu smo prikazali dva slučaja uspješne elektrostimulacije srca kod bolesnika s bradikardijama opasnim za život u uvjetima zdravstvene zaštite na otoku. Zaključili smo da bi uređaj za TES trebao postati dio standardne reanimacijske opreme u svim našim centrima koji se bave djelatnošću hitne medicine.

Descriptors: Bradycardia – therapy; Cardiac pacing, artificial – methods; Emergency medical services

Summary. Transcutaneous cardiac pacing is a non-invasive method for the treatment of serious bradycardias and asystolic cardiac arrest. Due to its simplicity this method does not require a long-lasting education. It can be quickly applied avoiding all the risks connected with the central venous cannulation. Taking into consideration the above mentioned advantages, transcutaneous cardiac pacing has become a well-known method of choice for an emergency temporary cardiac pacing. This refers especially to the use of transcutaneous cardiac pacing in out-of-hospital medical centers. This work shows two cases of successful cardiac pacing in the patients with life threatening bradycardias under the conditions of medicine on the island. The conclusion is that the equipment for transcutaneous cardiac pacing should become a part of the standard resuscitation equipment in all our centers that are involved in the activities of emergency medicine.

Liječ Vjesn 2004;126:298–301

Bradiaritmije nastaju zbog poremećaja stvaranja ili provođenja električnih impulsa u srcu. Ako dođe do nastanka simptoma hipoperfuzije vitalnih organa, potrebna je odgovarajuća terapija. Najprije se pokuša s primjenom medikamentne terapije. Ako se ona pokaže nedjelotvornom, tada je indicirano primijeniti elektrostimulaciju srca. Za uspjeh elektrostimulacije od primarne je važnosti da je srce još dovoljno vitalno kako bi bilo sposobno reagirati na vanjski električni podražaj. Elektrostimulacija se može primijeniti trajno ili privremeno, što ponajprije ovisi o uzrocima koji su doveli do usporenja ili zastanka srca. *Transkutana elektrostimulacija srca (TES) ili vanjska elektrostimulacija srca* tehnički je najbrža i najlakša metoda urgentne elektrostimulacije. Ova je metoda od najveće važnosti za početnu stabilizaciju bolesnika s bradikardijama opasnim za život.[1]

Još 1872. god. de Boulogne je opisao uspješnu reanimaciju djeteta postavljanjem jedne elektrode na ekstremitet, dok je drugom elektrodom ritmički stimulirao prekordij.

God. 1952. Zoll je izvijestio o prvoj praktičnoj primjeni transkutane elektrostimulacije srca (TES) kod dvoje bolesnika s asistolijom,[2] nakon čega je konstruirao i prvi upotrebljivi uređaj za TES. Tim se uređajem mogao preko elektrode oslobađati i dovoditi do srčanog mišića električni stimulus kojim se opetovano i ritmički izazivala depolarizacija i kontrakcija srčanog mišića.[3]

U početku TES ipak nije bila šire prihvaćena, jer su prve proizvedene metalne elektrode izazivale jako bolne mišićne kontrakcije i opekline kože. Tek poboljšanjem tehničkih karakteristika elektroda, metoda TES je našla širu primjenu. To je bila jedina metoda elektrostimulacije sve do ranih šezdesetih godina kada je prvi put uspješno ugrađen trajni elektrostimulator i kada su proizvedene elektrode za transvenski pristup. Osamdesetih se godina TES ponovno vratila u širu kliničku uporabu nakon što su elektrode usavršene i poboljšane karakteristike električnog impulsa čime su navedene nuspojave postale znatno blaže. Povećanjem trajanja impulsa s 2 na 20 ms i više, snizio se izlazni napon potreban za stimulaciju srčane kontrakcije.[4] Time se prilikom elektrostimulacije smanjila i mogućnost nastanka ventrikulame tahikardije (VT) i ventrikulame fibrilacije (VF).

Indikacije za primjenu TES su:

1. simptomatska bradikardija (hemodinamski značajna bradikardija)
2. asistolija.

Bradikardija se definira kao srčana frekvencija manja od 60 otkucaja u minuti, no značajnu bradikardiju predstavlja tzv. apsolutna bradikardija (srčana frekvencija manja od 40/min) i tzv. relativna bradikardija kada je srčana frekvencija niža od očekivane s obzirom na hemodinamsko stanje pacijenta.[5] U procjeni značajnosti bradikardije osnovno je utvrditi je li usporeni srčani ritam izazvao nepovoljne učinke na organizam. Ti se učinci manifestiraju kao: hipotenzija (sistolički tlak niži od 90 mmHg), srčana dekompenzacija, znakovi smanjene cerebralne perfuzije (sinkopa, presinkopa, stanje konfuzije i »ošamućenosti«), stenokardija i pojava ozbiljnih ventrikularnih aritmija.

* **Dom zdravlja Korčula** (Davor Podbevšek, dr. med.; Sebastijan Fabris, dr. med.; Josip Podbevšek, dr. med.), **Dom zdravlja Vela Luka** (Ivo Prizmić, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Dr. D. Podbevšek, Dom zdravlja Korčula, Kalac b.b., 20261 Korčula

Primljeno 25. studenoga 2003., prihvaćeno 5. studenoga 2004.

Slijedom algoritma za postupak kod simptomatske bradikardije[6] najprije se uspostavi venski put i aplicira kisik, a potom primijeni 500 μg atropina iv. s mogućnošću povišenja doze do 3 mg.

Ako na atropin nema potrebnog povećanja srčane frekvencije, tada treba upotrijebiti TES kako bi se na vrijeme izbjegla asistolija srca.

Na povećan rizik od mogućeg nastanka asistoličkoga srčanog aresta upućuju: pojava kompletnog AV bloka sa širokim QRS-kompleksima ili Mobitzova AV bloka tip II te pojava ventrikularnih pauza duljih od 3 sekunde.

TES je jednostavna i sigurna metoda za tretman simptomatskih bradikardija koje su rezistentne na primjenu atropina. Ako TES nije dostupna ili je nedjelotvorna, može se pokušati još i s infuzijom epinefrina u dozi od 2 do 10 μg/min. Kao alternativa privremenoj elektrostimulaciji kod određenih se bradikardija u praksi ponekad parenteralno primijeni adenozinski antagonist teofilin.[7]

Kod tretmana asistolije uz TES se opisuje i metoda *perkusijske stimulacije*. Kod ovog, najjednostavnijeg postupka neinvazivne stimulacije srca, odmjerenim se udarcima rukom na prekordij nastoji potaknuti srčani mišić na kontrakciju. Smatra se da perkusijska stimulacija nije efikasna kao TES, premda se čini da u konačnici između te dvije metode nema veće razlike u učinkovitosti. Naime, kod asistoličkoga srčanog aresta TES je rijetko djelotvorna, a po nekim studijama i potpuno nedjelotvorna[8] jer se u pravilu radi o teško oštećenom i devitaliziranom miokardu. Ipak, neka su druga iskustva pokazala da primjena TES u prvih desetak minuta od početka asistolije može imati određenog efekta.[1] S obzirom na to da teške bradikardije nerijetko progrediraju do asistolije, preporuka je odmah na početku tretmana svake takve disritmije »preventivno« postaviti elektrode, a aparat za TES uključiti u *standby način* (engl. *mode*).

Kao privremena metoda elektrostimulacije TES predstavlja »most« do postavljanja transvenskog elektrostimulatora (privremenog ili trajnog) ili dok se ne odstrani uzrok bradikardije (npr. hiperkaliemija, predoziranje nekim lijekovima.[9] U usporedbi s transvenskom tehnikom privremene elektrostimulacije srca, TES ima više prednosti: može se brzo primijeniti i ne iziskuje dužu obuku. Ne zahtijeva nužno intervenciju liječnika specijalista, tj. mogu je obavljati educirani liječnik opće prakse i medicinska sestra. Tehnički sistem TES je sigurniji od transvenskoga. Zbog neinvazivnosti je TES često pogodna kod bolesnika koji su dobili trombolitičku terapiju. Za razliku od transvenske elektrostimulacije kod TES nema rizika od oštećenja krvnih žila, a izbjegnuta je i mogućnost nastanka nekih drugih teških komplikacija, primjerice pneumotoraksa.

Stoga se TES u svijetu nametnula kao metoda izbora za urgentnu elektrostimulaciju. To se osobito odnosi na primjenu u izvanbolničkim uvjetima, posebno ondje gdje su manje zdravstvene ustanove dosta udaljene od većih centara i koronarnih jedinica. Široku upotrebu TES je našla i u kliničkim odjelima za hitnu medicinu, u operacijskim salama i jedinicama intenzivne skrbi.

Glavni nedostatak TES su neugodne mišićne kontrakcije zbog čega bolesnici u pravilu subjektivno lakše podnose transvenski pacing.[6] Potencijalni problemi s TES mogu nastati kod velikih ljudi koji imaju značajnu transtorakalnu rezistenciju na električnu stimulaciju. Poteškoće mogu nastati i kod bolesnika s izraženim emfizemom pluća te kod većih perikardijalnih izljeva. Rijedak je slučaj da neki bolesnici vrlo loše toleriraju i male impulse elektrostimulacije.

Ventrikulama fibrilacija je kontraindicirana za tretman TES. Teška bradikarija izazvana hipotermijom relativna je kontraindikacija za elektrostimulaciju.

Malo je koja medicinska tehnologija doživjela takav napredak kao TES. U njezin se razvoj neprekidno ulažu značajna sredstva. Transkutani elektrostimulatori postali su u inozemstvu dio standardne opreme u većini centara urgentne medicine s brzom ekspanzijom primjene kako u izvanbolničkim zdravstvenim ustanovama tako i na bolničkim i kliničkim odjelima.

Većina modernih transkutanih elektrostimulatora su multifunkcionalni uređaji integrirani s EKG monitorom i defibrilatorom. Opcija elektrostimulacije kod većine ovakvih uređaja iznosi oko 10% od ukupne cijene uređaja. Elektrostimulatori uvedeni ranih osamdesetih godina imali su ograničenu mogućnost selekcije frekvencije i raspona izlaznog impulsa. U pravilu su rabili samo *asinkroni način (mode)* pri kojem je postojala realna opasnost od izazivanja malignih ventrikularnih aritmija (VT i VF) s obzirom na to da se kod tog načina rada električni impuls oslobađa bez obzira na osnovnu srčanu aktivnost. Zbog toga je razvijena elektrostimulacija *na zahtjev (demand mode)* kojom se prepoznaje svaki QRS-kompleks te sukladno radu srca kontrolirano oslobađaju električni impulsi. Time je izbjegnuta mogućnost induciranja VT i VF. Današnji uređaji za TES obično se koriste *asinkronim načinom* i *elektrostimulacijom na zahtjev*, ali se u pravilu rabi elektrostimulacija *na zahtjev*.

Kod starijih aparata koji mogu vršiti samo elektrostimulaciju, jedna se elektroda (katoda) zalijepi na kožu prednje strane prsnog koša na točki koja odgovara poziciji V_{2-3} EKG elektrode. Druga se elektroda (anoda) postavlja uvijek straga, direktno nasuprot prednjoj elektrodi. Takav je raspored elektroda potreban da se ne bi ometala eventualna defibrilacija.

Kod multifunkcionalnih aparata (elektroda), jedna se elektroda postavlja ispod desne klavikule, a druga se elektroda (lateralna) postavlja u srednjoj aksilarnoj liniji u poziciji V_6 EKG elektrode. Istim se elektrodama, na istim pozicijama mogu vršiti defibrilacija i elektrostimulacija. Moderni defibrilatori u pravilu se koriste bifazičnom defibrilacijom koja ima nedvojbene prednosti pred klasičnom tehnologijom defibrilacije. Prilikom elektrostimulacije, za monitoring se najčešće odvojeno rabe standardne EKG elektrode.

Većina aparata za TES ima mogućnost promjenljive frekvencije impulsa od 30 do 150/min, dok je izlazni impuls prilagodljiv od 0 do 150 mA. Zadnjih su godina značajno usavršene i elektrode za elektrostimulaciju djece.[10]

Tijekom elektrostimulacije postoji zanemariva mogućnost da dođe do električne ozljede osobe koja obavlja elektrostimulaciju s obzirom na to da je snaga oslobođenog impulsa manja od 1/1000 od snage impulsa koji se rabe kod defibrilacije.[11]

Tehnički postupak TES vrši se tako da se najprije postave elektrode i aktivira aparat. Ako se radi o bradiasistoličkom arestu, može se odmah zadati maksimalni izlazni impuls stimulacije *(pacing current)*, a nakon uspješne stimulacije srca, izlazni se napon može smanjiti do vrijednosti neposredno iznad *praga stimulacije* (engl. *capture treshold*). U pacijenata koji nisu u arestu, ali imaju bradikardiju koja ozbiljno remeti hemodinamiku, izlazni se impuls s najnižih vrijednosti postupno povećava sve dok se ne postigne elektrostimulacija (obično od 50 do 100 mA).

Zadana djelotvorna frekvencija za odrasle najčešće je u rasponu od 60 do 90/min. Nakon što se registrira stimulacija srčanog mišića, izlazni se impuls postavi na vrijednost neposredno iznad dostignutog praga stimulacije. Prilikom povećanja vrijednosti izlaznog impulsa na ekranu monitora pojavi se marker stimulacije. Kada se uspiju depolarizirati ventrikuli, iza markera se pojave široki QRS-kompleksi i T-valovi, što znači da je postignuta *električna stimulacija*.

Tek palpabilan puls znači da je postignuta i *mehanička stimulacija*, tj. da je došlo do kontrakcije srčanog mišića, a što znači da je uspostavljena uspješna elektrostimulacija srca.

Ako prilikom TES pacijenti teško podnose mišićne kontrakcije, može im se ordinirati neki od analgetika ili benzodiazepinskih sedativa.

Treba svakako spomenuti da se preko elektroda za elektrostimulaciju kod uređaja za TES koji imaju veliki raspon frekvencije, može vršiti i tzv. *stimulacija s pretjecanjem* (engl. *overdrive pacing*) ventrikularne tahikardije i paroksizmalne supraventrikularne tahikardije.[12,13] Osnovni princip tehnike je da se frekvencija impulsa postavi za 20–60 impulsa/min iznad frekvencije tahidisritmije. Tada se asinkronom elektrostimulacijom primijeni 6–10 impulsa s izlaznim naponom oko 120 mA. Većina uređaja za TES ima maksimalnu frekvenciju impulsa od 150/min, što onemogućuje primjenu ove tehnike. Neki su autori opisali i manje djelotvornu tehniku *underdrive pacinga* (primjena frekvencije pacinga ispod frekvencije disritmije).[14] Tehnikom *elektrostimulacije pretjecanjem* trebali bi se koristiti većinom liječnici specijalisti zbog složenosti dijagnostike i liječenja tahidisritmija, kao i realne mogućnosti da se tehnikom izazove ubrzanje tahidisritmije i srčani arest.

Prikaz bolesnika

Prvi slučaj:

72-godišnja žena primljena je u službu HMP Doma zdravlja Korčula s dispnejom i otežanim kontaktom. Izmjeren je krvni tlak 85/50 mmHg, periferni puls gotovo nepalpabilan, karotidni puls 38 min, pravilan, na plućima pri bazama vlažni hropčići, vratne vene distendirane, nije imala perifernih edema. Bolesnica je višegodišnji kardiopat. Nekoliko sati prije prijma »zabunom« je uzela »tri ili četiri tablete« Rytmonorma od 300 mg. Učinjen je EKG koji pokazuje totalni AV blok sa širokim QRS-kompleksima i frekvencijom 38/min. Ordiniran je iv. atropin: najprije 1 mg, a potom još 2 mg. Budući da nije došlo do povećanja srčane frekvencije, postavljen je transkutani elektrostimulator. Uz zadanu frekvenciju od 70/min, postignuto je mehaničko »hvatanje« na izlaznom impulsu od 80 mA. Brzo dolazi do oporavka svijesti uz normalizaciju disanja.

Uz liječničku pratnju bolesnica je u stabilnom stanju transportirana u koronarnu jedinicu županijske bolnice. Tijekom transporta nastavljena je elektrostimulacija sve do samog dolaska u bolnicu kada je došlo do uspostave sinusnog ritma tako da je prestala potreba za elektrostimulacijom. Bolesnica je zadržana još kraće vrijeme na bolničkoj opservaciji tijekom koje nije zabilježeno nikakvih poteškoća.

Drugi slučaj:

79-godišnja žena, koja se niz godina liječi zbog ishemičke kardiomiopatije, primljena je u službu HMP Doma zdravlja u Veloj Luci u slici kardiogenog šoka: praktički nemjerljiva krvnog tlaka i nepalpabilnog perifernog pulsa, dispnoična sa znakovima zastoja na plućima, nekontaktibilna. EKG pokazuje totalni AV blok sa širokim QRS-kompleksima i frekvencijom 22/min. Daju se 3 mg atropina iv., ali ne dolazi do povećanja srčane frekvencije. Odmah se postave elektrode za transkutanu elektrostimulaciju. Uz zadanu frekvenciju od 70/min, uspije se postići mehaničko »hvatanje« na izlaznom impulsu od 90 mA. Postupno dolazi do oporavka svijesti, a krvni tlak se održava oko 100/60 mmHg.

Bolesnica je u stabilnom stanju uz pratnju liječnika prevezena helikopterom do koronarne jedinice u Splitu. Tijekom transporta nastavljena je transkutana elektrostimulacija srca. Budući da u koronarnoj jedinici nije došlo do uspostave sinusnog ritma, pacijentici je ugrađen trajni elektrostimulator. U idućih nekoliko dana hospitalnog boravka bolesnica se potpuno oporavila.

Rasprava

Otok Korčula je najjužniji otok srednjodalmatinske otočne skupine. Smješten je jugozapadno od poluotoka Pelješca, razdvojen kanalom na udaljenosti oko 1200 m. Otok je dug 46,8 km i širok 7,6 km. S oko 17 000 stalno naseljenih ljudi u desetak naselja, Korčula je uz otok Krk najnaseljeniji hrvatski otok.[15] Tijekom nekoliko ljetnih mjeseci na Korčuli borave mnogobrojni turisti.

Na otoku djeluju dva doma zdravlja (u gradiću Korčuli i u Veloj Luci). Dom zdravlja Korčula skrbi i za zdravlje stanovništva dijela poluotoka Pelješca (oko 5000 stanovnika). Do najbliže bolnice (županijske bolnice u Dubrovniku) s najudaljenije točke na otoku treba putovati cestovnim prometom čak 3 h (uključivo i trajektni prijevoz), a do bolnica u Splitu nam treba cestom oko 5 h. Na otoku postoje dva interventna helidroma, ali se helikopterski transporti ipak ne mogu obaviti u svim meteorološkim uvjetima i od trenutka poziva za let iz Korčule do hitnog bolničkog prijma u Splitu protekne najčešće od jedan i pol do dva sata.

Suočeni s takvom stvarnošću naši su domovi zdravlja godinama uglavnom samostalno planirali i razvijali svoj kadar i nabavljali medicinsku opremu nastojeći podići razinu zdravstvene zaštite do funkcioniranja male bolnice. To je omogućilo da se 1991. u Korčuli formira Ratna bolnica koja je vrlo uspješno radila pune dvije godine.[16] Međutim, 1993. god. korčulanska je bolnica morala prekinuti s radom odlukom Ministarstva zdravstva koje je smatralo da je za mirnodopske potrebe u našoj županiji dovoljna samo bolnica u Dubrovniku. Svjesni da se zatvaranjem bolnice u Korčuli ponovo suočavamo s većim rizikom življenja na otoku, proteklih smo godina uložili puno truda u edukaciju zdravstvenih djelatnika u vještinama reanimacije što se kontinuirano obavlja u velikim centrima pri odjelima za anesteziju. Znatan dio raspoloživih novčanih sredstava usmjerili smo u nabavu potrebne medicinske opreme za reanimaciju i »produženo održavanje života«. Kao najvrjedniju investiciju spominjemo nabavku transportnog respiratora te u svakom domu zdravlja po jednog multifunkcionalnog uređaja s integriranim funkcijama bifazične defibrilacije i transkutane elektrostimulacije srca.

Zaključak

S obzirom na jednostavnost i sigurnost primjene, transkutana elektrostimulacija srca predstavlja najpogodniju metodu za urgentnu elektrostimulaciju srca. Smatramo da bi svi izvanbolnički centri u Republici Hrvatskoj (pogotovo oni s većom udaljenošću od bolnica) trebali imati uređaj s integriranim funkcijama bifazične defibrilacije i transkutane elektrostimulacije srca. Takvi bi uređaji morali postati dio osnovne reanimacijske opreme u svim našim zdravstvenim ustanovama koje se bave hitnom medicinom.

LITERATURA

1. *Hedges JR, Feero S, Shultz B i sur*. Prehospital transcutaneous cardiac pacing for symptomatic bradycardia. PACE 1991;14:1473.
2. *Zoll PM*. Resuscitation of the heart in ventricular standstill by external electric stimulation. N Engl J Med 1952;247:768.
3. *Zoll PM, Linenthal AJ, Norman LR i sur*. Treatment of unexpected cardiac arrest by external electric stimulation of the heart. N Engl J Med 1956; 254:451.
4. *Zoll PM, Zoll RH, Belgard AH*. External noninvasive electric stimulation of the heart. Critic Care Med 1981;9:393.
5. *Gregoritas G, Cheitlin MD, Conill A i sur*. ACC/AHA guidelines for implantation of cardiac pacemakers and antiarrhythmia devices: a report

of the American College of Cardiology /American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Pacemaker Implantation). J Am Coll Cardiol 1998;31:1175–209.
6. European Resuscitation Council. Advanced Life Support Course, ALS Manual 4th edition, 2001.
7. *Cawley MJ, AI-Jazairi AS, Stone EA*. Intravenous theophylline, an alternative to temporary pacing in the management of bradycardia secondary to AV nodal block, Annals of Pharmacotherapy, 2001;35:303–7.
8. *Cummins RO, Graves JR, Larsen MP i sur*. Out-of-hospital transcutaneous pacing by emergency medical technicians in patients with asystolic cardiac pacing. N Engl J Med 1993;328:1377.
9. *Cummins RO, Haulman J, Quan L i sur*. Near-fatal yew berry intoxication treated with external cardiac pacing and digoxin specific FAB antibody fragments, Ann Emerg Med 1990;19:38.
10. *Quan L, Graves JR, Kinder DR i sur*. Transcutaneous cardiac pacing in the treatment of out-of-hospital pediatric cardiac arrest. Ann Emerg Med 1992;21:905.
11. *Syverud SA, Dalsey WC, Hedges JR*. Transcutaneous cardiac pacing (letter). Ann Emerg Med 1984;13:982.
12. *Grubb BP, Temsey-Armos P, Hahn H i sur*. The use of extemal noninvasive pacing for termination of ventricular tachycardia in the emergency department setting. Ann Emerg Med 1992;21:174.
13. *Grubb BP, Samoil D Temsey-Armos R i sur*. The use of external noninvasive pacing for termination of ventricular tachycardia in the emergency department setting. Ann Emerg Med 1993;22:174.
14. *Altamura G, Bianconi L, Boccadamo R i sur*. Treatment of ventricular et supraventricular tachyarrhythmias by transcutaneous cardiac pacing. PACE 1989;12:331.
15. *Smoljanović M, Smoljanović A, Nejašmić I*. Stanovništvo hrvatskih otoka – nakladnik Zavod za javno zdravstvo Županije splitsko-dalmatinske, Split, 1999.
16. *Podbevšek J, Šalov D, Podbevšek D, Marović M*. Work of health center on the island of Korčula, Croatia, during war isolation in 1991. Croat Med J 1996;37: 200–5.

DIJAGNOSTIČKA OBRADA ROČNOG VOJNIKA KOD KOJEG JE SLUČAJNO UTVRĐEN POZITIVAN NALAZ VIRUSA HEPATITISA C: PRIKAZ SLUČAJA

DIAGNOSTIC EVALUATION OF MILITARY RECRUIT WHO WAS ACCIDENTALLY FOUND POSITIVE ON HEPATITIS C VIRUS TEST: CASE REPORT

IVICA BILIĆ*

Deskriptori: Hepatitis C – dijagnostika; Hepatitis C protutijela – u krvi; Vojno osoblje

Sažetak. U radu je prikazana dijagnostička obrada ročnog vojnika kod kojeg je slučajnim nalazom pri akciji dobrovoljnog darivanja krvi utvrđen pozitivitet na virus hepatitisa C. Zbog velike sklonosti prelasku u kroničnu bolest, akutni je hepatitis C veliki javnozdravstveni problem. Budući da u određenog broja bolesnika kronični oblik hepatitisa C može prijeći u cirozu jetre te u hepatocelularni karcinom, jasno je da je identifikacija infekcije te rano liječenje u mladoj populaciji kao što su ročni vojnici od iznimne važnosti. Dijagnostičkoj i terapijskoj obradi ročnika pozitivnog na virus hepatitisa C treba pristupiti s maksimalnom ozbiljnošću i zalaganjem te u obradu i liječenje treba uključiti ročnika i više specijalista medicinske struke. Od iznimnog je značenja u obradu uključiti vojnog psihologa i zapovjednika postrojbe te primjenjivati metode zdravstvenog odgoja i prosvjećivanja.

Descriptors: Hepatitis C – diagnosis; Hepatitis C antibodies – blood; Military personnel

Summary. The paper reviews diagnostic evaluation of a military recruit who was accidentally found positive on hepatitis C virus test during blood donation drive. Because of its high tendency of transferring to a chronic disease, acute hepatitis C is one of the major problems in public health. Since in a number of cases chronic hepatitis C may lead to cirrhosis of the liver and hepatocellular carcinoma, it is clear that early identification of the infection and early treatment in young people, as military recruits are, is essential. Diagnostic and therapeutic evaluation of the military recruit positive on hepatitis C virus test must be conducted with maximum thoughtfulness and dedication. It is obligatory to inform and include in the treatment recruit himself and more specialists of various branches of medicine. Inclusion of a military psychologist and commanding officer in evaluation and treatment is desirable. Popular health education and preventive medicine measures must be taken by troop physician in such case.

Liječ Vjesn 2004;126:301–304

Hepatitis C virusna infekcija (HCV) jetre bitan je javnozdravstveni problem zbog znatnog broja oboljelih. Epidemiološki podaci pokazuju da je učestalost anti-HCV-antitijela u Europi od 0,3 do 1,5%,[1–5] a znatno veću prevalenciju nalazimo među intravenskim narkomanima i kod oboljelih od hemofilije, čak i do 80%.[6,7]

Inficirane osobe su izvor bolesti i imaju velik rizik od razvoja kronične bolesti jetre. U 75–85% osoba koje su preboljele akutni hepatitis C razvije se neki od kroničnih oblika bolesti.[8]

Radi se o progredijentnoj bolesti koja s vremenom, u većeg broja bolesnika, dovodi do razvoja teških, ireparabilnih posljedica s razvojem manifestne hepatalne insuficijencije, pa čak i hepatocelularnog karcinoma.

Trenutno nema zadovoljavajuće terapije kroničnog hepatitisa C. Iako HCV nema retrovirusnih svojstava poput sposobnosti integriranja u domaćinovu DNK, ipak uzrokuje razvoj kronične infekcije u znatnog broja primoinficiranih osoba.[9]

* **Novačko povjerenstvo Split, Ministarstvo obrane Republike Hrvatske** (mr. sc. Ivica Bilić, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Mr. sc. I. Bilić, Ministarstvo obrane RH, Novačko povjerenstvo, Divulje bb, 21221 Divulje

Primljeno 30. siječnja 2003., prihvaćeno 29. prosinca 2004.

Svi mogući mehanizmi prijenosa HCV-a te osobitosti izbjegavanja domaćinova sustava imunološke eliminacije nisu još dostatno upoznati.

Dva su osnovna načina prijenosa hepatitisa C: parenteralni i neparenteralni.

Parenteralni prijenos obuhvaća prijenos HCV-a primjenom celularnih produkata krvi i primjenom produkata plazme kod bolesnika koji su primali transfuziju krvi. Najčešći put parenteralnog prijenosa je kod intravenskih narkomana, upotrebom nesterilnih igala. Parenteralni put prijenosa je moguć i kod bolesnika na hemodijalizi, primatelja organa i zdravstvenih djelatnika. Ostale rizične skupine u populaciji obuhvaćaju sve koji zbog prirode zanimanja dolaze u doticaj s krvlju drugih ljudi (vojnici, policajci, sportaši, kozmetičari, frizeri, tetovažeri, akupunkture i sl.).

Kako je već i spomenuto, najveća prevalencija infekcije nađena je kod intravenskih ovisnika te kod primatelja krvi. Nakon 1987. godine naglo se smanjuje broj inficiranih putem transfuzije krvi, a povećava broj inficiranih među intravenskim ovisnicima.[10,11]

Neparenteralni put prijenosa obuhvaća perinatalni (vertikalni) put prijenosa s majke na dijete, prijenos seksualnim kontaktom i obiteljskim socijalnim kontaktom.

Prema dostupnim podacima prevalencija HCV-infekcije mjerene pozitivnim nalazom anti-HCV-a u serumu dobrovoljnih davatelja krvi u Hrvatskoj iznosi 1,6%.[12]

Dijagnostika HCV-infekcije

Inkubacija HCV-infekcije iznosi najčešće 6 do 12 tjedana. HCV-infekcija ima asimptomatski tijek u većine inficiranih osoba, a samo u otprilike 10% inficiranih razvije se anikterični ili, rjeđe, ikterični oblik bolesti.[13,14]

U bolesnika oboljelih od kroničnog hepatitisa C, neovisno o patohistološkom obliku, najstalniji simptom bolesti je neobjašnjiv umor.[15,16] Ostali mogući simptomi bolesti poput slabijeg teka, napetosti i muklih boli ispod obaju rebrenih lukova, jutarnje mučnine i ikterusa nisu konstantni. Objektivno se u tih bolesnika nalazi palpatorno povećana, umjereno bolna jetra i nešto rjeđe, umjerena splenomegalija, a od laboratorijskih nalaza najčešće su patološke vrijednosti aminotransferaza.

Ključ brze dijagnostike su, kao i kod drugih hepatitisa, povišene vrijednosti aspartat-aminotransferaze (AST) i alanin-aminotransferaze (ALT). Vrijednosti ukupnog i direktnog bilirubina u serumu kod akutnog hepatitisa C variraju od 20 μmola/L do 200 μmola/L, a kod kroničnih oblika većinom su u granicama normale, osim kod teških egzacerbacija.[17,18]

Tipičan, iako dijagnostički nedostatno specifičan nalaz u bolesnika s akutnim i kroničnim hepatitisom C jesu povišene vrijednosti gama-glutamiltransferaze (GGT).[19,20]

Dijagnoza hepatitisa C potvrđuje se nalazom anti-HCV-antitijela enzimskom imunoesej metodom (MEIA). U rijetkim slučajevima kada se sumnja na kronični hepatitis C, a MEIA je negativan, dijagnoza se potvrđuje detekcijom HCV RNK u serumu lančanom reakcijom polimerazom ili RIBA-testom (recombinant immunoblot assay).

Anti-HCV-antitijela mogu se otkriti u serumu kod 80% inficiranih u vremenu od 15 tjedana nakon infekcije, u 90% inficiranih pet mjeseci nakon infekcije, a čak u 97% inficiranih u vremenu šest mjeseci od trenutka infekcije.[21]

Prosječno vrijeme od ekspozicije do serokonverzije iznosi 50 dana, iako može biti i do 9 mjeseci.[1]

Pozitivan nalaz anti-HCV-antitijela u serumu ponajprije upućuje na imunosni odgovor, a ne na aktivnu viremiju i može značiti akutnu infekciju, završenu akutnu infekciju, kroničnu aktivnu ili inaktivnu infekciju, a ako se jednokratno mjeri, i lažno pozitivan nalaz.[9]

S pomoću lančane reakcije polimerazom može se otkriti nukleinska kiselina HCV-a u serumu (viremija). Kvantitativno određivanje HCV RNK u serumu, a time i opsega viremije, može biti važno u liječenju i prognozi kod bolesnika s HCV-infekcijom.[22,23]

Za sada nema testa kojim bi se sigurno mogla razlikovati akutna HCV-infekcija od kronične infekcije.[18,24,25]

Diferencijalna dijagnoza

Akutni i kronični hepatitis razlikuju se od sličnih bolesti uglavnom temeljem seroloških testova, a rjeđe temeljem anamneze i kliničkog pregleda pacijenta. Kronični hepatitis C diferencijalnodijagnostički treba razlikovati od kroničnog hepatitisa B, kroničnog alkoholnog hepatitisa, kroničnih autoimunosnih hepatitisa, kroničnih hepatitisa induciranih lijekovima te kroničnih oštećenja jetre u tijeku drugih bolesti (tuberkuloza, dijabetes, hemoblastoze, kolagenoze, Wilsonova bolest, hemokromatoza i dr.).

Testiranje HCV-infekcije uz anamnestičke podatke, klinički izgled i tijek, ostale dijagnostičke postupke te uspješnost liječenja najčešće su dostatni za razlikovanje.

Prognoza

Prognoza je varijabilna ovisno o tipu kronične bolesti i genskim varijacijama virusa. Postoji najmanje 6 genotipova i više od 30 podtipova HCV RNK. HCV-genotip je neovisni prediktor uspješnosti liječenja interferonom alfa. Prognoza je lošija ako se radi o perzistentnoj infekciji HCV-genotipom 1b i 1a ili ako se radi o superinfekciji HDV-om. U mnogim slučajevima razvije se konačno hepatocelularna insuficijencija i ciroza.[26,27] Individualno se ne može sa sigurnošću predvidjeti tijek kroničnog hepatitisa C bez obzira na primijenjeno liječenje.[9] Povećano uzimanje alkohola, dob iznad 40 godina i muški spol povezani su s lošijom prognozom bolesti.[28]

Terapija

Interferon alfa tri puta na tjedan tijekom 6 mjeseci povezan je s normalizacijom transaminaza u 50% ili padom vrijednosti transaminaza u 70% bolesnika, međutim njegovo uzimanje je ograničeno brojnim mogućim nuspojavama. Ipak, liječenje interferonom alfa može smanjiti rizik od razvoja hepatocelularnog karcinoma i ciroze jetre. Glukokortikoidi su neefikasni.

Trajni odgovor uz terapiju interferonom može se očekivati ovisno o genotipu i visini viremije te o trajanju infekcije u 10–30% bolesnika.

U liječenju se, s većim ili manjim uspjehom, rabe i druga antivirusna sredstva, najčešće ribavirin, azatimidin, ganciklovir i suramin te modifikatori imunosnog odgovora i imunomodulatori. Najbolji učinak je pokazala kombinacija interferona alfa 2B i ribavirina.[29] Potrebna je daljnja evaluacija učinkovitosti navedenih sredstava koja treba biti temeljena na rezultatima prospektivnih, kontroliranih kliničkih studija.[30]

Liječenje je skupo, s dosta nuspojava, od kojih su neke tako teške da zahtijevaju prekid terapije. Transplantacija jetre je uspješnija nego u kroničnom hepatitisu B. Ako bolesnik ima biokemijski odgovor (normalizacija transaminaza) bez imunosnog (HCV RNK perzistira), nakon prestanka liječenja recidiv je vrlo vjerojatan.[31]

Na temelju dosadašnjih rezultata asimptomatske nosioce virusa s normalnim transaminazama ili bolesnike s dekompenziranom cirozom i kroničnim hepatitisom C nije indicirano liječiti interferonom.[32]

U radu je prikazana dijagnostička evaluacija jednog ročnog vojnika kod kojeg je slučajno, prilikom akcije dobrovoljnog

darivanja krvi kakve se redovito provode u postrojbama HV-a za svaku generaciju ročnih vojnika, utvrđen HCV-pozitivitet.

Prikaz slučaja

Dvadesetogodišnji ročni vojnik prvi put je dobrovoljni davatelj krvi. Obiteljska anamneza je uredna. Prije godinu i pol dana osjetio je da se lakše umara i pojačano znoji. Prije godinu dana primijetio je da je »žućkast« u licu, ali se nije javljao liječniku. »Žutilo« je spontano nestalo nakon nekoliko dana te bolesnik nije poduzimao nikakve dijagnostičke pretrage niti je vršio obradu u smislu otkrivanja mogućeg uzroka »žutila«. Puši kutiju cigareta na dan već četiri godine. Alkohol ne konzumira. Marihuanu konzumira povremeno (jedanput na mjesec), intravensku aplikaciju opojnih sredstava negira. Tetovaža nema. Nikada nije primao krv niti bio podvrgnut kirurškom zahvatu. Seksualnih kontakata nije imao. U fizikalnom statusu ne nalazi se nikakvih poremećaja.

Laboratorijski nalazi nakon utvrđenog HCV-pozitiviteta: SE 14; L 10,1x10^9/l; DKS – nalaz u granicama normale; AST 19 IU/L; ALT 11 IU/L; gama GT 16 IU/L; ALP 225 IU/L; alfa-amilaza 106 IU/L; ukupni bilirubin 20,5 μmola/L; direktni bilirubin 10,3 μmola/L.

Nalaz infektologa: vjerojatno se radi o kroničnom hepatitisu C. Pacijent treba izbjegavati potencijalne hepatotoksike. Potrebno je kontrolirati nalaze bilirubina i transaminaza dva–četiri mjeseca. Kontrola kod infektologa s nalazima.

Algoritam obrade

Nakon utvrđenog HCV-pozitiviteta, ročnik se poziva na klinički pregled s anamnezom u ambulantu postrojbe, upućuje se na laboratorijske preglede te na ponovno testiranje anti-HCV-antitijela, RIBA HCV-test i HCV RNK.

Nakon završetka dijagnostičke laboratorijske obrade, ročnik se upućuje na pregled specijalistu infektologu. Nakon pregleda infektologa, a ovisno o kliničkom stanju, laboratorijskim nalazima i prognozi bolesti odlučuje se da li je ročnik sposoban za daljnje služenje vojnog roka ili ga treba uputiti na Novačko povjerenstvo koje će donijeti ocjenu o privremenoj ili trajnoj nesposobnosti za služenje vojne obveze. Od iznimnog je značenja pokušati utvrditi radi li se kod ročnika o akutnoj ili kroničnoj infekciji te ročnika upoznati sa svim značajkama bolesti (izvor i način zaraze, načini prijenosa, klinička slika, terapija, prognoza).

Rasprava

Dijagnostičkoj i terapijskoj obradi ročnog vojnika pozitivnog na HCV pristupa se s maksimalnom ozbiljnošću i zalaganjem kakvo takvo stanje i zahtijeva. U obradu i liječenje potrebno je uključiti ročnika i više specijalista medicinske struke, a po potrebi i vojnog psihologa.

Teoretski je moguće da HCV-pozitivni ročnik odsluži vojni rok bez ikakve dijagnostičke i/ili terapijske intervencije, čak i bez saznanja zdravstvenih djelatnika da je HCV-pozitivan.

U Hrvatskoj vojsci, odnosno Oružanim snagama, zdravstveni odgoj obvezatno provode svi zapovjednici, na različite načine, a zdravstveni djelatnici neposredno planiraju i rade na zdravstvenom prosvjećivanju u svojim postrojbama. Zdravstveni odgoj u HV-u se izvodi trajno, a metode i sredstva se prilagođavaju određenoj situaciji.

Bitna karakteristika slučaja kada je ročnik HCV-pozitivan jest potreba primjene metoda zdravstvenog odgoja i prosvjećivanja i ročnika i zapovjednog kadra postrojbe, kao osnovnih mjera sekundarne prevencije. Nerijetko se događa da se u postrojbi stvori negativna atmosfera zbog slučajnog nalaza HCV-pozitiviteta kod ročnog vojnika zbog neznanja i neinformiranosti. Naime, neopravdano se misli da od hepatitisa C pobolijevaju samo i isključivo narkomani i promiskuitetne osobe te takvi ročnici bivaju socijalno isključeni i izolirani. Jedna od glavnih zadaća postrojbenog liječnika jest zdravstveni odgoj i prosvjećivanje kako bi se navedene i slične situacije izbjegle.

Sukladno novim planovima vojne obuke koja traje 6 mjeseci zadatak je i dužnost postrojbenog liječnika da prati i nadzire zdravstveno stanje HCV-pozitivnog ročnog vojnika te da u slučaju premještaja u drugu postrojbu upozna kolegu liječnika (usmeno ili pismeno) s dijagnostičkom i terapijskom obradom koja je do trenutka premještaja obavljena.

Nedopustiv je propust ako se obrada i liječenje ovako složenog medicinskog problema prepusti inicijativi ročnika ili zapovjednika.

U postrojbama HV-a poželjno je provoditi mjere prevencije na primarnoj, sekundarnoj i tercijarnoj razini. Primarna prevencija sastoji se u zdravstvenom odgoju i prosvjećivanju, te u (ne)obvezatnom skriningu ročne populacije i rizičnih skupina pri dolasku na služenje vojnog roka u postrojbe HV-a. Poželjno bi bilo da se skrining za rizične skupine napravi već pri zdravstvenom pregledu prilikom novačenja, no za to postoje organizacijsko-ekonomska ograničenja.

Mjere sekundarne prevencije obuhvaćaju rano otkrivanje inficiranih HCV-om. Identifikacija HCV-pozitivnih osoba omogućuje i ranu terapijsku intervenciju te može spriječiti daljnje oštećenje jetre. U ove mjere ubraja se i određivanje sposobnosti ročnika za služenje vojne obveze.

Mjere tercijarne prevencije obuhvaćale bi liječenje i »rehabilitaciju« kronično inficiranih osoba, te u sadašnjim uvjetima, nemaju veliku važnost u postrojbama HV-a, budući da nije čest slučaj da se identificira HCV-pozitivan ročnik sa već uznapredovalim kroničnim oštećenjem jetre.

Nositelj procesa dijagnostičko-terapijske evaluacije slučajno izoliranog nalaza HCV-pozitiviteta kod ročnog vojnika u postrojbama HV-a treba biti postrojbeni liječnik.

Iznesena mišljenja stav su autora i nisu nužno i službeno stav Ministarstva obrane Republike Hrvatske.

LITERATURA

1. *Alter MJ, Margolis HS, Krwczynski K i sur*. The natural history of community-acquired hepatits C in United States. N Engl J Med 1992;327: 1899–905.
2. *Esteban R*. Epidemiology of hepatitis C infection. J Hepatol 1993;17 (Suppl 3):67–71.
3. *Yano M, Yatsuhashi H, Inone O, Inokuchi K, Koga M*. Epidemiology and long term prognosis of hepatits C infection in Japan. Gut; 1993;34 (Suppl 2):13–6.
4. *Lauer GM, Walker BD*. Hepatitis C virus infection. N Engl J Med 2001; 345:41–52.
5. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep 1998;47(RR-19):1–39.
6. *Makris M, Preston FE, Triger DR, Underwood JCE, Westlake L, Adelman MI*. Interferon alfa for chronic hepatitis C in haemophiliacs. Gut, 1993;4 (Suppl 2):121–23.
7. *Westh H, Worm AM, Jensen BL i sur*. Hepatitis C virus antibodies in homosexual men and intravenous drug users in Denmark. Infection 1995; 21:112–14.
8. *Alter MJ, Margolis HS, Krawczynski K i sur*. The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. N Engl J Med 1992;327: 1899–905.
9. *Palmović D*. Virusni hepatitis. Zagreb: Školska knjiga; 1995, str. 51–71.
10. *Alter HJ, Purcell RH, Shih JW i sur*. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. N Engl J Med 1989;321:1494–500.
11. *Aach RD, Stevens CE, Hollinger FB i sur*. Hepatitis C virus infection in post-transfusion hepatitis. An analysis with first- and second-generation assays. N Engl J Med 1991;325:1325–9.
12. *Bingulac-Popović J, Grahovac B, Zambeli J i sur*. Detection of hepatitis C virus by PCR among Croatian blood donors and patients. Period biol 1998;100:389–94.

13. *Bonino F, Brunetto MR, Negro F i sur*. Hepatitis C virus infection and disease: Diagnostic problems. J Hepatol 1993;17(Suppl 3):78–82.
14. *Czaja AJ*. Chronic hepatitis C virus infection – a disease in waiting? N Engl J Med 1992;327:1949–50.
15. *Alter MJ*. Community acquired viral hepatitis B and C in United States. Gut 1993;94(Suppl 2):17–9.
16. *Lefkowitch JH, Schiff ER, Davis GL i sur*. Pathological diagnosis of chronic hepatitis C: a multicenter comparative study with hepatitis B. Gastroenterology, 1993;104:595–603.
17. *Scherlock S*. Viral hepatitis C. Curr. Opin. Gastroenterol.1993;9:341–48.
18. *Bonino F, Collorado M, Bellati G i sur*. Problems in diagnosing viral hepatitis. Gut 1993;34(Suppl 2):36–8.
19. *Palmović D, Košutić Z*. Akutni non-A, non-B hepatitis na području Zagreba – Rezultati obrade 67 bolesnika. Liječ Vjesn 1985;107:327–32.
20. *Kajiwara E, Akagi K, Tsuji H, Murai K i sur*. Low activity of GGT in serume of acute intrahepatic cholestasis. Enzyme, 1991;45:39–46.
21. *Alter HJ, Jett BW, Polito AJ i sur*. Analysis of the role of hepatitis C virus in transfusion-associated hepatitis. U: Hollinger FB, Lemon SM, Margolis HS, ur. Viral Hepatitis and Liver Disease, Baltimore, MD: Williams and Wilkins, 1991, 396–402.
22. *Lau JY, Davis GL, Kniffen J i sur*. Significance of serum hepatitis C virus RNA levels in chronic hepatitis C. Lancet 1993;341:464–5.
23. *Hagiwara H, Hayashi N, Mita E i sur*. Quantitative analysis of hepatitis C virus RNA an serum during interferon alpha therapy. Gastroenterology 1993;104:877–83.
24. *Brechot C*. PCR for the diagnosis of viral hepatitis B and C. Gut 1993; 34(Suppl 2):39–44.
25. *Trepo C, Zouhin F, Alonso C, Petit M, Pichaud C i sur*. Diagnostic markers of viral hepatitis B and C. Gut, 1993;34(Suppl 2):20–5.
26. *Hadziyannis SJ, Giannoulis G, Hadziyannis E i sur*. Hepatitis C virus infection in Greece and its role in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. J Hepatol 1993;17(Suppl 3):72–7.
27. *Gerber MA*. Relation of hepatitis C virus to hepatocellular carcinoma. J Hepatol 1993;17(Suppl 3):108–11.
28. *Poynard T, Bedossa P, Opolon P*. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. Lancet 1997;349:825–32.
29. *Poynard T, McHutchison J, Davis GL i sur*. Impact of interferon alfa-2b and ribavirin on progression of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. Hepatology. 2000;32:1131–7.
30. *Deinstag JL, Isselbacher KJ*. Chronic hepatitis U: Fauci AS i sur., ur. Harrison's principles of internal medicine. New York:McGraw-Hill; 1998, str. 1696–1704.
31. *Coppola R, Rizzeto M, Bradley DW*. Hepatitis C. U: Crivelli O, ur. Viral hepatitis handbook. Salhegin Italy: Sorin Biomedica Diagnostics; 1996, str.105–11.
32. *Dienstag JL, Isselbacher KJ*. Chronic Hepatitis. U: Braunwald E, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson J, ur. Harrison' principles of internal medicine 15th ed. New York:McGraw-Hill Professional; 2001, str. 1478–83.

LAPAROSKOPSKO ZBRINJAVANJE KOLECISTODUODENALNE FISTULE – PRIKAZ SLUČAJA

LAPAROSCOPIC REPAIR OF A CHOLECYSTODUODENAL FISTULA – A CASE REPORT

ŽELJKO BUŠIĆ, DRAŽEN SERVIS, IGOR STIPANČIĆ, VLATKA BUŠIĆ*

Deskriptori: Crijevna fistula – kirurgija; Duodenalne bolesti – kirurgija; Bilijarna fistula – kirurgija; Laparoskopska kolecistektomija

Sažetak. Iako se kolecistoduodenalna fistula tradicionalno smatra kontraindikacijom za laparoskopsku kolecistektomiju, u literaturi se mogu naći prikazi njezina uspješnog laparoskopskog zbrinjavanja, bez obzira na to da li je ustanovljena preoperativno ili intraoperativno. Ovdje prikazujemo slučaj preoperativno ustanovljene i potvrđene kolecistoduodenalne fistule koja je uspješno riješena elektivnim laparoskopskim zahvatom, s pomoću staplera Endo-GIA 35. Time se i mi pridružujemo sve većem broju kirurga s mišljenjem da kolecistoduodenalna fistula, pogotovo ako je ustanovljena preoperativno, nije kontraindikacija za laparoskopsku kolecistektomiju.

Descriptors: Intestinal fistula – surgery; Duodenal diseases – surgery; Biliary fistula – surgery; Cholecystectomy, laparoscopic

Summary. Although cholecystoduodenal fistula is traditionally considered a contraindication for laparoscopic cholecystectomy, literature search reveals reports of cholecystoduodenal fistulae successfully repaired laparoscopically, regardless whether cholecystoduodenal fistula was diagnosed before or during operation. Here we present a case of preoperatively diagnosed and confirmed cholecystoduodenal fistula that was successfully repaired during elective laparoscopic cholecystectomy using an Endo-GIA 35 stapling device. Thus we side with the growing number of surgeons who do not consider cholecystoduodenal fistula to be a contraindication for laparoscopic cholecystectomy.

Liječ Vjesn 2004;126:304–306

Kolecistoduodenalna fistula (CDF) rijetka je komplikacija kolelitijaze. Njezina učestalost u novijim prikazima u literaturi varira od 0,2 do 1,3%.[1–3] Osim s kolelitijazom, CDF je povezana i s duodenalnom ulkusnom bolesti.[4,5] Ne postoje specifični simptomi koji bi upućivali na CDF, nego se ona često ustanovi tek prilikom operacije.[2] Nalazi koji mogu upućivati na CDF jesu pneumobilija i malen, fibroziran žučni mjehur koji atherira na okolne organe. Pretraga izbora pri sumnji na CDF je endoskopska retrogradna kolangiopankreatografija.[6]

Nakon uvođenja laparoskopske kolecistektomije kao metode zbrinjavanja kolelitijaze CDF je bila jedna od kontraindikacija za pokušaj laparoskopske kolecistektomije.[7] S vremenom su se u literaturi počeli javljati prikazi uspješnog zbrinjavanja CDF laparoskopskim putem.[8–12] U zadnje vrijeme i rezultati multicentričnih studija[1,3] pokazuju da se CDF može riješiti laparoskopskim zahvatom. Mi ovdje prikazujemo slučaj bolesnice s preoperativno potvrđenom CDF koja je bez komplikacija zbrinuta laparoskopskim putem.

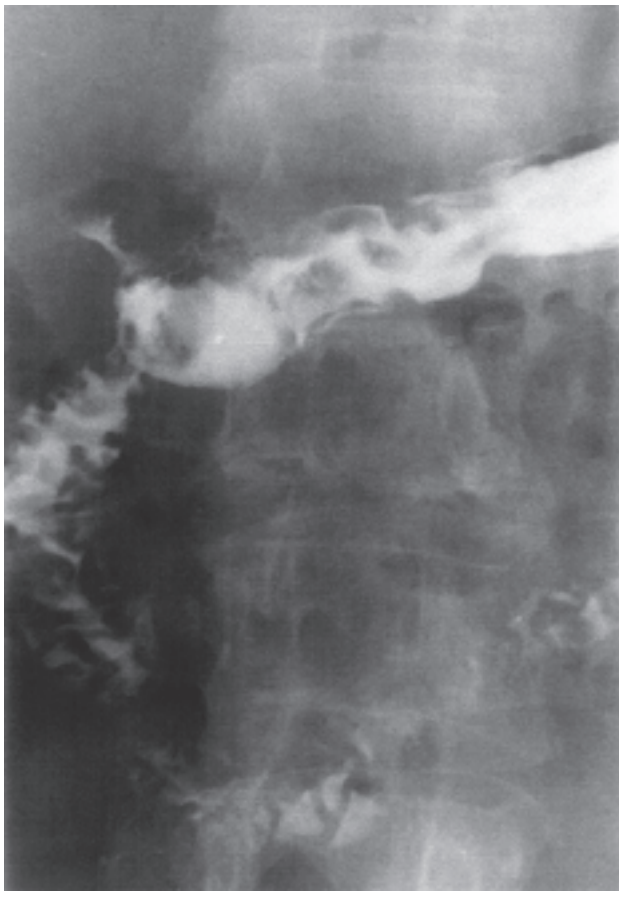
* **Klinička bolnica Dubrava, Odjel za abdominalnu kirurgiju II.** (doc. dr. sc. Željko Bušić, dr. med.; mr. sc. Dražen Servis, dr. med.; doc. dr. sc. Igor Stipančić, dr. med.; Vlatka Bušić, studentica medicine)

Adresa za dopisivanje: Dr. Ž. Bušić, Klinička bolnica Dubrava, Odjel za abdominalnu kirurgiju II., Avenija Gojka Šuška 6, 10000 Zagreb

Primljeno 12. prosinca 2003., prihvaćeno 29. srpnja 2004.

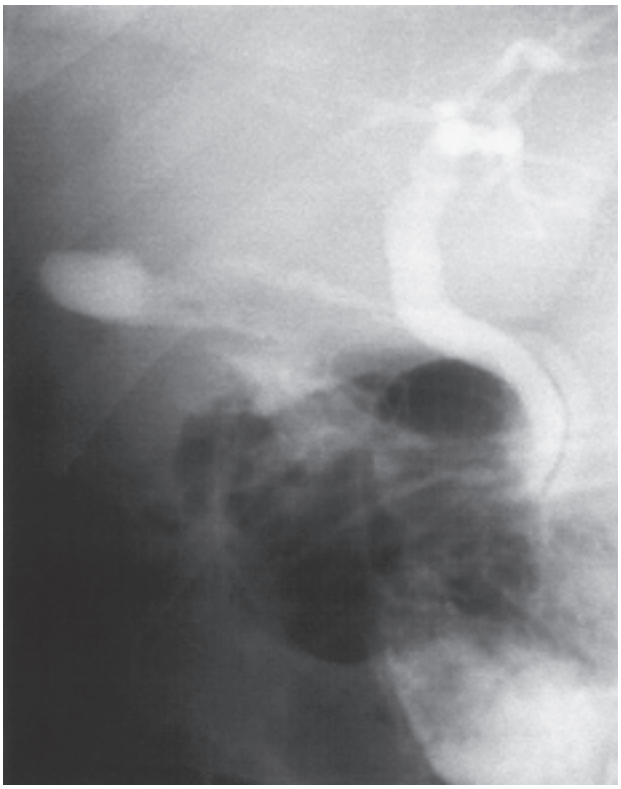
Prikaz slučaja

Bolesnica stara 64 godine došla je u hitnu službu KB Dubrava zbog meteorizma i osjećaja pritiska u gornjem dijelu abdomena, praćenih mučninom, koji su trajali oko mjesec dana. U tom periodu nije povraćala, svakodnevno je imala urednu stolicu. Nije bila febrilna niti je imala zimice ili tresavice. Bolesnici je 9 godina ranije ustanovljena kolelitijaza. Prilikom fizikalnog pregleda abdomen je bio iznad razine prsnog koša, distendiran, na palpaciju mekan i bezbolan, uz urednu peristaltiku. Učinjena je laboratorijska obrada koja nije bila specifična. Učinili smo ultrazvučni pregled abdomena, na kojem se zbog izrazitog meteorizma nisu uspjeli prikazati jetra, žučni mjehur, žučni vodovi ni gušterača. Zatim smo učinili CT abdomena, koji je pokazao uredan nalaz jetre, intrahepatalne i ekstrahepatalne žučne vodove bez znakova dilatacije, ali s prisutnim zrakom. Žučni mjehur bio je malen, skvrčen, naslonjen na duodenum, bez znakova litijaze i također s prisutnim zrakom. S obzirom na prisutnost zraka u bilijarnom stablu i ranije ustanovljenu kolelitijazu koja na CT pregledu nije potvrđena, posumnjali smo na fistulu između bilijarnog stabla i probavnog trakta te smo učinili pasažu želuca i duodenuma gastrografinom. Pasažom se potvrdila manja količina zraka u žučnim vodovima te se ustanovio lateralno smješten fistulozni otvor u početnom dijelu silaznog dijela duodenuma (slika 1). Bolesnica je nakon toga smještena u internu kliniku radi daljnje dijagnostičke obrade.



Slika 1. *Pasaža želuca i duodenuma gastrografinom gdje se na početnom silaznom dijelu duodenuma prikazao fistulozni kanal koji se proteže prema lateralno i gore*

Figure 1. *Gastric and duodenal passage with gastrographin. In the initial descending part of the duodenum a fistulous channel is seen, extending laterally and upwards*



Slika 2. *Detalj endoskopske retrogradne kolangiopankreatografije. Vide se kontrastom prikazani d. choledochus i intrahepatični žučni vodovi te d. cysticus i žučni mjehur. Od infundibuluma žučnog mjehura vidi se istjecanje kontrasta prema početnom silaznom dijelu duodenuma*

Figure 2. *A detail of endoscopic retrograde cholangiopancreatography. Contrast shows d. choledochus and intrahepatic biliary ducts, d. cysticus and gallbladder. The contrast flows out from infundibulum of the gallbladder towards the initial descending part of the duodenum*

Obrada je uključila ezofagogastroduodenoskopiju koja je u želucu prikazala edem uz brojne plitke erozije u antralnom dijelu te obilni refluks žuči. Bulbarni i postbulbarni segment duodenuma bili su uredni. Dalje je učinjena endoskopska retrogradna kolangiopankreatografija, gdje se prikazalo uredno bilijarno stablo, s fistuloznim kanalom između infundibuluma žučnog mjehura i duodenuma, kroz koji je prolazio kontrast (slika 2).

Nakon definitivno dokazane kolecistoduodenalne fistule, bolesnica se premjestila na naš odjel. Nakon preoperativne pripreme, pristupili smo laparoskopskoj operaciji. Nakon uvođenja četiriju troakara na standardnim mjestima za laparoskopsku kolecistektomiju, prikazali smo malen, skvrčen žučni mjehur pokriven velikim omentumom. Prilikom odvajanja omentuma od žučnog mjehura prikazali smo fistulu između infundibuluma žučnog mjehura i duodenuma. Omentum smo do kraja odvojili od žučnog mjehura, a fistulu isprepararili u cijelosti. Zatim su se isprepararili i ductus cysticus i arteria cystica. Tek tada smo fistulu presjekli endo-GIA 35 staplerom, i to na njezinu duodenalnom kraju, tako da smo staplerom zahvatili i dio stijenke duodenuma. Na taj je način fistulozni otvor s okolnom stijenkom odvojen od duodenuma.

Zatim su se presjekli i ductus cysticus i arteria cystica, nakon postavljanja metalnih kopča. Žučni mjehur smo odvojili od njegove lože i izvadili kroz umbilikalno smješten troakar. Provjerili smo hemostazu i nakon ispiranja trbušnog prostora kroz jedan od troakara postavili dren. U žučnom mjehuru nismo našli kamence, koji su najvjerojatnije prešli u duodenum kroz

pronađeni fistulozni otvor, širok oko 15 mm. Izvađeni žučni mjehur i fistulozni kanal poslali smo na patohistološku obradu.

Rani postoperativni tijek je protekao uredno. Dren smo odstranili 3. postoperativnog dana. Bolesnica je 6. postoperativnog dana otpuštena kući. Patohistološki nalaz potvrdio je kolecistoduodenalnu fistulu, uz promjene u žučnom mjehuru koje su odgovarale kroničnom kolecistitisu.

Od operacije je prošlo 18 mjeseci, a bolesnica je na kasnijim redovitim kontrolama bila bez tegoba.

Rasprava

Usprkos tomu što je prilikom razvitka metode laparoskopske kolecistektomije postojanje CDF označeno kao jedna od kontraindikacija za laparoskopsku kolecistektomiju, u literaturi se ubrzo javljaju prikazi pojedinačnih slučajeva gdje je CDF zbrinuta laparoskopskim putem. Tako već 1991. godine Velez objavljuje prikaz laparoskopskog rješavanja CDF.[8] Tri godine kasnije Sharma objavljuje seriju od pet slučajeva fistula, koje su se pokušale riješiti laparoskopski, od kojih su samo dva bila uspješna.[9] Kako se s vremenom tehnika laparoskopskih zahvata sve više razvijala, kasniji prikazi laparoskopskog zbrinjavanja CDF više nisu spominjali potrebu za konverzijom, tako je Chikamori prikazao slučaj gdje je CDF preoperativno dokazana i uspješno laparoskopski zbrinuta.[12] I intraoperativno otkrivena CDF počinje se uspješno rješavati laparoskopski, tako Carlei prikazuje pet,[10] a Crouch[11] dva slučaja uspješno zbrinute intraoperativno ustanovljene CDF. I na kraju, objavljene studije s većim brojem zbrinutih CDF[1,3] također pokazuju da je laparoskopsko zbrinjavanje CDF suvereno, iako još uvijek opterećeno velikim postotkom konverzija. Preporučeni način zbrinjavanja CDF je upravo uz pomoć staplera, kao i u našem slučaju. Nakon uspješnog laparoskopskog zbrinjavanja preoperativno dokazane CDF i mi se pridružujemo stajalištu da se CDF, osobito ako je preoperativno dokazana, više ne može smatrati kontraindikacijom za laparoskopsku kolecistektomiju.

LITERATURA

1. *Angrisani L, Corcione F, Tartaglia A i sur*. Cholecystoenteric fistula (CF) is not a contraindication for laparoscopic surgery. Surg Endosc 2001;15: 1038–41.
2. *Dorrance HR, Lingam MK, Hair A, Oien K, O'Dwyer PJ*. Acquired abnormalities of the biliary tract from chronic gallstone disease. J Am Coll Surg 1999;189:269–73.
3. *Moreno Ruis FJ, del Rey Moreno A, Suescun Garcia RM i sur*. Treatment of cholecystoduodenal fistula in the era of laparoscopy. Rev Esp Enferm Dig 2001;93:715–20.
4. *Page JE, Dow J, Dundas DD*. Ulcerogenic choledochoduodenal fistula. Clin Radiol 1989;40:58–60.
5. *Topal U, Savci G, Sadikoglu MY, Tuncel E*. Choledochoduodenal fistula secondary to duodenal peptic ulcer. A case report. Acta Radiol 1997;38: 1007–9.
6. *Yamashita H, Chijiiwa K, Ogawa Y, Kuroki S, Tanaka M*. The internal biliary fistula-reappraisal of incidence, type, diagnosis and management of 33 consecutive cases. HPB Surg 1997;10:143–7.
7. *Cappuccino H, Cargill S, Nguyen T*. Laparoscopic cholecystectomy: 563 cases at a community teaching hospital and a review of 12,201 cases in the literature. Monmouth Medical Center Laparoscopic Cholecystectomy Group.
8. *Velez M, Mule J, Brandon J, Kannegieter L*. Laparoscopic repair of a cholecystoduodenal fistula. Surg Endosc 1991;5:221–3.
9. *Sharma A, Sullivan M, English H, Foley R*. Laparoscopic repair of cholecystoduodenal fistulae. Surg Laparosc Endosc 1994;4:433–5.
10. *Carlei F, Lezoche E, Lomanto D i sur*. Cholecystoenteric fistula is not a contraindication for laparoscopic cholecystectomy: report of five cases treated by laparoscopic approach. Surg Laparosc Endost 1997;7:403–6.
11. *Crouch DS, Kuhnke M*. Laparoscopic repair of cholecystoduodenal fistula: report of two cases. J Laparoendosc Adv Surg Tech A 2000;10:223–6.
12. *Chikamori F, Okumiya K, Inoue A, Kuniyoshi N*. Laparoscopic cholecystofistulectomy for preoperatively diagnosed cholecystoduodenal fistula. J Gastroenterol 2001;36:125–8.

Vijesti
News

Glavni odbor Hrvatskoga liječničkog zbora
Povjerenstvo za odličja i priznanja Hrvatskoga liječničkog zbora

raspisuje

NATJEČAJ
za odličja i priznanja Hrvatskoga liječničkog zbora u 2005. godini

Na temelju Pravilnika o odličjima i priznanjima Hrvatskoga liječničkog zbora, usvojenog 3. travnja 2002. godine, prijedlozi podružnica i stručnih društava Hrvatskoga liječničkog zbora za odličja i priznanja Zbora dostavljaju se Glavnom odboru HLZ-a, Povjerenstvu za odličja i priznanja, najkasnije do 31. listopada 2005. godine, s ispunjenim upitnikom za predlaganje odličja. Kasnije pristigli i nepotpuni prijedlozi neće se uzeti u razmatranje.

Odličja i priznanja bit će usvojena i objavljena na 114. redovitoj Godišnjoj skupštini Hrvatskoga liječničkog zbora 26. veljače 2006. godine.

Upitnici za predlaganje odličja mogu se podići u Tajništvu HLZ-a u Zagrebu.

RITUKSIMAB U LIJEČENJU INDOLENTNIH NEHODGKINOVIH LIMFOMA

RITUXIMAB IN THE TREATMENT OF INDOLENT NON-HODGKIN'S LYMPHOMA

IGOR AURER, ZDRAVKO MITROVIĆ, IVO RADMAN,
JASMINKA KOVAČEVIĆ-METELKO, DAMIR NEMET, RANKA SERVENTI-SEIWERTH,
RANKA ŠTERN-PADOVAN, JASMINKA JAKIĆ-RAZUMOVIĆ, MARIN NOLA,
SILVA ZUPANČIĆ-ŠALEK, DUBRAVKA SERTIĆ, BORIS LABAR*

Deskriptori: Nehodgkinov limfom – farmakoterapija, patologija; Protutumorski lijekovi – terapijska upotreba, primjena i doziranje; Monoklonska protutijela – terapijska upotreba, primjena i doziranje

Sažetak. Indolentni nehodgkinovi limfomi (NHL) skupina su neoplazmi imunosnog sustava, koje sporo napreduju i ne mogu se izliječiti konvencionalnim liječenjem. Rituksimab je monoklonsko protutijelo usmjereno protiv antigena CD20. Ovaj lijek se sve više rabi u liječenju B-staničnih limfoidnih neoplazma. Ovdje prikazujemo svoja iskustva u 25 bolesnika s indolentnim NHL-om liječenih rituksimabom s kemoterapijom ili bez nje. Bolesnici su rituksimab primali u dozi od 375 mg/m^2 svaka tri do četiri tjedna. Na terapiju je odgovorilo 88% bolesnika: 16 je postiglo kompletnu, a 6 parcijalnu remisiju. Dvogodišnje preživljenje iznosi 63%. Bolesnici s povoljnijim prognostičkim značajkama imaju značajno bolji odgovor i preživljenje. Nuspojave su zabilježene u 2 bolesnika i bile su blage. Naši su rezultati sukladni podacima iz literature i pokazuju da je rituksimab djelotvoran i neškodljiv lijek za liječenje indolentnih NHL B-imunofenotipa.

Descriptors: Lymphoma, non-Hodgkin – drug therapy, pathology; Antineoplastic agents – therapeutic use, administration and dosage; Antibodies, monoclonal – therapeutic use, administration and dosage

Summary. Indolent Non-Hodgkin's lymphomas (NHL) are a group of slowly progressive immune system malignancies that cannot be cured with conventional treatment. Rituximab is an anti-CD20 monoclonal antibody that has recently become a part of the standard treatment of B-cell lymphoid malignancies. Here we present our experience in 25 patients with indolent NHL treated with rituximab with or without chemotherapy. Rituximab was administered at 3–4 week intervals in the standard dose of 375 mg/m^2. 88% of the patients responded, 16 achieved a complete and 6 partial remission. Estimated 2-year actuarial survival is 63%. Response and survival rates were significantly better in patients with favorable prognosis (lower IPI score). Adverse effects related to rituximab occurred in 2 patients and were mild. Our results are completely comparable to previously reported studies and show that rituximab is effective and safe for the treatment of indolent B-cell NHL.

Liječ Vjesn 2004;126:307–311

Nehodgkinovi limfomi (NHL) neoplazme su stanica limfocitne loze.[1–3] Njihovo ishodište može biti u bilo kojem tkivu ili organu, no najčešće su zahvaćeni limfoidni organi, ponajprije limfni čvorovi. Indolentni limfomi su podskupina koja čini 40% svih NHL-a, u krajevima s umjerenom klimom su listom B-imunofenotipa, a karakterizirani su sporom progresijom i nemogućnošću izlječenja konvencionalnom kemoradioterapijom. U ovu skupinu spadaju 1. i 2. stupanj folikularnog limfoma, limfom marginalne zone, limfoplazmocitoidni limfom te limfom malih limfocita. Pojavnost tih bolesti najveća je u srednjoj i starijoj životnoj dobi, a često pridruženi komorbiditet ograničava mogućnost agresivnijeg liječenja. Nema jedinstvenog i općeprihvaćenog terapijskog pristupa u liječenju indolentnih limfoma. Terapijski pristup sastoji se od opservacije, kemoterapije uobičajenim citostaticima, primjene interferona pa sve do agresivnijega kemoterapijskog liječenja i transplantacije koštane srži. Odgovor na uobičajenu uvodnu terapiju u pravilu je dobar, no stopa relapsa je visoka i bolest unatoč terapiji polagano napreduje tako da je preživljavanje bolesnika s indolentnim limfomima u zadnjih tridesetak godina ostalo nepromijenjeno, medijan preživljenja iznosi približno 7 godina.[4] Razvoj monoklonskih protutijela, čiji je mehanizam djelovanja drugačiji od mehanizma citostatske terapije, otvorio je nove mogućnosti liječenja ovih bolesti.

Rituksimab je humanizirano mišje protutijelo usmjereno protiv antigena CD20 koji se nalazi na površini B-limfocita.[5] Sastoji se od ljudske konstantne regije i mišje varijabilne regije, a dobiva se iz hibridnih staničnih kultura. Molekula CD20 je transmembranski površinski protein izražen na B-limfocitima, čiji prirodni ligand kao i njegova uloga nisu do kraja razjašnjeni, no pretpostavlja se da regulira rast i diferencijaciju B-limfocita. CD20 je izražen na više od 85% B-staničnih NHL-a, ali ne na matičnim stanicama, normalnim zrelim plazma-stanicama i ostalim normalnim tkivima. Liječenje rituksimabom dovodi do smanjenja broja malignih, ali i normalnih stanica B-limfocitne loze. To ne dovodi do težih posljedica za bolesnika, jer normalne B-stanice mogu brzo ponovno nastati diferencijacijom iz matičnih stanica, a razina imunoglobulina ne pada značajno zahvaljujući postojećim plazma-stanicama. Ri-

* **Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta i Kliničkoga bolničkog centra, Zagreb** (doc. dr. sc. Igor Aurer, dr. med.; Zdravko Mitrović, dr. med.; Ivo Radman, dr. med.; mr. sc. Jasminka Kovačević-Metelko, dr. med.; prof. dr. sc. Damir Nemet, dr. med.; Ranka Serventi-Seiwerth, dr. med.; dr. sc. Silva Zupančić-Šalek, dr. med.; Dubravka Sertić, dr. med.; prof. dr. sc. Boris Labar, dr. med.), **Klinički zavod za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju Medicinskog fakulteta i Kliničkoga bolničkog centra, Zagreb** (prof. dr. sc. Ranka Štern-Padovan, dr. med.), **Klinički zavod za patologiju Medicinskog fakulteta i Kliničkoga bolničkog centra, Zagreb** (prof. dr. sc. Jasminka Jakić-Razumović, dr. med.; doc. dr. sc. Marin Nola, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Doc. dr. sc. I. Aurer, Zavod za hematologiju, KBC Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb

Primljeno 7. lipnja 2004., prihvaćeno 29. prosinca 2004.

tuksimab uništava CD20-pozitivne stanice na različite načine: citotoksičnošću posredovanom komplementom, citotoksičnošću posredovanom stanicama, indukcijom stanične apoptoze te senzibilizacijom stanica limfoma na citotoksičnu terapiju.[6,7] Rituksimab se standardno primjenjuje u polaganoj intravenskoj infuziji u dozi od 375 mg/m^2 tjelesne površine bolesnika. Prilikom kombiniranja s kemoterapijom, rituksimab se daje neposredno prije kemoterapije.

Dosadašnji rezultati primjene rituksimaba u liječenju indolentnih limfoma mnogo obećavaju. Odgovor na terapiju rituksimabom kao jedinim lijekom varira od, u prosjeku, 50% u bolesnika s refraktornim indolentnim NHL-om ili u relapsu do prosječno 62% u bolesnika s novodijagnosticiranim indolentnim NHL-om.[8,9] Na kombinaciju rituksimaba s kemoterapijom odgovara oko 90% bolesnika s indolentnim limfomima, uz povoljniji omjer kompletne i parcijalne remisije u prethodno neliječenih bolesnika u odnosu na one refraktorne ili u relapsu.[10,11]

Najčešće nuspojave rituksimaba poput povišene temperature, zimice, mučnine i boli javljaju se obično prilikom prve infuzije. Po intenzitetu su blage i većinom nestaju tijekom sljedećih infuzija rituksimaba. Ozbiljne nuspojave poput anafilaksije i sindroma otpuštanja citokina vrlo su rijetke, a obično se javljaju u bolesnika s velikom tumorskom masom.[12]

S obzirom na dobre rezultate i netoksičnost rituksimab se vrlo brzo počeo široko primjenjivati i danas se smatra standardnim oblikom terapije.[13] U ovom radu prvi u Hrvatskoj prikazujemo svoja iskustva u liječenju rituksimabom bolesnika s indolentnim NHL-om.

Bolesnici i metode

Bolesnici

U razdoblju između studenoga 1998. i listopada 2003. u KBC-u Zagreb je 25 bolesnika s indolentnim NHL-om liječeno rituksimabom. Dijagnoza je postavljena histološki. Troje bolesnika primalo je rituksimab kao monoterapiju, dok su ostali primali rituksimab uz kemoterapiju CHOP (ciklofosfamid, doksorubicin, vinkristin, prednizon), COP (ciklofosfamid, vinkristin, prednizon) ili FND (fludarabin, mitoksantron, deksametazon). Većina bolesnika, njih 20, bila je prethodno liječena bar jednom linijom kemoterapije, a troje i radioterapijom. U 5 bolesnika, s novodijagnosticiranim indolentnim NHL-om, je rituksimab primijenjen u kombinaciji s kemoterapijom kao prva linija terapije. Značajke bolesnika u vrijeme početka liječenja rituksimabom prikazane su na tablici 1. Bolesnici su prije primjene lijeka bili obaviješteni o načinu liječenja te mogućim nuspojavama.

Tablica 1. *Značajke bolesnika s indolentnim NHL liječenih rituksimabom*
Table 1. *Characteristics of patients with indolent NHL treated with rituximab*

Dob (godine) / Age (years)	
medijan / median	53
raspon / range	20–71
Spol M/Ž / Sex M/F	16/9
Histološki tip / Histological type	
FL (gr. 1,2)	19
SLL	4
MZL	1
LP	1
Trajanje bolesti (mjeseci) / time since diagnosis (months)	
medijan / median	20
raspon / range	0–157
Broj prethodno primljenih linija terapije / No. of previous therapy lines	
≤1	11
≥2	14
Stadij bolesti / Disease stage	
I	2
II	4
III	2
IV	17
B simptomi / B symptoms	16
IPI	
≤2	17
≥3	8

Kratice / Abbreviations:
FL – folikularni limfom (gradus 1 i 2) / Follicular lymphoma (grade 1 and 2)
SLL – limfom malih limfocita / small lymphocytic lymphoma
MZL – limfom marginalne zone / marginal zone lymphoma
LP – limfoplazmocitoidni limfom / lymphoplasmacytic lymphoma
IPI – međunarodni prognostički indeks / international prognostic index

Metode

Primjena rituksimaba i praćenje bolesnika

Rituksimab je primjenjivan u standardnoj dozi od 375 mg/m^2 u infuziji tijekom 6 sati, najčešće u dnevnoj bolnici. Radi sprečavanja mogućih alergijskih reakcija na lijek, svi su bolesnici dobivali premedikaciju koja se sastojala od paracetamola peroralno te kalcij-glukobionata i kloropiramina u intravenskoj infuziji. Naši bolesnici primili su između 2 i 9 ciklusa rituksimaba, medijan je 4. Tijekom liječenja praćeni su na način uobičajen za ambulantnu kemoterapiju.

Određivanje proširenosti bolesti, prognoze i procjena odgovora na liječenje

Proširenost bolesti određena je prije i nakon liječenja rituksimabom uobičajenim kliničkim i radiološkim metodama. Zahvaćenost perifernih limfnih čvorova procijenjena je palpacijom, zahvaćenost limfnih čvorova u prsnom košu i trbuhu odgovarajućim radiološkim metodama (rendgenogram srca i pluća, UZ trbuha, CT prsnog koša, trbuha i male zdjelice), a zahvaćenost koštane srži biopsijom ili punkcijom. Bolesnici su prema međunarodnom prognostičkom indeksu (IPI)[14] svrstani u skupinu dobre i srednje dobre prognoze (IPI 0-2), odnosno loše i srednje loše prognoze (IPI 3-5). Odgovor na liječenje procijenjen je prema standardnim »Chesonovim« kriterijima.[15]

Nuspojave liječenja

Toksičnost liječenja procjenjivana je prema NCI-CTC kriterijima (National Cancer Institute »Common toxicity criteria«).[16] Terapija je odgađana u slučajevima teške neutropenije, trombocitopenije, vrućice ili infekta.

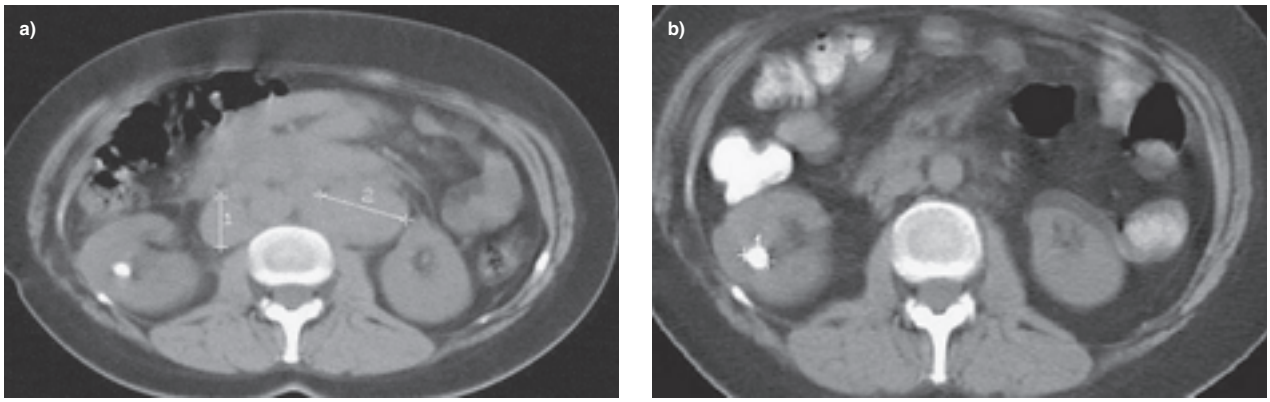
Statistička obrada

Istraživanje je provedeno retrospektivno. Krivulje trajanja najboljeg odgovora i preživljenja načinjene su prema Kaplan-Meierovoj metodi.[17] Za međusobnu usporedbu krivulja upotrijebljen je log-rank test.[18]

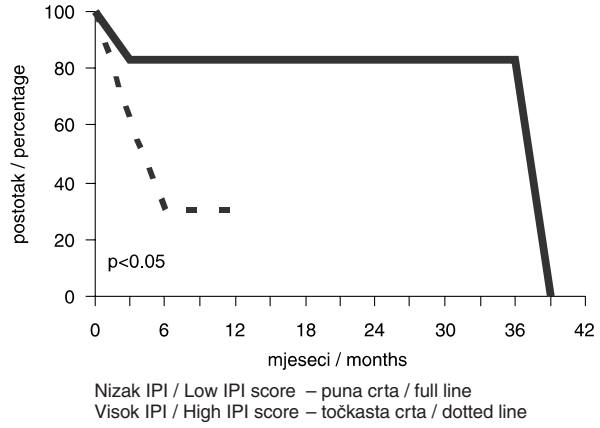
Rezultati

Odgovor na liječenje

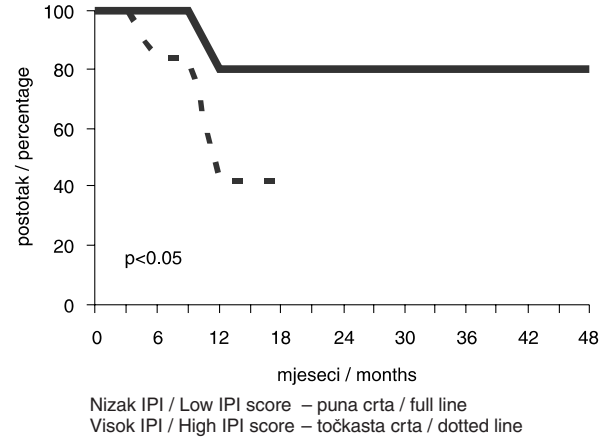
Od 25 bolesnika koji su primali rituksimab odgovor je postignut kod njih 22, što iznosi 88%. Šesnaest bolesnika (64%) postiglo je kompletnu ili nepotvrđenu kompletnu remisiju (slika 1.a i b), šest bolesnika (24%) postiglo je parcijalnu remisiju. Kod tri bolesnika (12%) nije postignut odgovor na terapiju rituksimabom. Nije bilo razlika u odgovoru na terapiju s obzirom na spol ili dob. Postoji statistički značajna razlika (log-rank 6,12, $p<0,05$) u trajanju najboljeg odgovora između skupine bolesnika s povoljnom prognozom (IPI 0-2) u odnosu na bolesnike s nepovoljnom prognozom (IPI 3-5) (slika 2). Promatrana je i razlika u trajanju odgovora između bolesnika koji



Slika 1. *a) Konglomerat retroperitonealnih limfnih čvorova na početku bolesti; b) Kompletna remisija nakon 9 ciklusa rituksimaba i CHOP-a*
Figure 1. *a) Retroperitoneal nodal mass at the onset of disease; b) Complete remission after 9 cycles of rituximab and CHOP*



Slika 2. *Trajanje odgovora na terapiju rituksimabom ovisno o međunarodnome prognostičkom indeksu (IPI)*
Figure 2. *Time to treatment failure after rituximab treatment according to International Prognostic Index (IPI) score*



Slika 3. *Ukupno preživljenje bolesnika liječenih rituksimabom ovisno o međunarodnom prognostičkom indeksu (IPI)*
Figure 3. *Overall survival of the patients treated with rituximab according to International Prognostic Index (IPI) score*

su prethodno tretirani jednom ili ni jednom linijom terapije u odnosu na one koji su primili dvije ili više linija terapije. Usprkos postojanju trenda boljeg odgovora skupine koja je primila prethodno manje terapije, nije nađena statistički značajna razlika.

Do relapsa je došlo kod tri bolesnika (12%), dva su doživjela rani relaps (odgovor je trajao u prosjeku tri mjeseca), a treći nakon 37 mjeseci praćenja. Od tri bolesnika koja nisu odgovorila na terapiju rituksimabom, dva su preminula nakon manje od godine dana usprkos dodatnoj kemoterapiji i radioterapiji, a jedan je izgubljen iz praćenja.

Nakon medijana praćenja od 10 mjeseci (u rasponu od 2 do 47), četiri bolesnika su umrla, a živ je 21. Izračunano dvogodišnje preživljavanje bolesnika (»actuarial survival«) liječenih rituksimabom iznosi 63%. Bolesnici s povoljnom prognozom bolesti (nizak IPI) imaju statistički značajno bolje preživljavanje (log-rank 4,24, $p<0,05$) u odnosu na bolesnike s nepovoljnom prognozom (slika 3). Dob i spol ne utječu na preživljavanje. Sva četiri bolesnika koja su umrla, umrla su od posljedica bolesti. Dva od četiri umrla bolesnika bila su refraktorna na terapiju rituksimabom, dok su druga dva doživjela rani relaps.

U tri bolesnika koji su postigli kompletnu remisiju nakon primjene rituksimaba i kemoterapije učinjena je autotransplantacija koštane srži. Sva tri bolesnika ostala su u kompletnoj remisiji.

Toksičnost rituksimaba

Nuspojave vezane uz primjenu rituksimaba zabilježene su u 2 bolesnika (8%). Glavobolja i oscilacije krvnog tlaka bile su prisutne u jednog bolesnika, a kod drugog su se u prva dva ciklusa neposredno nakon primjene rituksimaba javili papulozni kožni infiltrati i svrbež. Po intenzitetu su bile blage (prvi i drugi stupanj po NCI-CTC) i prolazne te nisu zahtijevale prekid liječenja. Ozbiljnije nuspojave rituksimaba koje bi zahtijevale prekid liječenja nisu zabilježene.

Rasprava

Prema rezultatima dosad objavljenih studija kombinacijom rituksimaba i kemoterapije postiže se kompletna i parcijalna remisija u oko 90% bolesnika s indolentnim NHL.[9–11,20,21] Čini se da, ako se rabi neki od uobičajenih kemoterapijskih protokola za liječenje NHL-a, rezultati ne ovise o vrsti kemoterapije. Sinergistički učinak kombinirane imunokemoterapije može se objasniti rezultatima pretkliničkih ispitivanja. Naime, rituksimab može senzibilizirati rezistentne maligne stanice na kemoterapiju,[22] što je pokazano na kombinaciji fludarabina i rituksimaba.[23]

Naši rezultati potvrđuju da je rituksimab, posebice u kombinaciji s kemoterapijom, djelotvoran i siguran lijek u terapiji indolentnih limfoma. Uzimajući u obzir heterogenost naših bolesnika, naši rezultati potpuno su podudarni s podacima iz literature.

Izračunano dvogodišnje preživljavanje naših bolesnika liječenih rituksimabom nakon medijana praćenja od 10 mjeseci iznosi 63%. Takav, razmjerno loš ishod, može se objasniti skupinom s velikim udjelom bolesnika s refraktornom i uznapredovalom bolesti (80%), od kojih su neki tek u terminalnom stadiju počeli primati rituksimab. Bolji odgovor na terapiju, dulje trajanje odgovora i preživljavanje zabilježeno je kod bolesnika s prognostički povoljnijom bolesti. Broj prethodno primljenih ciklusa terapije, unatoč postojanju trenda, nije pokazao statistički značajan utjecaj na ishod, vjerojatno zbog razmjerno malog broja bolesnika.

Osim navedenih čimbenika i histološki tip indolentnog NHL-a utječe na ishod liječenja rituksimabom. Bolesnici s kroničnom limfocitnom leukemijom/limfomom malih limfocita slabije odgovaraju na terapiju od bolesnika s folikularnim limfomom.[24] To posebno vrijedi za monoterapiju. Mogući razlozi nalaze se u manjoj gustoći receptora CD20 i većem broju cirkulirajućih tumorskih stanica.[25] U našem istraživanju zbog malog broja bolesnika, nije moguće adekvatno usporediti odgovor na rituksimab između tih dviju skupina.

Sva tri bolesnika koja su autotransplantirana nakon remisije postignute primjenom rituksimaba i kemoterapije nalaze se i dalje u kompletnoj remisiji. Povoljan učinak rituksimaba u kombinaciji s autolognom transplantacijom matičnih hematopoetskih stanica tumači se tzv. *in vivo* pročišćavanjem. Naime, uništavajući CD20-pozitivne tumorske stanice prije i za vrijeme mobilizacije matičnih stanica, rituksimab pridonosi smanjenju kontaminacije transplantata tumorskim stanicama i tako povećava vjerojatnost kompletne remisije.[26] Zanimljivo je da isti povoljni učinak nije dokazan prilikom *in vitro* pročišćavanja transplantata rituksimabom.[27]

Nuspojave vezane uz primjenu rituksimaba zabilježene su u dva bolesnika i bile su blage. Takve i slične nuspojave opisane u literaturi (zimice, vrućica, edemi, bronhospazam) posljedica su lučenja proupalnih citokina kao što su TNF-α, interleukin 8, interferon γ.[4] Kod bolesnika s velikom tumorskom masom postoji veća vjerojatnost pojave »sindroma otpuštanja citokina«, što može dovesti do letalnog ishoda, osobito u onih s pridruženim kardiopulmonalnim bolestima.

Naposljetku treba naglasiti da za sada nema direktnih dokaza da liječenje rituksimabom povećava preživljavanje bolesnika s indolentnim limfomima. Za to je potrebno puno duže praćenje, no pitanje je hoće li se i tada dokazati razlika s obzirom na to da u razvijenim zemljama većina bolesnika s B-staničnim NHL-om u nekoj fazi bolesti dobiva rituksimab. Prvo istraživanje u kojem bi se mogla naći razlika u preživljavanju je ono njemačke grupe autora (GLSG) koji su prospektivno uspoređivali kombinaciju mitoksantrona, ciklofosfamida i fludarabina (FCM) s rituksimabom i bez njega kao drugu liniju terapije folikularnih limfoma i limfoma plaštenih stanica (mantle cell).[28] Preživljavanje skupine bolesnika koja je primala rituksimab značajno je bolje nego kod skupine koja je primala samo FCM, no razlika je značajna samo u bolesnika s limfomom plaštenih stanica, dok u bolesnika s folikularnim limfomom postoji trend koji još nije dosegao statističku značajnost.

Još je otvoreno i pitanje optimalne doze rituksimaba. Pokazano je da više doze rituksimaba induciraju i veći postotak remisija,[29,30] odnosno da je standardno doziranje od 375 mg/m^2, zapravo, hipodoziranje. No, uzimajući u obzir visoku cijenu lijeka, navedena doza ipak je općeprihvaćena kao najniža učinkovita doza. Siromašnijim zemljama, poput naše, teško je osigurati financijska sredstva i za to pa su na temelju kriterija HZZO-a donesene preporuke o liječenju indolentnih limfoma i racionalnoj primjeni rituksimaba, tzv. Modificirani hrvatski konsenzus. Prema njemu se rituksimab treba rabiti kao druga linija terapije u indolentnim NHL u kombinaciji s kemoterapijom. Ako se s prva tri ciklusa rituksimaba postigne dobar odgovor, odobravaju se još tri ciklusa. Vjerojatno će objavljivanje rezultata randomiziranih studija i ekonomskih analiza promijeniti postojeće preporuke. Tako je u nekim je zemljama rituksimab već odobren u prvoj liniji terapije za agresivne B-stanične limfome.[31]

U zaključku, može se reći da je rituksimab, osobito u kombinaciji s kemoterapijom, učinkovit i siguran lijek u liječenju indolentnih limfoma. Djelujući sinergistički s kemoterapijom, povećava stopu odgovora i produljuje vrijeme do progresije bolesti ne uzrokujući dodatnu toksičnost, što pokazuje i naše istraživanje. Rezultati brojnih velikih studija pokazati će u kojoj mjeri rituksimab utječe na ukupno preživljenje bolesnika s indolentnim limfomom i usporediti djelotvornost različitih kombinacija citostatika i rituksimaba kako bi se definirala optimalna strategija za liječenje ove bolesti.

Rad je potpomognut sredstvima projekta 108007 i 108511 Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske.

LITERATURA

1. *Harrison's Online;* Chapter 112: Malignancies of lymphoid cells [online]. Available from URL: http:// www.harrisonsonline.com [Accessed 08/04/2004].
2. *National Cancer Institute.* Adult non-Hodgkin's lymphoma (PDQ®): treatment [online]. Available from URL: http: // www.cancer.gov/cancerinfo/pdq/treatment/adult-non-hodgkins/healthprofessional/ [Accessed 08/04/2004].
3. *Dillman RO, Chico S.* Low-grade lymphomas: Comparison of histologic classifications and survival rates for patients diagnosed during the last two decades. Blood 100:275b, 2002 (suppl 1, abstr 4631)
4. *Horning SJ.* Natural history of and therapy for the indolent non-Hodgkin's lymphomas. Semin Oncol 1993;20(Suppl 5):75–88.
5. *Reff ME, Carner K, Chambers KS i sur.* Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. Blood 1994;83:435–45.
6. *Onrust SV, Lamb HM, Balfour JA.* Rituximab. Drugs 1999;58:79–88.
7. *Mathers S, Rickers A, Bommert K i sur.* Anti CD20 and B-cell receptor mediated apoptosis: evidence for shared intracellular signaling pathways. Cancer Res 2000;60:7170–6.
8. *McLaughlin P, Gillo-Lopez AJ, Link BK i sur.* Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma, half of the patients respond to a four-dose treatment program. J Clin Oncol 1998;16:2825–33.
9. *Boye J, Elter T, Engert A.* An overview of the current clinical use of the anti-CD20 monoclonal antibody rituximab. Ann of Oncol 2003;14:520–35.
10. *Czuczuman MS, Grillo-lopez AJ, White Ca i sur.* Treatment of patients with low-grade B-cell lymphoma with the combination of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody and CHOP chemotherapy: J Clin Oncol 1999;17:268–76.
11. *Gregory S, Venugopal P, Adler SS i sur.* Safety and efficacy of fludarabine and mithoxantrone with rituximab consolidation in untreated advanced low grade lymphoma.(LG-NHL). Blood 2001;98(suppl 1):605a (abstr 2534A).
12. *Winkler U, Jensen M, Manzke O i sur.* Cytokine–release syndrome in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia and high lymphocyte counts after treatment with an anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab, IDEC C2B8). Blood 1999;94:2217–24.
13. *Evans LS, Hanckock BW.* Non-Hodgkin lymphoma. Lancet 2003;362:139–46
14. International Non-hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-hodgkin's lymphoma. N Engl J Med 1993;329(14):987–94.
15. *Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B i sur.* Report o fan international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working group. J Clin Oncol 1999;17:1244–53.
16. Cancer Therapy Evaluation Program. Common toxicity criteria, version 2.0. Bethesda, Md.: National Cancer Institute, March 1998 International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. N Engl J Med 1993;329(14):987–94.
17. *Kaplan E, Meier P.* Non parametric estimation from incomplete observations. J Am Stat Associ 1958;53:457–80.
18. *Dawson B, Trapp RG, ur.* Basic & Clinical biostatistics. LangeMedical books/ McGraw-Hill 2001;211–21.
19. *Plosker GL, Figgitt D.* Rituximab: A review of its Use in Non-Hodgkin's Lymphoma and Chronic Lymphocytic Leukaemia Drugs 2003;63(8):803–43.

20. *Marcus R, Imrie K, Belch A i sur.* An international multi-centre, randomized, open-label, phase III trial comparing rituximab added to CVP chemotherapy alone in untreated stage III/IV follicular lymphoma. Blood 2003;102(suppl) 28a (abstr 87).
21. *Economopoulos T, Fountzilas G, Pavlidis N i sur.* Rituximab in combination with CNOP chemotherapy in patients with previously untreated indolent non-Hodgkin's lymphoma The Hematology Journal 2003;4:110–5.
22. *Demidem A, Lam T, Alas S i sur.* Chimeric anti-CD20 antibody sensitizes a B-cell lymphoma cell line to cell killing by cytotoxic drugs. Cancer Biother Radiopharm 1997;12:177–86.
23. *Di Gaetano N, Xiao Y, Erba E i sur.* Synergism between fludarabine and rituximab revealed in a follicular lymphoma cell line resistant to the cytotoxic activity of either drug alone. Br J Haematolo 2001;114:800–9.
24. *Huhn D, von Shilling C, Wilhelm M i sur*. Rituximab therapy of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2001;98:1326–31.
25. *Ginaldi L, De Martinis M, Matules E i sur.* Levels of expression of CD19 and CD20 in chronic B-cell leukemias. J Clin Path 1998;51:364–9.
26. *Voso MT, Pantel G, Weis M i sur.* In vivo depletion of B cells using a combination of high-dose cytosine arabinoside/mitoxantrone and rituximab for autografting in patients with non-Hodgkin's lymphoma. Br J Haematol 2000;109:729–35.
27. *Schoutern HC, Kvaloy S, Sydes M i sur.* The CUP trial: a randomized study analyzing the efficacy of high dose therapy and purging in low-grade non-Hodgkin's lymphoma (NHL). Ann Oncol 2000;11(Suppl 1):91–4.
28. *Dreyling MH, Forstpointer R, Repp R i sur.* Combined immuno-chemotherapy (R-FCM) results in superior remission and survival rates in recurrent follicular and mantle-cell lymphoma – final results of a prospective randomized trial of the German low grade lymphoma group (GSLG). Blood 2003;102(suppl) 103a (abstr 351).
29. *Byrd JC, Murphy T, Howard RS i sur.* Rituximab using a thrice weekly dosing schedule in B-cell chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic lymphoma demonstrates clinical activity and acceptable toxicity. J Clin Oncol 2001;19:2153–564.
30. *O'Brien SM, Kantarjian H, Thomas Da i sur.* Rituximab dose-escalation trial in chronic lymphocytic leukemia. J Clin Oncol 2001;19:2165–70.
31. *National Institute for Clinical excellence (NICE).* Final appraisal determination 2003. [Http://www.nice.org.uk/Docref.asp?d=81224].

BALINTOVA GRUPA – POMOĆ U RADU LIJEČNIKA OBITELJSKE MEDICINE

BALINT GROUP – AID TO GENERAL PRACTITIONER

RAJKA ŠIMUNOVIĆ, VEDRAN BILIĆ, SUZANA KUMBRIJA, SANJA BLAŽEKOVIĆ-MILAKOVIĆ*

Deskriptori: Obiteljska medicina; Psihoanalitička terapija; Odnosi liječnik-bolesnik

Sažetak. Profesionalna edukacija liječnika obiteljske medicine uglavnom je usmjerena na biomedicinske aspekte liječenja somatskih bolesti, dok su psihološke sastavnice somatskih bolesti, kao i odnosa liječnik – pacijent većim dijelom zanemarene. Liječnik obiteljske medicine izložen je u procesu liječenja svakodnevno značajnim frustracijama u odnosima s pacijentima. Dio tih frustracija proizlazi iz neprepoznatih i zanemarenih psiholoških i emocionalnih aspekata somatskih bolesti koje se manifestiraju u odnosu liječnik – pacijent. Cilj ovog rada je pokazati da Balintova grupa može povećati profesionalnu sposobnost i zadovoljstvo liječnika obiteljske medicine, učeći ga kako prepoznati psihološke potrebe i probleme koje su sastavni dio somatskih bolesti, a isto tako i odnosa liječnik – pacijent.

Descriptors: Family practice; Psychoanalytic therapy; Physician-patient relations

Summary. Professional education of general practitioner is mainly focused on biomedical aspects of treating somatic diseases, while psychological components of somatic diseases, as well as doctor-patient relationship, are generally neglected. General practitioner is in healing process daily exposed to considerable frustrations in relationships with patients. Some frustrations stem from unrecognized and neglected psychological and emotional aspects of somatic diseases which manifest in the doctor-patient relationship. The aim of this work is to show that Balint group can enhance general practitioner's professional capability, as well as his professional satisfaction, teaching him how to recognize psychological needs and problems which are integral part of somatic diseases and doctor-patient relationship as well.

Liječ Vjesn 2004;126:311–313

Spoznaje psihosomatske medicine, medicinske psihologije, psihoanalize i liaison psihijatrije nedvojbeno upućuju na nedjeljivost some i psihe, odnosno na povezanost organskih bolesti s psihom i emocijama. Te su spoznaje nedovoljno integrirane u današnju biomedicinsku edukaciju koja ima krajnji cilj osposobiti liječnika za samostalan praktični rad s pacijentima.

Liječnik obiteljske medicine tijekom svoje stručne edukacije usvaja mnoga znanja o biomedicinskim aspektima liječenja somatskih bolesti. Međutim, u svakodnevnom radu s pacijentima nisu rijetke situacije u kojima je izložen značajnim frustracijama, iako ih s biomedicinskoga gledišta besprijekorno liječi.

Istraživanja provedena u SAD-u potvrđuju kako stresan posao i zanemarivanje sebe može imati tragične posljedice za liječnike. Broj samoubojstava među liječnicima dva puta je veći nego u prosječnoj populaciji. Česti su depresija, alkoholizam i droga, kao i bračni problemi.[1]

Tijekom pedesetih godina dvadesetog stoljeća Michael i Enid Balint[2] osnivaju Balintove grupe u kojima liječnici obiteljske medicine raspravljaju o svojim profesionalnim teškoćama. U tim se grupama biomedicinski pristup liječenju nasto-

* **Ordinacija opće medicine, Požega** (Rajka Šimunović, dr. med.), **Klinika za psihološku medicinu KBC-a Zagreb** (Vedran Bilić, dr. med.), **Ordinacija opće medicine, Zagreb** (Suzana Kumbrija, dr. med.), **Katedra za obiteljsku medicinu Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, ŠNZ »A. Štampar«** (Sanja Blažeković-Milaković, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Dr. R. Šimunović, Ordinacija opće medicine, Antuna Kanižilića 12, 34 000 Požega

Primljeno 10. siječnja 2003., prihvaćeno 29. prosinca 2004.

jao obogatiti empatijom za pacijentove emocionalne potrebe. Glavna okupacija grupa bila je rasprava slučajeva. Cilj sastanaka bio je omogućiti liječnicima bolje razumijevanje pacijenata i njihovih skrivenih potreba iznesenih u traženju pomoći od liječnika. U raspravama se pokušavala sagledati osobnost pacijenta i njegov stav prema bolesti.[3,4] Balintova metoda rada na taj je način proširila primjenljivost analitičkog razumijevanja izvan područja psihoanalize i psihoanalitičke psihoterapije.[5,6]

Do danas je cilj Balintovih grupa ostao u biti isti. Sudjelovanje u Balintovim grupama liječnicima obiteljske medicine s jedne strane omogućava svladavanje značajnih otpora u prihvaćanju novih, proširenih i 'dubljih' spoznaja, koje upućuju na ulogu psiholoških čimbenika u etiologiji, prevenciji, liječenju i rehabilitaciji somatskih bolesti, a s druge im omogućava prevladavanje stresa u liječničkoj profesiji.[7,8]

'Teški' pacijenti su oni koji kod liječnika izazivaju negativne osjećaje. Negativne emocionalne reakcije liječnika, na primjer nelagoda i nezadovoljstvo značajno otežavaju održavanje dobrog međusobnog odnosa liječnika i pacijenta, kao i njihovu komunikaciju.[9,10] Problemi koji se javljaju u teškim odnosima često iziskuju najhitnije rješavanje i zahtijevaju da se o njima govori, jer u suprotnom dovode do međusobnog otuđenja pacijenta i liječnika, što pogoduje produbljivanju bolesti kod pacijenta i povećanoj nelagodi i nezadovoljstvu kod liječnika.[11–13]

Balintova grupa osigurava najprimjerenije okruženje za rješavanje takvih problema. U Balintovim grupama diskusija je usmjerena na odnos liječnik – pacijent, a ne analizira se osobnost liječnika.[14,15]

Prva uloga voditelja Balintove grupe je stvaranje ozračja povjerenja, u kojem se sudionici osjećaju prihvaćeno i sigurno. Osim toga, on uspostavlja i održava grupne norme i usmjerava grupu prema izvršavanju grupnog zadatka, a to je rasprava o odnosu između liječnika i pacijenta. U svemu tome ima i njeguje svoj osobni stil.[16]

Edukacija za voditelja Balintovih grupa u Hrvatskoj sastoji se od kontinuiranog treninga u Balintovim grupama u trajanju od pet godina, sudjelovanja na najmanje tri međunarodne škole Balintove metode u okviru IUC-a Dubrovnik, temeljnih teorijskih znanja iz psihologije, opće psihologije i psihodinamike, kao i od dvije stotine sati supervizija vlastitih Balintovih grupa od strane edukatora Balintove metode.

Na seansi Balintove grupe jedan sudionik dobrovoljno ispriča svoj problem s pacijentom, objasni neke pojedinosti slučaja kolegama, a zatim je isključen iz diskusije. Tada kolege iznose svoja razmišljanja, ali i emocionalne odgovore na predstavljeni problem, često stvarajući nove vidike i rješenja problema. Nakon diskusije, sudionik koji je ispričao problem ponovno se uključuje u razgovor.[17]

Period 'isključenosti' iz aktivne diskusije važan je sastavni dio Balintove grupe, jer potiče razvoj vještine slušanja i razumijevanja drugih, bez nametanja svog mišljenja, što je dragocjeno u radu s pacijentima.

Primjeri problema izneseni u Balintovoj grupi:

Primjer I:

U ambulantu preko reda (iako postoji sustav dogovaranja pregleda) ulazi 40-godišnja pacijentica, koja se ovdje liječi 18 godina. Pacijentica rijetko dolazi, i to uglavnom zbog akutnih respiratornih infekcija. Pacijentica pruža nalaz kolege koji radi u susjednoj ambulanti, specijalista dermatologije, kojemu je otišla bez dogovora s liječnicom. Bez obrazloženja svojih tegoba zahtijeva da joj liječnica hitno napiše od kolege preporučene lijekove, jer ima alergijski osip na koži natkoljenica koji joj se često javlja. Liječnica upozori pacijenticu da je ušla preko reda. Osim toga, ne želi joj napisati preporučene recepte, jer odlazak drugom liječniku nije s njom dogovoren. Preporučuje pacijentici da svoj karton prenese kolegi, jer se njemu prvomu obratila. U tome se trenutku bolesnica rasplače. Tada je liječnica pokušava umiriti i pita je o razlogu odlaska kolegi na pregled. Bolesnica kao razlog, plačući i dalje, navodi sitan osip po natkoljenicama uz koji ima lagan svrbež i objašnjava da je doktor kojemu se javila specijalist za kožne bolesti. Nakon toga je liječnica pregleda i propisuje joj terapiju po svom mišljenju. Bolesnica odlazi brišući suze. Nekoliko sati kasnije iz cvjećarnice donose veliki buket s potpisanim pisamcem u kojem piše: »Nadam se da smo izgladili nesporazum.« Doktorica osjeća nezadovoljstvo i slučaj iznosi kao problem u Balintovoj grupi.

U grupi se javljaju pitanja: Zašto je liječnica bolesnici ponudila karton, koliko često susreće takve bolesnike u svom radu, kako inače rješava »teške« pacijente?

Članovi grupe raspravljaju o vlastitim osjećajima koji su potaknuti iznesenim slučajem i situacijama iz vlastite prakse koje su imali sa svojim pacijentima. Neki od članova grupe bi u takvoj situaciji upozorili pacijenticu da je prekršila pravila ponašanja u ambulanti, ali bi ipak napisali zatražene recepte. Drugi bi pacijenticu upozorili da ubuduće prvo dođe njima na pregled, pregledali bi je i zatim bi joj i oni propisali preporučenu terapiju. Neki bi odmah napisali recepte. Tijekom rasprave otvoren je i problem odnosa liječnika opće medicine sa specijalistom i problem timskog rada u zdravstvu, što je česta tema u Balintovoj grupi.

Nakon iscrpnog razmatranja vlastitih reakcija u sličnim situacijama poremećenog odnosa bolesnik – liječnik, voditelj je liječnicu koja je navela problem ponovno priključio raspravi i zamolio za njezin komentar onoga što je čula u grupi. Liječnica navodi da je uvidjela neprikladnost svoje reakcije i prepoznala vlastitu ljutnju, uvidjela je da svojom impulzivnom reakcijom nije riješila ni svoj ni pacijentičin problem. Shvatila je da se pacijentica osjetila »nevoljena« od nje te je zato otišla kolegi. Prepoznala je poruku pacijentice cvijećem umjesto riječima da ipak želi nju kao svog izabranoga liječnika.

Primjer II:

U ambulantu svaki tjedan dolazi 55 godišnja pacijentica. Ona se jednom tuži na glavobolju i traži obradu, a nakon završene obrade dolazi zbog boli u trbuhu, zatim grlu i tako dalje. Kako svi nalazi i sve pretrage isključuju organsku bolest, pacijentica svaki put iz ambulante odlazi nezadovoljna, a liječnica osjeća nelagodu i ljutnju.

Ta je pacijentica počela češće dolaziti u ambulantu nakon umirovljenja, od kada joj se pojavljuju i tegobe. Umirovljena je početkom rata kao višak radne snage, a u isto vrijeme njezin sin jedinac odlazi živjeti u Njemačku. Pacijentica je do tada, nakon suprugove smrti, nekoliko godina živjela sama sa sinom. Sad živi skromno i usamljeno, a povremeno posjećuje sestru koja stanuje u blizini. Za svoj privatni život kaže da je u redu, da je zadovoljna i ne želi dalje o tome razgovarati, već se uvijek vraća na svoje somatske tegobe. Liječnica se kod svakog dolaska ove pacijentice osjeća neugodno, ne zna što dalje poduzeti te problem iznosi u Balintovoj grupi.

Članovi grupe usmjeravaju pozornost na pacijentičine psihološke probleme vezane uz brojne gubitke koje je proživjela. Govore kako bi pokušali uspostaviti bolji, bliskiji odnos s pacijenticom. Predlažu da liječnica s pacijenticom pažljivo pregleda njezine nalaze, upozori je da su uredni i pokuša je bez ljutnje potaknuti na razmišljanje o uzrocima tegoba i mogućem rješenju. Pojedini kolege navode da su slične pacijente pozivali svaki tjedan na razgovor, umjesto da im dopuste da dolaze kada hoće. U tim slučajevima, kad se uvjerio da liječnik ima vremena za njega, pacijent bi ubrzo počeo iznositi svoje psihološke tegobe, a somatske tegobe i pritužbe postajale su sve

rjeđe. Neki kažu da bi takvu pacijenticu uputili psihijatru, no dotična pacijentica je to izričito odbila. Liječnica prepoznaje da ju pacijentica ljuti, da prema njoj osjeća agresiju i otpor.

Slučaj je praćen u sljedećim seansama Balintove grupe. Liječnica se u ponovnim susretima s pacijenticom osjeća opuštenije i lakše s njom uspostavlja komunikaciju. Ljutnja i krivnja su nestale kad je prihvatila činjenicu da nije u stanju ukloniti sve pacijentičine simptome i tegobe. Liječnica također primjećuje da se njezin odnos i razumijevanje drugih pacijenata, s kojima je ranije dolazila u sukob, poboljšao a iz ambulante odlazi zadovoljnija i smirenija.

Rasprava

Ponovljeni dolasci pacijenata koji se ne ponašaju kako to liječnik očekuje, na primjer, ne drže se dogovora ili ne pokazuju poboljšanje izvor su frustracija, što je bilo vidljivo i u prikazanom radu Balintove grupe. Takvi su pacijenti teški, jer kod liječnika izazivaju negativne reakcije, kao što su bespomoćnost, povrijeđenost, bijes, agresija, mržnja, tjeskoba, strah, povlačenje itd.

Liječnik koji u svom radu ne obraća pozornost na psihološko i emocionalno i (kao ni pacijent) nije u dovoljnoj mjeri svjestan činjenice da su psihološke komponente sastavni dio somatskih bolesti, tjelesnih simptoma i međuljudskih odnosa, izložen je značajnim frustracijama.

Bez sagledavanja psihološke podloge zahtjeva koje postavlja pacijent obolio od somatske bolesti i svog odnosa s pacijentom, lako se izgubiti na primjer u beskonačnim somatskim pretragama koje rezultiraju obostranim nezadovoljstvom pacijenta i liječnika.

'Apostolska uloga'[18] liječnika također predstavlja veliko psihološko opterećenje, jer potiče nezdravi narcizam i liječnika gura preko njegovih realnih granica i okvira liječenja. Liječnik tada ne doživljava svog pacijenta kao jednako vrijednog suradnika u procesu liječenja, nego osjeća kako je sva odgovornost za liječenje na njemu. Narcizam opterećuje nesvjesnom prisilom da se uvijek mora sve najbolje znati, uspješno izliječiti svaku bolest, učiniti sve za pacijenta i riješiti svaki pacijentov problem. S druge strane, od pacijenta se očekuje da ima ulogu poslušnog izvršitelja liječnikovih uputa. U takvom odnosu je teško razumjeti koji pacijentovi zahtjevi su realne prirode, a koji proizlaze iz njegovih regresivnih emocionalnih i psiholoških potreba. Liječniku obuzetom 'apostolskom ulogom' također je teško prihvatiti pomoć i suradnju drugih kolega u liječenju.

Balintova grupa je u opisanim primjerima liječnici omogućila uspostavljanje boljih odnosa s pacijentima i kolegama. Na primjer, u Balintovoj grupi je u periodima 'isključenosti' iz diskusije vježbala slušanje i razumijevanje. Također je vidjela kako se isti problem može sagledavati na puno različitih načina te je spoznala da u liječenju često nema jednoznačnog idealnog rješenja.

Kasnije je s pacijentima lakše uspostavljala pozitivan odnos, jer ih je bolje razumjela. Umjesto 'apostolske uloge' i uloge svemoćnog liječnika, više je vremena posvećivala razgovoru s pacijentima. Slušanjem pacijenata postepeno je razvila empatiju za psihološku i emocionalnu podlogu njihovih zahtjeva i žalbi.[19] Tako je pridonosila boljem i ugodnijem ozračju liječenja, a dobar odnos s pacijentom pomaže liječniku u izboru najprikladnije terapije.

Zaključak

Balintova grupa poboljšava skrb o pacijentima, kao i zadovoljstvo liječnika svojim poslom, odnosima i samim sobom. Rad u Balintovoj grupi obogaćuje biomedicinski model liječenja povećavanjem empatije za psihološke sastavnice somatskih bolesti i odnosa liječnik – pacijent.

LITERATURA

1. *Miller NM, Mcgowen R*. The Painful Truth: Physicians are not invictible. South Med J 2000;11(10):75–8.
2. *Balint M*. The Doctor, His Patient, and the Illness. New York, NY: International University Press; 1972.
3. *Horder J*. The first Balint group. BMJ; December 2001;1038–9.
4. *Harper Hart H*. The Psychological Formation of the Doctor. Beginning from Michael Balint. Psychoanal Q 1973;42:467.
5. *Balint M, Balint A*. On transference and counter-transference Int. J. Psychoanal; 1939;20:223–30.
6. *Balint M*. The Basic Fault: Therapeutic Aspects of Regression London: Tavistok,1968.
7. *Balint E*. Before I Was I. Edited by Juliet Mitchell and Parsons. London: Free Association, 1993.
8. *Walker EA, Unutzer J, Katon WJ*. Understanding and caring for the distressed patient with multiple medic unexplained symptoms. J Am Board Fam Pract 1998;11(5):347–56.
9. *Anderson R*. The cry for help and professional response. Int. R. Psychoanal 1984;11:240–2.
10. *Hass LJ, Sanyer ON, White GL*. Caring for the Frustrating Patient. Clinician Reviews 2001;11(10):75–8.
11. *Hahn SR, Thompson KS, Wills TA i sur*.The difficult doctor-patient relationship: somatization, personality and psychopathology. J Clin Epidemiol. 1994;47:647–57.
12. *Ovens H*. The difficult patient: medical and legal approaches. Can Fam Physician 1989;35:1797–802.
13. *Simon JR, Dwyer J, Goldfrank LR.* Difficult patients; Emergency Clinics of North America 1999;17(2):353–70.
14. *Clarke D, Coleman J*. Balint groups. Examining the doctor-patient relationship. Aust Fam Physician. 2002;31(1):41–4.
15. *Ferrer R*. The physician-patient relation through a Balint group. Aten Primaria. 1993 Oct 31;12(7):386–8,390–2.
16. *Jonson AH, Nease DE, Milberg L, Addison RB*. Essential Characteristics of effective Balint Group Leaders. Thirteenth international Balint Congress Berlin.2003;152–9.
17. *Kulenovic M, Blazekovic-Milakovic S*. Balint groups as driving force of ego development. Coll. Antropol 2000;24 Suppl 1:103–8.
18. *Brock CD, Johnson AH*. Balint group observations: the white knight and other heroic physician roles. Fam Med 1999;31(6):404–8.
19. *Brock CD, Salinsky JV*. Empathy: an essential skill for understanding the physician-patient relationship in clinical practice. Fam Med. 1993;25(4): 245–8.

Pregledi
Reviews

β-LAKTAMAZE U LABORATORIJU I NJIHOVA ULOGA U REZISTENCIJI I. DIO: Evolucija bakterijske rezistencije uzrokovane β-laktamazama

β-LACTAMASES IN LABORATORY AND THEIR ROLE IN RESISTANCE PART I.: Evolution of bacterial resistance mediated by β-lactamases

BRANKA BEDENIĆ*

Deskriptori: Beta-laktamaze – klasifikacija, genetika, metabolizam; Beta-laktamska rezistencija

Sažetak. β-laktamaze su najčešći uzrok bakterijske rezistencije na β-laktamske antibiotike. One se fenotipski klasificiraju na temelju izoelektrične točke, supstratnog profila, osjetljivosti na inhibitore i genetskog podrijetla. Kromosomske β-laktamaze tipične su za pojedine bakterijske vrste, dok su plazmidne prenosive između različitih vrsta i rodova. Određivanjem sekvencije β-laktamaza gena možemo te enzime podijeliti u 4 razreda: A, B, C i D. Sposobnost β-laktamaza da izazovu rezistenciju ovisi o lokalizaciji, kinetici i količini enzima, kao i o fizikalno-kemijskim uvjetima. Prve β-laktamaze opisane su kod stafilokoka vrlo brzo nakon uvođenja penicilina. Plazmidne β-laktamaze širokog spektra pojavile su se sredinom 60-ih godina prošlog stoljeća a razgrađuju peniciline i neke cefalosporine prve generacije. U tu skupinu spadaju TEM-1, TEM-2, SHV-1, ROB, BRO, OXA i PSE β-laktamaze. Prenose se konjugacijom među različitim vrstama i sojevima gram-negativnih bakterija. Noviji β-laktamski antibiotici danas su ugroženi pojavom β-laktamaza proširenog spektra (ESBL), inhibitor-rezistentnih β-laktamaza i karbapenemaza. β-laktamaze proširenog spektra pojavile su se prije 20 godina, a nastale su mutacijama od parentalnih TEM i SHV-1 β-laktamaza, koje mijenjaju konfiguraciju aktivnog središta i šire spektar njihove aktivnosti. Hidroliziraju oksimino-cefalosporine i aztreonam. Njihova brza i točna laboratorijska detekcija važna je za pravilan odabir terapije. Terapijske mogućnosti za liječenje infekcija uzrokovanih enterobakterijama koje proizvode β-laktamaze proširenog spektra ograničene su zbog multiple rezistencije koja uključuje i ne-β-laktamske antibiotike. Karbapenemi su zasada antibiotici izbora za liječenje takvih infekcija.

Descriptors: Beta-lactamases – classification, genetics, metabolism; Beta-lactam resistance

Summary. β-lactamases are the commonest cause of bacterial resistance to β-lactam antibiotics. They have been classified phenotypically by their isoelectric point, substrate profile, susceptibility to inhibitors and genetic origin. Chromosomal β-lactamases are typical for certain bacterial species and plasmid β-lactamases are transferable between different species and genera. Sequencing of β-lactamase genes enabled to divide them into four classes: A, B, C and D. The ability of a β-lactamase to confer resistance depends on its location, kinetics, quantity and physicochemical conditions. First β-lactamases were described soon after introduction of penicillin. Plasmid-mediated broad-spectrum β-laktamases appeared in the middle 60-s of the XX century and confer resistance to penicillins and some first generation cephalosporins.They include TEM-1, TEM-2, SHV-1, ROB, BRO, OXA and PSE β-lactamases and are transferred by conjugation between different species and strains of Gram-negative bacteria. The new β-lactam agents nowadays are compromised mostly by extended-spectrum β-lactamases, inhibitor-resistant β-lactamases and carbapenemases. Extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) were described for the first time 20 years ago and are derived from the parental TEM and SHV-1 β-lactamases by mutations that alter the configuration of the active site to expand their spectrum of activity. They hydrolyse oxymino-cephalosporins and aztreonam. The rapid and accurate laboratory detection of ESBLs is important for choosing appropriate antibiotic therapy. Infections caused by *Enterobacteriaceae* producing ESBLs pose a therapeutic problem due to multiple antibiotic resistance which includes non-β-lactam antibiotics as well. Carbapenems are the first-line antibiotics for treatment of such infections.

Liječ Vjesn 2004;126:314–324

β-laktamski antibiotici dijele se na peniciline, cefalosporine, monobaktame i karbapeneme. Zbog svoje izvanredne selektivne toksičnosti izazivaju vrlo malo nuspojava tako da se vrlo često rabe u liječenju lakših i težih infekcija. β-laktamski antibiotici pridonose 50% globalne potrošnje antibiotika i ta je intenzivna potrošnja važan selekcijski činitelj za nastanak rezistencije. Postoje tri glavna mehanizma nastanka rezistencije: modifikacija PBP-molekula (proteini koji vežu penicilin), smanjena permeabilnost zbog promjena u proteinima vanjske membrane ili produkcija β-laktamaza.[1] Neke bakterije, kao npr. *Pseudomonas aeruginosa,* mogu razviti rezistenciju na β-laktame zbog aktivnog izbacivanja (efluks) tih antibiotika iz stanice.[2,3] Modifikacije PBP-molekula rezultiraju nemogućnošću vezanja β-laktamskog antibiotika na ciljne molekule ili dolazi do vezanja, ali nema učinka, tj. ne dolazi do inhibicije sinteze peptidoglikana.[4] Taj je mehanizam važan za rezistenciju kod gram-pozitivnih koka, dok su β-laktamaze predominantan uzrok rezistencije kod gram-negativnih bakterija[1].

Klasifikacija β-laktamaza

β-laktamaze možemo karakterizirati na temelju hidrolitičke aktivnosti, izoelektrične točke, osjetljivosti prema inhibitorima i genetskog podrijetla (kromosomske ili plazmidne). Supstratni profil određujemo na temelju brzine hidrolize benzil-

* **Zavod za mikrobiologiju, ŠNZ »A. Štampar«** (doc. dr. sc. Branka Bedenić, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Doc. dr. sc. B. Bedenić, Zavod za mikrobiologiju, ŠNZ »A. Štampar«, Rockefellerova 4, 10000 Zagreb

Primljeno 16. siječnja 2003., prihvaćeno 16. prosinca 2004.

penicilina ili cefaloridina. β-laktamaze koje brže hidroliziraju benzilpenicilin od cefaloridina spadaju u penicilinaze, a one koje imaju veći afinitet za cefaloridin u odnosu na benzilpenicilin spadaju u cefalosporinaze.[1] Osjetljivost na inhibitore određuje se na temelju inaktivacije enzima u prisutnosti kloksacilina, klavulanata, aztreonama i p-kloromerkuribenzoata.[1]

Nedostatak fenotipske klasifikacije β-laktamaza leži u činjenici da točkaste mutacije β-laktamaza gena značajno mijenjaju supstratnu specifičnost i osjetljivost na inhibitore te na taj način mijenjaju grupu u koju je enzim svrstan. Zbog toga se sve više β-laktamaze svrstavaju na temelju sekvencije aminokiselina po Ambleru.[5] Po toj klasifikaciji β-laktamaze se svrstavaju u 4 grupe označene slovima od A do D. Grupe A, C i D obuhvaćaju evolucijski različite grupe serinskih esteraza, dok grupa B obuhvaća enzime koji sadržavaju cink kao kofaktor. Usporedba različitih klasifikacijskih shema prikazana je na tablici 1.

Tablica 1. *Usporedba molekularne i fenotipske klasifikacije β-laktamaza*
Table 1. *Comparison of molecular and phenotypic classification of β-lactamases*

Strukturna grupa po Ambleru Structural class – Ambler	Funkcijska grupa po K. Bush Functional group – Bush	Grupa po Richmondu i Sykesu Richmond and Sykes class	Supstratni profil[1] / Substrate profile						Inhibicija[2] / Inhibition		
			penicilin	karbenicilin carbenicillin	oksacilin oxacillin	cefaloridin cephaloridine	aztreonam	imipenem	klavulanat clavulanate	aztreonam	EDTA
Serin β-laktamaze Serine β-lactamases											
A	2a	N[3]	+++	+	–	+/–	–	–	++	–	–
A	2b	II i III	+++	+	+	++	–	–	++	–	–
A	2be	III i IV	+++	+	+	++	++	–	++	–	–
A	2br	N[3]	+++	+	+	+	–	–	–	–	–
A	2c	II i V	++	+++	+	+	–	–	+	–	–
A	2e	Ic	++	++	–	++	++	–	++	–	–
A	2f	N[3]	++	+	N	+	++	++	+	–	–
C	1	I osim Ic	++	+	–	+++	–	–	–	++	–
D	2d	V	++	+	+++	+	–	–	V	–	–
nesvrstane unclassified	4	N[3]	++	++	++	V	–	–	–	–	–
Cink β-laktamaze Zinc β-lactamases											
B	3	N[3]	++	++	++	++	–	++	–	–	++

[1] aktivnost: +++ najbolji supstrat, ++ dobar supstrat, + podliježe hidrolizi, +/– slab supstrat, – stabilan prema hidrolizi, V – varijabilan unutar grupe, ? nije sigurno utvrđeno
activity: +++ preferred substrate, ++ good substrate, + hydrolysed, +/– barely hydrolysed, – stable to hydrolysis, V – variable within the group, ? uncertain

[2] inhibicija: ++ jaka inhibicija kod svih članova grupe, + umjerena inhibicija, V – inhibicija varijabilna unutar grupe, – zanemariva inhibicija
inhibition: ++ strong inhibition of all members of the class, + moderate inhibition, V – inhibition varies within the class, – negligible inhibition

[3] N – nije određeno / not determined

(Podaci preuzeti iz: Livermore D. β-lactamase mediated resistance and opportunities for its control. J Antimicrob Chemother 1998;41(Suppl D):25–41, uz dozvolu izdavača.)

Genska regulacija sinteze β-laktamaza

Kromosomske β-laktamaze

β-laktamaze se u malim količinama mogu utvrditi gotovo kod svih bakterija, čak i kod β-hemolitičkih streptokoka.[6] Danas se zna da su se prave β-laktamaze, npr. AmpC cefalosporinaze enterobakterija, pojavile davno prije upotrebe antibiotika. Smatra se da one imaju određenu fiziološku funkciju u sintezi peptidoglikana ili su se pojavile da zaštite bakteriju od β-laktama koje proizvode bakterije i gljive iz okoliša. Sigurno je da je klinička upotreba β-laktamskih antibiotika najvažniji selekcijski činitelj koji utječe na produkciju β-laktamaza među patogenim bakterijama.[1] Kromosomske β-laktamaze dijele se na konstitutivne i inducibilne.[6–8] Konstitutivne β-laktamaze se proizvode bez obzira na prisutnost β-laktamskog spoja. Bazalna proizvodnja tih enzima ovisi o vrsti bakterije. Konstitutivnu produkciju β-laktamaza grupe A imaju *Escherichia coli* i *Klebsiella* spp., dok inducibilne β-laktamaze (grupa C) proizvode *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Serratia* spp., *Providentia* spp. i *Pseudomonas aeruginosa. Pseudomonas cepacia*, *Citrobacter diversus* i *Proteus vulgaris* imaju inducibilnu grupu A β-laktamaza, dok *Sthenotrophomonas maltophilia* ima inducibilnu grupu B karbapenemaza.[1] Inducibilne β-laktamaze proizvode se u značajnim količinama jedino u prisutnosti β-laktamskih antibiotika.

Plazmidne β-laktamaze

Plazmidne β-laktamaze kodirane su prenosivim genskim elementima kao što su plazmidi i transposoni. Rezistencija uvjetovana proizvodnjom tih enzima prenosiva je iz jedne bakterijske stanice u drugu konjugacijom ili transdukcijom preko bakteriofaga. Plazmidne β-laktamaze nazivaju se još i sekundarne β-laktamaze jer se nalaze kao dodatni enzimi uz kromosomske koje su specifične za vrstu.[1] Prvi enzim tog tipa otkriven je 1965. kod *E. coli* i nazvan je TEM β-laktamaza. U principu plazmidne β-laktamaze razlikuju se od kromosomskih, ali postoje preklapanja. SHV-1 β-laktamaza je česta plazmidna β-laktamaza kod enterobakterija, ali je i tipična kromosomska β-laktamaza u *Klebsiella pneumoniae,*[9] a BIL-1, CMY-1, CMY-2, CMY-3, FOX-1, LAT-1, MIR-1 i MOX-1 i mnoge druge plazmidne β-laktamaze su AmpC enzimi kodirani genima koji su s kromosoma iz rodova *Enterobacter* i *Citrobacter* spp. preneseni na plazmid.[10] Vjerojatno je da sve plazmidne β-laktamaze potječu od kromosomskih iako je izvor kod mnogih tipova nepoznat. Distribucija β-laktamaza odražava prenosivost struktura na kojima su locirani geni koji ih kodiraju. Plazmidne β-laktamaze nisu specifične za vrstu kao kromosom-

ske, nego je moguće širenje među različitim vrstama i rodovima bakterija. Za TEM β-laktamaze se vjerovalo da su specifične za enterobakterije, ali poslije su dokazane kod *P. aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Haemophilus influenzae* i *Neisseria* spp.[1,10,11] Neke od plazmidnih β-laktamaza rijetko se nalaze na plazmidima. Primjer je SHV-1 β-laktamaza koju najčešće susrećemo kao kromosomsku β-laktamazu kod klepsijela,[9] dok je PSE-4 β-laktamaza u *P. aeruginosa* gotovo uvijek kodirana transposonima koji su uključeni u kromosom.[12]

Uloga beta-laktamaza u nastanku rezistencije

Sposobnost β-laktamaza da uzrokuju rezistenciju ovisi o brzini hidrolize pojedinih supstrata, afinitetu enzima za određene supstrate, količini enzima i propusnosti vanjske membrane kod gram-negativnih bakterija. Međusobni odnos svih tih činitelja može se prikazati matematički kod enterobakterija.[13,14] U *P. aeruginosa* treba uzeti u obzir i efluks koji aktivno izbacuje β-laktamske antibiotike iz bakterijske stanice.[15] Sposobnost β-laktamaza da izazovu rezistenciju ovisi i o uvjetima. MIK-ovi (minimalne inhibitorne koncentracije) većine β-laktamskih supstrata rastu s veličinom inokuluma, što valja i očekivati jer više bakterijskih stanica proizvodi više enzima i zaštita je bolja. Izraženi inokulumski efekt dokazan je kod stafilokoka i penicilina,[16] ureidopenicilina i *Klebsiella* spp.,[17] cefalosporina prve generacije i producenata TEM-1 β-laktamaze[18] te kod cefalosporina treće generacije i gram-negativnih bakterija – producenata TEM i SHV-β-laktamaza proširenog spektra (ESBL)[19]. U principu jako izraženi inokulumski efekt kod određenog antibiotika je kontraindikacija za njegovu upotrebu kod teških infekcija, ali ne i u profilaksi. Važan činitelj je i količina enzima koji proizvede određena bakterija.[1] Bakterije mogu pod selekcijskim djelovanjem antibiotika mutirati tako da proizvode veću količinu β-laktamaze zbog povećanja broja plazmidnih kopija, većeg broja genskih kopija na istome plazmidu ili zbog mutacija u promotorskoj regiji β-laktamaza gena.[20]

Enterobakterije koje proizvode β-laktamaze proširenog spektra mogu biti *in vitro* osjetljive na cefalosporine treće generacije, npr. cefotaksim ili ceftriakson, ali unatoč tome često dolazi do terapijskih neuspjeha ako se oni primjenjuju za liječenje infekcija uzrokovanih takvim bakterijama. Nadalje sojevi *E. coli* koji proizvode TEM-1 i TEM-2 β-laktamaze mogu *in vitro* biti osjetljivi na starije cefalosporine kao što su cefaleksin i cefuroksim, ali njihova djelotvornost *in vivo* može biti upitna.[1,18]

β-laktamski antibiotici prve generacije i rani problemi s β-laktamazama

Uvođenje antibiotika u kliničku primjenu u ranim 40-im godinama prošlog stoljeća smatra se jednim od najvažnijih dostignuća medicine. Najveći nedostatak je razvoj rezistencije. Kada je bio prvi put uveden u kliničku primjenu 1944, benzilpenicilin je bio djelotvoran protiv 95% izolata *Staphylococcus aureusa*, a 5% je proizvodilo β-laktamazu i bilo je rezistentno. Nakon 5 godina postotak rezistentnih izolata popeo se na 50% zbog prijenosa gena i selekcije rezistentnih sojeva, a već sredinom 1980. je iznad 90% stafilokoka bilo otporno na penicilin.[21] Stafilokokna β-laktamaza spada u molekularnu grupu A, a po Karen Bush je svrstana u grupu 2a. Po Richmondu i Sykesu bila je podijeljena u 4 tipa koji su se označavali slovima od A do D na temelju reakcije s antiserumima. Izoelektrično fokusiranje koje se rabi za razlikovanje β-laktamaza gram-negativnih bakterija kod stafilokoka ne zadovoljava jer su njihovi enzimi slabo topljivi oko izoelektrične točke.[22] Tipiziranje stafilokoknih β-laktamaza može se izvršiti na temelju brzine hidrolize cefazolina, cefaloridina i nitrocefina.[23,24] Stafilokokna β-laktamaza izlučuje se ekstracelularno i smanjuje koncentraciju antibiotika u vanjskome mediju. Zbog toga MIK-ovi penicilina značajno rastu uz porast inokuluma jer više bakterijskih stanica proizvodi više enzima i veća količina antibiotika može biti razgrađena.[25] Sve četiri stafilokokne β-laktamaze hidroliziraju benzilpenicilin, aminopeniciline i karboksipeniciline, dok su izoksazolilpenicilini stabilni u prisutnosti tih enzima.[25]

Sličan razvoj rezistencije uslijedio je i nakon što su u ranim 60-im godinama prošlog stoljeća uvedeni prvi β-laktami djelotvorni prema gram-negativnim bakterijama.[7] Do 70-ih godina 20. stoljeća otkriće novih lijekova i derivata postojećih nadmašivalo je evoluciju mikrobne rezistencije. Tijekom 70-ih i 80-ih godina horizontalno širenje rezistencije putem konjugativnih plazmida i transposona postajalo je sve učestalije. Neke gram-negativne bakterije su intrinzično rezistentne na β-laktamske antibiotike jer proizvode konstitutivno velike količine kromosomske β-laktamaze. Tako npr. ampicilin, amoksicilin i karboksipenicilini (karbenicilin i tikarcilin) ne pokazuju aktivnost protiv *Klebsiella* spp. koje produciraju velike količine SHV-1 ili kromosomske K 1 β-laktamaze.[1] Slično su ampicilin, amoksicilin i cefalosporini prve generacije nedjelotvorni protiv gram-negativnih bakterija s inducibilnom grupom A β-laktamaza kao što su *Proteus vulgaris*, *Citrobacter diversus* i onih s inducibilnim AmpC β-laktamazama, npr. *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Providencia* spp., *Serratia* spp. i *Pseudomonas aeruginosa*. Te su vrste postale klinički važne nakon što su uvedeni u terapijsku primjenu β-laktami koji djeluju na ostale gram-negativne bakterije.[25]

Sljedeća važna posljedica uvođenja β-laktama bila je pojava plazmidnih β-laktamaza koje su kodirane ekstrakromosomskim genskim elementima. Najvažnija plazmidna β-laktamaza je TEM-1 koja se prvi put pojavila 1965. u *E. coli,*[26] a nakon toga se masovno proširila među enterobakterijama. Danas oko 20 do 60% enterobakterija, ovisno o geografskom području i vrsti bakterije, posjeduje TEM-1 β-laktamazu.[1] Rjeđe se pojavljuju ostale plazmidne β-laktamaze kao što su TEM-2, SHV-1 i OXA-1.[25–27] Tijekom 70-ih godina prošlog stoljeća gen koji kodira TEM-1 β-laktamazu proširio se na osjetljive gram-negativne štapiće,[27] *Pseudomonas* spp.[28] i *Vibrio cholerae.*[11] TEM-1 je jedina plazmidna β-laktamaza u *Neisseria gonorrhoeae* je pronađena je u <1 do 40% izolata ovisno o geografskom području.[1] U *Haemophilus influenzae* pojavljuje se u 2 do 40% izolata ovisno o zemlji i kapsularnom tipu.[25] Osim TEM-1 β-laktamaze kod te vrste nalazimo i ROB-1β-laktamazu koja je po supstratnome profilu slična TEM enzimima.[29] Kod *Pseudomonas* spp. je prevalencija plazmidnih β-laktamaza manja od 10%. U tom rodu su PSE β-laktamaze najčešće plazmidne β-laktamaze i hidroliziraju karboksipeniciline kao što su tikarcilin i karbenicilin, a spadaju u grupu 2c po K. Bush.[28]

BRO-1, BRO-2 i BRO-3 su jedine plazmidne β-laktamaze kod *Moraxella catarrhalis.*[30–32] Počele su se pojavljivati u kasnim 70-im godinama prošlog stoljeća i od tog vremena su se proširile na više od 90% izolata.[33] Po supstratnom profilu su penicilinaze. Izazivaju rezistenciju na penicilin, ampicilin, amoksicilin i karboksipeniciline.[34–39] Snažno su inhibirane klavulanskom kiselinom kao i većina ostalih plazmidnih β-laktamaza.[40–42] BRO-1 je najčešći tip.[30,33] Izolati koji sadržavaju taj enzim rezistentniji su u odnosu na one koji posjeduju BRO-2 ili BRO-3.Tri tipa BRO β-laktamaza mogu se međusobno razlikovati na temelju rasporeda vrpca prilikom izoelektričnog fokusiranja.[43] BRO-2 β-laktamaza može dati lažno negativni rezultat čak i ako se testiranje provodi nitrocefinom vjerojatno zbog toga što se luči u manjim količinama od BRO-1.[43] Detekcija BRO β-laktamaza je jednostavna zbog nedostatka permeabilne barijere u *M. catarrhalis*, a najčešće se rabi nitrocefinski test.[44] Na temelju antibiograma može se pretpostaviti da je soj

producent BRO β-laktamaza ako nema inhibicijske zone oko penicilinskog diska.[44] β-laktamaza-pozitivni sojevi pokazuju značajan inokulumski efekt pri testiranju osjetljivosti na β-laktamske antibiotike.[45] Za terapiju infekcija koje uzrokuje β-laktamaza-pozitivna *M. catarrhalis* treba preporučiti kombinaciju amoksicilina i klavulanske kiseline, a alternativno se mogu primijeniti oralni cefalosporini, makrolidi ili azalidi.[36,37]

Gotovo sve ranije navedene plazmidne β-laktamaze: TEM-1, TEM-2, SHV-1, PSE-1, PSE-4 i sva tri BRO-tipa spadaju u molekularnu grupu A. Izuzetak je OXA-1 koji spada u grupu D.[1] Svi su ti enzimi, uključujući i OXA-1, vezani uz sličan fenotip rezistencije koji je posljedica hidrolize penicilina: ampicilina, amoksicilina, tikarcilina i karbenicilina. Uz to je obično izražena i rezistencija na ureidopeniciline (azlocilin, mezlocilin i piperacilin) i prvu generaciju cefalosporina osim ako se enzim ne proizvodi u vrlo maloj količini.[25] Na tablici 2. prikazana je supstratna specifičnost pojedinih plazmidnih β-laktamaza.

Tablica 2. *Usporedba supstratnog profila najčešćih plazmidnih β-laktamaza*
Table 2. *Comparison of the substrate profiles of most frequent plasmid mediated β-lactamases*

Tip enzima Type of enzyme	Vrsta – najčešći domaćin Most frequent host species	β-laktamski antibiotici – supstrati navedenih enzima β-lactam antibiotics – substrates of the respective enzymes	β-laktamski antibiotici – nisu supstrati navedenih enzima β-lactam antibiotics – not substrates of the respective enzymes	Inhibicija klavulanskom kiselinom Inhibition by clavulanic acid
TEM-1, TEM-2, SHV-1	*Enterobacteriaceae*	penicilin G, aminopenicilini, karbenicilini, neki cefalosporini 1. gen. penicillin G, aminopenicillins, some 1st. gen. cephalosporins	cefalosporini 2, 3. i 4. gen., cefamicini, karbapenemi cephalosporins 2, 3 and 4 gen., cephamycins, carbapenems	+
Klasične OXA i PSE Classic OXA and PSE	*Pseudomonas aeruginosa*	penicilin G, ureidopenicilini, karboksipenicilini penicillin G, ureidopenicillins, carboxypenicillins	cefalosporini 1, 2, 3. i 4. gen., cefamicini, karbapenemi cephalosporins 2, 3 and 4 gen., cephamycins, carbapenems	V
ROB	*Haemophilus influenzae*	penicilin G, aminopenicilini, karboksipenicilini penicillin G, aminopenicillins, carboxypenicillins	cefalosporini 1, 2, 3. i 4. gen., cefamicini, karbapenemi cephalosporins 2, 3 and 4 gen., cephamycins, carbapenems	+
BRO (1-3)	*Moraxella catarrhalis*	penicilin G, aminopenicilini, karboksipenicilini penicillin G, aminopenicillins, carboxypenicillins	cefalosporini 1, 2, 3. i 4. gen., cefamicini, karbapenemi cephalosporins 1, 2, 3 and 4 gen., cephamycins, carbapenems	+
ESBL-TEM i SHV	*Enterobacteriaceae*	penicilini i cefalosporini 1–4. gen. penicillins and cephalosporins 1–4 gen.	cefamicini, karbapenemi cephamycins, carbapenems	+
ESBL-CTX-M	*Enterobacteriaceae*	penicilini i cefalosporini 1–4. gen. penicillins and cephalosporins 1–4 gen.[1]	cefamicini, karbapenemi cephamycins, carbapenems	+
ESBL-OXA	*Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii*	penicilini i cefalosporini 1–4. gen. penicillins and cephalosporins 1–4. gen.	cefamicini, karbapenemi cephamycins, carbapenems	–
ESBL-AmpC	*Enterobacteriaceae*	penicilini i cefalosporini 1–4. gen., cefamicini penicillins and cephalosporins 1–4. gen., cephamycins	karbapenemi carbapenems	V[2]
karbapenemaze grupa A carbapenemases – class A (SME, IMI, NMC)	*Enterobacteriaceae*	penicilini, aztreonam, karbapenemi[3] penicillins, aztreonam, carbapenems	aminotiazol, cefalosporini aminothyazol cephalosporins	+
karbapenemaze grupa B carbapenemases – class B (IMP)	*Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens*	karbapenemi, penicilini, cefalosporini[4] penicillins, cephalosporins, carbapenems	aztreonam	

[1] MIK-ovi cefotaksima su viši nego ceftazidima i aztreonama / MICs of cefotaxime are higher than those of ceftazidime and aztreonam
[2] V-varijabilno unutar grupe / Variable within the group
[3] Brzina hidrolize imipenema je veća nego meropenema / Hydrolysis rate of imipenem is higher than of meropenem
[4] Postoji podjednaka rezistencija na imipenem i meropenem / There is equal resistance to imipenem and meropenem

β-laktamaza-stabilni penicilini i cefalosporini i novije β-laktamaze

Stabilnost β-laktamskih antibiotika prema β-laktamazama može se postići vezanjem supstituenta na β-laktamski prsten koji će onemogućiti pristup aktivnom ostatku serina u molekuli β-laktamaze ili premještanjem vode iz aktivnog središta, što onemogućuje završavanje procesa hidrolize.[46] Postoji više načina da se to izvede, npr. vezanje acilne grupe na aminogrupu u molekuli 6-aminopenicilanske kiseline ili 7-aminocefalosporanske kiseline ili zamjena vodika na ugljikovu atomu br. 6 kod penicilina ili 7 kod cefalosporina s jednom α-metoksi-grupom.[46,47]

Problem stafilokokne β-laktamaze bio je riješen uvođenjem β-laktamaza stabilnih penicilina: meticilina i izoksazolilpenicilina.[23,24] Rezistencija koja se pojavila na te antibiotike posljedica je njihova smanjenog afiniteta za PBP-molekule, a ne hidrolize β-laktamazama iako rezistencija niskog stupnja na te antibiotike može biti povezana s hiperprodukcijom β-laktamaza.[1] Nedostatak stafilokokne β-laktamaze proširenog spektra vjerojatno je posljedica ekstracelularne lokalizacije tog enzima. Kada bi stafilokoki proizvodili oksacilinazu, ona bi zaštitila jednako i druge bakterije koje se nalaze u okolišu, što ne bi bilo korisno za stafilokoke.[1] Mutacije PBP-a daju selektivnu prednost stafilokoku pred drugim bakterijama.

Stabilnost prema β-laktamazama bilo je znatno teže postići kod gram-negativnih vrsta jer one proizvode veći broj različitih β-laktamaza.[7] Među penicilinima jedino temocilin koji je 6-α-metoksi-analog tikarcilina pokazuje stabilnost u prisutnosti β-laktamaza gram-negativnih bakterija. Kod cefalosporina ugradnja oksimino-aminotiazol-7-acilnog postraničnog lanca koji je prisutan kod većine cefalosporina treće generacije štiti od hidrolize β-laktamazama širokog spektra (TEM-1, TEM-2 i SHV-1).[47]

Prisutnost 7 α-metoksi-grupe u molekuli cefamicina (cefoksitin, cefotetan, cefmetazol i moksalaktam) osigurava zaštitu tih antibiotika od TEM-1 i SHV-1 β-laktamaza, kao i prema Cep-A kromosomskoj β-laktamazi koju proizvodi *Bacteroides fragilis,* što čini tu skupinu antibiotika djelotvornima prema anaerobima.[47]

Beta-laktamaze proširenog spektra

Stabilnost cefalosporina treće generacije prema β-laktamazama nije na žalost bila duga vijeka jer su se početkom 80-ih godina pojavile β-laktamaze proširenog spektra. β-laktamaze proširenog spektra nastaju mutacijom TEM ili SHV-enzima. Većina takvih mutacija se događa prilikom upotrebe cefalosporina treće generacije koji vrše selekcijski pritisak i omogućavaju preživljavanje mutantima.[48–51] One omogućuju adaptaciju bakterijama na nove β-laktamske antibiotike. Spadaju u grupu A po Ambleru.[5]

Mutacija SHV ili TEM-enzima mijenja konfiguraciju aktivnog mjesta što širi spektar njihove aktivnosti. Ti enzimi su snažno inhibirani klavulanskom kiselinom i sulbaktamom. Nisu aktivni prema cefamicinima s α-metoksi-supstituentom na poziciji 7 kao što su cefoksitin ili cefotetan iako se u novije vrijeme pojavljuju β-laktamaze proširenog spektra koje vuku podrijetlo od AmpC β-laktamaza vrsta *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii* i *P. aeruginosa,* a uzrokuju rezistenciju na cefamicine i nisu inhibirane suicidnim inhibitorima.[52,53] Najvažniji predstavnici takvih enzima su FOX-1[53] i 2[54] i MOX-1, MIR-1 i CMY-1 i 2,[55–58] CMY-8[59] β-laktamaze. Kod tih enzima došlo je do prijenosa kromosomskih gena koji kodiraju AmpC β-laktamaze na plazmid koji je prenosiv među različitim enterobakterijama. Ta vrsta β-laktamaza proširenog spektra javlja se sa sve većom učestalošću u većini zemalja. β-laktamaze proširenog spektra iz TEM i SHV-porodice hidroliziraju cefalosporine prve, druge i treće generacije, aminopeniciline i monobaktame. Karbapenemi su u pravilu pošteđeni. MIK-ovi cefepima i cefpiroma mogu biti povišeni za bakterije koje proizvode neke tipove SHV β-laktamaza kao što su SHV-4 i SHV-5.[60,61] β-laktamaze proširenog spektra pojavljuju se češće kod klepsijela nego kod ostalih gram-negativnih bakterija. Moguće objašnjenje za takvu distribuciju tražilo se u intenzivnijoj ekspresiji rezistencije kod *K. pneumoniae*. Da bi se testirala ta hipoteza, plazmidi koji kodiraju β-laktamaze proširenog spektra unošeni su konjugacijom u osjetljive izolate *E. coli*, *E. cloacae*, *C. freundii* ili *Serratia marcescens,* ali nije dokazana značajna razlika u MIK-ovima ceftazidima, cefotaksima, ceftriaksona ili aztreonama. Budući da β-laktamaze proširenog spektra nastaju mutacijom, drugo moguće objašnjenje za epidemiologiju te rezistencije bilo je da je frekvencija mutacija češća kod klepsijela nego kod ostalih gram-negativnih bakterija, ali je i ta hipoteza odbačena.[62] U početku su β-laktamaze proširenog spektra bile ograničene samo na *K. pneumoniae*[63] i *E. coli,* međutim u novije vrijeme se sve češće pojavljuju i u drugim vrstama enterobakterija kao što su *Salmonella typhimurium,*[64,65] *Salmonella mbandaka,*[66] *Shigella flexneri,*[67] *Morganella morganii,*[68] *Proteus mirabilis*[69] i *Enterobacter gergoviae,*[70] kao i kod nefermentativnih bakterija.[71,72]

OXA β-laktamaze proširenog spektra

U grupu β-laktamaza proširenog spektra spadaju i OXA β-laktamaze koje su svrstane u grupu D po Ambleru.[5] Te β-laktamaze proširenog spektra uzrokuju rezistenciju na ceftazidim, cefotaksim i ceftriakson, kao i na monobaktam aztreonam.[73,74] Većina oksacilinaza proširenog spektra nastaje točkastim mutacijama od OXA-2 (OXA-15) ili OXA-10 (OXA-11, 13, 14, 15, 16, 17 i 19) osim OXA-18. Aktivnost tih serinskih β-laktamaza nije značajno inhibirana klavulanskom kiselinom osim OXA-18.[75] OXA-11, 14 i 19 pretežno kompromitiraju aktivnost ceftazidima, dok OXA-17 snažnije razgrađuje cefotaksim. OXA-10 varijante uzrokuju rezistenciju na cefepim, ali nižeg stupnja nego na ceftazidim. OXA-23 (ARI-1) i OXA-24 hidroliziraju i karbapeneme,[76] a identificirane su u izolatima *Acinetobacter baumannii* iz Ujedinjenog Kraljevstva. Ostale OXA β-laktamaze proširenog spektra pronađene su uglavnom u izolatima *P. aeruginosa* iz Turske.[75] Najnoviji tip tih enzima je OXA-37 koji uzrokuje visoki stupanj rezistencije na β-laktame, a izoliran je iz kliničkog izolata *A. baumannii.*[77] Oksacilinazni geni locirani su na plazmidima i integronima.[75]

CTX-M β-laktamaze

Od 1990. identificirano je 26 članova CTX-M porodice β-laktamaza proširenog spektra. Pripadaju u grupu A po Ambleru, a dobro hidroliziraju cefotaksim i ceftriakson, dok je ceftazidim slab supstrat za njih, što znači da im je fenotip rezistencije suprotan nego kod većine TEM i SHV β-laktamaza.[78] Te β-laktamaze nastale su mutacijom kromosomskih β-laktamaza gena od gram-negativnog genusa Kluyvera. Izoelektrična točka tih enzima kreće se oko 8,6. Prvi put su se pojavile u Južnoj Americi,[79,80] a danas su otkrivene u velikom broju zemalja, npr. u Poljskoj (CTX-M-3),[81] Španjolskoj (CTX-M-9[82] i CTX-M-14),[83] Francuskoj (CTX-M-1, CTX-M-3 i CTX-M-14),[84] Keniji (CTX-M-12),[85] Kini (CTX-M-9, CTX-M-13, CTX-M-14),[86] Tajvanu (CTX-M-14 i CTX-M-3),[87] Brazilu (CTX-M-8)[88] i Ujedinjenom Kraljevstvu.[79] Zbog sve većeg širenja tog tipa β-laktamaza potrebno je da laboratoriji testiraju osjetljivost hospitalnih izolata i na ceftazidim i na cefotaksim i da posumnjaju na ESBL ako postoji smanjena osjetljivost bilo na jedan ili na drugi antibiotik. Druga mogućnost je testiranje osjetljivosti na cefpodoksim koji podliježe hidrolizi i klasičnim TEM/SHV β-laktamazama proširenog spektra, kao i CTX-M β-laktamazama. Na temelju izoelektrične točke mogu se razlikovati od TEM i SHV β-laktamaza. Konačna identifikacija tih enzima obavlja se analizom sekvencije bla_{CTX-M} gena.[79]

Kliničko značenje β-laktamaza proširenog spektra

Poznata je činjenica da bakterije koje posjeduju β-laktamaze proširenog spektra često uzrokuju epidemije nozokomijalnih infekcija[89–100] na bolničkim odjelima koje je teško kontrolirati. Prisutnost ESBL-gena na plazmidu predstavlja potencijal za rapidno širenje među patogenim bakterijama, što je već često zapaženo u svijetu.[101]

Rizični činitelji za kolonizaciju i infekciju ESBL pozitivnim organizmima su:

1. Prijam u jedinicu za intenzivnu skrb
2. Nedavni kirurški zahvat
3. Instrumentalni zahvati (arterijski, centralni venski i urinarni kateteri)
4. Produženi boravak u bolnici
5. Terapija antibioticima, posebno cefalosporinima širokog spektra.[98,99,101]

U novije vrijeme je zapaženo da su stacionari za starije osobe važan rezervoar ESBL-pozitivnih bakterija koji pridonose i njihovu širenju u bolničkom ambijentu nakon primitka u bolnicu.[100,101] Većina takvih bolesnika ima ESBL-pozitivne *E. coli* u debelom crijevu.[102] Važan činitelj rizika je česta primjena antibiotika u toj populaciji.[102]

ESBL-producente vrlo je teško iskorijeniti nakon što invadiraju bolnicu. Jedan od razloga je i intenzivna gastro-intestinalna kolonizacija i veliki broj koloniziranih bolesnika koji služe kao rezervoar u jedinicama za intenzivnu skrb. Jedna od mjera za suzbijanje epidemija je ograničavanje upotrebe ceftazidima. Prema američkom iskustvu obustava empirijske primjene ceftazidima kao monoterapije kod febrilne neutropenije i primjena trojne terapije koja se sastoji od aminoglikozida, antipseudomonasnog penicilina i antistafilokoknoga semisintetskog penicilina pridonijela je zaustavljanju epidemije ESBL-infekcija.[99] Druga mjera je izolacija koloniziranih bolesnika. Neki autori predlažu selektivnu dekontaminaciju crijeva kod koloniziranih bolesnika za kontrolu epidemije, primjenom neomicina, polimiksina i nalidiksične kiseline, ali se pokazalo da takva mjera dovodi do povećane kolonizacije stafilokokima, enterokokima i multirezistentnim izolatima *P. aeruginosa.*[103]

Važnost laboratorijske detekcije i identifikacije β-laktamaza proširenog spektra

Metode za detekciju β-laktamaza proširenog spektra baziraju se na sinergističkom učinku cefalosporina treće generacije i klavulanske kiseline. Najčešći test za dokaz β-laktamaza proširenog spektra u laboratoriju je dvostruki disksinergistički test kod kojeg se stavlja disk s amoksicilinom i klavulanskom kiselinom u sredinu ploče, a oko njega se na udaljenosti od 2 do 3 cm stavljaju diskovi cefalosporina i aztreonama. Širenje inhibicijske zone prema centralnom disku označava pozitivni rezultat testa.[104] Prednost te metode je jednostavnost i niska cijena, a nedostatak je da optimalna udaljenost između diskova varira ovisno o pojedinom soju. Postoji i modifikacija te metode kod koje se inkorporira klavulanska kiselina u koncentraciji od 4 mg/L u podlogu i nakon toga se postavljaju diskovi cefalosporina na površinu ploče. Test se smatra pozitivnim ako dođe do proširenja zone inhibicije oko cefalosporinskog diska od najmanje 10 mm u prisutnosti klavulanata.[105] Kod testa disk na disk stavlja se disk s amoksicilin/klavulanatom na površinu cefalosporinskih diskova i određuje se širina inhibicijske zone oko cefalosporinskog diska s diskom i bez diska s klavulanatom na njemu.[106] Trodimenzionalni test ima veću specifičnost od dvostrukog diskdifuzijskog testa, ali je kompliciraniji za izvođenje.[107] β-laktamaze proširenog spektra mogu se dokazati i na temelju određivanja MIK-ova cefalosporina samih i uz dodatak klavulanske kiseline, s pomoću E-testa[108] ili s pomoću Vitek ESBL-testa.[109] U novije vrijeme preporučuje se upotreba cefpodoksima kao indikatorskog cefalosporina zbog toga što on podliježe hidrolizi TEM, SHV i CTX-M β-laktamazama tako da omogućuje detekciju ESBL-a iz sve tri porodice.[110] Na tablici 3. prikazani su najčešći testovi za dokaz ESBL u kliničkim laboratorijima. β-laktamaze proširenog spektra mogu se dokazati i molekularnim metodama, npr. amplifikacijom bla_{TEM} ili bla_{SHV} gena uz pomoć lančane reakcije polimerazom.[111,112]

Postoji više činitelja koji otežavaju detekciju β-laktamaza proširenog spektra. Jedan od problema leži u činjenici da strukturni gen koji kodira ESBL može biti vezan uz jaki ili slabi promotor. Slabi promotor dovest će do niskog stupnja produkcije β-laktamaze, dok će jaki promotor biti udružen s visokim stupnjem produkcije enzima i jače izraženom rezistencijom. Uz nisku produkciju enzima i MIK-ovi cefalosporina mogu biti niski, što otežava detekciju.[113,114] Nadalje SHV-geni mogu biti inaktivirani u prisutnosti insercijskih elemenata iako se odvija hibridizacija s genskom probom. Zbog toga molekularni testovi indiciraju produkciju SHV β-laktamaze, ali nema aktivnog enzima.[114,115] Moguće je i da su mikrobiološki kriteriji za dokaz ESBL-a previše rigidni. ESBL su poznate kao kinetički nedjelotvorni enzimi.[116] U sojeva s niskim stupnjem produkcije β-laktamaze, MIK-ovi β-laktama proširenog spektra mogu se samo neznatno sniziti u prisutnosti inhibitora, zbog malog doprinosa ESBL fenotipskoj rezistenciji.[113]

Tablica 3. *Fenotipski testovi za detekciju β-laktamaza proširenog spektra pogodni u kliničkim mikrobiološkim laboratorijima*
Table 3. *Phenotypic tests for detection of extended-spectrum β-lactamases suitable for clinical microbiology laboratories*

Test	Referenca Reference
Dvostruki disk-sinergistički test Double disc-synergy test	104
Disk-difuzijski test potenciran inhibitorom Inhibitor-potentiated disc-diffusion test	105
Disk na disk-test Disc on disc test	106
Trodimenzionalni test Threedimensional test	107
ESBL-E-test	108
Vitek ESBL-test	109
Određivanje MIK-a oksiminocefalosporina s klavulanskom kiselinom i bez nje MIC determination of oximinocephalosporins with and without clavulanate	110

S praktičnog stajališta važno je odgovoriti je li nužno znati proizvodi li uzročnik infekcije ESBL ili ne ako su MIK-ovi cefalosporina niski. S epidemiološkog stajališta odgovor je pozitivan. Ako je prisutan ESBL-gen, postoji opasnost od njegova prijenosa na plazmid s većim brojem kopija i višim stupnjem rezistencije. Kao što je zapaženo kod hospitalnih epidemija, MIK-ovi epidemijskih izolata obično rastu tijekom vremena kao posljedica pojave novih multirezistentnih plazmida s različitim markerima rezistencije i s jačom ekspresijom rezistencije.[117,118]

Inokulumski efekt je važan faktor kod ESBL-producenata. MIK-ovi cefalosporina dramatično rastu kada se veličina inokuluma poveća sa standardne vrijednosti od 5×10^5 na 5×10^7. Budući da se testovi osjetljivosti izvode uz inokulum od 10^5, oni u većini slučajeva ne detektiraju rezistenciju.[119] Inokulumski efekt je jače izražen kod *K. pneumoniae* nego kod *E. coli*. ESBL-pozitivne *E. coli* su češće kolonizacijski mikroorganizmi nego *K. pneumoniae* tako da testovi osjetljivosti u većem broju slučajeva previde kolonizaciju ESBL-pozitivnim *E. coli* nego infekciju.[120]

Posljedica neprepoznavanja ESBL-producenata može rezultirati netočnom evaluacijom antimikrobne osjetljivosti i lošim odabirom terapije za bolesnika. ESBL-geni mogu se lako prenositi s *K. pneumoniae* na sojeve *E. coli*. Takvi sojevi *E. coli* mogu kolonizirati bolesnike koji napuštaju bolnicu i zatim diseminiraju takve izolate u svojoj okolini. ESBL-geni imaju mogućnosti prijenosa na jače rezistentne plazmide tako da na kraju domaćin postane koloniziran visokorezistentnim organizmom.[113]

Lažno pozitivni rezultati pri fenotipskoj detekciji ESBL-a mogu nastati zbog hiperprodukcije SHV-1 β-laktamaze[121] ili kod multiplih β-laktamaza širokog spektra u istom izolatu.[122] Lažno negativni rezultati fenotipske detekcije koja se bazira na sinergizmu s klavulanskom kiselinom zapaženi su zbog različite aktivnosti β-laktamaza prema pojedinim supstratima, zbog prisutnosti multiplih β-laktamaza ili ako postoje dodatni mehanizmi rezistencije, npr. promjene u porinima.[123] Detekcija ESBL-a može biti otežana kod enterobakterija koje imaju in-

ducibilne kromosomske AmpC β-laktamaze kao što su *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Morganella morganii*, *Providencia* spp. i *Serratia* spp. Klavulanat djeluje kao induktor tih β-laktamaza koje zatim mogu razgraditi indikatorski cefalosporin i maskirati sinergistički efekt zbog inhibicije ESBL-a. *P. aeruginosa* također je problem ne samo zbog AmpC β-laktamaza nego i zbog impermeabilnosti mnogo većeg stupnja nego kod enterobakterija kao i zbog efluksa antibiotika.[110] U slučaju ranije navedenih bakterija rezistencija na oksiminocefalosporine uključujući i one indikatorske za ESBL (ceftazidim, cefotaksim, cefpodoksim) ovisi češće o mutacijskoj hiperprodukciji AmpC β-laktamaza nego o ESBL-u. U principu se ESBL-producenti mogu razlikovati od AmpC-hiperproducenata na temelju osjetljivosti na cefotetan.[110] U slučaju *P. aeruginosa* visoki stupanj rezistencije na ceftazidim (MIK>64 mg/L), kao i rast kolonija do ruba diska upućuje na ESBL, dok AmpC-hiperproducenti i mutantni s efluksom i impermeabilnošću obično imaju rezistenciju na ceftazidim nižeg stupnja. Sinergizam s klavulanatom je nepouzdan za detekciju ESBL-a u ove bakterije.[110]

Terapija infekcija uzrokovanih bakterijama koje proizvode β-laktamaze proširenog spektra

In vitro karbapenemi (imipenem i meropenem), kao i cefamicini iskazuju konzistentnu aktivnost prema ESBL-producentima jer su otporni na hidrolizu tim enzimima. Rezistencija na karbapeneme je *u K. pneumoniae* zasada vrlo rijetka.[124,125] Plazmidi koji kodiraju ESBL često sadržavaju i gene rezistencije za ne-β-laktamske antibiotike kao što su aminoglikozidi, sulfonamidi, tetraciklini, kloramfenikol i trimetoprim.[126] Plazmidna rezistencija na kinolone je rijetka u *K. pneumoniae,* ali je zapaženo da su ESBL-producenti u visokom postotku rezistentni i na tu skupinu antibiotika.[127,128]

Uloga cefalosporina treće generacije

Producenti TEM i SHV β-laktamaza ceftazidimaznog tipa obično su *in vitro* osjetljivi na cefotaksim,[104,128] ali je usprkos tomu opće prihvaćeno da se ESBL-pozitivni izolati izvještavaju kao rezistentni na sve β-laktame osim karbapenema, bez obzira na rezultat *in vitro* testa.[129] Razlog tomu su terapijski neuspjesi kod njihove primjene za liječenje infekcija uzrokovanih bakterijama produktorima ESBL-a unatoč tomu što *in vitro* testovi pokazuju osjetljivost.[19,130–132] Terapijski neuspjesi su češći ako je infekcija lokalizirana izvan urinarnog trakta.[133–135] Mogući uzrok terapijskih neuspjeha jest izraženi inokulumski efekt, kao i evolucija rezistencije u toku terapije zbog selekcijskog pritiska antibiotika.[136]

Postoje međutim i dokumentirane studije o kliničkoj djelotvornosti cefotaksima u liječenju infekcija koje uzrokuju ESBL-producenti.[136] Neki autori smatraju da bi ga trebalo davati u visokim dozama, ako *in vitro* testovi pokazuju djelotvornost.[136]

Uloga cefalosporina četvrte generacije

Cefepim je stabilniji prema β-laktamazama u odnosu na cefalosporine treće generacije i neki *in vivo* eksperimenti na životinjama pokazuju njegovu djelotvornost prema ESBL-produktorima,[137] ali pozitivni klinički rezultati na ljudima nisu tako očiti.[128] Smanjena djelotvornost je posljedica izraženog inokulumskog efekta[119] kao i kod cefalosporina treće generacije i mutacija koje dovode do hiperprodukcije, posebno SHV-5 β-laktamaze.[136]

Uloga cefamicina

Cefamicini ne podliježu hidrolizi β-laktamazama iz TEM i SHV-porodice, ali ih razgrađuju plazmidne AmpC β-laktamaze koje se sve češće pojavljuju. Drugi je problem njihova smanjena djelotvornost kod mutanata s defektnim porinima.[126,138,139] Zbog navedenih razloga cefamicini se smatraju terapijom drugog izbora za infekcije uzrokovane ESBL-producentima. Cefotetanu bi trebalo dati prednost pred cefoksitinom.[128,136]

Uloga kombinacija s inhibitorima

Uloga kombinacija β-laktama s inhibitorima (npr. amoksicilin+klavulanat, tikarcilin-klavulanat, piperacilin+tazobaktam, cefoperazon+sulbaktam) upitna je zbog više razloga. Prvo, njihova djelotvornost se smanjuje s porastom inokuluma, kao i kod cefalosporina, a osim toga aktivnost im je umanjena kod hiperprodukcije pojedinih tipova β-laktamaza i gubitka porina.[128] Pokusi na animalnim modelima nisu dokazali njihovu antibakterijsku djelotvornost.[140,141] Piperacilin/tazobaktam pokazao se aktivnijim prema TEM-producentima, dok su SHV-2, 3, 4 i 5-producenti obično rezistentni.[136] Sulbaktam je slabije aktivan prema SHV-β-laktamazama od klavulanske kiseline. U SAD-u je na tržištu dostupan i cefoperazon u kombinaciji sa sulbaktamom. Takva kombinacija je djelotvorna ne samo prema ESBL-producentima nego i prema *A. baumannii.*[142] Kod kombiniranih pripravaka važno je izabrati sastojke sa sličnim farmakokinetskim svojstvima budući da kombinacija djeluje optimalno ako obje komponente u isto vrijeme uđu u bakterijsku stanicu. Drugi je problem što kombinacija s inhibitorom može uzrokovati mutacije u TEM ili SHV-molekuli koje dovode do pojave inhibitor-rezistentnih TEM (IRT) i SHV-β-laktamaza.[142] Sulbaktam ima jači potencijal selekcije IRT od tazobaktama.[142]

Uloga karbapenema

Karbapenemi su antibiotici izbora za liječenje infekcija uzrokovanih ESBL-producentima. Rezistencija na karbapeneme kod ESBL-pozitivnih bakterija zasada je vrlo rijetka i posljedica je udruženog djelovanja β-laktamaza i defekta u porinima.[124,125,143] Meropenem ima prednost pred imipenemom jer ima niže MIK-ove za enterobakterije i ne mora se davati u kombinaciji s cilastatinom zbog toga što je otporan na humanu renalnu dihidropeptidazu, tako da ima manje neuroloških nuspojava.[128] U kontroliranim kliničkim studijama bakteriemija uzrokovanih ESBL-producirajućim sojevima *K. pneumoniae* i *E. coli* pokazalo se da je mortalitet značajno niži kod bolesnika koji su dobivali karbapeneme u odnosu na bolesnike koji su bili tretirani neodgovarajućim antibioticima. Primjena karbapenema u prvih pet dana infekcije ima pozitivan efekt.[98] Također se pokazalo da osobe kolonizirane ESBL-pozitivnim klepsijelama imaju veću vjerojatnost mortaliteta od sepse u odnosu na kontrolnu populaciju.[98]

Biapenem je najnoviji karbapenem u fazi istraživanja koji pokazuje još veću stabilnost prema β-laktamazama i jednako kao i meropenem ne zahtijeva primjenu cilastatina. U kliničkim studijama dokazao je bakteriološku djelotvornost u liječenju intraabdominalnih infekcija, infekcija donjeg dijela respiratornog trakta i kompliciranih urinarnih infekcija kod odraslih osoba.[144] Valja očekivati da će i on biti lijek izbora za liječenje nozokomijalnih infekcija uzrokovanih ESBL-producentima.

Uloga aminoglikozida

Aminoglikozidi se za terapiju sistemskih infekcija uzrokovanih ESBL-pozitivnim enterobakterijama primjenjuju jedino u kombinaciji s β-laktamima.[128] Plazmidi koji kodiraju ESBL mogu sadržavati i gene rezistencije na aminoglikozide.[126] Postoje izvještaji o neuspjehu terapije aminoglikozidima u kombinaciji s ceftazidimom kod infekcija uzrokovanih ESBL-pozitivnim klepsijelama.[145]

Uloga kinolona

Kinoloni se rabe uglavnom za liječenje infekcija urinarnog trakta uzrokovanih ESBL-pozitivnim enterobakterijama. Jedan od problema leži u činjenici da su ESBL-producenti često rezistentni i na ovu grupu antibiotika iako ta rezistencija najčešće nije plazmidna.[128] Kinoloni mogu biti odgovorni za promjenu u distribuciji bakterija koje uzrokuju hospitalne infekcije. Pod njihovim selekcijskim pritiskom ESBL-pozitivne klepsijele mogu biti zamijenjene kinolon-rezistentnim sojevima *A. baumannii* i enterokokima kao hospitalnim patogenima koji se još teže eradiciraju.[142]

Zbog gore navedenih razloga potrebno je opsežno testiranje osjetljivosti prije odabira antimikrobne terapije kod infekcija uzrokovanih ESBL-producentima.[136] Preporuke za terapiju kod teških infekcija uzrokovanih ESBL-pozitivnim bakterijama dane su na tablici 4. Radi prevencije širenja ESBL-produce-

Tablica 4. *Preporuke za terapiju infekcija uzrokovanih mikroorganizmima koji proizvode β-laktamaze proširenog spektra (ESBL)*
Table 4. *Treatment recommendations for infections caused by organisms producing extended-spectrum β-lactamases*

Tip infekcije Type of infection	Terapija prvog izbora First-line therapy	Alternativna terapija Second-line therapy
Bakteriemija Bacteremia	Karbapenem (imipenem ili meropenem) Carbapenem (imipenem or meropenem)	Ciprofloksacin Ciprofloxacin
Infekcije respiratornog trakta Respiratory tract infections	Karbapenem ili meropenem) Carbapenem (imipenem or meropenem)	Ciprofloksacin Ciprofloxacin
Intraabdominalne infekcije Intra-abdominal infections	Karbapenem ili meropenem) Carbapenem (imipenem or meropenem)	Ciprofloksacin ili cefamicin Ciprofloxacin or cephamycin
Infekcije urinarnog trakta Urinary tract infection	Ciprofloksacin Ciprofloxacin	Amoksicilin/klavulanat Amoxycillin/clavulanate
Meningitis	Meropenem	Dodatak polimiksina B Addition of polymyxin B

* (Podaci su preuzeti od: Paterson DL: Recommendation for treatment of severe infections caused by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β-lactamases (ESBLs). Clin Microbiol Infect 2000:6(9):460–463, Table 1, uz dozvolu izdavača.)

nata u bolnicama potrebno je racionalizirati upotrebu antibiotika, posebno cefalosporina širokog spektra. Prema mišljenju nekih autora preporučuje se izbjegavati primjenu sporopenetrirajućih cefalosporina kao što je ceftazidim jer oni imaju veći potencijal selekcije mutacija koje dovode do proširenog spektra od brzopenetrirajućih kao što je cefotaksim. U principu, što je duže vrijeme potrebno da bi antibiotik ušao u bakterijsku stanicu, veći je rizik od nastanka mutacija.[142]

Zaključak

Značenje β-laktamaza proširenog spektra ogleda se u dubini, širini i rasprostranjenosti. Dubinu predstavlja broj antibiotika koji hidroliziraju, širinu predstavlja broj različitih bakterijskih vrsta koje ih posjeduju, a rasprostranjenost se odnosi na geografsku distribuciju tih enzima.[98]

Rezistencija uzrokovana ESBL-om velik je zdravstveni problem u sve većem broju zemalja u svijetu. U Europi su ESBL pronađene u velikom broju zemalja kao što su Francuska,[146] Njemačka,[51] Španjolska,[91] Ujedinjeno Kraljevstvo,[147] Švicarska,[148] Nizozemska,[149] Austrija,[150] Italija,[151] Poljska,[152] Hrvatska,[153] Mađarska,[154] Grčka[155] i Turska.[156] Prevalencija pojedinih tipova ESBL-a u određenoj zemlji odražava odabir primjene antibiotika. U srednjoj Europi prevladavala je prije SHV-5 β-laktamaza,[150–153,157] a danas se sve češće javlja SHV-12.[148,158,159] Sve veći broj bakterijskih vrsta stječe rezistenciju na veliki broj β-laktamskih antibiotika zahvaljujući njima tako da su terapijske mogućnosti sve skučenije. Nedjelotvorna terapija povećava mortalitet, produžuje boravak u bolnici i potiče nozokomijalno širenje multirezistentnih gram-negativnih bakterija.[128,136]

Karbapenemi zasada predstavljaju antibiotike izbora, ali dugoročno rješenje treba tražiti u restrikciji primjene antibiotika, kontroli infekcija, mjerama hospitalne higijene i razvoju novih antibiotika u budućnosti. β-laktami su još uvijek vrlo korisni antibiotici, ali treba čuvati njihovu djelotvornost racionalnom upotrebom.

LITERATURA

1. *Livermore DM*. β-lactamase-mediated resistance and opportunities for its control. J Antimicrob Chemother 1998;41(Suppl D):25–41.
2. *Li X, Ma D, Livermore DM, Nikaido H*. Role of efflux pumps in intrinsic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: active efflux as a contributing factor to β-lactam resistance. Antimicrob Ag Chemother 1994;38:1742–52.
3. *Poole K*. Bacterial multidrug resistance: emphasis on efflux mechanisms and *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother 1994;34:453–6.
4. *Fontana R, Valisena S, Cornaglia G*. Comparative affinities for penicillin-binding proteins of multipolar ionic amphoteric cephalosporins in Gram-negative bacteria. J Chemoher 1996;8(Suppl. 2):23–30.
5. *Ambler RP*. The structure of β-lactamases. Philos Trans R. Soc. London Ser. B. 1980;289:321–31.
6. *Sykes RB, Matthew M*. The β-lactamases of gram-negative bacteria and their role in resistance to β-lactam antibiotics. J Antimicrob Chemother 1976;2:115–57.
7. *Matthew M*. Plasmid mediated β-lactamases of gram-negative bacteria: distribution and properties. J Antimicrob Chemother 1979;5:349–58.
8. *Sykes RB, Matthew M*. Detection, assay and immunology of β-lactamases. U: Hamilton-Miller MT, Smith JT, ur. β-lactamases. London: Academic Press Ltd, 1979, str. 17–49.
9. *Chaves J, Ladona MG, Segura C, Coira A, Reig R, Ampurdanes C*. SHV-1 β-lactamase is mainly a chromosomally encoded species-specific enzyme in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agent Chemother 2001;45(10):2856–61.
10. *Jacoby GA, Medeiros AA*. More extended-spectrum β-lactamases. Antimicrob Ag Chemother 1991;35:1697–704.
11. *Rahal K, Gerbaud B, Chabbart A*. Characterization d'un facteur de resistance transferable chez *Vibrio cholerae* biotype el tor. Ann. Inst. Pasteur 1973;124(Suppl B):245–7.
12. *Livermore DM, Pitt TL, Jones CS, Crees-Moris JA, Williams RJ*. PSE-4 β-lactamase: a serotype specific enzyme in *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Microbiol 1985;19:45–53.
13. *Zimmermann W, Rosselet A*. Function of the outer membrane of *Escherichia coli* as a permeability barrier to β-lactam antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 1977;12:368–72.
14. *Nikaido H, Normark S*. Sensitivity of *Escherichia coli* to various β-lactams is determined by the interplay of outer membrane permeability and degradation by β-lactamases: a quantitative predictive treatment. Mol Biol 1987;1:29–36.
15. *Livermore DM, Davy KWM*. Invalidity for *Pseudomonas aeruginosa* of an accepted model of bacterial permeability to β-lactam antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 1991;35:916–21.
16. *Sabath LD, Garner C, Wilcox C, Finland M*. Effect of inoculum and of β-lactamase on the anti-staphylococcal activity of thirteen penicillins and cephalosporins. Antimicrob Agents Chemother 1975;8:344–9.
17. *Fu K, Neu HC*. Piperacillin, a new penicillin active against many bacteria resistant to other penicillins. Antimicrob Agents Chemother 1978;13: 358–67.
18. *Williams JD*. The correlation of *in-vitro* susceptibility tests with *in-vivo* results of antibiotic treatment. Scand J Infect Dis 1978;13:64–6.
19. *Rice LB, Yao JD, Klimm K, Eliopoulos GM, Moellering RC*. Efficacy of different β-lactams against an extended-spectrum β-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* strain in the rat intra-abdominal sepsis model. Antimicrob Agents Chemother 1991;35:1243–4.
20. *Wu PJ, Shannon K, Philips I*. Effect of hyperproduction of TEM-1 β-lactamase on *in vitro* susceptibility of *Escherichia coli* to β-lactam antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 1994;38:494–8.
21. *Lacey RW*. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and streptococci. Brit Med Bull 1984;40:77–83.
22. *Kernodle DS, McGraw PA, Stratton CW, Kaiser AB*. Use of extracts versus whole-cell bacterial suspensions in the identification of *Staphylococcus aureus* β-lactamase variants. Antimicrob Agent Chemother 1990;34:420–5.

23. *Zygmunt DJ, Stratton CW, Kernodle DS*. Characterization of four β-lactamases produced by *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agent Chemother 1992;36:440–5.
24. *McDouglas LK, Thornsberry C*. The role of β-lactamase in *Staphylococcus aureus* resistance to penicillinase-resistant penicillins and cephalosporins. J Clin Microbiol 1986;23:832–9.
25. *Livermore DM*. β-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995;8(4):557–584.
26. *Livermore DM, Moosdeen MA, Lindridge P, Kho P, Williams JD*. Behavior of TEM-1 β-lactamase as a resistance mechanism to mezlocilin, ampicillin, and azlocilin in *Escherichia coli*. J Antimicrob Chemother 1986; 17:139–46.
27. *Sanders CC, Sanders WE*. β-lactam resistance in Gram-negative bacteria: global trends and clinical impact. Clin Infect Dis 1992;15:824–39.
28. *Livermore DM*. β-lactamases of *Pseudomonas aeruginosa*. Antibiotics and Chemotherapy 1991;44:215–20.
29. *Joly B, Delmas C, Rich C, Prere MF, Livrelli V, Dabernat H*. Un nouveau mecanisme de resistance a l ampicilline per production de β-lactamase ROB-1 chez une souche d' *Haemophilus influenzae* isolee en France. Presse Med 1987;16:916–17.
30. *Labia R, Barthelemy M, Le Bouguennec CB, Hoi-Dang Van AB*. Classification of β-lactamases from *Branhamella catarrhali*s in relation to penicillinases produced by other bacteria species. Drugs 1986;31(suppl. 3): 40–7.
31. *Christensen JJ, Keiding J, Schumacher H, Bruun B*. Recognition of a new *Branhamella catarrhalis* β-lactamase – BRO-3. J Antimicrob Chemother 1991;28(5):774–5.
32. *Xiaotian Z, Yupu C*. β-lactamase producing *Branhamella catarrhalis* in Beijing, China. Pediatr Infect Dis J 1988;7(10):744.
33. *Eliasson I*. β-lactamases in respiratory tract bacteria. Characterisation of β-lactamases in *Branhamella catarrhalis* (disertacija). Lund, Švedska: University of Lund, 1990, str 27–44.
34. *Fung CP, Yeo SF, Livermore DM*. Susceptibility of *Moraxella catarrhalis* to β-lactam antibiotics in relation to β-lactamase pattern. J Antimicrob Chemother 1994;33:215–222.
35. *Doern GV, Brueggemann AB, Pierce G, Hogan T, Preston-Holley H Jr, Rauch A*. Prevalence of antimicrobial resistance among 723 outpatient clinical isolates of *Moraxella catarrhalis* in the United States in 1994 and 1995: results of a 30-center national surveillance study. Antimicrob Agent Chemother 1996;40(12):2884–6.
36. *Stobberingh EE, Wunderink M, Philips M, Houben A*. *Branhamella catarrhalis*: β-lactamase production and sensitivity to oral antibiotics, including new cephalosporins. J Antimicrob Chemother 1987;20:765–70.
37. *Stobberingh EE, Davies B, van Boven CPA*. *Branhamella catarrhalis*: antibiotic sensitivities and β-lactamases. J Antimicrob Chemother 1984; 13:55–64.
38. *Doern GV, Siebers KG, Hallick LM, Morse SA*. Antibiotic susceptibility of β-lactamase-producing strains of *Branhamella (Neisseria) catarrhalis*. Antimicrob Agent Chemother 1980;17(1):24–9.
39. *Doern GV, Jones RN*. Antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae*, *Branhamella catarrhalis* and *Neisseria gonorrhoeae*. Antimicrob Agent Chemother 1988;32(12):1747–53.
40. *Cooper CE, Slocombe B, White AR*. Effect of low concentrations of clavulanic acid on the in-vitro activity of amoxycillin against β-lactamase producing *Branhamella catarrhalis* and *Haemophilus influenzae*. J Antimicrob Chemother 1990;26:371–80.
41. *Farmer T, Reading C*. β-lactamases of *Branhamella catarrhalis* and their inhibition by clavulanic acid. Antimicrob Agent Chemother 1982;21(3): 506–8.
42. *Slocombe B*. Inhibition of β-lactamases in *Branhamella catarrhalis*. Drugs 1986;31(Suppl.3):79–81.
43. *Wallace RJ, Steingrube VA, Nash DR, Hollis DG, Flanagan C, Brown BA, Labidi A, Weaver RE*. BRO β-lactamases of *Branhamella catarrhalis* and *Moraxella* subgenus *Moraxella*, including evidence for chromosomal β-lactamase transfer by conjugation in *B. catarrhalis*, *M. nonliquefaciens* and *M. lacunata*. Antimicrob Agents Chemother 1989;33 (11):1845–54.
44. *Doern GV Tubert TA*. Detection of β-lactamase activity among clinical isolates of *Branhamella catarrhalis* with six different β-lactamase assays. J Clin Microbiol 1987;25(8):1380–3.
45. *Doern GV, Tubert T*. Effect of inoculum size on results of macrotube broth dilution susceptibility test with *Branhamella catarrhalis*. J Clin Microbiol 1987;1576–8.
46. *Frere JM*. β-lactamases and bacterial resistance to antibiotics. Mol. Microbiol 1995;16:385–95.
47. *Abraham EP*. Cephalosporins 1945–1986. Drugs 1987;34(Suppl 2):1–14.
48. *Philippon A, Labia R, Jacoby GA*. Extended-spectrum β-lactamases. Antimicrob Agent Chemother 1989;33:1131–6.
49. *Philippon A, Paul G, Vedel G, Nevot P*. Resistance plasmidique aux cephalosporines de 3^{e} generation. Presse Med 1988., 17:1883–9.
50. *Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S*. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. Infection 1983;6:315–7.
51. *Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorff-Neutzling RM, Wiedemann B*. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. Antimicrob Agent Chemother 1985., 28(2):302–7.
52. *Gonzales-Leiza M, Perez-Diaz JC, Ayala J, Casellas JM, Martinez-Beltran J, Bush K, Baquero F*. Gene sequence and biochemical characterization of FOX-1 from *Klebsiella pneumoniae*, a new AmpC-type plasmid-mediated β-lactamase with two molecular variants. Antimicrob Agent Chemother 1994;38(9):2150–7.
53. *Horii T, Arakawa Y, Ochta M, Ichiyama S, Rochaporn W, Kato N*. Plasmid-mediated AmpC-type β-lactamase isolated from *Klebsiella pneumoniae* confers resistance to broad-spectrum β-lactams, including moxalactam. Antimicrob Agent Chemother 1993;37(5):984–90.
54. *Bauernfeind A, Wagner S, Jungwirth R, Schneider I, Meyer D*. A novel class C β-lactamase conferring resistance to cephamycins. Antimicrob Agent Chemother 1997;41(9):2041–6.
55. *Koeck JL, Arlet G, Philippon A, Basmaciogullari S, Vi Thien H, Buisson Y, Cavallo JD*. A plasmid-mediated CMY-2 β-lactamase from an Algerian clinical isolate of *Salmonella senftenberg*. FEMS Microbiology Letters 1997;152:255–60.
56. *Winkour PL, Wonstein DL, Hoffman LJ, Uhlenhopp EK, Doern GV*. Evidence for transfer of CMY-2 AmpC β-lactamase plasmids between *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from food animals and humans. Antimicrob Agents Chemother 2001;45(10):2716–22.
57. *Navarro F, Perez-Trallero E, Marimon JM, Aliaga R, Gomariz M, Mirelis B*. CMY-2 producing *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* strains isolates in Spain (October 1999-December 2000). J Antimicrob Chemother 2001;48:383–9.
58. *Decre D, Verdet C, Raskine L, Blanchard H, Burghoffer B, Philippon A, Sanson-Le Pors MJ, Petit JC, Arlet G*. Characterization of CMY-type β-lactamases in clinical strains of *Proteus mirabilis* and *Klebsiella pneumoniae* in four hospitals in the Paris area. J Antimicrob Chemother 2002; 50(5):681–8.
59. *Yan JJ, Wu SM, Tsai SH, Wu JJ, Su IJ*. Prevalence of SHV-12 among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β-lactamases and identification of a novel AmpC enzyme (CMY-8) in Southern Taiwan. Antimicrob Agent Chemother 2000;44(6):1438–1442.
60. *Wiseman L, Lamb HM*. Cefpirome: a review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and clinical efficay in the treatment of severe nosocomial infections and febrile neutropenia. Drugs 1997;54(1): 117–40.
61. *Barradell LB, Bryson HM*. Cefepime: a review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. Drugs 1994;47(3): 471–505.
62. *Katsanis G, Jacoby G*. The frequency of extended-spectrum β-lactamases in isolates of *Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrob Chemother 1992;29: 345–53.
63. *Urban C, Rahal J*. *Klebsiella* and extended-spectrum β-lactamases. International Journal of Antimicrobial Agents 1997;8:37–43.
64. *Tzouvelekis LS, Gazouli M, Markogiannakis A, Paraskaki E, Legakis NJ, Tzelepi E*. Emergence of resistance to third-generation cephalosporins amongst *Salmonella typhimurium* isolates in Greece: report of the first three cases. J Antimicrob Chemother 1998;42:273–5.
65. *Gazouli M, Sidorenko SV, Tzelepi E, Kozlova NS, Gladin DP, Tzouvelekis LS*. A plasmid-mediated β-lactamase conferring resistance to cefotaxime in a *Salmonella typhimurium* clone found in St Petersburg, Russia. J Antimicrob Chemother 1998;41:119–21.
66. *Poupart MC, Chanal C, Sirot D, Labia R, Sirot J*. Identification of CTX-2, a novel cefotaximase from *Salmonella mbandaka* isolate. Antimicrob Agent Chemother 1991;35(7):1498–500.
67. *Fortineau N, Naas T, Gaillot O, Nordmann P*. SHV-type extended-spectrum β-lactamase in a *Shigella flexneri* clinical isolate. J Antimicrob Chemother 2001;47:685–688.
68. *Tessier F, Arpin C, Allery A, Quentin C*. Molecular characterization of a TEM-21 β-lactamase in a clinical isolate of *Morganella morganii*. Antimicrob Agent Chemother 1998;42(8):2125–7.
69. *Pitout JDD, Thomson KS, Hanson ND, Ehrhardt AF, Moland ES, Sanders CC*. β-lactamases responsible for resistance to expanded-spectrum cephalosporins in *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis* isolates in South Africa. Antimicrob Agent Chemother 1998;42 (6):1350–4.
70. *Cheng Y, Chen M*. Extended-spectrum β-lactamases in clinical isolates of *Enterobacter gergoviae* and *Escherichia coli* in China. Antimicrob Agent Chemother 1994;38(12):2838–42.
71. *Luzzaro F, Mantengoli E, Perilli M, Lombardi G, Orlandi V, Orsatti A, Amicosante F, Rossolini G, Toniolo A*. Dynamics of a nosocomial outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing the PER-1 extended-spectrum β-lactamase. J Clin Microbiol 2001;39(5): 1865–70.
72. *Blahova J, Hupkova-Lešicka M, Kralikova K, Krčmery V*. Extended-spectrum β-lactamase reactions in *Stenotrophomonas maltophilia*. Infection 1998;26(3):187–188.

73. *Jacoby GA*. Genetics of extended-spectrum β-lactamases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994;13(Suppl. 1):2–11.
74. *Aubert D, Poirel L, Ali AB, Goldstein FW, Nordmann P*. OXA-35 is an OXA-10 related β-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother 2001;48(5):717–21.
75. *Poirel L, Girlich D, Naas T, Nordmann P*. OXA-28, an extended-spectrum variant of OXA-10 β-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* and its plasmid-and integron-located gene. Antimicrob Agents Chemother 2001;45(2):447–53.
76. *Aubert D, Poirel L, Chevalier J, Leotard S, Pages JM, Nordmann P*. Oxacillinase-mediated resistance to cefepime and susceptibility to ceftazidime in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45(6):1615–20.
77. *Navia MM, Ruiz J, Vila J*. Characterization of an integron carrying a new class D β-lactamase (OXA-37) in *Acinetobacter baumannii*. Microbial Drug Resistance-Mechanisms Epidemiology and Disease 2002;8(4):261–5.
78. *Neuwirth C, Siebor E, Pruneaux M, Zarnayova M, Simonin C, Labia R*. First isolation of CTX-M-15 producing *Escherichia coli* from two French patients. J Antimicrob Chemother 2003;51(2):471–3.
79. *Alobwede I, Zali FHM, Livermore DM, Heritage J, Todd N, Hawkey PM*. CTX-M extended-spectrum β-lactamase arrives in the UK. J Antimicrob Chemother 2003;51(2):470–1.
80. *Radice M, Power P, Di Conza J, Gutkind G, Bonnet R, Sirot D i sur*. Early dissemination of CTX-M derived enzymes in South America. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:602–4.
81. *Baraniak A, Fiett J, Sulikowska A, Hryniewicz W, Gniadkowski M*. Countrywide spread of CTX-M-3 extended-spectrum β-lactamase-producing microorganisms of the family *Enterobacteriaceae* in Poland. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:151–9.
82. *Sabate M, Tarrago R, Navarro F, Miro E, Verges C, Barbe J, Prats G*. Cloning and sequence of the gene encoding a novel cefotaxime-hydrolyzing β-lactamase (CTX-M-9) from *Escherichia coli* in Spain. Antimicrob Agents Chemother 2000;44(7):1970–3.
83. *Bou G, Cartelle M, Tomas M, Cenle D, Molina F, Moure R, Eiros JM, Guerrero A*. Identification and broad dissemination of the CTX-M-14 β-lactamase in different *Escherichia coli* strains in the norwest area of Spain. J Clin Microbiol 2002;40(11):4030–6.
84. *Dutour C, Bonnet M, Marchadin H, Boyer M, Chanal C, Sirot D, Sirot J*. CTX-M-1, CTX-M-3 and CTX-M-14 β-lactamases from *Enterobacteriaceae* isolated in France. Antimicrob Agents Chemother 2002;46(2):534–7.
85. *Kariuki S, Corkill JE, Revathi G, Musoke R, Hart CA*. Molecular characterization of a novel plasmid-encoded cefotaximase (CTX-M-12) found in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates from Kenya. Antimicrob Agents Chemother 2001;45(7):2141–3.
86. *Chanawong A, M'Zali FH, Heritage J, Xiong JH, Hawkey PM*. Three cefotaximases CTX-M-9, CTX-M-13 and CTX-M-14 among *Enterobacteriaceae* in the People's Republic of China. Antimicrob Agents Chemother 2002;46(3):630–7.
87. *Yu WL, Winkour PL, Von Stein DL, Pfaller MA, Wang JH, Jones RN*. First description of *Klebsiella pneumoniae* harboring CTX-M β-lactamases (CTX-M-14 and CTX-M-3) in Taiwan. Antimicrob Agents Chemother 2002;46(4):1098–100.
88. *Bonnet R, Sampaio JLM, Labia R, De Champs C, Sirot D, Chanal C, Sirot J*. A novel CTX-M β-lactamase (CTX-M-8) in cefotaxime-resistant *Enterobacteriaceae* isolated in Brasil. Antimicrob Agents Chemother 2000,44(7):1936–1942.
89. *Revathi G, Shannon KP, Stapleton PD, Jain BK, French GL*. An outbreak of extended-spectrum β-lactamase producing *Salmonella senftenberg* in a burns ward. J Hospit Infect 1998;40:295–302.
90. *Luzzaro f, Perilli M, Migliavacca R, Lombardi G, Micheletti P, Agodi A, Stefani S, Amicosante G, Pagani L*. Repeated epidemics caused by extended-spectrum β-lactamase producing *Serratia marcescens* strains. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1998;17:629–36.
91. *Morosini MI, Rafael C, Martinez-Beltran J, Negri MC; Perez-Diaz JC, Baquero F, Blazquez J*. New extended-spectrum TEM β-lactamase from *Salmonella enterica* subsp. *enterica* isolated in a nosocomial outbreak. Antimicrob Agent Chemother 1995;39(2):458–61.
92. *Pagani L, Perilli M, Migliavacca R, Luzzaro F, Amicosante G*. Extended-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains causing outbreaks in intensive care units in Italy. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000;19:765–72.
93. *Arlet G, Sanson-le Pors MJ, Rouveau M, Fournier G, Marie O, Schlemmer B, Philippon A*. Outbreak of nosocomial infections due to *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-4 β-lactamase. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1990:9(11):797–803.
94. *Neuwirth C, Siebor E, Lopez J, Pechinot A, Kazmierczak A*. Outbreak of TEM-24 producing *Enterobacter aerogenes* in an intensive care unit and dissemination of the extended-spectrum β-lactamase to other members of the family *Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol 1996;34(1):76–9.
95. *Fiett J, Palucha A, Miaczynska B, Stankiewicz M, Przdono-Mordarska H, Hryniewicz W, Gniadkowski M*. A novel complex mutant β-lactamase, TEM-68, identified in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from an outbreak of extended-spectrum β-lactamase producing Klebsiellae. Antimicrob Agent Chemother 2000;44(6):1499–505.
96. *Nouvellon M, Pons JL, Sirot D, Combe ML, Lemeland JF*. Clonal outbreaks of the extended-spectrum β-lactamase producing strains of *Klebsiella pneumoniae* demonstrated by antibiotic susceptibility testing, β-lactamase typing, and multifocus enzyme electrophoresis. J Clin Microbiol 1994;32(10):2625–7.
97. *Rice LB, Willey SH, Papanicolaou GA, Medeiros AA, Elioupoulos GM, Moellering JR, Jacoby GA*. Outbreak of ceftazidime resistance caused by extended-spectrum β-lactamase at a Massachusetts chronic-care facility. Antimicrob Agents Chemother 1990;34(11):2193–2199.
98. *Rahal JJ*. Extended-spectrum β-lactamases: how big is the problem? Clin Microbiol Infect 2000;6(Suppl.2):2–6.
99. *Quinn JP*. Clinical significance of extended-spectrum β-lactamases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994;13(Suppl.1):39–42.
100. *Bradford PA, Urban C, Jaswal A, Mariano N, Rasmussen BA, Projan SJ, Rahal JJ, Bush K*. SHV-7, a novel cefotaxime-hydrolyzing β-lactamase, identified in *Escherichia coli* isolates from hospitalized nursing home patients. Antimicrob Agents Chemother 1995;39(4):899–905.
101. *Emery CL, Weymouth LA*. Detection and clinical significance of extended-spectrum β-lactamases in a tertiary-care medical center. J Clin Microbiol 1997;35(8):2061–2067.
102. *Einhorn AE, Neuhauser MM, Bearden DT, Quinn JP, Pendland SL*. Extended-spectrum β-lactamases: Frequency, risk factors, and outcomes. Pharmacother 2002;22(1):14–20.
103. *Brun-Buisson C, Legrand P, Raus A, Richard C, Montravers F, Besbes M, Meakings J, Soussy CJ, Lemaire F*. Intestinal decontamination for control of nosocomial multi-resistant gram-negative bacilli. Ann Int Med 1989;110:873–87.
104. *Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A*. Extended broad-spectrum β-lactamases conferring transferable resistance to newer β-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis 1988;10:867–78.
105. *Ho PL, Chow KH, Yuen KY, Ng WS, Chau PY*. Comparison of a novel, inhibitor-potentiated disc-diffusion test with other methods for the detection of extended-spectrum β-lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrob Chemother 1998;42:49–54.
106. *MacKenzie FM, Miller CA, Gould IM*. Comparison of screening methods for TEM and SHV-derived extended-spectrum β-lactamases. Clin Microbiol Infect 2002;8(11):715–24.
107. *Thomson KS, Sanders CC*. Detection of extended-spectrum β-lactamases in the members of the familiy *Enterobacteriaceae* – comparison of the double-disc and 3-dimensional tests. Antimicrob Agents Chemother 1992;36:1877–82.
108. *Cormican MG, Marshall SA, Jones RN*. Detection of extended-spectrum β-lactamase (ESBL)-producing strains by the E test ESBL screen. J Clin Microbiol 1996;34(8):1880–4.
109. *Sanders CC, Barry AL, Washington JA, Shubert C, Moland ES, Traczewski MM, Knapp C, Mulder R*. Detection of extended-spectrum β-lactamase-producing members of the family *Enterobacteriaceae* with the Vitek ESBL test. J Clin Microbiol 1996;34(12):2997–3001.
110. *Livermore DM, Brown DFJ*. Detection of β-lactamase-mediated resistance. J Antimicrob Chemother 2001;48(Suppl.S1):59–64.
111. *Nuesch-Inderbinen MT, Haechler H, Kayser FH*. Detection of genes coding for extended-spectrum SHV β-lactamases in clinical isolates by a molecular genetic method, and comparison with E test. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996;15:398–402.
112. *Randegger CC, Haechler H*. Real-time PCR and melting curve analysis for reliable and rapid detection of SHV extended-spectrum β-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2001;45(6):1730–6.
113. *Bush K*. Is it important to identify extended-spectrum β-lactamase-producing isolates? Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996;15(5):361–4.
114. *Podbielski, Schonling J, Melzer B, Haase G*. Different promoters of SHV-2 and SHV-2a β-lactamase lead to diverse levels of cefotaxime resistance in their bacterial producers. J Gen Microbiol 1991;137:1667–75.
115. *Garbang-Chenon A, Godard V, Labia R, Nicolas JC*. Nucleotide sequence of SHV-2 β-lactamase gene. Antimicrob Agents Chemother 1990;34: 1444–6.
116. *Sowek JA, Singer SB, Ohringer S, Malley MF, Dougherty TJ, Gougoutas JZ, Bush K*. Substitution of lysine at position 104 or 240 of TEM-1pTZ18R β-lactamase enhances the effect of serine-164 substitution on the hydrolysis or affinity for cephalosporins and the monobactam aztreonam. Biochemistry 1991;30:3179–88.
117. *Quinn JP, Miyashiro D, Sahm D, Flamm R, Bush K*. Novel plasmid-mediated β-lactamase (TEM-10) conferring selective resistance to ceftazidime and aztreonam in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agent Chemother 1989;33:1451–6.
118. *Rasheed JK, Jay C, Metchock B, Berkowitz F, Weigel L, Crellin J, Steward C, Hill B, Medeiros AA, Tenover C*. Evolution of extended spectrum β-lactam resistance (SHV-8) in a strain of *Escherichia coli* during multiple episodes of bacteremia. Antimicrob Agent Chemother 1997;41 (3):647–53.
119. *Kenneth ST, Smith-Moland E*. Cefepime, piperacillin-tazobactam, and the inoculum effect in test with extended-spectrum β-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. Antimicrob Agent Chemother 2001;45(12): 3548–54.

120. *Jett BD, Ritchie DJ, Reichley R, Bailey TC, Sahm DF*. Susceptibility of ESBL-producing organisms. Antimicrob Agent Chemother 1995;39: 1187–90.
121. *Miro E, del Cuerpo M, Navarro F, Sabate M, Mirelis B, Prats G*. Emergence of clinical *Escherichia coli* isolates with decreased susceptibility to ceftazidime and synergistic effect with co-amoxiclav due to SHV-1 hyperproduction. J Antimicrob Chemother 1998;42:535–8.
122. *Wu TL, Su LH, Lauderdale TL, Lin FM, Leu HS, Lin TY Ho M*. Outer membrane protein change combined with co-existing TEM-1 and SHV-1 β-lactamases lead to false identification of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrob Chemother 2001;47:755–61.
123. *Steward CD, Rasheed JK, Huber SK, Biddle JW, Raney PM, Anderson GJ, Williams PP, Brittain KL, Oliver A, McGowan JE, Tenover FC*. Characterization of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from 19 laboratories using the National Committee for Clinical Laboratory Standards extended-spectrum β-lactamase detection methods. J Clin Microbiol 2001;39(8):2864–72.
124. *Bradford PA, Urban C, Mariano N, Projan SJ, Rahal JJ, Bush K*. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC β-lactamase and the loss of an outer membrane protein. Antimicrob Agents Chemother 1997;41 (3):563–9.
125. *MacKenzie FM, Forbes KJ, Dorai-John TM, Amyes SG*. Emergence of carbapenem- resistant *Klebsiella pneumoniae*. Lancet 1997;350:783.
126. *Vatopoulos AC, Philippon A, Tzouvelekis LS, Komninou Z, Legakis NJ*. Prevalence of a transferable SHV-5 type β-lactamase in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Greece. J Antimicrob Chemother 1990;26:635–48.
127. *Martinez-Martinez I, Pascual A, Jacoby GA*. Quinolone resistance from a transferable plasmid. Lancet 1998;351:797–9.
128. *Paterson DL*. Recommendation for treatment of severe infections caused by *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum β-lactamases (ESBLs). Clin Microbiol Infect 2000;6(9):460–3.
129. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 5th ed. Approved Standard M7-A5. NCCLS, Wayne, PA, 2000.
130. *Paterson DL, Ko WC, von Gottberg A, Casellas JM, Mulazimoglu L, Klugman KP, Bonomo RA, Rice L, McCormack JG, Yu VL*. Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum β-lactamases: implication for the clinical microbiology laboratory. J Clin Microbiol 2001;39(6): 2206–12.
131. *Karas JA, Pillay DG, Muckart D, Sturm W*. Treatment failure due to extended-spectrum β-lactamase. J Antimicrob Chemother 1996;37:203–4.
132. *Paterson DL, Yu VL*. Extended-spectrum β-lactamases: a call for improved detection and control. Clin Infect Dis 1999;29:1419–22.
133. *Brun-Buisson C, Legrand P, Philippon A, Montravers F, Ansquer M, Duval J*. Transferable enzymatic resistance to third generation cephalosporins during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. Lancet 1987;ii:302–6.
134. *Siu LK, Lu PL, Hsueh PR, Lin FM, Chang SC, Luh KT, Ho M, Lee CY*. Bacteremia due to extended-spectrum β-lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric oncology ward: clinical features and identification of different plasmids carrying both SHV-5 and TEM-1 genes. J Clin Microbiol 1999;37:4020–7.
135. *Schiappa DA, Hayden MK, Matushek MG, Hashemi FN, Sullivan J, Smith KY, Miyashiro D, Quinn JP, Weinstein RA, Trenholme GM*. Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* bloodstream infection, a case-control and molecular epidemiologic investigation. J Infect dis 1996;174:529–36.
136. *Essack SY*. Treatment options for extended-spectrum β-lactamase-producers. FEMS Microbiology Letters 2000;190:181–4.
137. *Ronco E, Lawrence C, Nauciel C*. Comparative activity of cefepime, ceftazidime and imipenem in a mouse infection caused by *Klebsiella pneumoniae* producing a broad spectrum β-lactamase. Pathol Biol 1998; 46:651–5.
138. *Pangon B, Bizet C, Bure A*. In vivo selection of a cephamycin resistant, porin deficient mutant of *Klebsiella pneumoniae* producing TEM-3 β-lactamase. J Infect Dis 1989;159:1005–6.
139. *Weber DA, Sander CC, Bakken JS, Quinn JP*. A novel chromosomal TEM derivative and alterations in outer membrane proteins together mediate selective ceftazidime resistance. J Infect Dis 1990.;162:460–5.
140. *Fantin B, Pangon B, Potel G, Caron F, Valle E, Vallois J M, Mohler J, Bure A, Philippon A, Carbon C*. Activity of sulbactam in combination with ceftriaxone in vitro and in experimental endocarditis caused by *Escherichia coli* producing SHV-2- like β-lactamase. Antimicrob Agent Chemother 1990., 34(4):581–6.
141. *Caron F, Gutmann L, Bure A, Pangon B, Vallois JM, Pechinot A, Carbon C*. Ceftriaxone-sulbactam combination in rabbit endocarditis caused by a strain of *Klebsiella pneumoniae* producing extended-broad-spectrum TEM-3 β-lactamase. Antimicrob Agent Chemother 1990;34(11): 2070–4.
142. *Amyes SGB, Miles RS*. Extended-spectrum β-lactamases:the role of inhibitors in therapy. J Antimicrob Chemother 1998;42:415–7.
143. *Martinez-Martinez L, Pascual A, Hernandez-Alles S, Alvarez-Diaz D, Suarez AI, Tran J, Benedi VH, Jacoby GA*. Roles of β-lactamases and porins in activities of carbapenems and cephalosporins against *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agent Chemother 1999;43(7):1669–73.
144. *Perry CM, Ibbotson T*. Biapenem. Drugs 2002;62(15):2221–34.
145. *Smith CE, Tillman SB, Howel AW, Longfield RN, Jorgesen JH*. Failure of ceftazidime-amikacin therapy for bacteriemia and meningitis due to *Klebsiella pneumoniae* producing an extended-spectrum β-lactamase. Antimicrob Agent Chemother 1990., 34:1290–3.
146. *Petit A, Sirot DL, Chanal CM, Sirot JL, Labia R, Gerbaud G, Cluzel RA*. Novel plasmid-mediated β-lactamase in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* more resistant to ceftazidime than to other broad-spectrum cephalosporins. Antimicrob Agent Chemother 1988;32(5): 626–30.
147. *Payne DJ, Marriott MS, Amyes SGB*. Characterisation of a unique ceftazidime-hydrolysing β-lactamase, TEM-E2. J Med Microbiol 1990; 32:131–4.
148. *Nuesch-Inderbinen MT, Kayser FH, Haechler H*. Survey and molecular genetics of SHV β-lactamases in *Enterobacteriaceae* in Switzerland: two novel enzymes, SHV-11 and SHV-12. Antimicrob Agent Chemother 1997;41(5):943–9.
149. *Yuan M, Hall LM, Savelkoul PHM, Vandenbroucke-Grauls CMJ, Livermore DM*. SHV-13, a novel extended-spectrum β-lactamase, in *Klebsiella pneumoniae* isolates from patients in an intensive care unit in Amsterdam. Antimicrob Agent Chemother 2000;44(4):1081–4.
150. *Prodinger WM, Fille M, Bauernfeind A, Stemplinger I, Amann S, Pfausler B, Lass-Florl C, Dierich MP*. Molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 β-lactamase: parallel outbreaks due to multiple plasmid transfer. J Clin Microbiol 1996;34(5):564–8.
151. *Marchese A, Arlet G, Schito GC, Lagrange PH, Philippon A*. Detection of SHV-5 extended-spectrum β-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in Italy. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996;15:245–8.
152. *Gniadkowski M, Schneider I, Jungwirth R, Hryniewicz W, Bauernfeind A*. Ceftazidime-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from three Polish hospitals: identification of three novel TEM-and SHV-5 type extended-spectrum β-lactamases. Antimicrob Agent Chemother 1998;42(3): 514–20.
153. *Bedenić B, Žagar Ž*. Extended-spectrum β-lactamases in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from Zagreb, Croatia. J Chemother 1998; 10(6):449–59.
154. *Pragai Z, Koczian Z, Nagy E*. Characterization of the extended-spectrum β-lactamases and determination of the antibiotic susceptibilities of *Klebsiella pneumoniae* isolates in Hungary. J Antimicrob Chemother 1998;42:401–3.
155. *Prinakris E, Tzelepi E, Gazouli M, Mentis AF, Tzouvelekis LS*. Characterization of a novel SHV β-lactamase variant that resembles the SHV-5 enzyme. FEMS Microbiology Letters 1996;139:229–34.
156. *Danel FL, Hall MC, Gur D, Akalin HE, Livermore DM*. Transferable production of PER-1 β-lactamase amongst *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Ankara, Turkey. J Antimicrob Chemother 1995;35:281–94.
157. *Bauernfeind A, Rosenthal E, Eberlein E, Holley M, Schweighart S*. Spread of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 β-lactamase among hospitalized patients. Infection 1993;21(1):24–8.
158. *Bedenić B, Randegger C, Stobberingh E, Haechler H*. Molecular epidemiology of extended-spectrum β-lactamases from *Klebsiella pneumoniae* strains, isolated in Zagreb, Croatia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001;20:505–508.
159. *Laksai Y, Severino M, Perilli M, Amicosante G, Bonfiglio G, Stefani S*. First identification of an SHV-12 extended-spectrum β-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* isolated in Italy. J Antimicrob Chemother 2000; 45:349–51.

PASIVNO PUŠENJE I DJECA: PROCJENA IZLOŽENOSTI I ZDRAVSTVENE POSLJEDICE

ENVIRONMENTAL TOBACCO SMOKE AND CHILDREN: ASSESSMENT OF EXPOSURE AND HEALTH EFFECTS

MARTINA PIASEK I MILICA GOMZI*

Deskriptori: Onečišćenje duhanskim dimom – analiza, štetno djelovanje; Izloženost okolišu – analiza, štetno djelovanje; Bolesti dišnog trakta – etiologija, epidemiologija

Sažetak. Ciljevi: Prospektivno procijeniti 1) koncentracije metala i progesterona u posteljičnom tkivu u ovisnosti o pušenju cigareta; 2) utjecaj pušenja roditelja na učestalost prehlada djece tijekom zimskih mjeseci. Metode: Prvo istraživanje obuhvatilo je rodilje prosječne dobi 28 godina, 29 nepušačica i 27 žena koje su pušile tijekom trudnoće ili do godinu dana prije trudnoće. Skupljene su posteljice nakon poroda u terminu i analizirani metali (atomskom apsorpcijskom spektrometrijom) i posteljični progesteron (specifičnim radioimunoesejem). Drugo istraživanje uključilo je 337 učenika drugih razreda osnovne škole, iz gradskog i prigradskog područja. Prikupljeni su opći podaci o učeniku i obitelji te o navici pušenja roditelja. Tijekom šest mjeseci praćena je učestalost medicinski dijagnosticiranih respiracijskih infekcija. Rezultati: U posteljicama pušačica u odnosu na nepušačice nađene su dvostruko više koncentracije kadmija i sniženo željezo te upola niže koncentracije progesterona kao pokazatelja učinka izloženosti duhanskom dimu. Utvrđeno je da gotovo 59% školske djece živi u kućanstvu s barem jednim pušačem. Učestalost prehlada djece bila je 25%. Prehlade su u djece izložene pušenju obaju roditelja bile dvostruko češće, a djece izložene pušenju jednog roditelja 1,65 puta češće nego u djece roditelja nepušača. Zaključci: Povezanost izloženosti duhanskom dimu i povišene koncentracije posteljičnog kadmija očekivani je nalaz, a istodobno sniženje posteljičnog progesterona novi je dokaz o zdravstvenom riziku za majku i fetus. Opasnost od čestih prehlada djece u svezi s pušenjem roditelja važan je javnozdravstveni problem.

Descriptors: Tobacco smoke polution – analysis, adverse effects; Environmental exposure – analysis, adverse effects; Respiratory tract diseases – etiology, epidemiology

Summary. Aims: To assess prospectively 1) concentrations of metals and progesterone in placental tissue related to cigarette smoking; 2) the effect of parental smoking on the susceptibility to colds in preadolescent children during winter months. Methods: The first study comprised healthy parturients with median age 28 years, 29 non-smokers and 27 women who smoked during pregnancy and/or within one year before last pregnancy. Placentas were collected after delivery at term and metals (by atomic absorption spectrometry) and placental progesterone (by specific radioimmunoassay) were analysed. A comparative study in 337 school children, second graders, was undertaken in central urban and suburban area. Information on children and families and on parental smoking was collected. During the six-month period incidence of acute respiratory diseases was followed-up. Results: In placentas of smoking vs. non-smoking women a twofold increase in cadmium concentration, a decrease in iron and a half of progesterone concentration as a biomarker of effect of tobacco smoke exposure were found. Nearly 59 percent of Croatian children live in the household with at least one smoker. The incidence of colds in children was 25%. The study demonstrates an exposure-response relationship between the parental smoking and the reporting rates for doctor-diagnosed upper respiratory illness; in children exposed to both parents' smoke odds ratio was 2,03 and in children from the family with one smoker odds ratio was 1,65. Conclusions: Results support the established association of tobacco smoke exposure with increased placental cadmium concentration, and concomitant reduction of placental progesterone is a new evidence on health risk for mother and foetus. The higher risk of frequent colds in children related to environmental tobacco smoke is a relevant public health problem.

Liječ Vjesn 2004;126:325–330

Aktivno pušenje prepoznato je kao glavni sprečivi uzrok morbiditeta i mortaliteta prije više od 40 godina. Tijekom posljednjih 20 godina ima sve više dokaza da pasivno pušenje, odnosno izloženost duhanskom dimu u okolišu, može također biti ozbiljna opasnost za zdravlje.[1–7] Izloženost pasivnom pušenju »iz druge ruke« dvostruka je izloženost duhanskom dimu u vanjskom i/ili u unutrašnjem okolišu glavnoj struji dima, koju izdahne pušač, i sporednoj struji dima, koja se oslobađa u okoliš iz gorućeg duhana u upaljenoj cigareti, cigari ili luli. Duhanski dim pasivnog pušenja u pretežitom dijelu sastoji se upravo od sporedne struje dima. Iako su obje struje dima kvalitativno slične po kemijskom sastavu, koncentracije otrovnih i kancerogenih sastojaka u sporednoj struji su veće jer oni potpuno ne izgaraju kao u glavnoj struji pa su i opasnije za ljudsko zdravlje.[1,2] Osim toga, pasivnom pušenju osobe su izložene bez pitanja, pristanka, često i protiv svoje volje.

Smatra se da duhanski dim sadržava ukupno više od 4.700 spojeva u fazi vezanoj za čestice. To uključuje više od 60 poznatih ili mogućih ljudskih kancerogena i mnoge otrovne agense kao što su ugljikov monoksid, dušikovi oksidi, amonijak, akrolein i nikotin. Duhanski dim, nadalje, sadržava respirabilne raspršene čestice koje sadržavaju dicikličke i policikličke

* **Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb** (dr. sc. Martina Piasek, dr. med., znanstvena savjetnica; dr. sc. Milica Gomzi, dr. med., znanstvena savjetnica)

Adresa za dopisivanje: Dr. sc. M. Piasek, znan. savj., Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Ksaverska cesta 2, 10000 Zagreb

Primljeno 29. siječnja 2004., prihvaćeno 29. srpnja 2004.

aromatske hidrokarbonate i od kojih su neki dokazani kancerogeni u životinja.[2]

Utjecaj pasivnog pušenja na dječji organizam i zdravlje

Posebice su važni učinci pasivnog pušenja na djecu kojoj je u pravilu nemoguće izbjeći izloženost. Zbog specifičnosti fiziološkog stanja koje uključuje rast i razvoj, općenito povećanu apsorpciju i retenciju korisnih, ali i štetnih supstancija te nezrelosti sustava za eliminaciju metabolita iz organizma, djeca predstavljaju skupinu stanovništva s povećanom osjetljivošću ili skupinu s visokim rizikom za štetne zdravstvene učinke povezane s izloženošću štetnostima u okolišu u koje spada i dim tuđe cigarete.[1–3]

Brojna su istraživanja pokazala povezanost pasivnog pušenja i bolesti dišnih putova u djece, češćih upala pluća, upala srednjeg uha i pogoršanja astme i bronhitisa.[4,5] Nadalje, ima dokaza da štetni učinci započinju još i prije rođenja (*in utero*) pa je dokazana povezanost izloženosti pasivnom pušenju majki koje same nisu pušile i sniženih porođajnih težina (<2.500 g), intrauterinog zastoja rasta i kongenitalnih malformacija potomaka.[1–3,6] Svjetska zdravstvena organizacija je 1999. godine, odgovarajući na »Deklaraciju o zdravlju djece i okolišu« iz 1997., sazvala Međunarodnu konzultacijsku skupinu stručnjaka iz razvijenih i nerazvijenih zemalja koji su raspravljali o štetnostima duhanskog dima u okolišu i zdravlju djece i o tome je sastavljen izvještaj.[7] Zaključeno je da je duhanski dim u okolišu stvarna i bitna opasnost za dječje zdravlje uzrokujući povećanu smrtnost diljem svijeta, a u dojenčeta može pridonijeti riziku od sindroma iznenadne dojenačke smrti. Osim toga, roditelji pušači češće boluju od respiracijskih infekcija i šire zarazu na djecu.[8]

Rezultati opsežnih istraživanja pokazuju da pušenje u obitelji koje na dijete djeluje prenatalno i tijekom odrastanja može pridonijeti srčanožilnim bolestima u odrasloj dobi, neurološkim smetnjama i poremećajima ponašanja, usporava spoznajni razvoj,[9] govornu sposobnost, pozornost i inteligenciju djeteta.[10,11]

Akutne infekcije gornjeg dijela dišnog sustava najčešći su razlog pobolu, odnosno izostancima djece iz škole, a češće prehlade tijekom zime upućuju na izloženost štetnim činiteljima u djetetovu okolišu koji pogoduju razvoju infekcije. Dugotrajna izloženost pušenju majke povezuje se s učestalošću i težinom astmatskih napadaja djece[12] i s povećanjem bronhijalne reaktivnosti.[13] Povezanost bolesti dišnog sustava djece i pušenja roditelja nedvojbeno je potvrđena zbirnim prikazom svih u svijetu objavljenih takvih istraživanja do 1998. godine.[14]

Učestalijim bolestima gornjeg dijela dišnog sustava u djece pogoduju i loše socijalno-ekonomske prilike u obitelji[15] te veličina, odnosno napučenost stana.[16] Neka istraživanja potvrđuju da su bolesti dišnog sustava djece češće u uvjetima gradskog onečišćenja (industrija, promet, grijanje) nego u seoskom i prigradskom okružju.[17,18]

Kvantitativno određivanje izloženosti dimu cigarete

Izloženost dimu cigarete utvrđuje se određivanjem broja popušenih cigareta, mjerenjem koncentracije sastojaka nikotina u zraku osobnim skupljačima i ugljikova monoksida u izdahnutom zraku. Može se potvrditi i kvantitativnim određivanjem kotinina, metabolita nikotina u tjelesnim tekućinama, krvi, slini i mokraći[19,20] odnosno nikotina u kosi.[21]

Procjena izloženosti i učinaka metala u cigaretnom dimu

U duhanskom dimu nalazi se velik broj visoko reaktivnih metalnih iona. Oni imaju golem potencijal izazivanja staničnih oštećenja jer pridonose oksidativnom stresu s posljedičnim otrovnim ili kancerogenim učincima.[22] To su kadmij, olovo, nikal, krom, arsen, aluminij, antimon, bakar i željezo te radioaktivni elementi (pr. polonij 210). Visoka reaktivnost metalnih iona nastaje u sprezi s ostalim sastojcima duhanskog dima ili kao kumulativni odnosno aditivni učinci metalnih iona. Mehanizmi izazivanja oksidativnog stresa najvjerojatnije su mnogostruki i uključuju više organela ili vrsta stanica (pr. stanica pluća, posteljice i drugih).

Metali u većoj ili manjoj mjeri prolaze kroz posteljicu iz majčina krvotoka do fetusa, zajedno s ostalim hranidbenim tvarima, i/ili se nakupljaju u posteljičnom tkivu. Posteljica se smatra najvećim ljudskim bioptičkim materijalom, može poslužiti za biološko praćenje (biomonitoring) štetnosti u okolišu, uključujući supstancije iz cigaretnog dima, i pogodna je za procjenu rizika izloženosti štetnim metalima.[23,24] Posteljično tkivo je »dvostruki« pokazatelj izloženosti jer izmjerene vrijednosti štetnih tvari u njemu odražavaju onečišćenja majčina (vanjskog) okoliša i fetalnog (unutrašnjeg) okoliša.[25–27]

Ciljevi istraživanja

Istraživanja su provedena u Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu s dva poglavita cilja. Prvo, nastojale su se procijeniti koncentracije metala u posteljičnom tkivu kao pokazatelji izloženosti majke i fetusa duhanskom dimu. Također su procjenjivane koncentracije posteljičnog progesterona kao pokazatelj učinka cigaretnog dima u procjeni rizika od pušenja na održavanje i normalan ishod trudnoće. Drugo, htio se ispitati utjecaj pušenja roditelja na učestalost prehlada u učenika nižih razreda osnovne škole u gradskom i prigradskom području. U to istraživanje bili su uključeni i sudjelujući činitelji: broj osoba na broj soba u kućanstvu (napučenost stana) i obrazovanje roditelja kao pokazatelji socioekonomskog stanja.

Ispitanici, materijal i metode

Provedena istraživanja bila su u suglasju s etičkim načelima i preporukama Helsinške deklaracije iz 1975. i njezinim izmjenama 1983. o principima izvođenja medicinskih pretraga i istraživanjima na ljudima i za njih dobivene pismene suglasnosti Etičkog povjerenstva Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada i Etičkog povjerenstva Opće bolnice »Sveti Duh« u Zagrebu.

Ispitanici

Rodilje. Istraživanjem je obuhvaćeno ukupno 56 žena koje su rodile u zagrebačkim rodilištima (Klinika za ženske bolesti i porode, KBC; Klinika za ginekologiju i porodiljstvo, Opća bolnica »Sveti Duh«) nakon normalnog tijeka trudnoće i u terminu, u kojih nije utvrđena nikakva kronična bolest ili ozbiljan zdravstveni poremećaj. Prosječna dob ispitanica bila je 28 godina, a paritet 2–3. Neposredno nakon poroda skupljene su posteljice. Na temelju opsežnog anketnog upitnika[28] kojim su utvrđivani mogući izvori izloženosti metalima (pušenje, prehrana, socijalno-ekonomski status, radno mjesto, mjesto boravka), među ispitanicama su ustanovljene dvije podskupine koje su se razlikovale s obzirom na naviku pušenja cigareta. U podskupinu »nepušačica« (n=29) svrstali smo žene koje nisu nikad pušile ili su prestale pušiti godinu i više dana prije posljednje trudnoće. U skupinu »pušačica« (n=27) svrstali smo žene koje su pušile tijekom trudnoće i/ili prije trudnoće, kao i one koje su prestale pušiti unutar godine dana prije posljednje trudnoće.

Školska djeca. Uzorak se sastojao od svih učenika drugih razreda osnovne škole smještene u užem centru grada Zagreba (n=224) i svih učenika drugih razreda osnovne škole u Samoboru (n=113). Ukupno je ispitano 337-ero djece, 180 dječaka (53,4%) i 157 djevojčica.

Podaci o akutnim bolestima dišnog sustava prikupljeni su upitnikom koji ispunjaju roditelji, odnosno medicinska sestra[29] te medicinskim nadzorom i praćenjem svaka dva tjedna tijekom šestomjesečnog razdoblja (studeni 1997. – travanj 1998.). Navika pušenja roditelja određena je izračunavanjem indeksa pušenja po Brinkmanu i Coatesu[30] na temelju umnoška dnevno popušenih cigareta i godina pušenja.

Metode

Analize metala i progesterona u posteljičnom tkivu. Skupljene posteljice su uzorkovane i uzorci priređeni u sukladnosti sa zahtjevima za osiguranje kvalitete analiza metala u posteljičnom tkivu.[24] Koncentracije kadmija i olova mjerene su elektrotermalnom atomskom apsorpcijskom spektrometrijom (ET-AAS; Varian SpectrAA 300, Australija) s grafitnom kivetom (GTA 96) i deuterijskom korekcijom. Koncentracije željeza, bakra i cinka mjerene su atomskom apsorpcijskom spektrometrijom plamena (F-AAS; Varian AA-375, Australija). Metode mjerenja su provjerene uporabom standardnoga referentnog uzorka i određene su granične vrijednosti detekcije pojedinog elementa.[28]

Koncentracije steroidnog hormona progesterona određivane su u homogeniziranim uzorcima posteljičnog tkiva, nakon ekstrakcije etanolom, specifičnom radioimunološkom analizom (RIA Coat-A-Count kit TKP25, Diagnostic Products Corp., Los Angeles, CA, SAD) u suradnom laboratoriju u SAD-u.[28]

Statistička obrada nalaza. Podaci su obrađeni primjenom epidemioloških i biostatističkih metoda. Izmjerene vrijednosti posteljičnih koncentracija prikazane su kao aritmetičke sredine i standardne pogreške za svaku podskupinu. Podaci su analizirani uporabom jednosmjerne i dvosmjerne analize varijance (na razini značajnosti $p<0,05$).[28]

Povezanost prehlada u školske djece i izloženosti pasivnom pušenju kao i interferirajući činitelji analizirani su modelom logističke regresije. Rezultati su s pomoću programa Statistica for Windows (Statsoft Inc.) prikazani omjerom »šansi« (odds ratio) djece izložene cigaretnom dimu roditelja i »šansi« djece koja nisu izložena dimu cigarete roditelja da obole od prehlade u promatranom razdoblju.[31]

Rezultati

Izloženost cigaretnom dimu i posteljične koncentracije metala i progesterona

Klinički podaci o rodiljama i podaci o izloženostima aktivnom i pasivnom pušenju prikazani su na tablici 1. Aktivne pušačice pušile su u prosjeku 12 cigareta (do 1 kutije) na dan. Podaci o pasivnom pušenju pokazali su da je znatno više rodilja-pušačica (23 od 27) bilo izloženo dimu cigareta u okolišu negoli nepušačica (12 od 29), odnosno pušačice su bile dnevno izložene pasivnom pušenju gotovo trostruko duže negoli nepušačice. Nisu nađene razlike u porođajnim težinama i težinama posteljica s obzirom na izloženost duhanskom dimu.

Prosječne vrijednosti koncentracija otrovnih i esencijalnih metala i progesterona prikazane su na tablici 2. Posteljične koncentracije kadmija bile su dvostruko više, a koncentracije olova značajno više u pušačica negoli u nepušačica. Koncentracije željeza bile su značajno niže u nepušačica, a nije bilo razlika u posteljičnim koncentracijama cinka i bakra. Nađeno je da su koncentracije progesterona u pušačica bile upola niže negoli u nepušačica.

Učestalost prehlada djece u odnosu na pušenje roditelja

Nije bilo razlika u navici pušenja roditelja gradskog i prigradskog područja (tablica 3). U skupini mlađe školske djece

Tablica 1. *Klinički podaci o rodiljama, novorođenčadi i pušenju majki*
Table 1. *Clinical data on parturients, newborns and maternal smoking*

	Nepušačice Non-smokers (n=29)	Pušačice Smokers (n=27)	Ukupno Total (n=56)
Dob (godine) / Age (years)	27 (21–41)	28 (21–36)	28 (21–41)
Paritet / Parity	2,52±0,300	2,78±1,28	2,64±1,46
Pobačaji i prijevremeni porodi (n/ukupan n) Abortions and pre-term deliveries (n/total n)	10/29	8/27	18/56
Majčina tjelesna težina pri porodu (kg) Maternal body weight at delivery (kg)	78,0±2,20	73,5±1,85	75,8±1,46
Broj novorođenih dječaka/djevojčica No. of newborn boys/girls	15/14	15/12	30/26
Prosječna porođajna težina (kg)* Average birth weight (kg)	3,63±0,083	3,49±0,071	3,56±0,055
Prosječna tjelesna dužina (cm)* Average body length (cm)	51,2±0,351	50,4±0,299	50,8±0,235
Vlažna težina posteljice Fresh placental weight (g)	585±17,4	589±21,7	586±101
Aktivno pušenje (broj cigareta na dan) Active smoking (No. of cigarettes *per diem*)	0	12±6,95	–
Dodatno pasivno pušenje (n/ukupan n) Additional passive smoking (n/total n)	12/29	23/27	–
Izloženost pasivnom pušenju (h na dan) Exposure to passive smoke (hr *per diem*)	3,5±0,897	9,47±6,75	–

Rezultati su prikazani kao aritmetičke sredine ± standardne pogreške, za dob kao medijan (raspon u zagradi) i neki podaci u apsolutnim brojevima
Results are presented as mean±SEM, for age as median with range in parentheses and for some data as absolute numbers
* Srednje vrijednosti bez obzira na spol novorođenčeta
Average values irrespective to sex of newborn

Tablica 2. *Prosječne koncentracije kadmija i olova (ng/g vlažne težine), željeza, cinka i bakra (μg/g vlažne težine) i steroidnog hormona progesterona (ng/g vlažne težine) u ljudskim posteljicama u odnosu na izloženost duhanskom dimu*
Table 2. *Average concentrations of cadmium and lead (ng/g wet wt), iron, zinc and copper (μg/g wet wt), and steroid hormone progesterone (ng/g wet wt) in human placentas in relation to exposure to tobacco smoke*

	Nepušačice Non-smokers (n)	Pušačice Smokers (n)
Kadmij / Cadmium	15,9±1,44 (27)	28,5±2,05* (24)
Olovo / Lead	49,5±7,47 (27)	41,7±6,87 (24)
Željezo / Iron	154±6,91 (27)	129±6,32* (24)
Cink / Zink	15,1±0,383 (27)	14,6±0,526 (24)
Bakar / Copper	1,02±0,048 (27)	0,926±0,034 (24)
Progesteron / Progesterone	1262±95,7 (29)	742±77,3* (25)

Rezultati su prikazani kao aritmetičke sredine i standardne pogreške
Results are presented as mean and SEM
* Značajne razlike između vrijednosti u nepušačica i pušačica ($p<0,05$)
Significant difference between non-smokers and smokers ($p<0.05$)

24,3% je tijekom šestomjesečnog praćenja bolovalo od akutnih bolesti dišnog sustava zbog kojih su trebala medicinski nadzor i koja su barem tri dana boravila kod kuće. Nije bilo sta-

tistički značajne razlike u broju prehlada između djece iz grada i iz prigradskog područja (26,8%:19,5%), kao ni između dječaka i djevojčica (26,6%:21,7%).

Na tablici 4. omjer »šansi« pokazuje statistički značajnu razliku u učestalosti prehlada u šestomjesečnom razdoblju između djece koja su izložena pušenju obaju roditelja i djece čiji su roditelji nepušači ($p<0,05$).

Oba roditelja puše u 104 (31%) obitelji. Od 337 obitelji, sedam je samohranih roditelja, 5 majki i 2 oca, a 330 parova otac-majka. Puši 184 (55,4%) očeva i 118 (35,2%) majki. Od praćene školske djece 94 djeteta su izložena pušenju jednog roditelja, od toga sedmero djece samohranih roditelja (8,5%), dva djeteta izložena pušenju oca i petero djece izložene pušenju majki. U obiteljima s ocem i majkom, 87-ero djece izloženo je ili samo pušenju oca (n=78) ili majke (n=9). Četvero djece koja su u šestomjesečnom razdoblju bila izložena samo pušenju majke (4/14=28,5%) te 21 dijete koje je bilo izloženo samo dimu očeve cigarete (21/78=26,2%) bolovali su u promatranom razdoblju od prehlade. Razlika u učestalosti prehlada djece koja su izložena pušenju majke i one koja su izložena pušenju oca nije statistički značajna (P=0,857). Indeks pušenja[63] u očeva (n=184; srednja vrijednost =168; SD=62,7) statistički je značajno veći od indeksa pušenja majki (n=118; srednja vrijednost=114; SD=38,2).

Tablica 3. *Navika pušenja roditelja u središnjem gradskom i prigradskom području*

Table 3. *Parental smoking habit in central urban and suburban area*

	Područje / Area	
	Središte grada City (Ukupno djece n=224) (No. of children n=224) n (%)*	Prigradski dijelovi Suburb (Ukupno djece n=113) (No. of children n=113) n (%)*
Roditelji nepušači Parents non-smokers	85 (38)	54 (48)
Roditelji pušači (jedan ili oba) Parents smokers (one or both)	139 (62)	59 (52)
Majke pušačice Mothers smokers	78 (35)	41 (34)
Očevi pušači Fathers smokers	125 (56)	59 (52)

Rezultati su prikazani kao apsolutni brojevi i postoci u zagradama
Results are presented as absolute numbers and percentages in brackets

* Postotak roditelja nepušača i roditelja pušača odnosno majki i očeva pušača izračunan je prema broju djece da bi se pokazalo koliko je djece izloženo pušenju roditelja odnosno majke ili oca
Per cent of parents non-smokers and parents smokers as well as mothers and father smokers are calculated from the number of children to show the extent of children's exposure to environmental tobacco smoke due to maternal and/or paternal smoking

Tablica 4. *Učestalost prehlada djece tijekom šestomjesečnog zimskog razdoblja s obzirom na izloženost pušenju roditelja*

Table 4. *Frequency of children's colds in relation to exposure to parental smoking during six-month winter period*

	Prehlade u djece / Children's colds n (%)	n (%)
I. Roditelji nepušači I. Parents nonsmokers	139 (41,2)	25 (18,0)
II. Jedan roditelj pušač II. One parent smoker	94 (27,9)	25 (26,5)
III. Oba roditelja pušači III. Both parents smokers	104 (30,9)	32 (30,8)
	OR (95%) CI)	p
I:II	1,65 (0,88 – 3,10)	NS
II:III	1,23 (0,66 – 2,27)	NS
I:III	2,03 (1,11 – 3,69)	0,019 (<0,05)

OR – Omjer »šansi« (odds ratio), »šanse« da djeca izložena pušenju roditelja obole od prehlade u šestomjesečnom razdoblju i »šanse« da djeca čiji su roditelji nepušači obole od prehlade
Odds ratio, chances that children exposed to parents smoking get cold in six-month period, and chances that children whose parents are non-smokers get cold

Rasprava

Otkad su prije 30 godina Baglan i suradnici[32] ustanovili da posteljica pruža jedinstvene mogućnosti za biološki monitoring izloženosti metalima majke i fetusa, objavljeno je više radova u kojima su procjenjivane izloženosti metalima u različitim dijelovima svijeta u kojima je ljudska posteljica upotrebljavana kao indikatorski organ. Sve dostupne podatke o tome objavljene do 2000. godine objedinili su Iyengar i Rapp[25–27] u tri članka objavljena u nizu. Dali su cjelovit pregled i komentare o uporabi ljudske posteljica kao indikatorskog tkiva za procjenu izloženosti metalima te o izmjerenim vrijednostima pojedinih metala na raznim stranama svijeta, u različitim razdobljima, uz primjenu različitih mjernih metoda i pri različitim razinama izloženosti u okolišu. Dosad takvi podaci za Hrvatsku nisu postojali pa će poboljšanju stanja pridonijeti naša istraživanja.

Prema podacima Američkog savjeta za znanost i zdravlje (*ACSH*)[1,33] procjenjuje se da je u pušača koji puši 1–3 kutije cigareta na dan, unos glavnom strujom dima za nikotin, vodeći otrov u cigaretnom dimu, viši 400 do 3.600 puta, ugljikova monoksida 50 do 250 puta, a kadmija 3 do 9 puta od prihvatljivog dnevnog unosa za pojedini agens. Kadmij je, osim toga, utvrđeni kancerogen prema međunarodnoj klasifikaciji *IARC*. Dosadašnji rezultati istraživanja u ljudskim posteljicama pokazuju da je posteljica mjesto toksičnog djelovanja kadmija, što može ugroziti ishod trudnoće. Wier i suradnici[34] dokazali su *in vitro* u perfundiranim ljudskim posteljicama izloženim kadmiju promjene u produkciji humanoga koriogonadotropnog hormona (hCG) koje su bile ovisne o dozi. U eksplantatima ljudskih posteljica akutno izloženim visokim dozama kadmija dokazan je disbalans tromboksana A_2 i prostaciklina, poremećaja koji se mogu naći u kasnoj trudnoći pri preeklampsiji.[35] Nedavna istraživanja Joliboisa i suradnika[36,37] pokazala su da je nakupljanje kadmija u primarnoj kulturi pročišćenih ljudskih stanica trofoblasta bilo ovisno o dozi i vremenu izlaganja i povezano s istodobnim znatnim sniženjem progesterona (do 35% kontrolnih vrijednosti). U procjeni moguće uloge kadmija kao regulatora transkripcije pokazali su da je došlo do znatnog smanjenja inače velikog broja LDL-receptora mRNA u trofoblastnim stanicama *in vitro*, što je bilo ovisno o dozi. Potonji nalaz upućuje na zaključak da bi koncentracije receptora mogle biti smanjene preko transkripcijske regulacije u smislu međudjelovanja sa supstratom (LDL-kolesterolom) koji je nuždan u biosintezi i produkciji progesterona. Drugi mogući mehanizmi kojima bi kadmij mogao štetno djelovati na sintezu i oslobađanje progesterona u ljudskoj posteljici jesu natjecanje s putovima prijenosa ovisnim o kalciju u stanicama trofoblasta[38] ili mijenjanjem unutarstaničnog prijenosa kolesterola u mitohondrije. Nedavnim istraživanjem u kulturama ljudskog trofoblasta potvrđena je pretpostavka da kadmij međudjeluje s aktivnošću mitohondrijskog enzima P450 koji odcjepljuje postranični lanac kolesterola, supstrata u sintezi steroida, dok aktivnost citoplazmatske 3beta-hidroksisteroid – dehidrogenaze nije bila ugrožena.[39] Oba enzima imaju važne uloge u biosintezi steroidnih hormona.

Naši rezultati potvrđuju otprije poznatu povezanost pušenja i povišenih koncentracija posteljičnog kadmija. Pokazali smo da žene koje puše do 20 cigareta na dan tijekom trudnoće, ili prestanu pušiti unutar manje od dvanaest mjesesci prije posljednje trudnoće, nakupljaju dvostruko više kadmija u svojim

posteljicama negoli nepušačice. Nađena povezanost pušenja cigareta u rodilja i sniženi posteljični progesteron, naravno, ne mogu se pripisati i uzročno povezati samo s izloženošću otrovnom metalu kadmiju u cigaretnom dimu. Međutim, ne smiju se ni zanemariti gore prikazani rezultati o učincima kadmija na ljudske posteljice. Štoviše, ti rezultati imaju i potvrdu u eksperimentalnim istraživanjima. Tako su naša prijašnja istraživanja pokazala da se supkroničnim izlaganjem laboratorijskih štakorica kadmiju tijekom gestacije (u ukupnoj dozi od 5 mg/kg tjelesne težine) produkcija posteljičnog progesterona znatno smanjila.[40] Iako su učinci na posteljični progesteron bili analogni kao i u prikazanom epidemiološkom istraživanju, treba napomenuti da su u tim eksperimentalnim uvjetima prosječne koncentracije posteljičnog kadmija bile oko 50 puta više (1,18±0,109 μg/g vlažne težine tkiva) od vrijednosti izmjerenih u posteljicama pušačica.[41] Podaci dobiveni istraživanjima na ljudskome posteljičnom tkivu zajedno s rezultatima na pokusnim životinjama pokazuju da kadmij, kao sastojak cigaretnog dima, može pridonijeti poremećaju u produkciji posteljičnog progesterona. Taj nalaz trebalo bi imati na umu pri procjeni rizika od štetnog djelovanja duhanskog dima na ishod trudnoće.

Istraživanje učinka izloženosti dimu cigarete roditelja na učestalost prehlada djece pokazalo je da gotovo 59% ispitane djece živi u obitelji u kojoj barem jedan roditelj puši, a u 31% obitelji puše oba roditelja. Prema podacima epidemioloških studija u Njemačkoj je 55% djece do 5 godina u svojim obiteljima izloženo dimu cigarete, a u 23% slučajeva puše i majka i otac.[42] U Nizozemskoj su 44% djece pasivni pušači,[43] 47% u Kanadi,[44] a u SAD-u je 43% djece u dobi od 2 do 11 godina izloženo dimu tuđe cigarete.[45] Niska izloženost djece duhanskom dimu u obitelji (20%) zabilježena je u Švedskoj,[46] a visoka (70%) u Libanonu.[47] Međutim, u 5500 kućanstava iz svih država Skandinavije nađena je pasivna izloženost dimu cigarete roditelja u 57% djece.[48] Oldak[49] navodi da je u Bialystoku, gradu u istočnoj Poljskoj, 73% djece izloženo dimu cigarete roditelja, 28% majke i 62% oca. Iako je navika pušenja češća u očeva,[50] djeca najčešće više vremena provedu uz majke, što ističe važnost pušenja majke.[12] Može se pretpostaviti da veći prosječni indeks pušenja očeva smanjuje razliku u izloženosti djeteta pušenju majke s kojom provodi više vremena i pušenju oca. Time se pokušava obrazložiti mala razlika u prosječnom broju prehlada djece izložene pušenju majke, odnosno oca u našem istraživanju.

Podaci provedenog istraživanja pokazuju da su djeca koja udišu dim cigarete obaju roditelja izložena opasnosti s dvostrukim omjerom »šansi« (OR=2,03; p<0,05) da obole od prehlade u usporedbi s djecom roditelja nepušača. Za djecu koja su izložena pušenju jednog roditelja omjer »šansi« za prehladu nije statistički značajno povećan prema djeci roditelja nepušača (OR=1,65; NS). Statističkim uklanjanjem utjecaja poznatih interferirajućih činitelja rezultati se bitno ne mijenjaju. Taj se rezultat slaže s podacima više od 40 epidemioloških studija iz kojih je metaanalizom procijenjeno da djeca izložena pušenju u obitelji imaju 1,3 do 1,7 puta,[7,51] odnosno 2,1 i 2,3 puta[47,52] veći rizik od razvoja bolesti dišnog sustava od djece u obitelji nepušača. Učestalost prehlada djece (24%) u obitelji u kojoj se puši slaže se s podacima ispitivanja djece slične dobi u Poljskoj,[53] Engleskoj[54] i Brazilu.[55]

Zaključni komentar

Prikazani rezultati prvi su nalazi koncentracija metala u posteljicama gradskih stanovnica u Hrvatskoj. U usporedbi sa sličnim podacima u drugim dijelovima svijeta može se reći da vrijednosti toksičnih metala u posteljicama gradskih stanovnica odgovaraju vrijednostima izmjerenim u onečišćenim područjima Zapadne Europe i Sjedinjenih Država. Dobiveni rezultat da posteljice zdravih mladih žena koje puše cigarete u usporedbi s posteljicama žena koje ne puše sadržavaju upola manje progesterona, hormona nužnog za održavanje trudnoće, prvi je rezultat kojim se u literaturi izravno povezalo pušenje cigareta i sniženje posteljičnih koncentracija progesterona. Ta istraživanja trebalo bi nadopuniti na većem broju uzoraka i u različitim regijama Hrvatske s različitim životnim navikama i različitom izloženošću onečišćenjima u okolišu.

I u nas je potvrđena povezanost učestalosti akutnih upala gornjeg dijela dišnog sustava djece s pušenjem roditelja. Zdravstvene posljedice pasivnog pušenja djece u domu moguće je spriječiti primarnom i sekundarnom prevencijom u okviru javnozdravstvenih mjera i uz potporu obiteljskog liječnika.[48] Velika je učestalost pušača među roditeljima djece koja boluju od bolesti dišnog sustava za koju je posebno važno da ne budu izložena dodatnim opasnostima. U čak 67% obitelji s astmatičnim djetetom nije uspjelo provesti zaštitu djeteta od duhanskog dima samo na temelju liječničkog savjeta.[56] Preporuča se, stoga, primjena »modela ekološkog ponašanja« koji uključuje učenje o štetnostima duhanskog dima, ali i o načinima kako pasivnu izloženost duhanskom dimu smanjiti i izbjeći,[57] ne samo na javnim mjestima nego i u domu.[3,58] Sklonost pušenju u djece povezana je s navikom pušenja roditelja, kao i s pravilima, odnosno s restrikcijama, koje i ako ih pri pušenju provode roditelji.[59]

Pri zdravstvenom prosvjećivanju učenika, nastavnika i roditelja treba isticati važnost zdravog ponašanja i načina života. Mladim ljudima, a posebno mladim roditeljima treba pomoći da se odupru pritisku da počnu pušiti u doba kad buduće zdravlje ne znači mnogo i pružiti im zamjenske zdrave sadržaje. Ako puše, treba pronaći razloge njihova ovisničkog ponašanja i ohrabriti ih da posjete savjetovalište, promijene ponašanje i ponajprije zaštite djecu od pasivnog pušenja. Posebice je to važno postići u razdoblju planiranja obitelji ili, ako ne tada, onda barem tijekom trudnoće. Iskustva su pokazala da su žene tijekom trudnoće motivirane da prestanu pušiti kako bi zaštitile fetus od štetnih učinaka, što je dobro iskoristiti u programima odvikavanja od pušenja.[60] Zaštita djece od štetnih izloženosti u okolišu uključujući pasivno pušenje kao važan javnozdravstveni problem u međunarodnim razmjerima odražava se na nekoliko aktualnih primjera. Američka agencija za zaštitu okoliša (*U. S. EPA*) provodi kampanju pod nazivom »Okoliš bez cigaretnog dima« u kojoj se poručuje roditeljima da, ako puše, neka puše izvan prostorija doma ili automobila čime će pripomoći zaštiti djece od bronhitisa, pneumonija, čestih i težih astmatičnih napadaja, infekcija uha, pa čak i sindroma iznenadne dojenačke smrti.[61] U okviru djelovanja Regionalnog ureda za Europu Svjetske zdravstvene organizacije istaknuta je kakvoća zraka, u koju je uključena i zaštita od pasivnog pušenja, kao jedna od 10 tema od posebne važnosti (za koje su predviđene akcije za načine snižavanja izloženosti). U tom smislu je naziv i glavni moto Četvrte ministarske konferencije o okolišu i zdravlju održane 23.–25. lipnja 2004. u Budimpešti[62] kojim se može zaključiti i ovaj članak:

»Budućnost za našu djecu«.

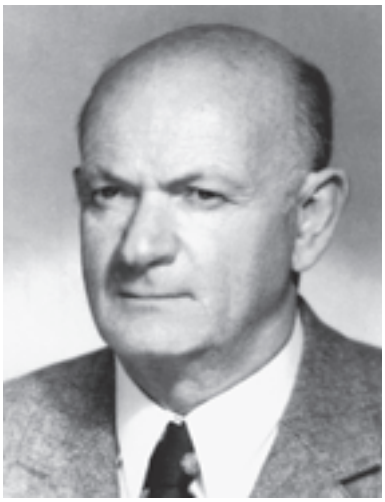
LITERATURA

1. American Council on Science and Health (ACSH). Environmental Tobacco Smoke: Human Risk or Health Hype? A Special Report. 1999. http://www.acsh.org/docLib/20040402_Environmental_Tobacco1999.pdf [22. 06. 2004.]
2. *Manuel J*. Double exposure. Environmental tobacco smoke. Environ Health Perspect 1999;107:A196–201.
3. Action on Smoking and Health (ASH). Passive smoking: The impact on children (Update July 2002). http://www.ash.org.uk/html/passive/html/kidsbrief.html [12. 01. 2004.]
4. *Gryczyska D, Kobos J, Zakrzewska A*. Relationship between passive smoking, recurrent respiratory tract infections and otitis media in children. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 1999; 49(suppl 1): 275–8.

5. *Jaakkola JJK, Jaakkola MS*. Effects of environmental tobacco smoke on the respiratory health of children. Scand J Work Environ Health 2002;28 (suppl 2):71–83.
6. *Lindbohm ML, Sallmen M, Taskinen H*. Effects of exposure to environmental tobacco smoke on reproductive health. Scand J Work Environ Health 2002;28(Suppl 2):84–96.
7. Action on Smoking and Health (ASH) / World Health Organization (WHO). International Consultation on Environmental Tobacco Smoke (ETS) and Child Health. Consultation Report WHO/NCD/TFI/ETS/99.2. ASH/WHO; 1999. http://ash.org/who-ets-rpt.html [01. 12. 2003.]
8. *Bonseñora IM, Cook NR, Leea IM i sur*. Active and passive smoking and risk of colds in women. Ann Epidemiol 2001;11:225–31.
9. *Weitzman M, Gortmaker S, Sobol A*. Maternal smoking and behaviour problems of children. Pediatrics 1992;90:342–9.
10. *Makin J, Fried PA, Watkinson BA*. Comparison of active and passive smoking during pregnancy: long-term effects. Neurotoxicol Teratol 1991; 13:5–12.
11. *Rush D, Callahan KR*. Exposure to passive cigarette smoking and child development: a critical review. Ann N Y Acad Sci 1989;562:145–58.
12. *Weitzman M, Gortmaker S, Walker DK, Sobol A*. Maternal smoking and childhood asthma. Pediatrics 1990;85:505–11.
13. *Ronchetti R, Macri F, Ciofetta G i sur*. Increased serum IgE and increased prevalence of eosinophilia in 9-year-old children of smoking parents. J Allergy Clin Immunol 1990; 86(pt 1):400–7.
14. *Cook DG, Strachan DP*. Health effects of passive smoking -10: summary of effects of parental smoking on the respiratory health of children and implications for research. *Thorax* 1999;54:357–66.
15. *Turrell G, Battistutta D, McGuffog I*. Social determinants of smoking among parents with infants. Austr N Z J Publ Health, 2002;26:30–7.
16. *Henschen M, Frischer T, Pracht T i sur*. The internal dose of passive smoking at home depends on the size of the dwelling. Environ Res 1997; 72:65–71.
17. *Goren AI, Hellmann S*. Prevalence of respiratory symptoms and diseases in school-children living in a polluted and in a low-polluted area in Israel. Environ Res 1988;45:28–37.
18. *Žuškin E, Smolej-Narančić N, Schachter EN, Mustajbegović J*. Respiratory symptoms and ventilatory capacity of school children in urban and rural area. Coll Antropol 1993;1:55–65.
19. *Berny C, Boyer JC, Capolaghi B i sur*. Biomarkers of tobacco smoke exposure. Ann Biol Clin 2002;60:263–72.
20. *Husgafvel-Pursiainen K*. Biomarkers in the assessment of the exposure and the biological effects of environmental tobacco smoke. Scand J Work Environ Health 2002;28(suppl 2):21–9.
21. *Kalinić N, Skender Lj, Karačić V, Brčić I, Vadjić V*. Passive exposure to tobacco smoke: Hair nicotine levels in preschool children. Bull Environ Contam Toxicol 2003;71:1–5.
22. *Stohs SJ, Bagchi D, Bagchi M*. Toxicity of trace elements in tobacco smoke. Inhal Toxicol 1997;9:867–90.
23. *Miller RK, Ng WW, Levin AA*. The placenta: the relevance to toxicology. U: Clarkson TW, Nordberg GF, Sager PR, ur. Reproductive and developmental toxicity of metals. New York: Plenum Press; 1983:589–605.
24. *Miller RK, Mattison DR, Plowchalk D*. Biological monitoring of the human placenta. U: Clarkson TW, Nordberg GF, Sager PR, ur. Biological monitoring of toxic metals. New York: Plenum Press; 1988:567–602.
25. *Iyengar GV, Rapp A*. Human placenta as a 'dual' biomarker for monitoring fetal and maternal environment with special reference to potentially toxic trace elements. Part 1: Physiology, function and sampling of placenta for elemental characterisation. Sci Total Environ 2001;280(1–3):195–206.
26. *Iyengar GV, Rapp A*. Human placenta as a 'dual' biomarker for monitoring fetal and maternal environment with special reference to potentially toxic trace elements. Part 2: Essential minor, trace and other (non-essential) elements in human placenta. Sci Total Environ 2001;280(1–3):207–19
27. *Iyengar GV, Rapp A*. Human placenta as a ždual' biomarker for monitoring fetal and maternal environment with special reference to potentially toxic trace elements. Part 3: Toxic trace elements in placenta and placenta as a biomarker for these elements. Sci Total Environ 2001; 80(1–3):221–38.
28. *Piasek M, Blanuša M, Kostial K, Laskey JW*. Placental cadmium and progesterone concentrations in cigarette smokers. Reprod Toxicol 2001;15: 673–81.
29. *Shy CH, Hasselblad W, Burton RM, Nelson CJ, Cohen A*. Air pollution effects on ventilatory function of US schoolchildren. Results of study in Cincinnati, Chatanooga and New York. Arch Environ Health 1973;27: 124–8.
30. *Brinkman GL, Coates EO Jr. The effect of bronchitis, smoking and occupation on ventilation. Am Rev Respir Dis 1963;87:384–9.*
31. *Armitage P, Berry G, ur*. Statistical methods in medical research. Oxford: Blackwell Scientific; 1994, str. 215–7.
32. *Baglan RJ, Brill AB, Schulert A i sur*. Utility of placental tissue as an indicator of trace element exposure to adult and fetus. Environ Res. 1974;8:64–70.
33. *Ginzel KH*. What's a cigarette? ACSH Priorities for Health 1990;2(4). http://www.acsh.org/publications/priorities/0102/nicotine.html [07. 01. 2004.]
34. *Wier PJ, Miller RK, Maulik D, DiSant'Agnese PA*. Toxicity of cadmium in the perfused human placenta. Toxicol Appl Pharmacol. 1990;105:156–71.
35. *Eisenmann CJ, Miller RK*. Cadmium and glutathione – effect on human placental thromboxane and prostacyclin production. Reprod Toxicol. 1995; 9:41–8.
36. *Jolibois LS Jr, Shi W, George WJ, Henson MC, Anderson M*. Cadmium accumulation and effects on progesterone release by cultured human trophoblast cells. Reprod Toxicol. 1999a;13:215–21.
37. *Jolibois LS Jr, Burrow ME, Swan KF, George WJ, Anderson M, Henson MC*. Effects of cadmium on cell viability, trophoblastic development, and expression of low density lipoprotein receptor transcripts in cultured human placental cells. Reprod Toxicol. 1999b;13:473–80.
38. *Lin FJ, Fitzpatrick JW, Ianotti CA, Martin DS, Mariani BD, Tuan RS*. Effects of cadmium transport on trophoblast calcium transport. Placenta 1997;18:341–56.
39. *Kawai M, Swan KF, Green AE, Edwards DE, Anderson MB, Henson MC*. Placental endocrine disruption induced by cadmium: Effects on P450 cholesterol side-chain cleavage and 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase enzymes in cultured human trophoblasts. Biol Reprod 2002;67:178–83.
40. *Piasek M, Kostial K, Laskey JW, Ferrell JM*. Low iron diet and cadmium exposure disrupt steroidogenesis in the rat. U: Roussel AM, Anderson RA, Favier AE, ur. Trace Elements in Man and Animals 10, New York, NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2000:809–12.
41. *Piasek M, Laskey JW, Kostial K, Blanuša M*. Assessment of steroid disruption using cultures of whole ovary and/or placenta in rat and in human placental tissue. Int Arch Occup Environ Health 2002;75(Suppl):S36–44.
42. *Helmert V, Lang P*. Passive smoking in children up to 5 years of age. Gesundheitswesen 1997;59:461–6.
43. *Crone MR, Remy AH, Burgmeijer RJF*. Prevalence of passive smoking in infancy in the Netherlands. Patient Educ Couns 2000; 39(2–3):149–53.
44. *Coutts J*. Half Canada's children breathe smoke at home. Globe and Mail (Toronto, Ontario) 1998; 4:A3.
45. US Environmental Protection Agency. Respiratory Health Effects of Passive Smoking: Lung Cancer and Other Disorders. Publication No. EPA/600/6–90/006F. EPA: Washington, D.C.; Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Office of Air and Radiation; 1992. http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?deid=2835 [13. 01. 2004.]
46. *Johansson A, Halling A, Hermansson G*. Indoor and outdoor smoking: impact on children's health. Eur J Publ Health 2003;13:61–6.
47. *Tamim H, Musharrafieh U, El Roueiheb Z i sur*. Exposure of children to environmental tobacco smoke (ETS) and its association with respiratory ailments. J Asthma 2003;40:571–6.
48. *Lund, K.E., Skrondal, A., Vertio, H., Helgason, Á.R*. To what extent do parents strive to protect their children from environmental tobacco smoke in the Nordic countries? A population-based study. Tob Control 1998;7: 56–60.
49. *Oldak E*. The influence of tobacco parental smoking on serum IgE level of their offspring. Roczniki Akademii Medycznej W Bialystoku 1997;42: 191–5.
50. *Gomzi M, Bobić J, Pavlović M*. Pušenje roditelja i učestale prehlade djece. Društvena istraživanja 2003;67:789–805.
51. *Janson C, Chinn S, Jarvis D, Zock JP, Toren K, Burney P*. Effect of passive smoking on respiratory symptoms, bronchial responsiveness, lung function and total serum IgE in the European Community Respiratory Health Survey: a cross-sectional study. Lancet 2001;358(9399):2103–9.
52. *Koch A, Molbak K, Homoe P i sur*. Risk factors for acute respiratory tract infections in young greenlandic children. Am J Epidemiol 2003;158:374–84.
53. *Jedrychowski W, Maugeri U, Jedrychowska-Bianchi I*. Health effects of indoor and outdoor air quality among children. In search for epidemiologic evidence on air quality and health. Center for research and studies in biomedicine in Luxembourg; 2000, str. 89–101.
54. *Rushton L, Courage C, Green E*. Estimation of the impact on children's health of environmental tobacco smoke in England and Wales. J R Soc Promot Health 2003; 123:175–80.
55. *Prietsch SO, Fischer GB, Cesar JA i sur*. Respiratory illnesses in children younger than 5 years of age in southern Brazil; the influence of the home environment. Pan Am J Publ Health 2003;13:303–10.
56. *Wahlgren DR, Meltzer SB, Zakarian JM i sur*. Predictors of physician counseling to reduce tobacco smoke exposure in children with asthma. Ann Behav Med 1993;15(S1 suppl):36.
57. *Borland R*. Theories of behavior change in relation to environmental tobacco control to protect children. World Health Organization: International Consultation on Environmental Tobacco Smoke (ETS) and Child Health background paper series. WHO/NCD/TFI/99.11. http://www.who.int/tobacco/media/en/borland.pdf [12. 01. 2004.]
58. *Ashley MJ, Ferrence R*. Reducing children's exposure to environmental tobacco smoke in homes: issues and strategies. Tob Control 1998;7: 61–5.
59. *Proeschboldbell RJ, Chassin L, McKinnon DP*. Home smoking restriction and adolescent smoking. Nicotine Tob Res 2000;2:159–67.
60. *Mendoza ME, Chaves JF*. Helping pregnant women cope with smoking cessation. Topics in Advanced Practice Nursing eJournal 2003;3(4). 2003 Medscape. http://www.medscape.com/viewarticle/462980_print [15. 01. 2004.]
61. US Environmental Protection Agency. Smoke-Free Homes. Public Service Announcement »My Mom's My Hero«. http://www.epa.gov/smokefree/psa.html [12. 12. 2003.]
62. World Health Organization / Regional Office for Europe. Fourth Ministerial Conference on Environment and Health, Budapest, Hungary 23–25 July 2004 »The Future for Our Children«. http://www.euro.who.int/eprise/main/WHO/Progs/BUD/Home [15. 01. 2004.]

In memoriam
Obituaries

Prof. dr. Fric Špicer
(20. 3. 1914. – 3. 10. 2003.)



Prof. dr. Fric Špicer, jedan od osnivatelja Hrvatskog društva umirovljenih liječnika, njegov dugogodišnji predsjednik i počasni predsjednik, umro je nakon duge bolesti u Zagrebu 3. listopada 2003.

Rođen je 20. ožujka 1914. u Požegi, gdje je završio osnovnu školu i gimnaziju. Na Medicinskom je fakultetu u Zagrebu diplomirao 1940., a već 1941. služio je vojni rok u Beogradu, odakle se s jugoslavenskom vojskom povlačio do Sarajeva, gdje je zarobljen i odveden u Njemačku u logore ratnih vojnih zarobljenika u Fürstenbergu na Odri i Luckenwaldu blizu Berlina, gdje je radio kao liječnik.

Vrativši se po završetku rata u domovinu nije našao nikoga od svoje obitelji: roditelji i oba brata ubijeni su kao Židovi 1942. godine. Oženio se 1945. Zdenkom Davidović iz Požege, svojom simpatijom iz školskih dana. Dobili su sina Vladimira i započeli život ispočetka.

Po završetku rata radi do 1947. u bolnicama u Petrinji i Sisku, a potom 1947.–52. specijalizira internu medicinu u bolnici »Dr. Josip Kajfeš« (danas Sv. Duh). Odmah po završetku specijalizacije Ministarstvo zdravstva ga šalje u Vinkovce za ravnatelja Opće bolnice i voditelja internog odjela. Nevoljko je otišao znajući da za takvo mjesto treba puno iskustva. No, vrlo brzo je uvidio da će iskustvo, htio on to ili ne htio, morati steći u svakodnevnom radu. U Vinkovcima ga je dočekala stara bolnica sa sobama u kojima je ležalo i 18 bolesnika te kućna epidemija trbušnog tifusa. Samo njegovim izvanrednim zalaganjem epidemija je bila svladana bez smrtnih slučajeva (u to vrijeme nabaviti Chloramphenicol nije bilo nimalo lako). Epidemiološka je služba ustanovila da su higijenski uvjeti u bolnici takvi da bi je trebalo odmah zatvoriti (do epidemije je došlo jer su se dotrajale zahodske odvodne cijevi podzemno spajale sa cijevima s pitkom vodom). Kako bolnicu nije bilo moguće zatvoriti, trebalo je sanirati ono što se može, ali je dr. Špicer istog časa započeo akciju za izgradnju nove bolnice s 300 kreveta, sa svim odjelima i ujedinjenom poliklinickom i preventivnom službom. Postupno, kako su dovršavani pojedini dijelovi bolnice, započela su 1963. useljenja da bi 1972. bili preseljeni svi odjeli. Na žalost za vrijeme Domovinskog rata bolnica je teško oštećena, jer je gađana iz neposredne blizine, budući da je bila na prvoj liniji fronta.

Od 1959. do 1962. dr. Špicer je radio u Addis Abebi u Etiopiji kao ravnatelj bolnice »Ras Desta« i voditelj internog odjela. Po povratku pa sve do umirovljenja 1979. radio je u Republičkom zavodu za socijalno osiguranje u Zagrebu, najprije kao predsjednik prvostupanjske invalidske komisije, a od 1969. kao predsjednik prvog vijeća Više invalidske komisije u Zajednici mirovinskog i invalidskog osiguranja radnika Hrvatske.

God. 1966. dodijeljen mu je naslov primarijus, a 1976. obranio je doktorat znanosti na Medicinskom fakultetu u Zagrebu temom »Ustanovljenje bolesti srca i krvnih žila, koje su prouzrokovale trajnu nesposobnost za rad (invalidnost) aktivnih osiguranika u SR Hrvatskoj radi poduzimanja preventivnih mjera«. God. 1977. bio je izabran za izvanrednog profesora zagrebačkoga Medicinskog fakulteta za potrebe poslijediplomske nastave iz kolegija ocjena radne sposobnosti. Sličan kolegij predavao je i na sarajevskom Medicinskom fakultetu. Tijekom svog rada posvetio je mnogo pozornosti izobrazbi mladih kadrova kako liječnika tako i srednjeg te nižeg medicinskog osoblja. Rukovodio je mnogim tečajevima kako bi podigao razinu znanja medicinskih kadrova.

Napisao je 95 znanstveno-stručnih radova. Prvi su mu radovi iz područja interne medicine i infektologije (eozinofilni pleuritis, trbušni tifus, tetanus, leptospiroza, entameba histolitika itd.). Kasnije piše o kretanju invalidnosti i ukazuje na važnost te grane medicinske djelatnosti. Budući da je literatura o toj problematici bila vrlo oskudna, pristupio je kao urednik uređivanju priručnika za ocjenu invalidnosti te izdaje 18 priručnika (s područja kardiovaskularnih bolesti, audiologije, ortopedije, psihijatrije, neurologije i dr.). On sam je autor 6 priručnika. Napisao je dvije knjige: »Ocjena radne sposobnosti« (1981.) i »Izgradnja nove bolnice u Vinkovcima i razvoj bolničke službe od 1953.–58.« (1984.). Aktivno je sudjelovao na mnogim kongresima, simpozijima i znanstveno-stručnim sastancima. Smatrao je da je razvoj medicinskog vještačenja vrlo važan, pa je u okviru Zbora liječnika Hrvatske osnovao i vodio Sekciju za medicinska vještačenja (1967.).

Nakon umirovljenja bio je među osnivateljima sadašnjeg Hrvatskog društva umirovljenih liječnika Hrvatskoga liječničkog zbora (1983.) i njegov višegodišnji predsjednik. Bio je organizator sveukupnog njegova rada i aktivnosti (predavanja, izleti i dr.), tako da je to društvo bilo među najaktivnijima u HLZ. Posebne je zasluge imao za dugogodišnju suradnju sa Sekcijom upokojenih zdravnikov Slovenskega zdravniškega društva, s kojom se svake godine u proljeće održavaju susreti u Sloveniji, a u jesen u Hrvatskoj.

Za njegov rad dodijeljena su mu mnoga odličja, plakete i priznanja. Njegove aktivnosti, osim u području medicine, bile su raznolike. Tako je u Vinkovcima oživio rad teniskog kluba, a na terenu pokraj bolnice dao je urediti tenisko igralište. Bio je nadasve pošten, neumoran, savjestan i pun energije kada je trebalo nešto ostvariti za opće dobro.

Hvala mu na svemu što je učinio!

Prof. dr. sc. Višnja Fabečić Sabadi i dr. Dragutin Kremzir

HRVATSKA ZA DJECU

Zaključci znanstvenoga skupa »Demografski i zdravstveni aspekti hrvatskog školstva« Matice hrvatske održanog 5. i 6. travnja 2004. u Zagrebu

Matica hrvatska organizirala je 5. i 6. travnja 2004. znanstveni skup pod nazivom »Demografski i zdravstveni aspekti hrvatskog školstva«. Cilj je toga znanstvenog skupa bio da upozori, s jedne strane, na negativna demografska kretanja u Hrvatskoj, a, s druge, da potakne programe u prilog razvoja djece. Takva su razmišljanja i u skladu s današnjom orijentacijom međunarodnih organizacija i spoznajom da je rani razvoj djeteta pretpostavka daljnjega zdravog i produktivnog života odrasloga.

Djeca su budućnost svake zemlje, pa Svjetska banka kao najbolju investiciju preporučuje vladama ulaganje u djecu. Na međunarodnoj konferenciji 2000. pod nazivom: »Investing in Our Children's Future« te 2004. na konferenciji o djeci u Genovi te se preporuke ponavljaju sa sugestijama vladama da ih ugrade u svoje razvojne planove.

Preporuke tih međunarodnih skupova posebno su aktualne za Hrvatsku, jer nastavak današnjih negativnih demografskih kretanja dovodi u pitanje opstojnost jednoga naroda.

Osim, depopulacijskih pitanja, postavlja se i ono o zdravlju mlade generacije, koje je pretpostavka uspješnog obrazovanja i potonjega produktivnog života. Zato je znanstveni skup Matice hrvatske okupio stručnjake koji rade s djecom, a posebno zdravstvene djelatnike i zainteresirane ljude iz javnoga života kako bi se razmotrili demografska kretanja i stanje zdravlja djece i mladih u Hrvatskoj.

Program skupa i uvodna izlaganja koncipirani su tako da ne govore samo o današnjim zdravstvenim problemima školske djece, nego upozoravaju na probleme djeteta od njegova začeća, na razvojne probleme i rizičnosti na tom putu odrastanja, kako bismo imali što više zdrave i za školovanje sposobne djece.

Ujedno se raspravom o demografskim kretanjima želi dati prinos i pomoć Vladinu Savjetu za populacijsku politiku, koji ima zadatak definirati i predložiti državnu populacijsku politiku. Ovaj znanstveni skup također predlaže izradbu nacionalne strategije za djecu, koja bi konkretizirala mnoštvo postojećih deklarativnih dokumenata, ali i financijski poduprla odgovarajućim rješenjima u prilog djece i mladih.

Osnovna misao vodilja jest ulaganje u zdravlje djece. Uloženi novac mora biti usmjeren prema učinkovitim programima koji će osigurati zdrav život djeteta. Svjetska banka izračunala je da se izdvajanje za hendikepirano dijete oštećeno za vrijeme trudnoće ili pri porođaju 20 puta veće nego za zdravo dijete. To je tzv. ekonomski pristup problemima djece i njihovu razvoju.

U moralnome pristupu, najjasnije izraženu u Konvenciji o pravima djeteta, stoji da su države članice potpisnice Konvencije dužne osigurati zdravlje djeteta prema najvišim dostupnim standardima zajednice**.** Mnoge zemlje, pa i Hrvatska, izradile su programe primjene Konvencije o pravima djece u svojoj zemlji. Hrvatska je 1998. usvojila Program djelovanja za djecu, a u srpnju 2003. i dopunu toga programa.

No, ni jedan i ni drugi dokument nemaju strateški pristup. To znači da, unatoč postojanju deklarativnog društvenog opredjeljenja, nedostaje financijski, koji bi omogućio njegovu realizaciju.

U Hrvatskoj bi valjalo upravo te suvremene smjernice optimalizacije ranoga razvoja djece pretvoriti u konkretnu praksu, jer je od svih njezinih problema najveći populacijski, a problemi skrbi o djeci u društvu nisu dovoljno prepoznati.

1. Glede ulaganja u djecu u nas su kao što je već istaknuto, dominantni negativni demografski pokazatelji, o čemu se u posljednje vrijeme počelo više govoriti. Nastavlja se dugogodišnje smanjivanje nataliteta, fertiliteta i prirodnoga prirasta, pa je Hrvatska od 1991. ušla u depopulacijsku fazu prirodnoga kretanja.

U 2002. u Hrvatskoj su rođena 40 094 djeteta, a stopa je prirodnoga prirasta – 2,4, što je najniža stopa od osamostaljenja Hrvatske. Izrazito smanjivanje broja djece zahtijeva poduzimanje hitnih i dugoročnih pronatalitetnih mjera.

2. Drugi problem u Hrvatskoj još je uvijek prevelika smrtnost djece. U 2002. umrla su 282 dojenčeta ili 7 na 1000 živorođenih, a ti pokazatelji smrtnosti dojenčadi posljednjih godina osciliraju: 2000. – 7,4‰, 2001. – 7,7‰. Za usporedbu Slovenija ima dojenačku smrtnost 4,3, a Češka 4,0‰. U starijim dobnim skupinama do 18. godine u 2000. godini od nasilnih je smrti umrlo 205 djece (od čega u prometnim nesrećama 85, od utapanja 25, 28 samoubojstvom i dr.). Većinu uzroka smrtnosti moguće je prevenirati.

3. Treći je prioritet optimalizacija razvoja djece, što znači poduzimanje niza mjera koje će osigurati zdravlje djece, jer, osim osiguravanja rađanja većega broja djece nego što je danas, potrebno je osigurati i njihov optimalan rast i razvoj, i to u svim komponentama: fizičkom, mentalnom, emocionalnom, socijalnom i edukacijskom zdravlju. Da bi se mogao osigurati takav razvoj, potrebno je osobitu pažnju obratiti na rizična razdoblja, a to su posebno:

- trudnoća
- porođaj
- razdoblje nakon porođaja.

4. Moderni koncept zaštite djeteta posebnu pažnju poklanja trudnoći, i to sa svih aspekata: medicinskih, socijalnih i psiholoških. Moderni koncept traži i razradbu pojačane brige, osim za trudnicu i za čedo i njegov optimalan razvoj intrauterino. Zbog toga su važne i sve medicinsko-socijalne mjere, koje omogućuju pojačanu skrb za ženu u trudnoći.

Zdravstvena je zaštita žena u proteklom razdoblju prolazila organizacijske promjene, koje su imale reperkusije na zdravstvenu skrb o ženama, pa posljedično i na trudnice. Prema Zdravstveno-statističkom ljetopisu Hrvatskoga zavoda za javno zdravstvo, u Hrvatskoj je u skrbi ginekologa primarne zdravstvene zaštite žena bilo 71 % žena starijih od 15 godina, odnosno 11000 manje nego prethodne godine. U ljetopisu se također navodi da samo oko 9 % žena fertilne dobi posjećuje ginekologe radi savjetovanja u vezi s planiranjem obitelji.

Broj sistematskih pregleda po trudnici iznosi oko 6 pregleda u godini 2002., i u smanjenju je u usporedbi s prethodnim godinama, kad je svaka trudnica bila pregledana 7,7 puta.

No, ono što je osobito nepovoljno jest to što se broj pregleda po trudnici znatno razlikuje od županije do županije. Isto tako na ovom su skupu predstavnice patronažne službe istaknule kako je moguće napraviti veći obuhvat patronažnom skrbi trudnica, ali je loša koordinacija patronaže i liječnika koji se brinu o trudnici.

5. Vrlo važna karika u zdravstvenoj zaštiti djece također je porođajno razdoblje. Poznato je da perinatalno razdoblje zauzima samo 0,5 % u ukupnom životu, a smrtnost u tom razdoblju

veća je nego u sljedećih 30 godina života. Velik dio rane smrtnosti djece i oštećenja mozga vezan je s tim razdobljem, pa bi posebice trebalo voditi računa o boljem organiziranju, ekipiranju i humanizaciji naših rodilišta. Valja istaknuti nekoliko pokušaja rješavanja vrlo neprihvatljivih situacija:

a) Hrvatsko društvo za perinatologiju već čitavo desetljeće predlaže mjere za regionalizaciju perinatalne zaštite, Adekvatno zbrinjavanje novorođenčadi nije samo pitanje manje smrtnosti nego i manjih porođajnih trauma i oštećenja. Upravo je to ključno mjesto u programu optimalizacije ranoga razvoja. Grupa stručnjaka koja je radila na projektu regionalizacije perinatalnoga zbrinjavanja djece napravila je izračun da bi godišnje ulaganje od 2 milijuna eura tijekom 5 godina u opremu i obrazovanje kadrova na tom području, donijelo višestruku korist.
b) Usporedan s tim je i program humanizacije naših rodilišta, pogotovo stvaranja uvjeta za zajednički boravak majke i djeteta u istoj prostoriji, tzv. *rooming in*, koji ima odlučujuće mjesto u emotivnoj vezi majke i djeteta za (tzv. early *attachement*). Hrvatska je još za vrijeme rata od 1993. dobro krenula u tom smjeru, zahvaljujući programu promicanja dojenja uz pomoć Unicefa, te je potkraj 1998. po broju »rodilišta – prijatelja djece« u Europi bila odmah iza Švedske i Norveške. Pojavom paketa za novorođenčad pod nazivom »Sretna beba« koji se dijeli u rodilištima, a koji je u kontradikciji s međunarodnim kodeksom o načinu reklamiranja nadomjestaka za majčino mlijeko taj je Program obustavljen, čime su prekinuti napori ne samo u promicanju dojenja, nego i programa veće humanizacije rodilišta.

6. U Hrvatskoj su desetljećima zdravstvenu zaštitu djece obavljali pedijatri i liječnici školske medicine, čime je osigurana kvalitetnija zdravstvena zaštita djece. U posljednjem je desetljeću došlo do promjena, jer su liječnici školske medicine stavljeni samo u funkciju brige o preventivi u zdravstvenoj zaštiti školskoga djeteta, a praktički je obustavljena specijalizacija pedijatara za primarnu zdravstvenu zaštitu. Tako su u 2002. u primarnoj zdravstvenoj zaštiti djece radila 272 specijalista pedijatra, što je manje nego u prethodnom razdoblju.

U posljednjem desetljeću normativ po 1 pedijatru povećao se s 1:900 djece na današnjih 1:1200 djece, tj. 30 % više djece na jednog pedijatra. U takvoj je situaciji teško ostvariti standard zaštite predviđen programom mjera zdravstvene zaštite stanovništva. Posljedica toga ogleda se u podatku iznesenom u navedenom ljetopisu da je u 2002. u zdravstvenoj zaštiti dojenčadi i male djece zabilježen pad posjeta radi preventivne skrbi od 17% (u godini 2002. 405 666 posjeta, a u 2001. godini 491 411 preventivnih posjeta). Samo je broj preventivnih posjeta dojenčadi porastao 6 %.

7. U zdravstvenoj zaštiti školske djece pojavljuju se problemi novoga morbiditeta, što se najbolje vidi po radu savjetovališta za djecu i mladež. U tom savjetovališnom radu za djecu i njihove roditelje najviše se tražila pomoć za probleme koji se odnose na kronične bolesti njihove djece, zatim zbog problema učenja, te mentalnoga zdravlja. U srednjoškolaca, osim kroničnih bolesti, sve je više problema povezanih s reproduktivnim zdravljem i spolno prenosivim bolestima, infekcijama, problemima povezanima s učenjem, te rizičnoga ponašanja. Na savjetovanju su posebice naglašeni problemi povećane agresivnosti djece u školi. Sve su to problemi koji traže usklađen pristup zdravstva, škole i roditelja.

8. U rješavanju školskih problema djece istaknuta je važnost edukacijskoga zdravlja, kao i novi holistički pristup djetetu školske dobi.

9. Na skupu je upozoreno na potrebu većega zdravstveno-odgojnoga rada s adolescentima, jer se u tom razdoblju stvaraju stavovi u vezi s reproduktivnim ponašanjem glede: svijesti, odgovornosti, roditeljstva, seksualnosti i dr.

10. Radi optimalizacije ranoga razvoja važno je provesti niz sustavnih mjera: ponajprije mjere za veći broj rođene djece, a zatim pojačanu brigu za njihovo preživljavanje te i poslije optimalizaciju praćenja i brige o zdravlju djece. To podrazumijeva pojačanu skrb počevši od trudnoće, smanjivanje broja prijevremeno rođene djece i djece niske porodne težine, zatim, radi poboljšanja uvjeta rađanja, porođaje u adekvatno opremljenim rodilištima (bolje oprema, stručniji kadar i humaniji uvjeti), omogućivanje adekvatne prehrane, posebno prirodne prehrane. Nizom mjera stimulacije i habilitacije u ranoj dojenačkoj dobi postoji tzv. plastičnost mozga, kad je moguće poboljšati razvoj djeteta.

Osim sadržajnih mjera, važne su i organizacijske:

a) bolja povezanost i stručnjaka i službi koji rade u zbrinjavanju djece, počevši od ginekologa u primarnoj zdravstvenoj zaštiti, porodničara i neonatologa, te pedijatra i liječnika opće medicine u primarnoj zdravstvenoj zaštiti djece;
b) bolja evidencija i praćenje razvoja djece na kvalitetnijoj razini nego što je danas. Program evidencije rizične djece i program uvođenja Zdravstvene knjižice djeteta potrebno je usvojiti kao državni program.

No, evidentan je restriktivni stav državnih tijela s obzirom na potrebe djeteta.

11. Hrvatski pedijatri već godinama ističu kako je potrebno redefinirati politiku društva prema djeci, pa su tako godine 2003. za vrijeme obilježavanja 40. godišnjice dječjeg odjela u Vukovaru usvojili Vukovarsku deklaraciju za djecu, u kojoj ističu »da i pored lijepih dokumenata koje imamo u Hrvatskoj u osnovi nedostaje strateško opredjeljenje koje bi pokrenulo procese bolje zaštite i promicanja ukupnog odnosa prema djeci od lokalne do državne razine«. Ta deklaracija upućena je godine 2003. tadašnjoj Vladi i Saboru, ali je ostala bez odgovora.

Zbog svega navedenog ovaj znanstveni skup održan u okviru Matice hrvatske, predlaže Predsjedništvu Matice da prihvati zaključke kao poticaj za rješavanje navedenih problema djece, ali ujedno i poziv javnosti i državnim tijelima da učine napore glede mobilizacije društva oko demografske obnove Hrvatske i stvaranja uvjeta za optimalizaciju rasta i razvoja djece pod geslom »Hrvatska za djecu«.

Voditelji znanstvenoga skupa:
Jagoda Blažina-Miličević
prof. dr. sc. Josip Grgurić

Croatian Pediatric Orthopaedic Society of Croatian Medical Association
&
Department of Orthopaedic Surgery, School of Medicine and
Clinical Hospital Center, Zagreb University

under auspices of:
Pediatric **O**rthopaedic **S**ociety of **N**orth **A**merica

are organizing

POSNA – CROATIA OUTREACH COURSE

Cavtat/Dubrovnik – Hotel Croatia
September 18 – 21, 2005

Organizing Committee:

Doc. Dr. Darko Antičević (Croatia), Dr. Marko Bergovec (Croatia), Dr. Tomislav Đapić (Croatia), Prof. Dr. Dubravko Orlić (Croatia), Prof. Mario Turi, MD (USA), Sanja Vukov-Colić, B. Sc. Econ. (Croatia)

Topics:

Skeletal Dysplasia, Foot, Hip, Cerebral Palsy, Congenital Limb Anomalies, Spine, Bone Tumours, Trauma

Course objective:

- to provide a forum for exchange the best available knowledge in selected areas of pediatric orthopaedics,
- to create stimulating and learning environmental for all participants,
- to disseminate current concepts in the care and treatment for children with orthopaedic problems,
- to bring together distinguished speakers from both sides of the Atlantic

Who should attend?

- residents in orthopaedic surgery,
- fellow in pediatric orthopaedics,
- young orthopaedic surgeons,
- all orthopaedic surgeons who have interest in pediatric subspeciality.

Faculty:

Doc. Darko Antičević – University of Zagreb, School of Medicine and Clinical Hospital Center, Zagreb, CROATIA
Prim. Dr. Boštjan Baebler – University of Ljubljana, University Medical Center, Ljubljana, SLOVENIA
Prof. Pavel Dungl – Orthopaedic Clinic Bulovka, Prague, CZECH REPUBLIC
Dr. Tomislav Đapić – University of Zagreb, School of Medicine and Clinical Hospital Center, Zagreb, CROATIA
Prof. Franz Grill – Orthopaedic Hospital Speising, Vienna, AUSTRIA
Prof. Kamal Ibrahim, MD – Loyola University, Chicago ILL. USA
Prof. Wallace B. Lehman, MD – New York University School of Medicine, NY.NY. USA
Prof. Joško Marušić, Special Guest (non-medical lecture), Academy of Fine Arts, Zagreb, CROATIA
Prof. Dubravko Orlić – University of Zagreb, School of Medicine and Clinical Hospital Center, Zagreb, CROATIA
Prof. Kit M. Song, MD – Children's Hospital & Medical Center, Seattle, WA, USA
Prof. Mario Turi, MD – Eastern Tennessee State University, School of Medicine, Johnson City, TN, USA

Information and registration:

»SPEKTAR HOLIDAYS«, Tkalčićeva 15, 10000 Zagreb, CROATIA,
Phone: + 385 1 4819 300, + 385 1 4840 803, Fax: + 385 1 4839 982, E-mail: pco1@spektar-holidays.hr

HRVATSKI LIJEČNIČKI ZBOR
HRVATSKO DRUŠTVO ZA ATEROSKLEROZU

organizira

PETI HRVATSKI KONGRES O ATEROSKLEROZI

s međunarodnim sudjelovanjem

u Zadru od 21. do 24. rujna 2005. godine

Glavne teme Kongresa:

- Epidemiologija koronarne i cerebrovaskularne bolesti
- Hiperlipidemije i dislipidemije u odraslih i djece i njihovo liječenje
- Šećerna bolest, pretilost i metabolički sindrom
- Hipertenzija
- Infekcija i ateroskleroza
- Prehrana i rizik ateroskleroze
- Način života i kardiovaskularne bolesti
- Estrogeni, menopauza i hormonsko nadomjesno liječenje
- Zatajenje srca
- Angiografija, CT, MR u procjeni ateroskleroze
- Nuklearna kardiologija
- Perkutana angioplastika, stentovi itd.
- Antiagregacijsko i trombolitičko liječenje
- Kirurško liječenje ateroskleroze koronarnih arterija
- Kirurško liječenje ateroskleroze perifernih žila
- Ateroskleroza i cerebrovaskularna bolest

KRAJNJI ROK ZA PRIMITAK SAŽETAKA JE 31. SVIBANJ 2005. GODINE.

Sažeci se šalju na adresu: Prof. dr. sc. Željko Reiner, Klinički bolnički centar Zagreb, 10000 Zagreb, Šalata 2, odnosno na e-mail: zreiner@kbc-zagreb.hr

Prijava i rezervacija hotela: TOPTOURS, 10000 Zagreb, Mesnička 3, tel. 01/4847-604, 4847-606; faks 01/48-47-606, e-mail: top-tours@zg.htnet.hr

Sudjelovanje na Kongresu biti će vrednovano najvećim brojem bodova Hrvatske liječničke komore.